

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE QUÍMICA**



**RELACIÓN HIERRO-CARBONO-FÓSFORO A LO LARGO DE UN GRADIENTE DE  
PERTURBACIÓN EN LOS BOSQUES HÚMEDOS DE LA RESERVA FORESTAL DE  
IMATACA, EDO. BOLÍVAR- VENEZUELA.**

Trabajo Especial de Grado presentado ante la  
Ilustre Universidad Central de Venezuela por  
la Br. Sissy Emperatriz Custodio Alvarado  
para optar al Título de Licenciada en Química.

Caracas, Mayo, 2012

Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado.

**RELACIÓN HIERRO-CARBONO-FÓSFORO A LO LARGO DE UN GRADIENTE DE PERTURBACIÓN EN LOS BOSQUES HÚMEDOS DE LA RESERVA FORESTAL DE IMATACA, EDO. BOLÍVAR- VENEZUELA.**

Presentado por la Br. Sissy E. Custodio A., certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudio para optar por el título de Licenciada en Química.

---

**Dr. Ramón Montero**  
**(Tutor)**

---

**Dra. Noemí Chacón**  
**(Tutora)**

---

**(Jurado)**

---

**(Jurado)**

## DEDICATORIA

Este trabajo representa el esfuerzo de muchos años de dedicación y esmero; sin embargo, el cumplimiento de esta meta no hubiera sido posible sin el apoyo de muchas personas a las que les dedico este triunfo.

**A mis padres, Alberto Custodio y Emperatriz Alvarado**, quienes me brindaron su apoyo absoluto en este largo camino y nunca dudaron de mí, ustedes estuvieron allí en cada uno de los pasos de mi vida y me dieron todas las herramientas para ser la persona que soy ahora; además, me enseñaron que la única manera de superarme era mediante el estudio y la educación, es por ello que este triunfo es de ustedes.

**A mi mejor amigo y futuro esposo Néstor Rodríguez**, quién siempre me brindó todo su apoyo incondicional, resultando ser esa persona que me dedicó el tiempo para escucharme en aquellos momentos difíciles y tuvo esa palabra de aliento para levantarme el ánimo y me dió la fortaleza necesaria para no decaer en el intento. Por brindarme una sonrisa, un abrazo, una caricia y por hacerme reír en el instante que más lo necesité.

**A la señora Dioselina Morales**, por cobijarme en su casa en mis últimos años de la carrera, por hacerme la comida y por estar siempre pendiente de mi, sé que usted piensa que fue poco su aporte pero para mi tiene un enorme significado y se lo agradezco infinitamente.

## AGRADECIMIENTOS

Para el éxito en la realización de este trabajo especial de grado, hubieron muchas personas que me brindaron todo el apoyo necesario para lograr esta meta, a los cuales va dirigido mis más profundo agradecimiento y sincero reconocimiento. **A mi tutora Noemí Chacón**, por abrirme las puertas de su laboratorio y permitirme realizar este proyecto. Por creer en mí y dedicarme el tiempo para guiarme en cada una de las etapas de este trabajo especial de grado. **A mi tutor Ramón Montero**, por extenderme su mano amiga en el momento que más la necesite y por toda su ayuda y colaboración brindada durante el desarrollo este proyecto. **Al profesor Rubén Machado** por guiarme hacia mi tutora Noemí Chacón. **A mis jurados Anna Gann y Iván Danilo López**, quienes fueron mucho más que mi jurado calificador y siempre estuvieron allí para ayudarme a solventar cualquier dificultad.

**Al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC)**, por proporcionarme todas las herramientas necesarias para el desarrollo y realización de este proyecto. **A mi querida Universidad Central de Venezuela**, por transmitirme todos los conocimientos adquiridos durante toda la carrera, muchos de los cuales fueron aplicados en este proyecto, así como también, por permitirme crecer y madurar intelectualmente, formando la profesional que soy hoy en día.

El desarrollo experimental de este proyecto, no hubiera sido posible sin la ayuda y colaboración del personal del Laboratorio de Ecología de Suelos, Diana Benzo, Maiella Rangel, Belkis García, Saúl Flores y Erica González, quienes fueron mucho más que una guía y me brindaron todo su invaluable apoyo. Pero muy en especial a Rosa Padrón, que siempre estuvo a mi lado enseñándome todo lo concerniente a los métodos de análisis químico que fueron empleados. Y finalmente, a todas esas personas que de alguna u otra manera me brindaron su ayuda durante mi carrera universitaria.

## RESUMEN

El fósforo (P) es considerado uno de los elementos esenciales para las plantas, sin embargo, su disponibilidad en los suelos ácidos se ve afectada por la adsorción sobre las superficies de los oxi-hidróxidos de hierro (III). En los bosques húmedos tropicales el efecto combinado de altas precipitaciones y elevados contenidos de óxidos de Fe (III), arcilla y materia orgánica, propician la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) y la subsiguiente liberación del P adsorbido. La extracción de madera en estos bosques, además de proveer entradas de carbono (C) lábil, afecta las condiciones microclimáticas del suelo. Atendiendo a estos aspectos, en este estudio se desarrolló un experimento de laboratorio simulando condiciones variadas en el potencial redox del suelo (anóxica, subóxica y óxica), con la finalidad de observar los cambios en la relación Fe-C-P a lo largo de un gradiente de perturbación, originado por la extracción de madera en la Reserva Forestal de Imataca, Edo. Bolívar- Venezuela, el cual se encuentra conformado por un bosque prístino (BP), un bosque con manejo moderado (BM) y, una zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

Los resultados mostraron que bajo los tratamientos anóxicos y subóxicos, la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) fue favorecida en las zonas perturbadas del gradiente (BM y ZP), como consecuencia de un mayor ingreso de C lábil fresco producto de la perturbación. Por otra parte, en condiciones de limitada disponibilidad de oxígeno (subóxica) la actividad de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos puede oxidar la materia orgánica y favorecer la reducción del Fe (III). La ausencia de variación en la concentración de P en las zonas de estudio producto de los cambios en el estado redox, así como la pérdida de relación entre el Fe (II) bioproducto y el P bajo los tratamientos anóxico y suboxico, sugiere que la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) no favorece la movilización del P adsorbido a estas superficies minerales. Sin embargo, el P puede sufrir reacciones secundarias que podrían estar enmascarando los resultados.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	3
<b>3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	5
3.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	5
3.1.1. Objetivo general .....	5
3.1.2. Objetivos específicos.....	5
3.2. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN .....	6
<b>4. FUNDAMENTOS TEÓRICOS</b> .....	7
4.1. ESPECIES QUÍMICAS DEL FÓSFORO EN LOS SUELOS.....	7
4.2. CICLO GLOBAL DEL FÓSFORO.....	9
4.2.2. Actividad enzimática.....	12
4.3. RETENCIÓN DEL FÓSFORO EN LOS SUELOS .....	13
4.3.1. Influencia de la fase mineral en los suelos .....	14
4.3.2. Influencia de la fase orgánica en los suelos .....	17

4.4. LIBERACIÓN DEL FÓSFORO EN LOS SUELOS ÁCIDOS CON IMPEDIMENTO DE DRENAJE.....	18
4.4.1. Mecanismos de reducción del hierro.....	20
4.4.2. Factores que afectan la reducción del Fe (III) y la liberación del fósforo en los suelos.....	22
4.4.2.1. Oxi-hidróxidos de Fe (III) .....	22
4.4.2.2. Formación de productos secundarios .....	22
4.4.2.3. Influencia de la materia orgánica y las bacterias .....	23
<b>5. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>26</b>
<b>6. MARCO GEOLÓGICO.....</b>	<b>34</b>
6.1. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO .....	34
6.1.2. Características climáticas.....	34
6.1.3. Litología.....	34
6.1.3. Suelos .....	37
6.2. RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	38
<b>7. METODOLOGÍA .....</b>	<b>40</b>
7.1. SISTEMA DE INCUBACIÓN .....	40
7.1.1. Tratamiento anóxico.....	41
7.1.2. Tratamiento subóxico .....	41

7.1.3. Tratamiento óxico .....	41
7.2. ANÁLISIS QUÍMICOS .....	42
7.2.1. Determinación del pH del suelo.....	42
7.2.2. Determinación del carbono orgánico del suelo.....	42
7.2.3. Determinación de la humedad.....	44
7.2.4. Determinación de Fe (II) y P extraíble con HCl 0,5M .....	44
7.2.4.1. Determinación de P inorgánico .....	45
7.2.4.2. Determinación de Fe (II) .....	47
7.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	48
<b>8. RESULTADOS.....</b>	<b>49</b>
<b>9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>53</b>
<b>10. CONCLUSIONES.....</b>	<b>57</b>
<b>11. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>58</b>
<b>12. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>59</b>
<b>13. APÉNDICES .....</b>	<b>70</b>
13.1. CÁLCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA .....	70



13.2. CÁLCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD.....	70
13.3. CÁLCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE P INORGÁNICO Y Fe (II) .....	71
13.4. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS QUÍMICOS DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE CAMPO TOMADAS PARA LAS ZONAS DEL GRADIENTE DE PERTURBACIÓN DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN BAJO DIFERENTES CONCENTRACIONES DE OXÍGENO (ANÓXICA, SUBÓXICA Y ÓXICA) .....	72

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES IÓNICAS DEL ÁCIDO FOSFÓRICO EN DIFERENTES PH . .....	7
<b>FIGURA 2.</b> INOSITOL HEXAFOSFATO .....	8
<b>FIGURA 3.</b> CICLO GLOBAL DEL FÓSFORO.....	10
<b>FIGURA 4.</b> DIAGRAMA DE LA FIJACIÓN INORGÁNICA DE LOS FOSFATOS AÑADIDOS PARA VARIOS VALORES DE PH.....	14
<b>FIGURA 5.</b> VARIACIÓN DE LA CARGA SUPERFICIAL DE LOS HIDRÓXIDOS DE ALUMINIO EN FUNCIÓN DEL PH.....	16
<b>FIGURA 6.</b> MODELO DEL MECANISMO CON LA ESTIMULACIÓN DE SUSTANCIAS HÚMICAS.....	24
<b>FIGURA 7.</b> UBICACIÓN DE LA RESERVA FORESTAL DE IMATACA .....	35
<b>FIGURA 8.</b> ESQUEMA METODOLÓGICO .....	40

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1.</b> SECUENCIA TERMODINÁMICA DE REDUCCIÓN DE SUSTANCIAS INORGÁNICAS A PH 7,0.....	19
<b>TABLA 2.</b> CLASIFICACIÓN DE LOS SUELOS DE RESERVA FORESTAL DE IMATACA .....	37
<b>TABLA 3.</b> TEXTURA DE LAS ZONAS DEL GRADIENTE DE PERTURBACIÓN .....	39
<b>TABLA 4.</b> VARIACIONES DE PH A LO LARGO DEL GRADIENTE DE PERTURBACIÓN DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN. ....	49
<b>TABLA 5.</b> VARIACIONES DE MATERIA ORGÁNICA (%) A LO LARGO DEL GRADIENTE DE PERTURBACIÓN DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN. ....	50
<b>TABLA 6.</b> VARIACIONES DE FE (II) (MG/KG) A LO LARGO DEL GRADIENTE DE PERTURBACIÓN DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN. ....	51
<b>TABLA 7.</b> VARIACIONES DE P INORGÁNICO (MG/KG) A LO LARGO DEL GRADIENTE DE PERTURBACIÓN DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN. ....	52
<b>TABLA 8.</b> CORRELACIÓN DE VARIABLES A LO LARGO DEL GRADIENTE DE PERTURBACIÓN EN LOS TIEMPOS 15 Y 58 DÍAS DE INCUBACIÓN.....	52
<b>TABLA 9.</b> VARIACIONES DEL PH, MATERIA ORGÁNICA (%), FE (II) (MG/KG) Y P INORGÁNICO (MG/KG) DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE CAMPO TOMADAS PARA LAS DIFERENTES ZONAS DEL GRADIENTE DE PERTURBACIÓN DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN BAJO TRATAMIENTO ANÓXICO. ....	72
<b>TABLA 10.</b> VARIACIONES DEL PH, MATERIA ORGÁNICA (%), FE (II) (MG/KG) Y P INORGÁNICO (MG/KG) DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE CAMPO TOMADAS PARA LAS DIFERENTES ZONAS DEL GRADIENTE DE PERTURBACIÓN DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN BAJO TRATAMIENTO SUBÓXICO. ....	74
<b>TABLA 11.</b> VARIACIONES DEL PH, MATERIA ORGÁNICA (%), FE (II) (MG/KG) Y P INORGÁNICO (MG/KG) DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE CAMPO TOMADAS PARA LAS DIFERENTES ZONAS DEL GRADIENTE DE PERTURBACIÓN DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN BAJO TRATAMIENTO ÓXICO. ....	76

## 1. INTRODUCCIÓN

El fósforo (P) en el suelo puede ser lixiviado, tomado por las plantas o retenido por los minerales secundarios [1]. En los suelos ácidos altamente meteorizados el P se encuentra unido principalmente al hierro (Fe), bien sea por precipitación o por adsorción sobre las superficies de los oxi-hidróxidos de Fe [2]. Esta última es la forma más común, lo que limita la cantidad de P lábil disponible para las plantas y los microorganismos [3].

En los suelos inundados el ciclo del P se encuentra íntimamente vinculado con el ciclo del Fe [4, 5], puesto que durante la época de lluvia los suelos se encuentran saturados de agua. Esto conlleva a que los microorganismos utilicen el Fe (III) presente en los oxi-hidróxidos como aceptor de electrones alternativo para la descomposición de la materia orgánica [6, 7], generando la reducción del Fe (III) y la subsiguiente liberación del P. Durante este proceso microbiano los protones presentes en el medio son consumidos y, por lo tanto, el pH aumenta [8, 9]. Sin embargo, también pueden ocurrir reacciones secundarias que involucran la formación de productos como la magnetita, vivianita, siderita y compuestos amorfos intermedios [10-14], los cuales son capaces de adsorber nuevamente el P liberado y retenerlo.

La presencia de moléculas orgánicas que puedan transportar electrones desde los organismos hasta los óxidos de Fe (III) afecta la reducción del Fe (III) [15]. Se ha demostrado que la adición de la antraquinona-2,6 disulfato (AQDS) promueve la reducción de Fe en los suelos [16, 17]. Además, la reducción de Fe parece ser estimulada por la disponibilidad de compuestos lábiles de carbono (C) [17, 18].

Los suelos de la Reserva Forestal de Imataca (RFI), ubicada en la región sureste de la República Bolivariana de Venezuela, se caracterizan por estar altamente meteorizados, ser muy pobres en nutrientes y poseer bajos valores de pH [19], además

de elevados contenidos de óxidos de Fe, arcillas y materia orgánica. Adicionalmente, esta área presenta altas precipitaciones durante siete meses del año [20]. Bajo estas condiciones, los suelos de la RFI presentan un ambiente favorable para la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III), mecanismo que podría contribuir con el suministro de P a la biota del suelo y la vegetación.

En esta localidad existen áreas asociadas con el desarrollo de explotaciones madereras [21], cuya actividad puede cambiar las condiciones microclimáticas del suelo [22] e incorporar materia orgánica fresca [17, 23]; sin embargo, no se han realizado estudios donde se precise el efecto de estos factores sobre la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III). El propósito de este estudio es determinar la relación Fe-C-P del suelo a lo largo de un gradiente de perturbación originado por la deforestación, con miras a entender si este tipo de perturbación tiene un efecto sobre el proceso de reducción microbiano vinculado a la disponibilidad de P.

## 2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En los suelos del trópico húmedo altamente meteorizados, el P es considerado como uno de los principales nutrientes limitantes de la productividad primaria neta [24], debido al agotamiento de los minerales primarios como el apatito, a la formación de fosfatos de hierro (Fe) y aluminio (Al) de baja solubilidad y a la oclusión del P en minerales secundarios de Fe [25].

El P presente en los suelos ácidos altamente meteorizados se encuentra principalmente adsorbido en las superficies de los oxi-hidróxidos de Fe (III), bien sean cristalinos o amorfos [25], los cuales están presentes en grandes concentraciones en este tipo de suelo [24]. Esto trae como consecuencia que el P no se encuentre disponible para las plantas y microorganismos [3], limitando así los procesos químicos y biológicos en los cuales interviene.

Hasta hace poco se pensaba que la productividad de los bosques desarrollados en este tipo de suelos dependía principalmente del P suministrado durante la mineralización de la materia orgánica; sin embargo, los procesos biológicos y geoquímicos juegan un importante papel en la disponibilidad de este elemento [26].

Los suelos de la RFI se caracterizan por estar sometidos a altas precipitaciones y por presentar elevados contenidos de óxidos de Fe, arcillas y materia orgánica; es decir, condiciones favorables para la ocurrencia de la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III). Se ha indicado que este proceso puede conllevar a la movilización de P en ambientes inundables [4, 6, 9], así como en bosques de tierra firme que reciben altas precipitaciones [16, 17, 27, 28]. Además, la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) es un proceso altamente dependiente de C orgánico lábil [16-18].

Se puede señalar que la deforestación es un tipo de perturbación antrópica que genera dos efectos en el suelo, por una parte introduce residuos orgánicos frescos [17, 23] y por la otra, genera cambios en las condiciones microclimáticas [22]. Tomando en cuenta los efectos que causa este tipo de perturbación en el suelo y considerando los factores que modulan el proceso de reducción microbiana de los óxidos de Fe (III), con este estudio se pretende entender si la deforestación influye sobre el proceso de reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) y la posible movilización de P adsorbido sobre los oxi-hidróxidos de Fe (III).

### 3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

#### 3.1. Objetivos de la investigación

##### 3.1.1. Objetivo general

Determinar, bajo condiciones de laboratorio, los cambios en la relación Fe-C-P del suelo a lo largo de un gradiente de perturbación originado por la extracción de madera en la Reserva Forestal de Imataca, Edo. Bolívar- Venezuela.

##### 3.1.2. Objetivos específicos

- Determinar en el tiempo (0, 15 y 58 días), bajo diferentes estados redox del suelo (óxica, subóxica y anóxica) la bioproducción de Fe (II), el P liberado, las variaciones en el pH y el contenido de materia orgánica, en un gradiente conformado por un bosque pristino (BP), un bosque con manejo moderado (BM) y una zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).
- Establecer correlaciones entre el Fe (II) bioproducido y la concentración de P inorgánico para cada sitio del gradiente y en cada condición redox del suelo.
- Correlacionar las variaciones en el pH y contenido de materia orgánica con la bioproducción de Fe (II) para cada condición redox del suelo, en los diferentes sitios del gradiente de perturbación.
- Establecer el efecto de la extracción de madera en el proceso de liberación del P por la reducción microbiana de Fe (III) en los suelos húmedos de la RFI.

### **3.2. Hipótesis de la investigación**

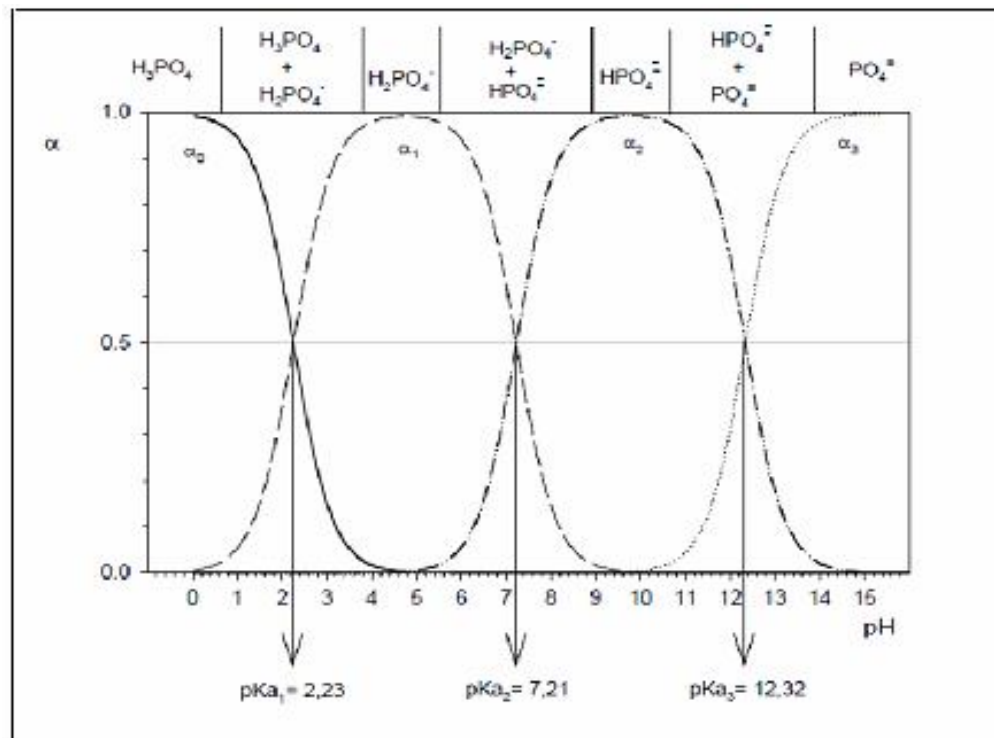
Los objetivos antes planteados fueron propuestos atendiendo a las siguientes hipótesis de investigación: 1) la bioproducción de Fe (II) con la consecuente liberación de P se verá favorecida en el bosque prístino, debido a la mayor disponibilidad de fuentes de C orgánico lábil que estimulen la actividad microbiana. 2) Para todos los sitios dentro del gradiente de perturbación, la condición subóxica incrementará la concentración de P en solución, debido a la participación de los organismos anaeróbicos y aeróbicos; sin embargo, bajo condiciones óxicas el oxígeno presente limita la bioproducción de Fe (II) y por lo tanto las concentraciones de P serán muy bajas.



## 4. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 4.1. Especies químicas del fósforo en los suelos

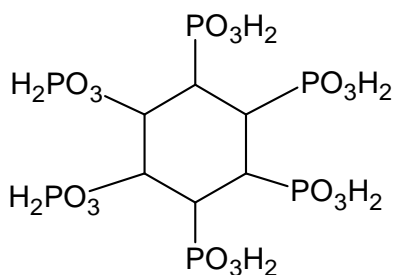
Los fosfatos se encuentran en los suelos como compuestos orgánicos e inorgánicos y en la solución del suelo, dependiendo del pH, como varios aniones del ácido fosfórico [25]. En los suelos ácidos el pH varía de 4,0 a 5,5, bajo estas condiciones el fosfato diácido ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) es dominante [2]. Si el pH aumenta, predomina primero el ión bifosfato ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) y finalmente el fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). En los niveles intermedios de pH, dos iones pueden estar presentes simultáneamente. Así, en soluciones cuyo pH está entre 6,0 y 8,0, se encuentran conjuntamente los iones fosfato diácido ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) y bifosfato ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ), tal como se observa en la figura 1 [29].



**Figura 1.** Distribución de las especies iónicas del ácido fosfórico en diferentes pH [30].

El aprovechamiento del P en las plantas está determinado en un alto grado por la forma iónica de este elemento [29]. Las plantas lo absorben fundamentalmente bajo formas de ortofosfato, principalmente el fosfato diácido ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) y, en menor proporción, el bifosfato ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) [22]. Una vez que es absorbido, es utilizado en la producción de ésteres de fosfatos como el ácido nucleico, fosfolípidos y azúcares fosforilados [1]. Adicionalmente, el P contribuye en los procesos de fotosíntesis, fijación de nitrógeno, floración, fructificación, maduración y crecimiento de raíces [2, 29].

El P orgánico en los suelos generalmente constituye del 20% al 80% del P total en los horizontes superficiales, donde el compuesto más abundante es el fosfato de inositol o éster de fosfato, siendo el más común el hexafosfato de inositol, cuya estructura se muestra en la figura 2. Los fosfatos de inositol pueden llegar a alcanzar el 50% del P orgánico total; además, se caracterizan por ser estables en condiciones ácidas y alcalinas, e interaccionan con compuestos húmicos de alto peso molecular. Otros compuestos orgánicos del P presentes en los suelos son el ácido nucleico y los fosfolípidos, que constituyen solamente de 1% a 2% del P orgánico en la mayoría de los suelos [2, 25].



**Figura 2.** Inositol hexafosfato [25].

Los compuestos inorgánicos del P en los suelos se pueden clasificar en dos grupos: 1) los fosfatos del calcio, los cuales son más solubles a medida que el pH decrece, además, tienden a disolverse y desaparecer en los suelos ácidos [2]; y 2) aquellos que contienen Fe y Al, donde los más comunes son los hidroxifosfatos de Fe y Al, como la strengita ( $\text{FePO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) y la variscita ( $\text{AlPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), los cuales son poco solubles en suelos fuertemente ácidos y constituyen las principales formas inorgánicas del fósforo en los suelos ácidos [2, 31].

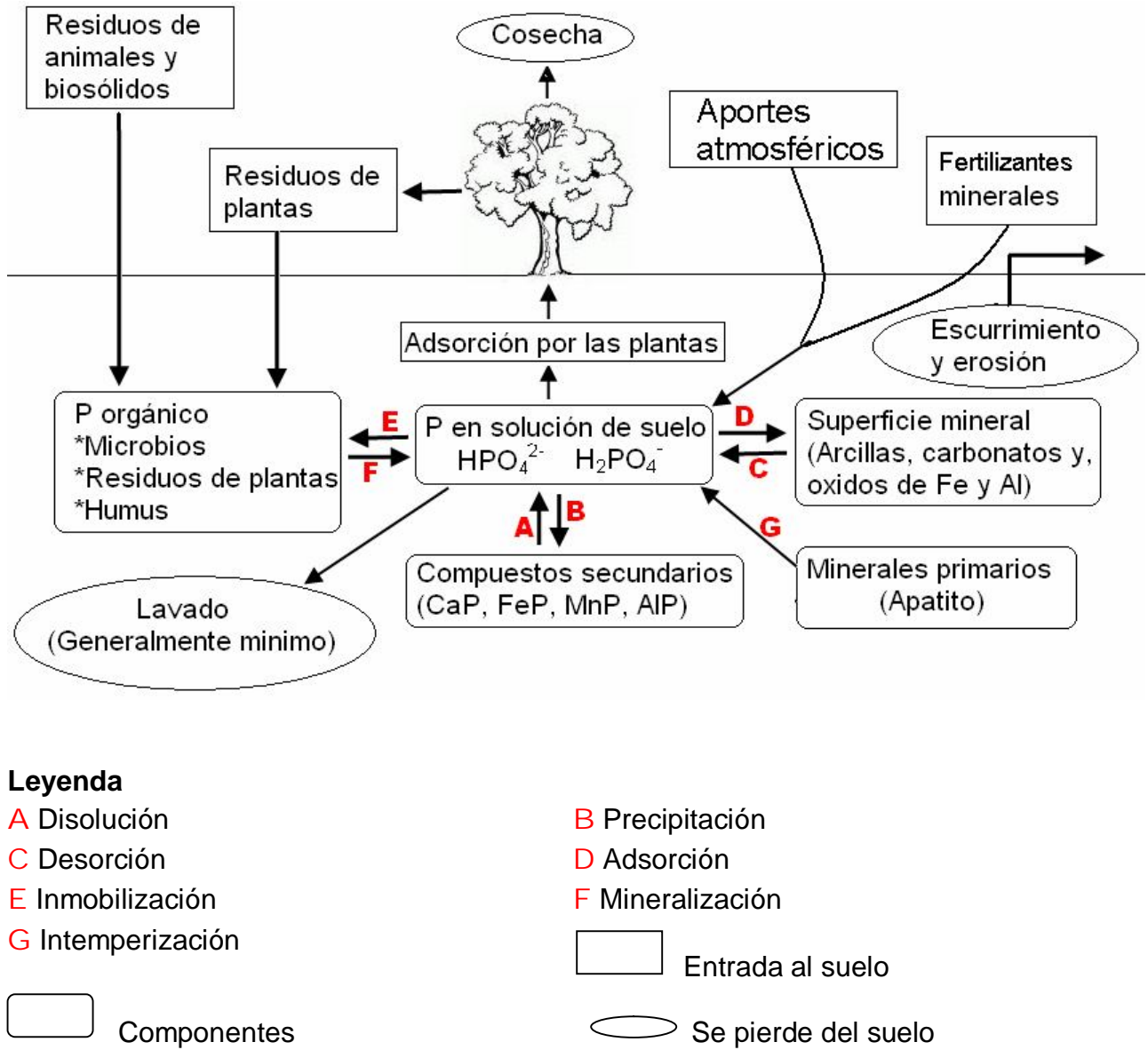
#### 4.2. Ciclo global del fósforo

El ciclo del P es único entre los ciclos de los elementos biogeoquímicos mayoritarios, debido a que no posee un componente gaseoso, como consecuencia de que el potencial redox de los suelos es muy alto como para permitir la producción de la especie gaseosa  $\text{PH}_3$  (fosfina) [32].

La fuente primaria de P en los suelos es el apatito ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH})$ ). Como producto de la meteorización, los fosfatos primarios liberan el P a la solución del suelo, el cual posteriormente puede ser lixiviado, utilizado por plantas y microorganismos, o ser retenido en los minerales secundarios de P (oxi-hidróxidos de Fe y Al) [1], tal como se muestra en la figura 3.

Los fosfatos interactúan en un sistema que es dinámico- heterogéneo, que involucra las raíces de las plantas, la solución y la fase sólida del suelo. Bajo condiciones de crecimiento vegetal activo, la tendencia de los iones fosfatos es a difundir hacia las raíces de las plantas y ser absorbido por ellas. Una vez que la solución del suelo es agotada en fosfatos, desde la fase sólida es liberada cierta proporción de fosfato superficial a través de un proceso de desorción, en el cual intervienen aniones orgánicos e inorgánicos comúnmente asociados al ambiente

radicular; de la misma manera, la descomposición (mineralización) de la materia orgánica enriquece en fosfatos la solución [25].



**Figura 3.** Ciclo global del fósforo [33].

La porción biológica del ciclo del P está controlada en primer lugar por la descomposición, inmovilización y mineralización realizada por las bacterias y los hongos, y secundariamente por la absorción de las plantas (figura 3) [3]. El material vegetal toma el P para ser utilizado en la producción de biomasa, una proporción del mismo regresa anualmente a los suelos, como resultado de la descomposición por acción de los microorganismos, lo cual permite la acumulación de materia orgánica y P orgánico [1].

El P en los minerales secundarios puede ser retenido u ocluido [1]. La proporción de P lábil, no-lábil, ocluido y no-ocluido varía a lo largo de un gradiente de intensidad de meteorización; es decir, en suelos ligeramente meteorizados el P se encuentra principalmente en los minerales primarios como hidroxapatito; por su parte, en ecosistemas con un régimen moderado de meteorización el P forma compuestos orgánicos o es adsorbido por minerales secundarios de arcillas. Finalmente, en suelos altamente meteorizados la mayoría del P se encuentra en formas no-lábiles, ocluidas u orgánicas estables [3].

Si el nivel de fosfatos en solución se incrementa, por ejemplo, mediante la adición de fertilizantes solubles en agua, la adsorción de estos fosfatos sobre la superficie del suelo o su precipitación como compuestos relativamente insolubles serán los procesos que dominarán los equilibrios del fosfato. Estos últimos procesos son dependientes de la naturaleza del suelo, del pH y de la temperatura. También los fosfatos recién precipitados (amorfos) pueden ser transformados en formas más insolubles mediante un proceso de inmovilización, el cual implica una mayor cristalinidad de los compuestos fosfatados [25].

Las pérdidas de fosfatos en el sistema pueden ocurrir por el drenaje de la humedad del suelo, pero en vista de la poca concentración de fosfatos que se presenta

en cualquier momento en la solución del suelo, la magnitud de esta pérdida es pequeña (de 0,01 a 3,0 Kg/ha anualmente). Por otra parte, la principal pérdida del P en los suelos es debido a la extracción de las plantas (<1 a 30 Kg/ha anualmente), por fijación del P en los cuerpos vegetales [2, 25].

Las perturbaciones en la vegetación natural, como la extracción de madera y los incendios forestales, incrementan la pérdida de P, principalmente por la erosión. Este proceso tiende a transportar predominantemente las arcillas y la fracción orgánica de los suelos, componentes que son relativamente ricos en P [2].

Chacón y Dezzeo (2004) [26] sugieren que la conversión de bosque a sabana influye en la distribución del P en diferentes formas en los primeros 10 cm de profundidad del suelo, el P no-ocluido y el P orgánico decrecen desde los suelos del bosque hasta los suelos de la sabana; mientras que el P ocluido se incrementa. Adicionalmente, las perturbaciones en bosques que se desarrollan sobre suelos ácidos conllevan a la pérdida de la capa orgánica superficial (estera de raíces), la cual desde hace tiempo se conoce que juega un papel fundamental en el ciclaje de nutrientes esenciales como el P.

#### 4.2.2. Actividad enzimática

La fosfatasa ácida es una de las hidrolasas de los suelos y es fundamental en la transformación del P orgánico [34-36]. La liberación del P en los suelos a partir del reservorio orgánico ocurre a través del proceso de mineralización de la materia orgánica [26]. La fosfatasa extracelular segregada por las plantas y los microorganismos juega un papel importante en la mineralización del P, con producción del ión inorgánico  $\text{PO}_4^{3-}$ . Ésta es la única forma en que el P es tomado por las plantas y los microorganismos. Por lo tanto, la actividad de la fosfatasa ácida ha sido considerada como un buen indicador de la mineralización del P orgánico en los suelos ácidos [37].

La presencia de vegetación puede incrementar la actividad de la fosfatasa, debido a una estimulación de la actividad microbiana y por la propia secreción de la enzima a través de las raíces. La producción y actividad de la fosfatasa ácida es inhibida por elevados niveles de P inorgánico. Esto quiere decir que la actividad de la fosfatasa ácida se incrementa cuando las plantas están deficientes en P [28].

La adsorción de enzimas por minerales, humus y complejos organo-minerales es un fenómeno común en los ambientes de los suelos; la adsorción usualmente resulta en la desactivación de la enzima [38]. Ha sido reportado que la adsorción y la actividad de la enzima fosfatasa ácida está considerablemente influenciada por muchos minerales [34, 35].

Shindo y col. (2002) [38] realizaron experimentos para determinar el efecto de la adsorción de la fosfatasa sobre tres óxidos y tres minerales de arcilla. La cantidad de enzima adsorbida por los óxidos y minerales de arcilla sigue el orden: montmorillonita» caolinita > óxido de Mn> óxido de Fe>óxido de Al» alófono; mientras que la actividad de la enzima inmovilizada por los componentes inorgánicos estudiados fue en el orden de alófono> caolinita> óxido de Fe> montmorillonita> óxido de Al= óxido de Mn.

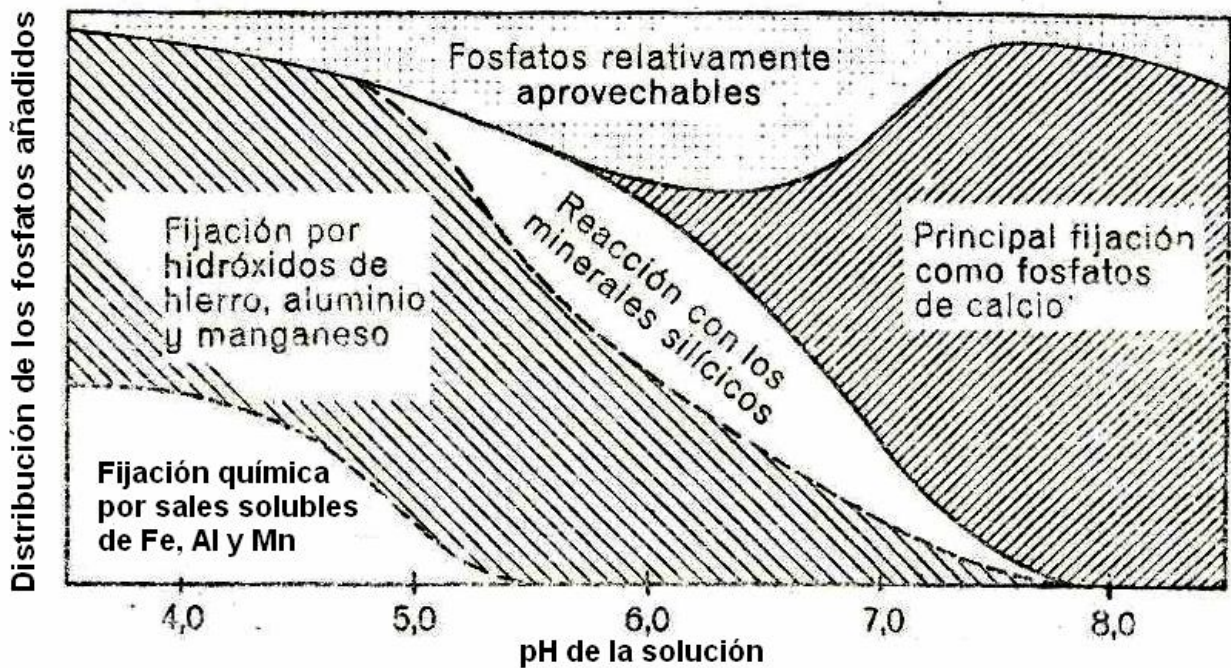
### **4.3. Retención del fósforo en los suelos**

Los iones fosfatos experimentan diferentes tipos de reacciones que tienden a remover estos iones de la solución del suelo y producir compuestos de baja solubilidad que contienen P. Estas reacciones se conocen como *reacciones de retención del fósforo*, las cuales están estrechamente relacionadas con el pH del suelo (figura 4). En los suelos ácidos estas reacciones involucran predominantemente a elementos como el Al, Fe y manganeso (Mn), los cuales se pueden encontrar en fase acuosa como iones disueltos y en fase sólida como óxidos u oxi-hidróxidos [2]. Entre los factores que

controlan la retención del P en los suelos se encuentra: la fase mineral y la fase orgánica, los cuales serán discutidos a continuación.

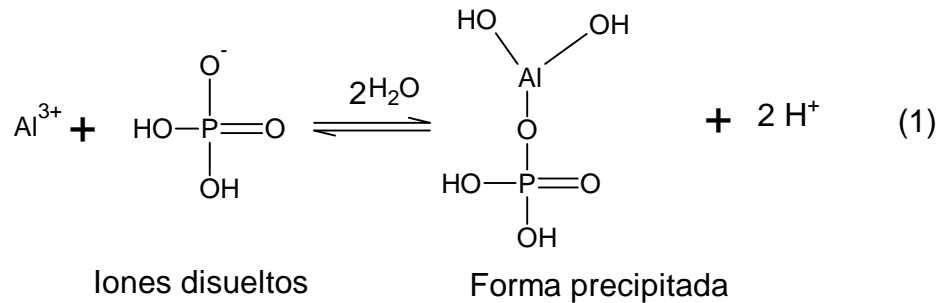
#### 4.3.1. Influencia de la fase mineral en los suelos

Los suelos tropicales fuertemente meteorizados contienen óxidos hidratados de Al (III) y Fe (III), silicatos laminares y aluminosilicatos de estructura desordenada (alófano), los cuales representan el área de superficie reactiva en estos suelos [39]. La reactividad de los alófanos en los suelos se debe a su gran capacidad de intercambio aniónico. Se ha indicado en forma general que las reacciones de adsorción, específicamente con las especies de fosfatos, ocurren inicialmente sobre sitios de defectos en la superficie del mineral, donde quedan expuestos grupos AlOH (aluminol) [2, 39]. Una vez que el anión monovalente  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  entra en contacto con los grupos AlOH, ocurre el intercambio aniónico con grupos  $\text{OH}^-$  [31].



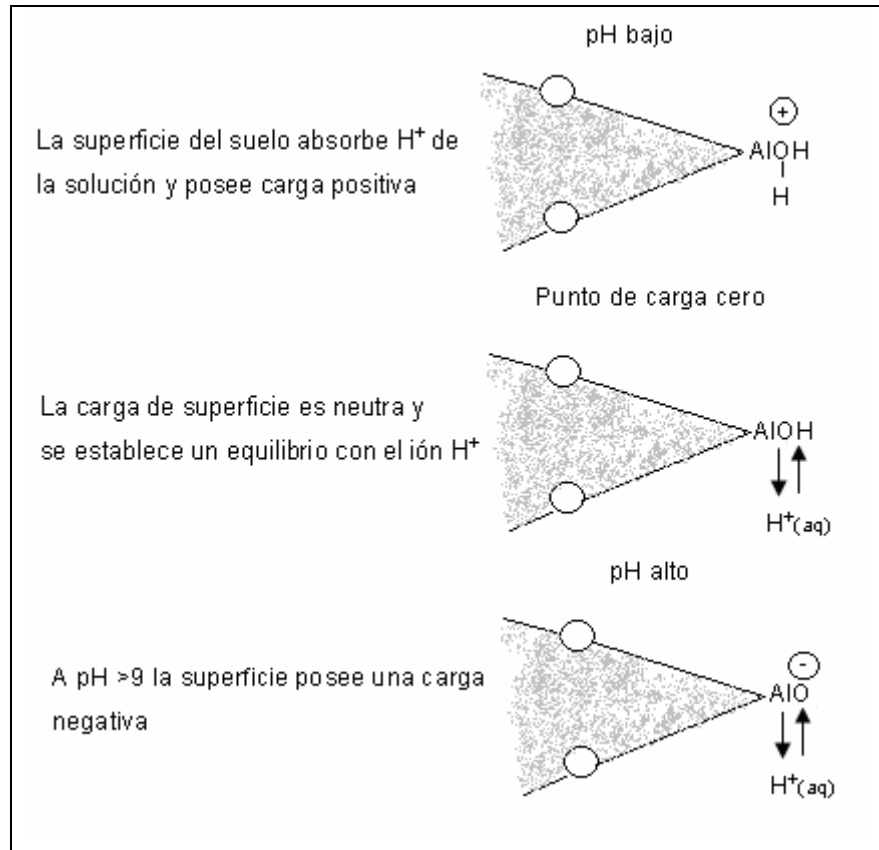
**Figura 4.** Diagrama de la fijación inorgánica de los fosfatos añadidos para varios valores de pH [29].





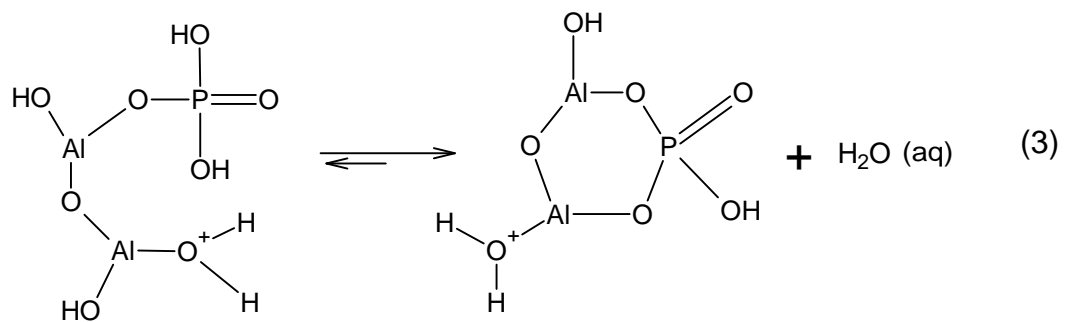
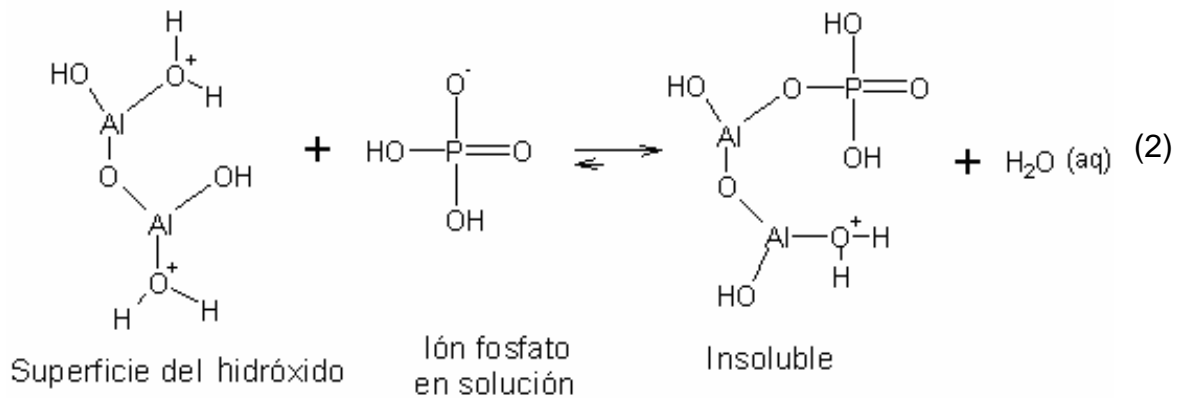
En los suelos fuertemente ácidos están presentes  $\text{Al}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  solubles, los cuales son capaces de precipitar con los aniones  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  para formar hidroxifosfatos insolubles, tal como se muestra en la reacción 1. Es importante mencionar que el P unido a este tipo de compuestos no es aprovechable para las plantas [2].

Los óxidos e hidróxidos de Fe y Al muestran cargas variables dependiendo del pH. En condiciones ácidas los suelos tropicales presentan una carga positiva, como resultado de la asociación de  $\text{H}^+$  adicional con la superficie de los hidróxidos. Si el pH aumenta, el suelo pasa a través de un punto de carga cero y desarrolla una capacidad de intercambio catiónico a pH alto (figura 5). En general, la capacidad de adsorción aniónica es mayor en formas no-cristalinas de Fe y Al, ya que poseen una mayor área superficial que las formas cristalinas [32]. Por ejemplo, el área superficial de la hematita ( $\alpha \text{Fe}_2\text{O}_3$ ) y la goethita ( $\alpha \text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), es de 62-82  $\text{m}^2/\text{g}$  y 57-139  $\text{m}^2/\text{g}$  respectivamente [40], mientras que los oxi-hidróxidos de Fe (III) amorfos poseen un área superficial de 600  $\text{m}^2/\text{g}$  aproximadamente [13]. Por ello las formas no-cristalinas de los oxi-hidróxidos de Fe y Al son consideradas los principales adsorbentes de fosfatos en los suelos [41].



**Figura 5.** Variación de la carga superficial de los hidróxidos de aluminio en función del pH [32].

La mayor parte de la fijación del P en los suelos ácidos ocurre cuando el anión  $H_2PO_4^-$  reacciona o es adsorbido por las superficies de hidróxido de Fe y Al insolubles como la gibbsita ( $Al_2O_3 \cdot 3H_2O$ ) y goethita ( $\alpha Fe_2O_3 \cdot H_2O$ ). El ion fosfato sustituye al grupo  $OH^-$  y se une químicamente a la superficie del óxido (reacción 2). Esta reacción es reversible y el fosfato puede ser reemplazado por otro anión. Con el tiempo, un segundo oxígeno del ión fosfato sustituye un segundo grupo  $OH^-$  (reacción 3), así el P forma parte integral del óxido [2]. Cabe mencionar que ambas reacciones (2 y 3) son favorecidas a pH ácidos.



#### 4.3.2. Influencia de la fase orgánica en los suelos

La materia orgánica posee una baja capacidad de retención de fosfatos, por lo tanto no se relaciona con la adsorción del P [2, 26]. En los bosques no perturbados y poco perturbados, la capa orgánica es una importante fuente de P biodisponible para el ecosistema, por lo que ayuda a mantener el P lábil del suelo [26].

Por otra parte, la materia orgánica en los suelos promueve la retención del P a través de los complejos húmicos de Fe y Al [26], los cuales controlan la capacidad de adsorción de P en los suelos ácidos. Se ha demostrado que los complejos húmicos de Fe muestran una mayor capacidad de adsorción de P que los óxidos de Fe amorfos [42]. El P adsorbido por las superficies inorgánicas de los complejos organo-minerales

ha sido considerado no disponible para las plantas a corto plazo. Sin embargo, muchos estudios demuestran que el P retenido de esta forma, puede estar disponible para las plantas a través de procesos biológicos, como la segregación de ácidos orgánicos, en respuesta a la deficiencia de P inducido por el Al. Los hongos micorrizicos son los encargados de tomar el P presente en los minerales insolubles [26].

En los suelos arenosos se puede llegar a encontrar el 50% del P total asociado a los complejos húmicos (Fe-Al)-P. Además, la capacidad de adsorción de los suelos ácidos arenosos puede ser relacionada con la presencia de estos complejos [26].

#### **4.4. Liberación del fósforo en los suelos ácidos con impedimento de drenaje**

Bajo condiciones de saturación del suelo, el agua restringe la difusión de gases y limita el oxígeno ( $O_2$ ) disponible en el suelo, disminuyendo con ello el potencial redox. Cuando el  $O_2$  en los suelos es agotado, los microorganismos son capaces de usar aceptores de electrones alternativos durante la descomposición de la materia orgánica, tales como  $NO_3^-$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{4+}$ ,  $SO_4^{2-}$  y  $CO_2$  [6, 7]. El cambio de metabolismo aeróbico a metabolismo anaeróbico ocurre en concentraciones de  $O_2$  por debajo del 1%. En teoría, la secuencia con la cual los aceptores de electrones son utilizados es determinada por el potencial redox de la semi-reacción de reducción, el cual disminuye progresivamente (tabla 1) [18].

La reducción bacteriana de estos aceptores puede afectar el ciclo de nutrientes esenciales como el nitrógeno (N) y el P, los cuales globalmente son considerados como los principales nutrientes limitantes de la producción primaria neta (PPN) en los ecosistemas de bosque [24].

**Tabla 1.** Secuencia termodinámica de reducción de sustancias inorgánicas a pH 7,0 [32].

Reacción	Eh (V)
$O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightleftharpoons 2H_2O$	0,816
$NO_3^- + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons NO_2^- + H_2O$	0,421
$MnO_2 + 4H^+ + 2e^- \rightleftharpoons Mn^{2+} + 2H_2O$	0,396
$Fe(OH)_3 + 3H^+ + e^- \rightleftharpoons Fe^{2+} + 3H_2O$	-0,182
$SO_4^{2-} + 10H^+ + 8e^- \rightleftharpoons H_2S + 4H_2O$	-0,215
$CO_2 + 8H^+ + 8e^- \rightleftharpoons CH_4 + 2H_2O$	-0,244

Los biólogos de plantas tropicales han considerado que la productividad en el trópico está a menudo limitada por la tasa de suministro de P [6]; esto es debido a que la mayoría del P disponible es químicamente adsorbido en los óxidos y oxi-hidróxidos de Fe y Al cristalinos y amorfos [6, 25]. Sin embargo, en los bosques de planicie de inundación el P puede no estar limitando la PPN, debido a que el mismo puede ser liberado desde el reservorio geoquímico durante la anaerobiosis del suelo [6, 8].

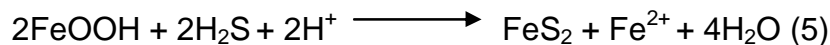
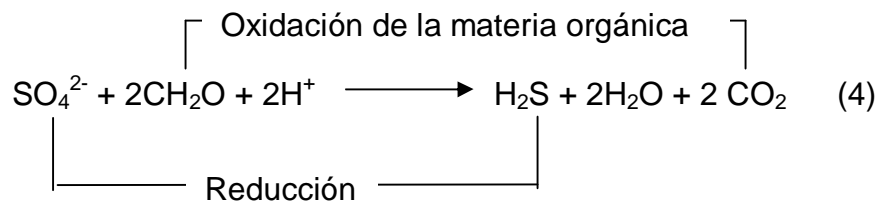
En suelos inundados el ciclo del P está estrechamente relacionado con el ciclo del Fe y Al [4,5]. Las transformaciones del Fe determinan en gran parte el potencial redox del suelo [5], ya que la reducción microbiana de los óxidos de Fe causa el bajo potencial redox [4,10]. Bajo estas circunstancias, el anión fosfato adsorbido químicamente a la superficie de los óxidos de Fe es liberado cuando el Fe es reducido [10].

Cuando la disponibilidad del  $O_2$  se incrementa, el principal efecto será la oxidación de minerales de Fe (II) a oxihidróxidos de Fe (III) amorfos [10], los cuales tienen una alta afinidad por el P como consecuencia de su gran área superficial [43]. Por lo tanto, los cambios estacionales en la disponibilidad del agua alteran el ciclo del P [4].

#### 4.4.1. Mecanismos de reducción del hierro

En los ambientes sedimentarios se han postulado dos mecanismos no-enzimáticos para la reducción del Fe, uno de ellos involucra las bacterias sulfato reductoras y en el otro los microorganismos utilizan directamente los óxidos de Fe (III).

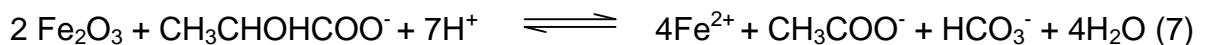
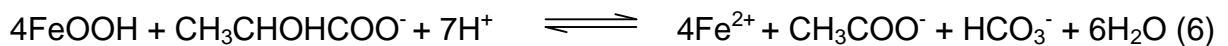
Las bacterias sulfato reductoras utilizan sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) como un aceptor de electrones, para producir sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ) durante la oxidación de la materia orgánica (reacción 4). La reducción de sulfato se lleva a cabo por un grupo de bacterias anaeróbicas obligadas, pertenecientes a los géneros *Desulfovibrio* y *Desulfotomaculum*. El  $\text{H}_2\text{S}$  facilita la reducción de los óxidos de Fe (III) y ocurre la precipitación de sulfuros de Fe insolubles ( $\text{FeS}_2$ ), tal como se muestra en la reacción 5 [10, 11, 32, 44]. Otro posible mecanismo para la reducción no-enzimática del Fe (III) es cuando los microorganismos utilizan los oxihidróxidos de Fe (III) directamente como aceptor terminal de electrones [9,10].



Chacón y col. (2006) [9] determinaron que en ambos mecanismos de reducción la concentración de P era alta y positivamente correlacionada con el contenido de Fe (II). Esto sugiere que la movilización del P está vinculada con la disolución de Fe (III).

El Fe (III) en sus diferentes formas químicas es el aceptor de electrones más abundante para la reducción microbiana de metales [18]. El proceso de reducción involucra bacterias anaeróbicas facultativas y bacterias anaeróbicas obligadas [7], así como también un gran número de diversas arqueas<sup>a</sup> [18].

Ha sido demostrado que durante el proceso de reducción del Fe (III) existen variaciones en los valores de pH y Eh. Chacón y col. (2006) [9] determinaron que el incremento del pH durante el tiempo de incubación está asociado a la reducción microbiana de Fe (III), puesto que durante este proceso ocurre el consumo de protones; además, el Fe (II) se incrementa continuamente a medida que el pH aumenta [8, 9, 17, 44]. La biorreducción de la hematita ( $\alpha$  Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) y la goethita ( $\alpha$  Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · 3H<sub>2</sub>O) en presencia de lactato puede ser descrita por las reacciones 6 y 7 [12].



Generalmente, en los suelos y en la solución de los mismos, el Eh decrece con una dependencia de la concentración de la materia orgánica y del contenido de Fe reducible [47]. Narteh y Sahrawat (1999) [47] demostraron que los cambios en el pH de la solución del suelo, generalmente corresponden a cambios en el Eh de la solución.

---

<sup>a</sup> son un grupo de microorganismos unicelulares carentes de núcleo (procariotes) pertenecientes al dominio **Archaea** [45, 46]

#### 4.4.2. Factores que afectan la reducción del Fe (III) y la liberación del fósforo en los suelos

Muchos factores controlan la reducción del Fe (III) en los suelos, entre ellos se encuentran la fase mineral y cristalinidad de los minerales que contienen este elemento, la presencia de moléculas orgánicas y la acción de las bacterias; sin embargo, durante este proceso pueden ocurrir reacciones secundarias entre los productos. Todos estos parámetros serán discutidos a continuación.

##### 4.4.2.1. *Oxi-hidróxidos de Fe (III)*

La reducción del Fe puede ser afectada por la concentración y la fase de los minerales de Fe (III) presentes [27]. Los oxi-hidróxidos de Fe (III) pobremente cristalinos son la principal forma de los óxidos de Fe (III) reducidos por las bacterias en los sedimentos anóxicos [48]. Los óxidos de Fe (III) cristalinos también son reducidos por algunos microorganismos, como por ejemplo *Shewanella*. La tasa y la magnitud de la reducción bacteriana de los óxidos de Fe aumenta linealmente a medida que decrece la cristalinidad de los óxidos de Fe (III); es decir, los oxi-hidróxidos de Fe (III) amorfos, cuya área superficial es aproximadamente de 600 m<sup>2</sup>/g, fueron más ampliamente reducidos que los oxi-hidróxidos de Fe (III) cristalinos, cuya área superficial es menor [13].

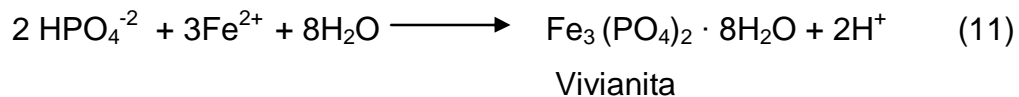
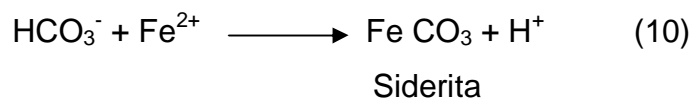
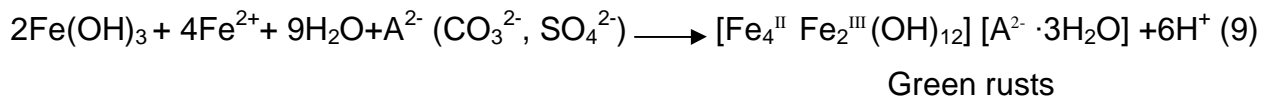
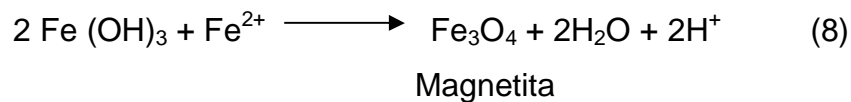
##### 4.4.2.2. *Formación de productos secundarios*

Bajo condiciones anaeróbicas en los suelos, el Fe (II) biogenerado puede experimentar reacciones secundarias que conducen a la formación de complejos acuosos y/o a la precipitación de sólidos ferrosos como la magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), vivianita (Fe<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·8H<sub>2</sub>O), siderita (FeCO<sub>3</sub>) y compuestos “green rusts” [Fe<sup>II</sup><sub>(1-x)</sub>Fe<sup>III</sup><sub>x</sub>(OH)<sub>2</sub>]<sup>x+</sup> [(x/n) A<sup>n-</sup> (m/n) H<sub>2</sub>O]<sup>x-</sup> [10-14], los cuales son compuestos intermedios entre el hidróxido



férrico y el hidróxido ferroso [9]. Las reacciones de formación para estos productos secundarios se muestran en las ecuaciones 8, 9, 10 y 11.

La formación de estas fases secundarias de Fe (II) está influenciada por la presencia de P soluble, composición atmosférica, pH, temperatura y las especies de bacterias presentes [12].



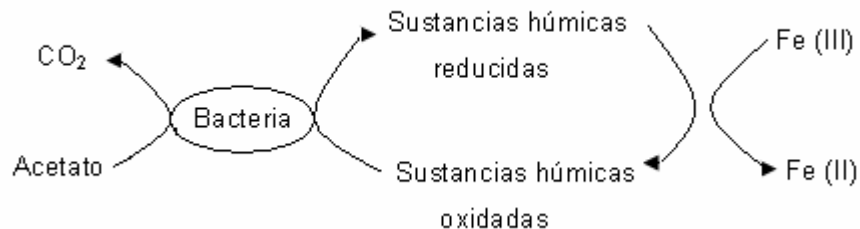
#### 4.4.2.3. Influencia de la materia orgánica y las bacterias

En suelos bajo condiciones naturales, la reducción de los oxi-hidróxidos de Fe (III) es principalmente biótica [49- 52], frecuentemente atribuida a la actividad de bacterias reductoras que, unidas con la oxidación de carbono orgánico reducen al Fe (III) [53]. Estas bacterias pueden reducir el Fe (III) por contacto directo entre los organismos y la superficie de los óxidos, o por un mecanismo indirecto que no involucra el contacto entre ellos. Este incluye un transportador de electrones y complejos de Fe (III) solubles con la subsiguiente reducción [15, 54]. Las sustancias húmicas han sido propuestas para incrementar la reducción del Fe, al servir como transportadores de electrones en

un proceso extracelular de transferencia de electrones entre las células de las bacterias y los oxi-hidróxidos de Fe (III) [15, 55]. Los grupos más importantes para la aceptación de electrones en las sustancias húmicas son las moléculas de semiquinona [56], complejos de Fe (III) [57] y moléculas aromáticas conjugadas [58].

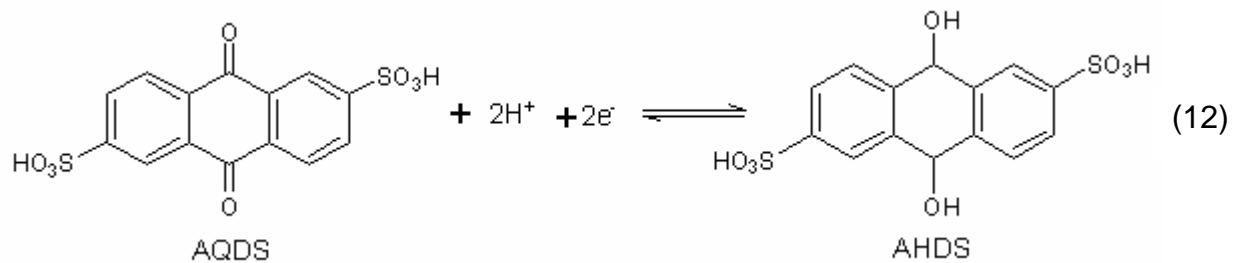
Las moléculas de quinona son el principal grupo aceptor de electrones en las sustancias húmicas [56]. Una vez reducidos al estado de hidroquinona, estos compuestos pueden reducir Fe (III) abióticamente [15, 60], regenerándose la forma quinona, de manera que puede volver a aceptar electrones. De esta forma, incluso a bajas concentraciones, pueden servir como un aceptor de electrones cuantitativamente significativo, debido a que el transporte de electrones entre los microorganismos reductores y óxidos de Fe (III) insolubles puede ocurrir muchas veces (Figura 6) [15, 60, 61].

Se ha demostrado que las sustancias húmicas u otras quinonas extracelulares estimulan la reducción de una variedad de fases de óxidos de hierro, incluyendo hematita ( $\alpha$  Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), goethita ( $\alpha$  Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · 3H<sub>2</sub>O) y óxidos de Fe (III) pobremente cristalizados [59]; en consecuencia, la liberación de P se acelera en presencia de estas sustancias, tales como la antraquinona-2,6 disulfato (AQDS) [16].



**Figura 6.** Modelo del mecanismo con la estimulación de sustancias húmicas [59].

La AQDS contiene un anillo de quinona en su estructura y se cree que actúa de manera similar a las semiquinonas en las sustancias húmicas. Es un compuesto modelo que se ha utilizado con frecuencia para estudiar la reducción de los oxi-hidróxidos de Fe (III) por transferencia de electrones [15, 55]. Los microorganismos transfieren dos electrones a AQDS, generando la antrahidroquinona-2,6-disulfato (AHDS), tal como se muestra en la reacción 12, la cual cede los electrones al Fe (III) regenerando el AQDS nuevamente [13, 15]. Se ha demostrado que la AQDS incrementa la reducción de oxi-hidróxidos de Fe (III) sintéticos o naturales, amorfos [13] o cristalinos (hematita y goethita) [12].



## 5. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

**Fredrickson y col. (1998)** [13] desarrollaron experimentos con *Shewanella putrefaciens* y oxi-hidróxidos de Fe (III) amorfos (HFO) obtenidos en Nuevo México, en presencia de diferentes ligandos inorgánicos ( $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{HCO}_3^-$ ) con o sin AQDS, la cual actúa como transportador de electrones, permitiendo de este modo variar la asociación organismo/óxido, con el propósito de investigar la reducción del HFO por esta bacteria, así como la naturaleza de la formación de las fases minerales biogénicas de Fe (II). Para ello colocaron en incubación el HFO y la bacteria, en presencia de lactato con bicarbonato o ácido 1,4-piperazinedietensulfónico (PIPES), seguidamente agregaron varias combinaciones de fosfato y AQDS.

Utilizando el buffer de bicarbonato, Fredrickson y col. (1998) [13] obtuvieron que el HFO fue rápidamente reducido en presencia de AQDS y el sólido resultante estuvo dominado por carbonato ferroso (siderita); por otra parte, el fosfato de Fe (vivianita) estuvo presente en la solución con P, en ambos casos, encontraron en muy baja proporción finos granos de magnetita.

Usando el buffer PIPES, los investigadores encontraron que el HFO fue rápidamente convertido a magnetita altamente cristalina en presencia de AQDS; sin embargo, en ausencia de esta especie orgánica, la formación de magnetita fue lenta y el sólido era menos cristalino. Al encontrarse en medio PIPES, P y AQDS la fase sólida estuvo dominada por un compuesto amorfo denominado “green rust” y en ausencia de AQDS observaron un producto pobremente cristalino [13].

**Szilas y col. (1998)** [8] realizaron estudios que demostraron que la movilización de las formas de fosfato en los suelos, bajo condiciones anaeróbicas, puede estar íntimamente acoplada con la disolución del Fe reducido desde los óxidos de hierro. Las muestras de cuatro suelos tomados del estuario recuperado en Skjern (Dinamarca), fueron

incubadas anaerobicamente y modificadas con glucosa. Luego de 31 días, encontraron que entre 52-70% de Fe en solución era Fe (II) y entre 10-25% de P fue liberado a la solución del suelo; además, durante este tiempo estos investigadores observaron que la concentración de Fe (II) y la concentración de fosfato aumentaban paralelamente. Esto indica que existe una íntima relación entre la disolución de los óxidos de Fe y el incremento en el fosfato liberado del P adsorbido en los óxidos de Fe. La readsorción del fosfato sobre adsorbentes no-redox como óxidos de Al, minerales de arcilla e hidróxidos de Fe recientemente precipitados, aparentemente juega un rol minoritario entre los factores que controlan la concentración de P en solución durante las condiciones reductoras en estas muestras.

**Zachara y col. (1998)** [12] investigaron los factores químicos y mineralógicos que influyen sobre la reducción bacteriana de óxidos de Fe (III) sintéticos y naturales. El sistema experimental involucró muestras sintéticas de oxi-hidróxidos de Fe (III) amorfos, goethita y hematita obtenidos de la llanura costera del Atlántico; adicionalmente, utilizaron cuatro sedimentos de textura arenosa que contenían granos con recubrimiento o superficie precipitada de óxidos de Fe (III) cristalino. Estas fases sólidas fueron incubadas usando *Shewanella putrefaciens* como bacteria reductora en un buffer de bicarbonato, con o sin AQDS y  $\text{PO}_4^{3-}$ , empleando lactato como donador de electrones.

Los óxidos sintéticos fueron reducidos mostrando una tendencia cualitativa consistente con su área superficial y su energía libre: oxi-hidróxidos de Fe (III) amorfos > goethita > hematita. Zachara y col. (1998) [12] encontraron que las condiciones de formación biogénica de vivianita y siderita fueron consistentes con su solubilidad. Por otra parte, los óxidos naturales fueron iguales o más reducidos que sus contrapartes sintéticas, a pesar de su asociación con fases minerales no reducibles como la caolinita. Los investigadores concluyeron que el desorden y la microheterogeneidad pueden ser

factores más importantes que las diferencias del tamaño cristalino observado por microscopia electrónica. La reducción de óxidos sintéticos y geológicos fue débilmente afectada por la presencia de fosfato, pero fue acelerada por el AQDS; la bacteria reductora produce la forma hidroquinona del AQDS (AHDS), que es capaz de reducir a los óxidos de Fe (III) como reductor químico, esta especie orgánica puede alcanzar regiones físicas de los óxidos que no son accesibles a los organismos.

**Miller y col. (2001)** [62] estudiaron el efecto de la humedad en la disponibilidad del P en los suelos, usando un gradiente de precipitación en suelos volcánicos altamente meteorizados de la isla de *Mauí*-Hawaii. Encontraron que a medida que la precipitación anual aumentaba, las condiciones reductoras eran más intensas y duraderas. Con el incremento de la reducción en el tiempo, el P total en los suelos disminuía cerca de dos tercios, adicionalmente el P inorgánico descendía en paralelo con la disolución de los oxi-hidróxidos de Fe y aluminosilicatos amorfos. En contraste, el P orgánico se incrementa y representa una fracción mayor del P total. En los sitios húmedos, la acumulación de P orgánico contribuye a limitar la pérdida de P global. La pérdida de P inorgánico comienza en suelos con moderada reducción; sin embargo, en zonas de precipitación intermedia con fluctuaciones de condiciones anóxicas y óxicas, la pérdida de P inorgánico no es compensada con la acumulación de P orgánico.

**Ferrando y col. (2002)** [63] evaluaron la magnitud de las variaciones en la disponibilidad del P del suelo para las plantas, en relación con los cambios en la reactividad de los óxidos de Fe luego de periodos cortos de reducción. Estos autores trabajaron con tres suelos en Uruguay clasificados como *solod*, *brunosol* y *vertisol*, los cuales fueron colocados en tres regimenes hídricos con dos niveles de P agregados al comienzo del tratamiento; finalizando cada régimen hídrico, sembraron *raigrás* con la finalidad de evaluar la absorción del P.

Los resultados obtenidos mostraron que durante el periodo de exceso de agua, en los suelos se establecieron condiciones reductoras, que determinaron un aumento en los contenidos y proporciones de Fe total en forma de óxidos de baja cristalinidad. Luego de la oxidación del suelo, dichos niveles se mantuvieron altos, lo que indica su permanencia bajo estas formas. Por otra parte, en la etapa de reducción del suelo, Ferrando y col. (2002) [63] observaron un aumento en los niveles de P asimilable en relación con el incremento de solubilidad de los compuestos de Fe por la reducción del Fe (III). El retorno de las condiciones de oxidación, determinó una disminución de los niveles de P asimilables, por la retención de P en superficies de óxidos de Fe (III) recientemente precipitados; en consecuencia, su absorción por parte de las plantas fue menor. Cuando se fertilizó posterior a un periodo de reducción, también observaron adsorción del P presente en el fertilizante en superficies altamente reactivas de óxidos de Fe (III).

**Peretyazhko y Sposito (2005)** [16] estudiaron, bajo condiciones de laboratorio, los efectos de la reducción biótica de oxi-hidróxidos de Fe (III) sobre la solubilización del P en suelos de bosques húmedos tropicales (*ultisol*) en Puerto Rico, bajo un régimen de humedad de 3000-4000 mm de precipitación anual. Los objetivos de este estudio fueron: i) cuantificar el proceso de reducción de Fe (III) y solubilización de P en un suelo de bosque altamente meteorizado, ii) examinar la influencia de un transportador de electrones sobre el proceso, utilizando antraquinona-2,6-disulfato (AQDS); y iii) caracterizar los productos químicos de Fe (II) y P producidos bajo condiciones anóxicas, con o sin AQDS. En esta investigación, dos series de experimentos fueron incubados por 14 días, uno sin AQDS y otro con una concentración inicial de 150  $\mu\text{M}$  de AQDS. Los resultados mostraron una correlación positiva entre el P soluble liberado y el Fe (II) producido durante el tiempo de incubación, implicando que la reducción del Fe (III) solubiliza el P.

El Fe (II) producido fue evidenciado por la formación de fases sólidas de Fe (II). En este sentido la precipitación de la siderita fue observada luego de 12 días de incubación sin AQDS; no obstante, en presencia de dicho compuesto, su formación ocurrió luego de 7 días; resaltando que en ambos casos el pH de la solución fue aproximadamente de 6,2. Por otra parte, la formación de vivianita fue termodinámicamente favorable de 9 a 10 días en presencia de AQDS. Los investigadores no observaron la formación de magnetita en ausencia o presencia de AQDS. Así mismo, el P inorgánico liberado durante la incubación fue muy bajo, indicando que el P soluble producido fue principalmente en forma orgánica, lo cual es consistente con la hipótesis de que el P se acumula en el humus del suelo. El estudio concluyó que el AQDS actúa principalmente como un transportador de electrones catalizador en el proceso de reducción de Fe (III) y solubilización del P [16].

**Chacón y col. (2006)** [9] estudiaron cómo la reducción de Fe (III) afecta la concentración del P soluble, cuando los suelos tropicales estacionalmente inundados del río Mapire- Venezuela son sometidos a condiciones anaeróbicas. Para ello, recolectaron muestras durante la época de sequía de dos zonas sujetas a diferentes intensidades de inundación. El Fe (III) fue principalmente reducido durante los primeros 15 días de la incubación anaeróbica y fue estimulado por un pulso de carbono lábil. No obstante, luego de 15 días la concentración de Fe (II) disminuye, indicando que el Fe (II) bioproducido experimentó reacciones secundarias. Por otra parte, la reducción del Fe (III) no permitió un incremento del contenido de P soluble; sin embargo, en ambas zonas el P fue positivamente correlacionado con el Fe (II), implicando que la movilización del P estuvo ligada a la disolución del Fe.

**Chacón y col. (2006)** [17] investigaron el efecto de las condiciones reductoras en combinación con la adición de sustancias orgánicas como la glucosa, el acetato y antraquinona-2,6-disulfato (AQDS), en los suelos de un bosque húmedo tropical ubicado al noreste de Puerto Rico. Estas sustancias fueron añadidas durante el tiempo



de incubación en pequeñas cantidades, observándose que los pulsos de C producen un incremento significativo del pH, Fe soluble y la concentración de P, demostrando que la reducción de Fe y movilización del P fue estimulada por la adición de C lábil. Adicionalmente, los resultados obtenidos por estos investigadores muestran que la solubilización del P es mayor que la readsorción. El estudio concluyó que las condiciones reductoras, unidas con pulsos de C pueden estimular la reducción del Fe e incrementar la movilización del P para este tipo de ambientes.

**Chacón y col. (2008)** [6] estudiaron el efecto de las fluctuaciones hidrológicas naturales en la biodisponibilidad del P en los suelos, en relación con el comportamiento químico del Fe y Al, así como de la masa de raíces a lo largo de un gradiente de inundación en los bosques de la planicie de inundación del río Mapire, Venezuela. Las muestras fueron recolectadas siguiendo un completo hidropériodo natural: final de la época seca (mayo 2004), final de la época lluviosa (noviembre 2004) y final de la subsiguiente época seca (mayo 2005). En cada fecha tomaron muestras de suelo de tres zonas sujetas a diferentes intensidades de inundación (MAX, MED y MIN), las cuales se inundan anualmente por espacio de 8, 5 y 2 meses respectivamente.

Los resultados mostraron que la inundación induce el incremento de formas de P lábil en la zona MAX, pero no en la zona MED y MIN, lo cual sugiere que el P en los suelos anegados por 8 meses puede ser liberado por la disolución de los oxi-hidróxidos de Fe [6].

**Fimmen y col. (2008)** [64] realizaron observaciones de campo de dos suelos en USA clasificados como *ultisol* y *alfisol*, derivados de litología granítica y basáltica respectivamente, con la finalidad de demostrar el efecto de la actividad redox de la rizósfera sobre la disolución de minerales y translocación coloidal en dichos suelos. Los investigadores señalan que la rizósfera es un micrositio redox activo, en ausencia de O<sub>2</sub>. La descomposición de los depósitos rizosféricos puede ser asociada a la reducción

de especies redox activas como el Fe, mediante una reducción biogénica que conduce a la translocación y oxidación del Fe acompañado de un sustancial flujo de protones. Además, el ciclo redox Fe-C está controlado por la profundidad y extensión de las raíces.

**González (2009)** [28] desarrolló un estudio de laboratorio simulando variadas condiciones en el potencial redox del suelo, con la finalidad de observar el efecto de estas variaciones en las relaciones Fe-C-P, en un perfil de suelo de bosque húmedo no perturbado y otro intervenido de la Reserva Forestal de Imataca; para ello, las muestras fueron incubadas por 30 días bajo condiciones anóxicas, subóxicas, alternancia óxica-anóxica y óxicas. Los resultados obtenidos mostraron que durante este período, la condición estrictamente anóxica no conduce a la reducción bacteriana de Fe y liberación de P, probablemente debido a limitaciones en la disponibilidad de carbono orgánico. Por el contrario, las condiciones de alternancia óxica-anóxica y subóxicas promueven la reducción de Fe (III) y liberación de P entre los 7 y 15 días de incubación. Esto puede deberse a dos factores: i) que ocurra un incremento en la eficiencia de oxidación de la materia orgánica, debido a que los microorganismos anaeróbicos y aeróbicos estén trabajando simultáneamente; y ii) que al ocurrir cambios en el establecimiento de la condición redox del suelo, los microorganismos no adaptados a la nueva condición mueran y sirvan de sustrato orgánico lábil para el nuevo grupo de microorganismos que comienzan a establecerse, promovándose así la reducción bacteriana de los óxidos de Fe(III). El descenso en las concentraciones de Fe y P a los 30 días de incubación, puede atribuirse a la formación de geles complejos de hidróxidos ferrosos ( $\text{Fe}(\text{OH})_2$ ) y a la readsorción del P liberado por estos compuestos de alta reactividad química.

**Liptzin y Silver (2009)** [27] realizaron estudios de laboratorio para demostrar de forma cualitativa y cuantitativa el papel que juega el C en la reducción del Fe, con el propósito de asociarlo con la movilización del P en los suelos de bosques tropicales de la cuenca

de Bisley. Estos autores examinaron además los cambios en la fuente de Fe y P, después de la adición de un pulso de acetato y lixiviados de hojarasca poco descompuestas en muestras de suelos incubadas bajo una atmósfera controlada. La hojarasca para el lixiviado fue recolectada de la superficie del suelo, cerca de la zona donde fueron tomadas la muestra de suelo.

Liptzin y Silver (2009) [27] encontraron que la reducción de Fe ocurre en presencia de acetato y lixiviados de hojarasca, tanto en condiciones anóxicas como óxicas, aunque los lixiviados de hojarasca estimulan la reducción de Fe mucho más que el acetato, ya que son más fácilmente fermentados.

El P de la biomasa microbiana fue positivamente correlacionado con las concentraciones de Fe (II), indicando que el P unido a los óxidos de Fe (III) fue solubilizado durante la reducción del Fe y estuvo disponible para los organismos; sin embargo, los microorganismos rápidamente inmovilizaron el P liberado durante el tiempo de incubación. Esto proporciona un mecanismo de conservación de P en estos suelos con fluctuaciones en el potencial redox. Los resultados obtenidos por Liptzin y Silver (2009) [27] permitieron sugerir que los ciclos de Fe, P y C se encuentran unidos durante las fluctuaciones de las condiciones oxidantes y reductoras que ocurren en los ecosistemas tropicales, lo cual permitió proponer un modelo conceptual de las variaciones de estas especies en los diferentes procesos.

## 6. MARCO GEOLÓGICO

### 6.1. Descripción del área de estudio

El estudio propuesto en este trabajo fue llevado a cabo con muestras de suelos provenientes de la Reserva Forestal de Imataca (RFI), ubicada en la región sureste de la República Bolivariana de Venezuela, al sur del río Orinoco, entre los estados Bolívar y Delta Amacuro (figura 7). Esta posee una altitud cercana a 160 msnm con algunas elevaciones que llegan a 500 msnm y un área de 3,8 millones de hectáreas de bosques, con varios niveles de intervención humana que genera una gran diversidad florística de altura variada [20, 65].

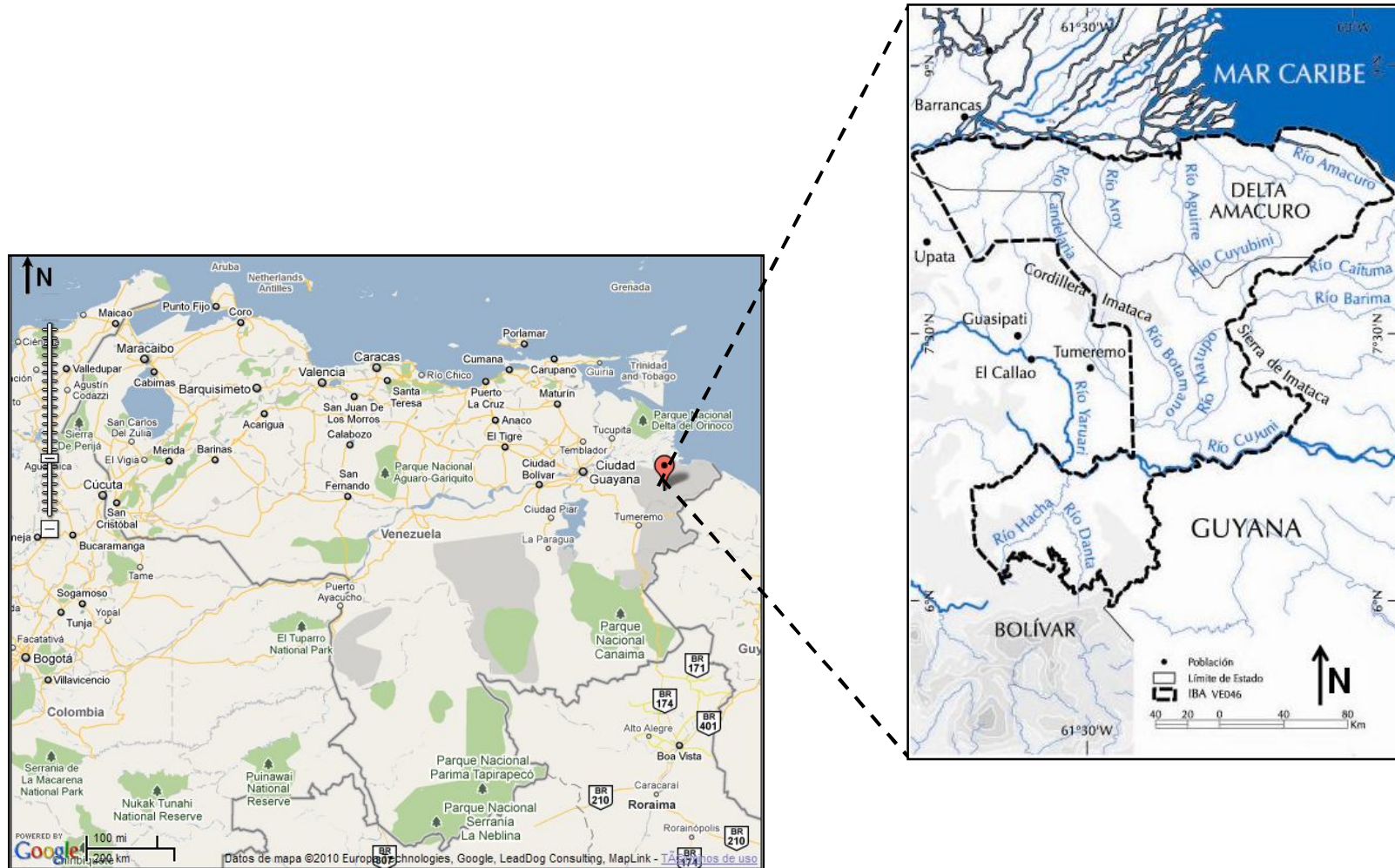
#### 6.1.2. Características climáticas

La RFI recibe una *precipitación total media anual* entre 1400 y 1600 mm aproximadamente, con un solo máximo anual durante los meses de junio y julio. El periodo lluvioso se extiende desde mayo hasta noviembre, cuando en promedio la zona recibe un 90% de la precipitación anual y el periodo de baja precipitación se extiende de enero a abril [20].

La *temperatura media anual* es de 25,3 °C; siendo la máxima de 26 °C y la mínima de 24 °C aproximadamente. Las mayores temperaturas ocurren durante los meses de abril, mayo, septiembre y octubre, las menores se alcanzan de junio a julio y de diciembre a enero [20].

#### 6.1.3. Litología

En orden de abundancia, las rocas de la Provincia de Pastora ocupan el primer lugar dentro de la superficie de la RFI, seguido por aluviones y las litologías propias de



**Figura 7.** Ubicación de la Reserva Forestal de Imataca [66].

Imataca y por último la Provincia de Roraima ocupa solamente alrededor del 2,8% del área total [20]. Seguidamente serán detalladas las provincias presentes en la zona de estudio.

*Provincia de Pastora:* se caracteriza litológicamente por una secuencia de rocas plutónicas y volcánicas ácidas y básicas, metasedimentarias piroclásticas y epiclásticas. Además se encuentran diques de gabros o diabasas, intrusivos a varios niveles. Comprende rocas cuyas edades se estiman entre los 2.000 y 2.700 Ma [67].

*Provincia de Imataca:* consiste, en orden de abundancia decreciente, de una secuencia, de granulitas plagioclásicas-cuarzo-piroxénicas, granulitas microclínicas - cuarzo plagioclásicas - piroxénicas, gneis cuarzo-feldespático-cordierítico-granatífero-biotítico - silimanítico-grafítico y formaciones de hierro; con las siguientes litologías secundarias: cuarcita, caliza impura metamorfizada, roca rodonítica-granatífera, roca cuarzo-granatífero-grafítica y esquisto bronzítico-hornabléndico-biotítico. La secuencia está intrusionada por cuerpos graníticos básicos. Su edad es de 3.500-3.600 Ma y contiene las rocas más antiguas de la Guayana Venezolana [67-69].

*Provincia de Roraima:* está compuesta principalmente de cuarzo areniscas, con menores proporciones de areniscas feldespáticas y lutitas. Dentro de la secuencia de sedimentos están presentes diversos sills de diabasas que intrusionan la unidad, estas son alteradas por el proceso de meteorización llegando a desarrollar gradualmente lateritas ferruginosas, bauxíticas y bauxitas gibbsíticas concrecionarias y pisolíticas que recubren las rocas basálticas de la región. La edad determinada para las rocas pertenecientes a esta provincia varía entre 800-1.400 Ma [67, 70].

### 6.1.3. Suelos

Los suelos de la RFI son residuales, generalmente profundos, de baja fertilidad, caracterizados por ser muy pobres en nutrientes, debido al material parental, la antigüedad de los depósitos y al intenso lavado producido por las precipitaciones. La capacidad de intercambio catiónico y el pH son muy bajos, además el Fe y el Al pueden estar en concentraciones tóxicas. Esto genera un patrón de enraizamiento muy superficial, que conduce a una alta fragilidad de estos ecosistemas ante cualquier perturbación [19, 20].

Sin embargo, en las zonas boscosas las propiedades del suelo se modifican puesto que los horizontes superficiales se enriquecen con materia orgánica y bases, producto de la descomposición de los restos vegetales. En general, poseen buen drenaje, buena estructuración y aireación, a excepción de los suelos inundables [20].

Se ha reportado la presencia de varios órdenes de suelos según la clasificación taxonómica, cuyos resultados se muestran en la tabla 2. Obsérvese que predominan los *Ultisoles*, ocupando el 73,18% de superficie de la RFI [20].

**Tabla 2.** Clasificación de los suelos de Reserva Forestal de Imataca [20].

<b>Orden de suelo</b>	<b>Superficie (ha)</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Ultisoles	2.803.576	73,18
Entisoles	640.230	16,71
Histosoles	90.936	2,37
Inceptisoles	47.836	1,25

## 6.2. Recolección de las muestras

Las muestras fueron tomadas de la unidad de manejo C-3 en concesión a la empresa Comafor por los grupos de Investigación del Laboratorio de Ecología de Suelos del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) y la Universidad de Brown (Rhode Island- USA). Esta unidad ocupa una superficie de 129.335 hectáreas y se encuentra ubicada en la zona central de la RFI, al noreste del estado Bolívar, entre los paralelos 07°00´-07°30´ de latitud Norte y 60°15´ de longitud Oeste.

En esa unidad se identificó un gradiente de perturbación conformado por un bosque pristino (BP), un bosque con bajo impacto de manejo (BM), en donde se extrae 5 árboles por hectárea y una zona de 0,04 x 1 Km completamente deforestada y posteriormente plantada con la especie *Tabebuia impetiginosa*<sup>b</sup> en el año 1996 (ZP). Es preciso indicar que en la zona de bosque plantada no fue adicionado fertilizante y que la materia orgánica proveniente de la deforestación de los árboles fue dejada en el sitio para su incorporación al suelo.

Es importante mencionar que la descripción textural de cada una de las zonas del gradiente de perturbación se encuentra especificada en la tabla 3, observándose un alto porcentaje de arena para todos los sitios.

---

<sup>b</sup> Es una especie arbórea de suelos arenosos y húmedos que puede alcanzar los 8 dm de diámetro en el tronco y los 30 m de altura. Sumamente distintivo por sus vistosas flores rosadas, que aparecen cuando aún se encuentra desprovisto de follaje a finales del invierno entre julio y septiembre. Su madera se aprovecha en construcción, y a la infusión de su corteza se le atribuyen propiedades medicinales [71].



**Tabla 3.** Textura de las zonas del gradiente de perturbación

<b>Zona</b>	<b>% Arcilla</b>	<b>% Limo</b>	<b>% Arena</b>	<b>Clase Textural</b>
<b>BP</b>	20,1 ±3,1	7,4 ± 1,3	72,5 ±2,0	Franco arcilloso arenoso
<b>BM</b>	11,3 ±2,5	5,6 ± 1,3	83,1 ±1,3	Areno francoso
<b>ZP</b>	6,3 ±4,3	7,5 ± 5,4	86,3 ±1,4	Areno francoso

Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

En cada sitio se colectaron 5 muestras de suelo del horizonte superficial (0-10 cm) a través de un diseño completamente aleatorio ( $n_{total} = 15$ ). Luego de colectadas, las muestras fueron almacenadas en bolsas plásticas hasta su traslado al laboratorio. Una vez allí, las muestras fueron preservadas a baja temperatura (4 °C) para evitar pérdidas de humedad.

## 7. METODOLOGÍA

### 7.1. Sistema de incubación

En este estudio se tomó una alícuota de cada muestra preservada a la que se le extrajo manualmente las raíces visibles y restos de hojarasca. Una vez removidos los restos orgánicos, cada muestra colectada se fraccionó para los siguientes tratamientos con variaciones en la concentración de oxígeno: óxico, subóxico, y anóxico. El suelo bajo cada tratamiento fue incubado en forma de una suspensión conservando una relación 2:1 (agua:suelo), para ello se pesó 15g de suelo de cada una de las muestras y se agregó 30 mL de agua. Las incubaciones fueron llevadas a cabo a 25 °C en viales ambar de 100 mL. El diseño contempla el seguimiento de las relaciones Fe-C-P bajo los diferentes tratamientos a los 0, 15 y 58 días de incubación. El número de muestras total tratada fue 135, lo cual deriva de lo siguiente: 5 muestras de campo de 3 sitios de estudio, para 3 tratamientos con variaciones de oxígeno, que fue realizado en 3 fechas diferentes (figura 8).

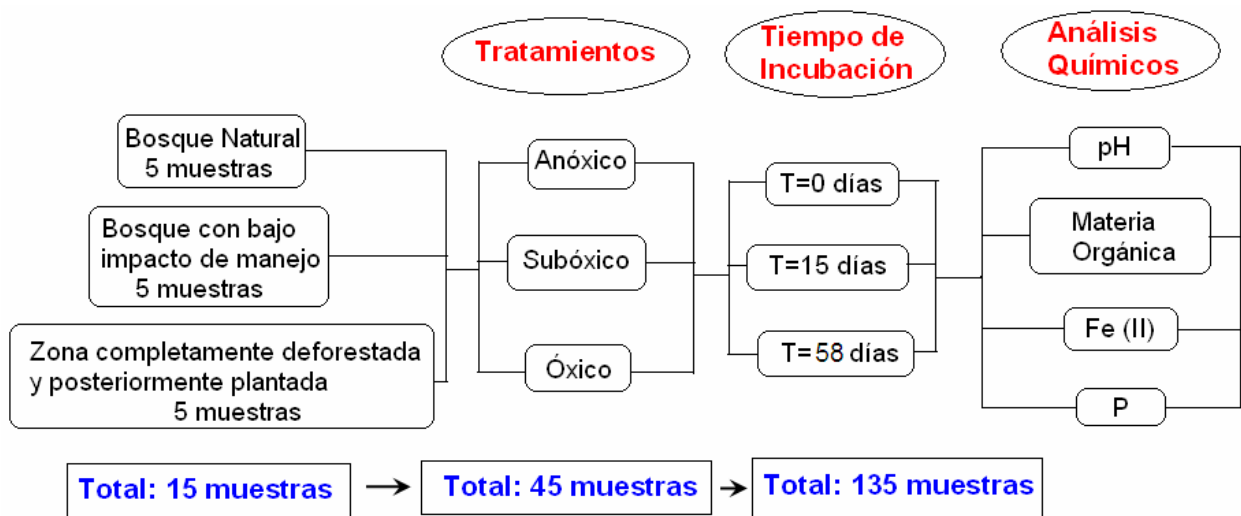


Figura 8. Esquema metodológico

### 7.1.1. Tratamiento anóxico

Para crear la condición anaeróbica, los viales fueron tapados y sellados. Posteriormente, se colocaron 2 agujas: una de ellas se conectó a un sistema de suministro de gas 100% nitrógeno ( $N_2$ ) y la otra libre. Durante 5 minutos se inyectó el gas a una presión de 120 PSI, el cual desplazó el  $O_2$  presente en el vial a través de la segunda aguja. Transcurridos los 5 minutos se desconectó primero la aguja libre y luego la que suministra el gas. Finalmente, los viales sellados fueron colocados en una cámara anaeróbica usando una atmósfera de  $N_2$ .

### 7.1.2. Tratamiento subóxico

En este caso se utilizó una mezcla de 95% de  $N_2$  y 5% de aire, para ello, se permitió la circulación de  $N_2$  por 5 minutos en cada uno de los viales, a través de una de las agujas insertadas en los envases sellados, durante este tiempo la otra aguja permaneció libre. Luego las agujas fueron retiradas, tal como se mencionó anteriormente y posteriormente se añadió 5 mL de oxígeno con una inyectora.

### 7.1.3. Tratamiento óxico

La condición óxica fue creada al mantener los viales abiertos en contacto con el oxígeno presente en la atmósfera. Eventualmente, los viales fueron pesados para verificar que no existen pérdidas importantes de agua por evaporación.

## 7.2. Análisis químicos

### 7.2.1. Determinación del pH del suelo

La determinación del pH se realizó atendiendo al método desarrollado por Piper descrito por Jackson (1982); para cada fecha de muestreo se tomó una alícuota de 5 mL de cada uno de los tratamientos, a los que se le introdujo el electrodo. Es importante mencionar que para dichas mediciones se utilizó un pH metro digital marca Benchtop, el cual fue calibrado previamente, utilizando soluciones amortiguadoras con valores de pH entre 4 y 7.

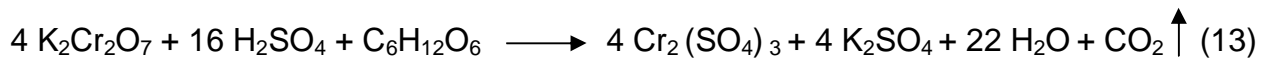
### 7.2.2. Determinación del carbono orgánico del suelo

Para conocer la concentración del carbono orgánico, se aplicó el método de Walkley y Black (1934) [72], el cual consiste en la oxidación del carbono orgánico por una mezcla oxidante de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) y ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ ), acelerada por el calor de dilución del ácido en agua. El ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) se emplea para lograr mayor nitidez en el cambio de color del indicador de verde oscuro a verde brillante.

En la oxidación de la materia orgánica se produce el desprendimiento de dióxido de carbono ( $CO_2$ ), tal como se muestra en la reacción 13. En este proceso redox, el cromo (Cr) captura los electrones cedidos por el carbono orgánico, actuando como agente oxidante, cuando este elemento cambia su estado de oxidación de  $Cr^{+6}$  a  $Cr^{+3}$  se observa el cambio de color de la solución de anaranjado a verde.

El dicromato que no reacciona con el carbono orgánico es titulado con la solución de sulfato ferroso amoniacal, en donde el Fe actúa como agente reductor y cambia su

estado de oxidación de  $\text{Fe}^{+2}$  a  $\text{Fe}^{+3}$ , los electrones cedidos por este elemento serán tomados por el Cr, produciéndose la reducción del mismo (reacción 14).



Para la determinación del porcentaje de la materia orgánica, se tomarán alícuotas de 5 mL de la suspensión suelo: agua en cada tratamiento y fecha de muestreo, las cuales fueron colocadas en una fiola de 250 mL. Posteriormente, a la suspensión de suelo se le añadió 10 mL de dicromato de potasio 0,17 M, una pequeña cantidad de agua y 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. La disolución resultante se dejó reposar de 20 a 30 minutos observándose una coloración amarillo- verde claro. Transcurrido este tiempo, se agregó agua destilada hasta alcanzar un volumen de 125 mL, 10 mL de  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 0,2 g de fluoruro de sodio y de 5 a 10 gotas de difenilamina. Finalmente, se tituló la disolución obtenida con una solución 0,5 M de sulfato ferroso amoniacal, el punto de equivalencia se determinó al visualizar el cambio de color de verde oscuro a verde brillante. Adicionalmente, se realizó la titulación de dos blancos de dicromato.

- *Reactivos y preparación de disoluciones*

- Ácido fosfórico concentrado (al 0,5%)
- Fluoruro de sodio
- Ácido sulfúrico concentrado (al 96%)
- Dicromato de potasio 0, 17 M: se disolvió 49,04 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en un volumen mínimo de agua destilada y luego se agregó agua hasta completar un volumen de 1 L.

- e) Difenilamina (indicador): se disolvió 0,5 g de difenilamina en 20 mL de agua y se agregó 100 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- f) Solución ferrosa (0,5 M): se disolvió 196,1 g de sulfato ferroso amoniacal en 800 mL de agua destilada, luego se agregó 20 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y finalmente se añadió agua hasta completar un volumen de 1 L.

### 7.2.3. Determinación de la humedad

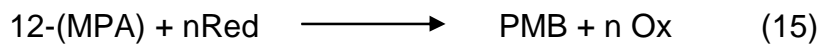
Para cada uno de los tratamientos y fecha de muestreo se determinó la humedad, siendo ésta la relación de masa de agua entre masa de suelo húmedo. Para conocer la masa de suelo húmedo, se pesó una alícuota de 5 mL de la suspensión del suelo. La masa de agua no es más que la diferencia entre masa de suelo húmedo y suelo seco; así mismo la masa de suelo seco, fue conocida mediante la colocación de cada uno de los platos metálicos que contenían las alícuotas de la suspensión del suelo, en una estufa a 105 °C por 24 horas.

### 7.2.4. Determinación de Fe (II) y P extraíble con HCl 0,5M

Para cada uno de los tratamientos y fecha de muestreo se pesó una alícuota de 5 mL de la suspensión del suelo en incubación y se agregaron 30 mL de ácido clorhídrico (HCl) 0,6 M. Posteriormente, se agitó durante toda la noche, luego se centrifugó a 5.000 rpm durante 10 minutos, se filtró y finalmente se determinó el Fe (II) y P inorgánico solubles en HCl 0,5 M por colorimetría, tal como se indica a continuación. Es importante señalar que la concentración final del ácido es de 0,5 M, debido a que hay que tomar en cuenta el volumen de agua que se aporta con la suspensión suelo:agua a la solución resultante.

#### 7.2.4.1. Determinación de P inorgánico

Para conocer la concentración del P inorgánico se aplicó el método de Murphy y Riley (1962) [73], el cual está basado en la formación de un complejo azul de fosfomolibdato, cuyo proceso ocurre en dos etapas; la primera de ellas involucra la formación del ácido 12-molibdofosfórico abreviado como 12-(MPA) y en la segunda el ácido se reduce al heteropolio azul (PMB), tal como se muestra en la reacción 15.



Donde n es la cantidad de moles del agente reductor (Red), requerido para reducir un mol de 12-(MPA) a azul de fosfomolibdato (PMB), siendo Ox la especie oxidada. Al usar ácido ascórbico como agente reductor n=1. Es importante señalar que la fórmula del heteropolio PMB no está bien definida; sin embargo, se conoce que el molibdeno se puede encontrar entre los estado de valencia de + 3 y +5.

El ácido ascórbico es el agente reductor más utilizado, ya que el complejo formado en presencia de este ácido es estable por un largo periodo. Es importante señalar que la formación del complejo es catalizada por tartrato de antimonio y potasio.

Este método presenta la desventaja de que el molibdato de amonio reacciona con los arseniatos, para formar un complejo similar al formado con el P, incluso a una concentración de 0,1 mg/L de As. Otras especies como  $\text{Cr}^{+6}$ , oxalato y  $\text{NO}_2^-$  interfieren a concentraciones entre 1 mg/L y 10 mg/L. Por el contrario, los sulfuros y silicatos no interfieren a concentraciones entre 1 mg/L y 10 mg/L.

Para la determinación de P aplicando este método se necesitan las siguientes soluciones y reactivos:

- a) Molibdato de amonio: se disolvió 40 g de molibdato de amonio en un volumen mínimo de agua destilada y luego se agregó agua, hasta completar un volumen de 1 L.
- b) Ácido ascórbico: se disolvió 26 g de ácido en un volumen mínimo de agua destilada y luego se agregó agua, hasta completar un volumen de 500 mL.
- c) Tartrato de antimonio y potasio: se disolvió 1,454 g de tartrato en un volumen mínimo de agua destilada y luego se agregó agua hasta completar un volumen de 500 mL.
- d) Ácido sulfúrico 2,5 M: se tomó 278 mL de ácido concentrado y se agregó agua destilada hasta completar un volumen de 2 L.

Es importante señalar que todas las disoluciones fueron almacenadas en un envase color ámbar. Al momento de realizar la determinación de P, se mezclaron en un balón de 500 mL, las disoluciones preparadas previamente en el siguiente orden: 250 mL de ácido sulfúrico (2,5 M), 75 mL de molibdato de amonio, 50 mL de ácido ascórbico y 25 mL de tartrato de antimonio y potasio; finalmente se agregó agua destilada hasta alcanzar la línea de aforo del balón.

Seguidamente, se pesaron 10 mL del extracto ácido en un balón aforado de 50 mL, luego se ajustó el pH agregando 3 gotas de paranitrofenol al 0,1%, posteriormente se agregó hidróxido de sodio 4 M gota a gota, hasta observar una coloración amarilla y se añadió ácido sulfúrico (2,5 M) hasta que la disolución se torna incolora. Seguidamente se agregaron 8 mL del reactivo de color y se añadió agua destilada hasta alcanzar la línea de aforo del balón, la disolución se dejó reposar por 40 minutos obteniéndose una coloración azul. Para la construcción de la curva de calibración, se prepararon patrones de 0 a 1,0 mg/L a los que se les realizó el mismo



tratamiento; finalmente, se midió la absorbancia de cada una de las disoluciones a una longitud de onda de 712 nm.

#### 7.2.4.2. *Determinación de Fe (II)*

Para conocer la concentración de Fe (II) se aplicó método de ferrozina (Stookey, 1970) [74] que consiste en la formación de un complejo estable de Fe producto de la reacción entre la sal disódica de 3-(2 piridil)-5,6-bis(4-ácido fenilsulfónico)-1,2,4- triazina y el Fe (II) disuelto en el extracto ácido. A través de este procedimiento, el Fe orgánico e inorgánico son indistinguibles; además, el Fe (III) es reducido por el hidrocloreuro de hidroxilamina a Fe (II).

Para la determinación de Fe (II) aplicando este método se necesitan las siguientes soluciones y reactivos:

- a) Solución ácida: se disolvió 5,14 g de ferrozina y 100 g de hidrocloreuro de hidroxilamina en un volumen mínimo de agua destilada y luego se agregó 500 mL de ácido clorhídrico concentrado, posteriormente se dejó enfriar a 20 °C y añadió agua hasta completar un volumen de 1 L.
- b) Solución amortiguadora, pH 5,5: se disolvió 400 g de acetato de amonio en un volumen mínimo de agua y luego se agregó 350 mL de hidróxido de amonio concentrado, finalmente se añadió agua hasta completar un volumen de 1 L.
- c) Solución estándar de Fe: se disolvió 100 mg de Fe en ácido clorhídrico concentrado y luego se agregó agua hasta alcanzar un volumen de 1 L.

Una vez que las soluciones fueron preparadas, se colocó 1 mL del extracto de HCl 0,5 M en un balón aforado de 50 mL y se añadió 1 mL de la solución ácida, la disolución resultante se calentó y se mantuvo en el punto de ebullición por 10 minutos, después se enfrió a 20 °C. Posteriormente se agregó 1 mL de la solución amortiguadora, se añadió

agua hasta alcanzar la línea de aforo y se dejó reposar por 1 minuto. Para la construcción de la curva de calibración se prepararon patrones de 0 a 2,0 mg/L, a los que se les realizó el mismo tratamiento; finalmente se midió la absorbancia de cada una de las disoluciones a una longitud de onda de 562 nm.

### **7.3. Análisis Estadístico**

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo a través de un análisis de la varianza (ANOVA). Las transformaciones logarítmicas fueron usadas en aquellos datos que no cumplieron con los supuestos para el ANOVA. En el caso en que los datos no pudieron ser normalizados, se utilizó una prueba no-paramétrica (Mann-Whitney U) para determinar las diferencias estadísticas. Las correlaciones lineales fueron empleadas para determinar la relación entre los diferentes parámetros estudiados (pH, P inorgánico, Fe (II) y materia orgánica). Para los análisis estadísticos, se utilizó el paquete de estadística STATISTICA para Windows (6.0) a un nivel de significancia del 95% (Statistica 2001).

## 8. RESULTADOS

Las variaciones en el tiempo de pH, materia orgánica, Fe (II) y P inorgánico a lo largo de un gradiente de perturbación conformado por un bosque prístino (BP), un bosque con manejo moderado (BM) y una zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP, cuya siglas significan zona plantada) bajo diferentes concentraciones de oxígeno (anóxica, subóxica y óxica), se muestran en las tablas 4, 5, 6, 7 y 8, respectivamente. Es importante señalar que los resultados fueron expresados como el promedio y la desviación estándar calculadas a partir de 5 muestras de campo de cada una de las zonas.

**Tabla 4.** Variaciones de pH a lo largo del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación.

Condición	Tiempo	Zonas		
		BP	BM	ZP
ANOXICA	0	5,4 ± 0,4 <sup>a1A</sup>	5,5 ± 0,2 <sup>a2A</sup>	5,4 ± 0,4 <sup>a3A</sup>
	15	5,6 ± 1,0 <sup>a1A</sup>	5,7 ± 0,4 <sup>a2A</sup>	5,9 ± 0,3 <sup>a2A</sup>
	58	5,7 ± 0,7 <sup>b1A</sup>	6,3 ± 0,2 <sup>ab1A</sup>	6,5 ± 0,1 <sup>a1A</sup>
SUBOXICA	0	5,3 ± 0,2 <sup>a1A</sup>	5,6 ± 0,2 <sup>a2A</sup>	5,4 ± 0,4 <sup>a2A</sup>
	15	5,5 ± 0,3 <sup>a1A</sup>	5,8 ± 0,2 <sup>a2A</sup>	5,8 ± 0,3 <sup>a2AB</sup>
	58	5,8 ± 0,7 <sup>b1A</sup>	6,3 ± 0,1 <sup>ab1A</sup>	6,5 ± 0,1 <sup>a1A</sup>
OXICA	0	5,4 ± 0,4 <sup>a1A</sup>	5,5 ± 0,2 <sup>a1A</sup>	5,4 ± 0,3 <sup>a1A</sup>
	15	5,4 ± 0,4 <sup>a1A</sup>	5,3 ± 0,3 <sup>a1A</sup>	5,3 ± 0,4 <sup>a1B</sup>
	58	4,7 ± 0,3 <sup>a2B</sup>	4,6 ± 0,1 <sup>a2B</sup>	4,7 ± 0,3 <sup>a2B</sup>

Distintas letras minúsculas dentro de una misma condición y tiempo, indican diferencias significativas entre las zonas de estudio. Diferentes números en la columna dentro de la misma condición, indican diferencias significativas entre los tiempos de incubación. Diferentes letras mayúsculas en la columna y dentro de un mismo tiempo, indican diferencias significativas entre las condiciones redox.

Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

Para todas las zonas dentro del gradiente, se observa que el pH se mantiene constante en los primeros 15 días de incubación en todos los tratamientos redox (tabla 4). Posteriormente, hacia los 58 días el pH varía de la siguiente manera: 1) las

condiciones anóxicas y subóxicas muestran un incremento ( $p < 0,05$ ) para las zonas BM y ZP; mientras que, el BP no presenta variaciones ( $p > 0,05$ ) en estos tratamientos; sin embargo, 2) en la condición óxica disminuye para todas las zonas.

Las zonas BM y ZP en todos los tratamientos redox muestran un aumento ( $p < 0,05$ ) de la materia orgánica en los primeros 15 días de incubación, luego hacia los 58 días se mantiene constante (tabla 5). Por otra parte, bajo las condiciones anóxicas y subóxicas el BP muestra una tendencia similar a BM y ZP a pesar de no presentar variaciones significativas ( $p > 0,05$ ) durante el periodo de estudio, en cambio bajo el tratamiento óxico se incrementa ( $p < 0,05$ ) en los primeros 15 días para el BP. También, se puede observar que la materia orgánica no presenta variaciones significativas ( $p > 0,05$ ) entre las zonas del gradiente de perturbación y en los diferentes tratamientos con variaciones en la concentración de oxígeno (anóxico, subóxico y óxico).

**Tabla 5.** Variaciones de materia orgánica (%) a lo largo del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación.

Condición	Tiempo	Zonas		
		BP	BM	ZP
ANOXICA	0	*2,6 ± 0,4 <sup>a1A</sup>	2,4 ± 0,5 <sup>a2A</sup>	2,8 ± 0,6 <sup>a2A</sup>
	15	5,4 ± 1,9 <sup>a1A</sup>	6,4 ± 0,9 <sup>a1A</sup>	6,1 ± 1,7 <sup>a1A</sup>
	58	5,0 ± 1,9 <sup>a1A</sup>	5,5 ± 0,5 <sup>a1A</sup>	5,9 ± 0,7 <sup>a1A</sup>
SUBOXICA	0	2,5 ± 0,9 <sup>a1A</sup>	2,7 ± 1,0 <sup>a2A</sup>	2,8 ± 1,1 <sup>a2A</sup>
	15	5,0 ± 1,2 <sup>a1A</sup>	5,8 ± 1,7 <sup>a1A</sup>	6,7 ± 1,1 <sup>a1A</sup>
	58	4,1 ± 1,9 <sup>a1A</sup>	5,4 ± 1,9 <sup>a1A</sup>	4,9 ± 1,9 <sup>a12A</sup>
OXICA	0	2,2 ± 1,2 <sup>a2A</sup>	2,6 ± 0,9 <sup>a2A</sup>	2,7 ± 0,8 <sup>a2A</sup>
	15	6,3 ± 1,1 <sup>a1A</sup>	5,9 ± 1,7 <sup>a1A</sup>	6,5 ± 1,0 <sup>a1A</sup>
	58	4,4 ± 2,2 <sup>a12A</sup>	5,5 ± 1,0 <sup>a1A</sup>	5,7 ± 0,8 <sup>a1A</sup>

\* Promedio obtenido con 3 muestras

Distintas letras minúsculas dentro de una misma condición y tiempo, indican diferencias significativas entre las zonas de estudio. Diferentes números en la columna dentro de la misma condición, indican diferencias significativas entre los tiempos de incubación. Diferentes letras mayúsculas en la columna y dentro de un mismo tiempo, indican diferencias significativas entre las condiciones redox.

Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

**Tabla 6.** Variaciones de Fe (II) (mg/Kg) a lo largo del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación.

Condición	Tiempo	Zonas		
		BP	BM	ZP
ANOXICA	0	991 ± 287 <sup>a1A</sup>	1538 ± 403 <sup>a2A</sup>	1444 ± 617 <sup>a2A</sup>
	15	999 ± 406 <sup>c1A</sup>	2860 ± 304 <sup>a1A</sup>	2044 ± 466 <sup>b2A</sup>
	58	1545 ± 727 <sup>b1A</sup>	2633 ± 456 <sup>a1A</sup>	3084 ± 677 <sup>a1A</sup>
SUBOXICA	0	860 ± 465 <sup>b1A</sup>	1551 ± 275 <sup>a2A</sup>	1596 ± 872 <sup>ab1A</sup>
	15	870 ± 405 <sup>b1A</sup>	1817 ± 351 <sup>a12B</sup>	1948 ± 387 <sup>a1A</sup>
	58	1042 ± 491 <sup>b1A</sup>	2300 ± 491 <sup>a1A</sup>	2756 ± 789 <sup>a1A</sup>
OXICA	0	1043 ± 661 <sup>a1A</sup>	1465 ± 253 <sup>a1A</sup>	1314 ± 202 <sup>a1A</sup>
	15	959 ± 594 <sup>a1A</sup>	1660 ± 568 <sup>a1B</sup>	1396 ± 514 <sup>a1A</sup>
	58	1120 ± 417 <sup>a1A</sup>	1952 ± 789 <sup>a1A</sup>	1617 ± 502 <sup>a1B</sup>

Distintas letras minúsculas dentro de una misma condición y tiempo, indican diferencias significativas entre las zonas de estudio. Diferentes números en la columna dentro de la misma condición, indican diferencias significativas entre los tiempos de incubación. Diferentes letras mayúsculas en la columna y dentro de un mismo tiempo, indican diferencias significativas entre las condiciones redox.

Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

En las condiciones anóxica y subóxica, las concentraciones de Fe (II) aumentaron ( $p < 0,05$ ) durante el tiempo de incubación en las zonas BM y ZP, mientras que el BP no mostró variaciones ( $p > 0,05$ ). Por otra parte, todas las zonas del gradiente de perturbación bajo el tratamiento óxico no presentaron variaciones ( $p > 0,05$ ) durante el periodo de estudio (tabla 6).

Para todas las zonas del gradiente de perturbación, la concentración de P inorgánico (tabla 7) no presentó variaciones estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en los tratamientos con diferente concentración de oxígeno (anóxico, subóxico y óxico), sin embargo en las condiciones anóxica y subóxica se puede observar una tendencia a incrementar la concentración de P inorgánico. Por otra parte, en la tabla 8 se puede observar que bajo el tratamiento subóxico el BP mostró una relación significativamente positiva entre Fe-pH, mientras que entre Fe-MO la relación fue significativamente negativa.

**Tabla 7.** Variaciones de P inorgánico (mg/Kg) a lo largo del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación.

Condición	Tiempo	Zonas		
		BP	BM	ZP
ANOXICA	0	61 ± 37 <sup>a1A</sup>	37 ± 34 <sup>a1A</sup>	74 ± 21 <sup>a1A</sup>
	15	59 ± 13 <sup>ab1A</sup>	36 ± 9 <sup>b1A</sup>	80 ± 27 <sup>a1A</sup>
	58	88 ± 22 <sup>a1A</sup>	63 ± 19 <sup>a1A</sup>	89 ± 23 <sup>a1A</sup>
SUBOXICA	0	74 ± 21 <sup>a1A</sup>	41 ± 6 <sup>a2A</sup>	74 ± 35 <sup>a1A</sup>
	15	57 ± 15 <sup>a1A</sup>	37 ± 29 <sup>a12A</sup>	77 ± 27 <sup>a1A</sup>
	58	99 ± 40 <sup>a1A</sup>	58 ± 10 <sup>b1A</sup>	74 ± 14 <sup>ab1A</sup>
OXICA	0	68 ± 18 <sup>a1A</sup>	33 ± 36 <sup>a1A</sup>	68 ± 7 <sup>a1A</sup>
	15	64 ± 29 <sup>ab1A</sup>	35 ± 15 <sup>b1A</sup>	81 ± 18 <sup>a1A</sup>
	58	74 ± 24 <sup>a1A</sup>	53 ± 18 <sup>a1A</sup>	100 ± 29 <sup>a1A</sup>

Distintas letras minúsculas dentro de una misma condición y tiempo, indican diferencias significativas entre las zonas de estudio. Diferentes números en la columna dentro de la misma condición, indican diferencias significativas entre los tiempos de incubación. Diferentes letras mayúsculas en la columna y dentro de un mismo tiempo, indican diferencias significativas entre las condiciones redox. Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

**Tabla 8.** Correlación de variables a lo largo del gradiente de perturbación en los tiempos 15 y 58 días de incubación.

Condición	Variables	Zonas		
		BP	BM	ZP
ANOXICA	Fe- pH	0,38	-0,30	0,57
	Fe- MO*	-0,07	0,23	0,41
	Fe- P	0,14	0,17	0,32
SUBOXICA	Fe- pH	<b>0,68</b>	0,48	0,37
	Fe- MO*	<b>-0,73</b>	0,41	0,10
	Fe- P	-0,13	0,54	0,08
OXICA	Fe- pH	0,40	-0,25	-0,40
	Fe- MO*	-0,23	0,54	0,38
	Fe- P	0,49	0,26	0,19

\* Materia Orgánica

Números en rojos indican correlaciones significativas

## 9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los suelos de los bosques húmedos tropicales son frecuentemente caracterizados por la dominancia de minerales ricos en Fe, alta velocidad de ciclaje de C y condiciones redox fluctuantes [75]. Los periodos de agotamiento de oxígeno en el suelo, acoplados a la alta disponibilidad de Fe y al insumo de C lábil, hacen de estos ecosistemas sitios idóneos para la reducción de Fe (III), la cual puede incrementar la solubilidad del P asociado con los óxidos de Fe [17].

En este estudio, el incremento ( $p < 0,05$ ) de pH y Fe (II) observado en las zonas BM y ZP a lo largo del período incubación en los tratamientos anóxicos y subóxicos, indica que bajo anaerobiosis o en condiciones de limitada disponibilidad de oxígeno, existen condiciones favorables para que en estas zonas la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) tome lugar. Contrario a esta tendencia, la falta de oxígeno en el suelo del BP no condujo a variación en ambos parámetros con respecto al suelo sujeto al tratamiento óxico, lo cual es indicativo de que el proceso se vió inhibido en esta zona del gradiente. Sin embargo, las correlaciones positiva y negativa entre el Fe- pH y Fe-MO respectivamente, que se obtuvieron para esta zona bajo condición suboxica no permiten asegurar que el proceso de reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) no ocurrió en el BP, al menos bajo limitado suministro de oxígeno.

En condiciones de limitada disponibilidad de oxígeno (subóxica) puede desarrollarse la actividad de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos, ambos pueden oxidar la materia orgánica y en consecuencia favorecer la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) [28, 76]. En cambio, bajo condiciones netamente anaeróbicas el proceso de reducción involucra bacterias anaeróbicas facultativas y bacterias anaeróbicas obligadas [7].

A lo largo del gradiente, la reducción microbiana del Fe (III) se vió mayormente favorecida en el BM que en la ZP y ésta a su vez que el BP bajo las condiciones anóxicas y subóxicas, esto puede ser atribuido a diferencias en el aporte de C lábil fresco. Es bien conocido que la reducción microbiana de los oxi-hidróxidos de Fe (III), es un proceso biótico y es consecuencia de la actividad de distintas bacterias reductoras de Fe, las cuales requieren de materia orgánica biodisponible como fuente de energía [10, 77]. En el BM los restos vegetales caen constantemente al suelo, debido a la extracción de madera realizada en esta área generando pulsos de C fresco; mientras que en ZP, este pulso fue generado en el año 1996, cuando la materia orgánica proveniente de la deforestación de los árboles fue dejada en el sitio.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la variación en los niveles de oxígeno en el suelo no parece haber tenido efecto sobre los niveles de materia orgánica en el suelo, ya que para las tres zonas de estudio se observó un incremento en este parámetro, independientemente de la condición redox establecida. El patrón de incremento observado a los 15 días de incubación, podría estar asociado con la rehidratación de los suelos, lo cual se ha indicado que induce la ruptura de las células microbianas liberando solutos intracelulares e incrementando de este modo el C lábil en el medio [78, 79]. El proceso de rehidratación también altera la estructura de los agregados, liberando así la materia orgánica que se encuentra físicamente protegida dentro de estas estructuras. Ambas, la biomasa y la materia orgánica, contribuyen con el incremento de las fuentes de C lábil durante el rehumedecimiento de los suelos [79].

En vista que los resultados mostraron un incremento muy alto en los niveles de materia orgánica en el suelo, es necesario su determinación a través de otro método analítico con la finalidad de descartar posibles errores e interferencias en el método aplicado en este estudio.



La ausencia de una variación estadísticamente significativa en la concentración de P en las tres zonas de estudio, a consecuencia de los cambios en el estado redox del suelo, así como la pérdida de relación entre el Fe (II) bioproducto y el P bajo los tratamientos con ausencia (anóxico) o limitada disponibilidad de oxígeno (suboxico), sugiere que la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) no favorece la movilización del P químicamente adsorbido a estas superficies minerales. Sin embargo, es importante recordar que el P puede sufrir reacciones secundarias que podrían estar enmascarando los resultados. Entre ellas destaca la readsorción de P por geles complejos de hidróxidos ferrosos ( $\text{Fe}(\text{OH})_2$ ), los cuales son generalmente amorfos [17] y con mayor área superficial que el compuesto férrico original [80] y la precipitación de la vivianita ( $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$ ) [11]. Esta última se descarta, debido a que en este estudio no se observó la presencia de un precipitado azul, característico de la formación de este mineral o un decrecimiento en el pH del suelo que indique su formación (reacción 11).

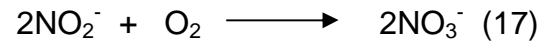
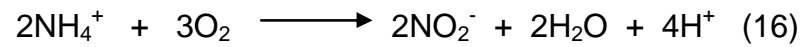
Otra posible explicación de la falta de vínculo entre la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) y el P, es que el proceso haya conducido principalmente a la liberación de P en forma orgánica, el cual no fue determinado en este estudio. Estudios como los de Peretyazhko y Sposito (2005) [16] y, Miller y col. (2001) [62] han observado que cuando la reducción microbiana de los oxi-hidróxidos de Fe (III) toma lugar, el P liberado es principalmente orgánico, puesto que la materia orgánica acumulada posee en su estructura sitios capaces de adsorber P [62].

La disminución de pH observada en todas las zonas del gradiente de perturbación cuando estuvieron sujetas al tratamiento óxico podría estar relacionada con la producción de protones  $\text{H}^+$  asociada al proceso de nitrificación (reacción 19 y 17) [2, 22, 81, 72]. En este estudio, la mineralización<sup>c</sup> del N pudo haber sido estimulada por la rehidratación de los suelos, lo cual genera el rompimiento de las células microbianas

---

<sup>c</sup> Es la transformación del N enlazado orgánicamente a formas minerales inorgánicas ( $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ ) [2].

[83, 84] liberando solutos intracelulares [85]. Estos sustratos lábiles de C y N pueden luego ser rápidamente mineralizados por los microbios sobrevivientes, produciendo un pulso de C y N [75]. Es importante mencionar que esta hipótesis no puede ser sustentada por los resultados obtenidos, para ello es necesario determinar la concentración de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , lo cual no forma parte de los objetivos de este estudio.



## 10. CONCLUSIONES

Los resultados en este estudio no permitieron comprobar la hipótesis de investigación, contrariamente se concluye que la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) está principalmente favorecida en las zonas perturbadas del gradiente (BM y ZP), probablemente como consecuencia de un mayor ingreso de C lábil fresco producto de la perturbación. Este patrón fue detectado cuando el suelo estuvo sujeto a limitada disponibilidad de oxígeno o anaerobiosis total.

Bajo condiciones de limitada disponibilidad de oxígeno (subóxica), la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) fue llevada a cabo por la actividad de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos, los cuales pueden oxidar la materia orgánica presente en los suelos del gradiente de perturbación y en consecuencia promover la reducción de Fe (III).

A pesar de tenerse evidencia de reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) en los sitios perturbados, el proceso no condujo a un incremento detectable en la concentración de P en el suelo, lo cual permite plantear la hipótesis de que el P liberado experimenta reacciones secundarias que enmascaran los resultados.

## 11. RECOMENDACIONES

- Determinar la concentración de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) como medida de la oxidación de la materia orgánica realizada por las bacterias durante el proceso de reducción del Fe (III).
- Establecer el efecto de las variaciones en la concentración de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , con el propósito de determinar si la mineralización del N conlleva a una disminución en el pH bajo condiciones óxicas.
- Estimar la actividad de fosfatasa ácida, ya que esta enzima es adsorbida por los minerales, humus y complejos organo-minerales, lo cual conduce a su desactivación, además participa en el proceso de mineralización del P.
- Determinar la materia orgánica a través de otro método con el propósito de comparar los resultados obtenidos, a fin de descartar posibles errores e interferencias en el método aplicado.
- Realizar la determinación del P orgánico, con la finalidad de comprobar si el P liberado durante el proceso de reducción del Fe (III) es principalmente orgánico.

## 12. BIBLIOGRAFIA

- [1] Smeck, N. (1985). Phosphorus dynamics in soils and landscapes. *Geoderma*, 36, 185-199.
- [2] Brady, N. C. y Weil, R. R. (1999). *The nature and properties of soils*. (12ava ed). USA: Prentice Hall.
- [3] Cross, A. F. y Schlesinger, W. H. (1995). A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma*, 64, 197-214.
- [4] Chacón, N., Dezzeo, N., Muñoz, B. y Rodríguez, J. M. (2005). Implications of soil organic carbon and the biogeochemistry of iron and aluminum on soil phosphorus distribution in flooded forests of the lower Orinoco River, Venezuela. *Biogeochemistry*, 73, 555-566.
- [5] Darke, A. K. y Walbridge, M. R. (2000). Al and Fe biogeochemistry in a floodplain forest: implications for P retention. *Biogeochemistry*, 51, 1-32.
- [6] Chacón, N., Dezzeo, N., Rangel, M y Flores, S. (2008). Seasonal changes in soil phosphorus dynamics and root mass along a flooded tropical forest gradient in the lower Orinoco River, Venezuela. *Biogeochemistry*, 87: 157-168.
- [7] Quantin, C., Becquer, T., Rouiller, J. H. y Berthelin, J. (2001). Oxide weathering and trace metal release by bacterial reduction in a New Caledonia Ferralsol. *Biogeochemistry*, 53, 323-340.

- [8] Szilas, C. P. Borggaard, O. K. y Hansen, H. C. B. (1998). Potential iron and phosphate mobilization during flooding of soil material. *Water, Air and Soil Pollution*, 106, 97-109.
- [9] Chacón, N., Flores, S. y González, A. (2006). Implications of iron solubilization on soil phosphorus release in seasonally flooded forest of the lower Orinoco River, Venezuela. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 1494-1499.
- [10] Baldwin, D. S. y Mitchell, A. M. (2000). The effects of drying and re-flooding on the sediment and soil nutrient dynamics of lowlands river-floodplain systems: a synthesis. *Regulated Rivers: Research & Management*, 16, 457-467.
- [11] Coleman, M. L., Hedrick, D., Lovley, D. R., White, D. C. y Pye, K. (1993). Reduction of Fe (III) in sediments by sulphate-reducing bacteria. *Nature*, 361, 436-438.
- [12] Zachara, J. M., Fredrickson, J. K., Li, S-M., Kennedy, D. W., Smith, S. C. y Gassman, P. L. (1998). Bacterial reduction of crystalline Fe<sup>3+</sup> oxides in single phase suspensions and subsurface materials. *American Mineralogist*, 83, 1426-1443.
- [13] Fredrickson, J. K., Zachara, J. M., Kennedy, D. W., Dong, H., Onstott, T. C., Hinman, N. y Li, S-M. (1998). Biogenic iron mineralization accompanying the dissimilatory reduction of hydrous ferric oxide by a groundwater bacterium. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62(19/20), 3239-3257.
- [14] Dong, H., Fredrickson, J. K., Kennedy, D. W., Zachara, J. M., Kukkadapu, R. K. y Onstott, T. C. (2000) Mineral transformation associated with the microbial reduction of magnetite. *Chemical Geology*, 169, 299-318.

- [15] Lovley, D. R., Coates, J. D., Blunt-Harris, E. L., Phillips, E. J. P. y Woodward, J. C. (1996) Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*, 382: 445-448.
- [16] Peretyazko, T. y Sposito, G. (2005). Iron (III) reduction and phosphorous solubilization in humid tropical forest soils. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(14), 3643-3652.
- [17] Chacón, N., Silver, W. L., Dubinsky, E. A. y Cusack, D. F. (2006). Iron reduction and soil phosphorus solubilization in humid tropical forests soils: the roles of labile carbon pools and an electron shuttle compound. *Biogeochemistry*, 78, 67-84.
- [18] Küsel, K., Wagner, C., Trinkwalter, T., Göbner, A. S., Bäuml, R. y Drake, H. L. (2002). Microbial reduction of Fe(III) and turnover of acetate in Hawaiian soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 40, 73-81.
- [19] Lozada, J. R., Moreno, J. y Suescun, R. (2003). Plantaciones en faja de enriquecimiento. Experiencias en 4 unidades de manejo forestal de la Guayana Venezolana. *Interciencia*, 28(10), 568-575.
- [20] Porder, S., Hilley, G., Chaves, J., Chacón, N. y Sanoja, E. (2007). Levantamiento, erosión y agotamiento de nutrientes en bosques tropicales. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.
- [21] Ochoa, J. (1997). Sensibilidades potenciales de una comunidad de mamíferos en un bosque productor de madera de la Guayana venezolana. *Interciencia*, 22(3), 112-122
- [22] Anderson, J. M. y Spencer, T. (1991). Carbon, nutrient and water balances of tropical rain forest ecosystems subject to disturbance. France: MAB Digest 7, 35-40 p.

- [23] Casanova, E. (2005). Introducción a la ciencia del suelo. (2da ed). Caracas: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad Central de Venezuela.
- [24] Vitousek, P. y Sanford, R. (1986). Nutrient cycling in moist tropical forest. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 17, 137-167.
- [25] López Hernández, I. (1977). La química del fósforo en suelos ácidos. Caracas: Ediciones de la Biblioteca de la Universidad Central de Venezuela.
- [26] Chacón, N. y Dezzeo, N. (2004). Phosphorus fractions and sorption processes in soil samples taken in a forest- savanna sequence of the Gran Sabana in southern Venezuela. *Biol. Fertil. Soils*, 40, 14-19.
- [27] Liptzin, D. y Silver, W. L. (2009). Effects of carbon additions on iron reduction and phosphorus availability in a humid tropical forest soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 41, 1696-1702.
- [28] González, E. (2009). Efecto de la simulación de los cambios redox del suelo sobre las relaciones Fe-C-P en un bosque de tierra firme de la Reserva Forestal de Imataca, Estado Bolívar. Trabajo Especial de Grado de Pregrado, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- [29] Buckman, H. O. y Brady, N. C. (1966). Naturaleza y propiedades de los suelos. Barcelona: Montaner y Simón, S. A. 450-463p.



- [30] Gómez, G. (2010). Funciones de distribución en equilibrios ácido-base [guía en línea]. Consultado el día 25 de marzo de 2010 en [http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/14.Funcionesdedistribucionacido-base\\_9196.pdf](http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/14.Funcionesdedistribucionacido-base_9196.pdf).
- [31] Meliton, A. (1995). Fundamentos de química de suelos. Caracas: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad Central de Venezuela. 252-262p.
- [32] Schlesinger, W. H. (1991). Biogeochemistry an analysis of global change. USA: Academic Press, Inc.
- [33] International plant nutrition institute [Online]. Consultado el 10 de enero de 2010 en <http://www.ppi.far.org/ppiweb/mexnca.nsf/~webindex>.
- [34] Huang, Q., Shindo, H. y Goh, T.B. (1995). Adsorption, activities and kinetics of acid phosphatase as influenced by montmorillonite with different interlayer material. *Soil Science*, 159(4), 271-278.
- [35] Rao, M. A., Gianfreda, L., Palmiero, F y Violante, A. (1996). Interactions of acid phosphatase with clay, organic molecules and organo- mineral complexes. *Soil Science*, 161(11), 751-760.
- [36] Dick, W. A. y Tabatabai, M. A. (1987). Kinetics and activities of phosphatase- clay complexes. *Soil Science*, 143, 5-15.
- [37] Chacón, N., Dezzeo, N. y Flores, S. (2005). Effect of particle- size distribution, soil organic carbon content and organo- mineral aluminium complexes on acid phosphatases of seasonally flooded forest soils. *Biol. Fertil. Soils*, 41, 69-72.

- [38] Shindo, H., Watanabe, D., Onaga, T., Urakawa, M., Nakahara, O. y Huang, Q. (2002). Adsorption, activity and kinetics of acid phosphatase as influenced by selected oxides and clay minerals. *Soil Sci.Plant Nutr.*, 48(5), 763-767.
- [39] Bohn, H., McNeal, B. y O'Connor, G. (1994). *Química del suelo*. (2da ed). Mexico: Editorial Limusa.
- [40] Schwertmann, U. y Latham, N. (1986). Properties of iron oxides in some New Caledonian oxisols. *Geoderma*, 39,105-123.
- [41] Richardson, C. J. (1985). Mechanisms controlling phosphorus retention capacity in freshwater wetland. *Science*, 228, 1424- 1427.
- [42] Gerke, J. y Hermann, R. (1992). Adsorption of orthophosphate to humic- Fe-complexes and to amorphous Fe- oxide. *Z. Pflanz. Bodenkunde*, 155, 233-236.
- [43] Baldwin, D. S. (1996). Effects of exposure to air and subsequent drying on the phosphate sorption characteristics of sediments from an eutrophic reservoir. *Limnol. Oceanogr.*, 41(8), 1725- 1732.
- [44] Ponnamperna, F. (1972). The chemistry of submerged soils. *Advances in Agronomy*, 24, 29-96.
- [45] Wikipedia [Online]. Consultado el 07 de junio de 2011 en <http://es.wikipedia.org/wiki/archaea>.
- [46] Biodiversidad mexicana [Online]. Consultado el 07 de junio de 2011 en [http://www.biodiversidad.gob.mx/especies/gra\\_familia/arque/arquea.html](http://www.biodiversidad.gob.mx/especies/gra_familia/arque/arquea.html)

- [47] Narteh, L. T. y Sahrawat, K. L. (1999). Influence of flooding on electrochemical and chemical properties of West African soils. *Geoderma*, 87, 179-207.
- [48] Lovley, D. R. y Phillips, E. J. P. (1987). Rapid assay for microbially reducible ferric iron in aquatic sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 1536- 1540.
- [49] Frenzel, P., Bosse, U. y Janssen, P. H. (1999). Rice roots and methanogenesis in a paddy soil: Ferric iron as an alternative electron acceptor in the rooted soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 31, 421-430.
- [50] Ratering, S. y Schnell, S. (2000). Localization of iron- reducing activity in paddy soil by profile studies. *Biogeochemistry*, 48, 341- 365.
- [51] Lovley, D. R. y Phillips, E. J. P. (1986). Organic matter mineralization with reduction of ferric iron in anaerobic sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 683- 689.
- [52] Roden, E. E. y Wetzel, R. G. (1996) Organic carbon oxidation and suppression of methane production by microbial Fe (III) oxide reduction in vegetated and unvegetated freshwater wetland sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 41, 1733-1748.
- [53] Lovley, D. R. (1997). Microbial Fe (III) reduction in subsurface environments. *FEMS Microbiol. Rev.*, 20, 305- 313.
- [54] Royer, R. A., Burgos, W. D., Fisher, A. S., Unz, R. F. y Dempsey, B. A. (2002). Enhancement of biological reduction of hematite by electron shuttling and Fe (II) complexation. *Environ. Sci. Technol.*, 36, 1939- 1946.

- [55] Coates, J. D., Cole, K. A., Chakraborty, R., O'Connor, S. M. y Achenbach, L. A. (2002). Diversity and ubiquity of bacteria capable of utilizing humic substances as electron donors for anaerobic respiration. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 2445- 2452.
- [56] Scott, D. T., McKnight, D. M., Blunt-Harris, E. L., Kolesar, S. E. y Lovley, D. R. (1998). Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics- reducing microorganisms. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 2984- 2989.
- [57] Struyk, Z. y Sposito, G. (2001). Redox properties of standard humic acids. *Geoderma*, 102, 329- 346.
- [58] Chen, J., Gu, B. H., Royer, R. A. y Burgos, W. D. (2003) The roles of natural organic matter in chemical and microbial reduction of ferric iron. *Sci. Total Environ.*, 307, 167- 178.
- [59] Nevin, K. P. y Lovley, D. R. (2000). Potential for nonenzymatic reduction of Fe (III) via electron shuttling in subsurface sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 2472-2478.
- [60] Lovley, D. R., Fraga, J. L., Blunt- Harris, E. L., Hayes, L. A., Phillips, E. J. P. y Coates, J. D. (1998). Humic substances as a mediator for microbially catalyzed metal reduction. *Acta Hydrochim. Hyrobiol.*, 26, 152- 157.
- [61] Lovley, D. R., Kashefi, K., Vargas, M., Tor, J. M. y Blunt- Harris, E. L. (2000). Reduction of humic substances and Fe (III) by hyperthermophilic microorganisms. *Chemical Geology*, 169, 289-298.
- [62] Miller, A.J., Schuur, E. y Chadwick, O.A. (2001). Redox control of phosphorus pools in Hawaiian montane forest soils. *Geoderma*, 102, 219-237.

- [63] Ferrando, M., Mercado, G. y Hernández, J. (2002) Dinámica del hierro y disponibilidad de fósforo durante períodos cortos de anaerobiosis en los suelos. *Agrociencia*, VI (1), 1-9.
- [64] Fimmen, R. L., Richter, D., Vasudevan, D., Williams, M. A. y Wets, L. T. (2008). Rhizogenic Fe-C redox cycling: a hypothetical biogeochemical mechanism that drives crustal weathering in upland soils. *Biogeochemistry*, 87, 127- 141.
- [65] BirdLife International [Online]. Consultado el 27 de octubre de 2010 en <http://www.birdlife.org/datazone/species/index.html?action=SitHTMDetails.asp&sid=14944&m=0>.
- [66] BirdLife International [Online]. Consultado el 27 de octubre de 2010 en <http://www.birdlife.info/neotropical/sitefactsheet.asp?sid=14944>.
- [67] González de Juana, C., Piccard, X. y Pimentel, N. (1980). *Geología de Venezuela y de sus cuencas petrolíferas*, Tomo I. Caracas: Ediciones Foninves, 33-85p.
- [68] PDVSA [Online]. Consultado el 27 de octubre de 2010 en <http://www.pdvsa.com/lexico/i3w.htm>.
- [69] PDVSA [Online]. Consultado el 27 de octubre de 2010 en <http://www.pdvsa.com/lexico/excursio/exc-gp90.htm>.
- [70] PDVSA [Online]. Consultado el 27 de octubre de 2010 en <http://www.pdvsa.com/lexico/r45w.htm>.
- [71] Wikipedia [Online]. Consultado el 07 de junio de 2011 en [http://es.wikipedia.org/wiki/tabebuia\\_inpetiginosa](http://es.wikipedia.org/wiki/tabebuia_inpetiginosa).

[72] Walkley A. y Black, A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37, 29-38.

[73] Murphy J. y Riley J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 27, 31-36.

[74] Stookey, L. (1970). Ferrozine- A new spectrophotometric reagent for iron. *Anal. Chem.*, 42, 779-781.

[75] Silver, W. Lugo, A. E. y Keller, M. (1999). Soil oxygen availability and biogeochemistry along rainfall and topographic gradients in upland wet tropical forest soils. *Biogeochemistry*, 44, 301-328.

[76] DeAngelis, K. M., Silver, W. L., Thompson, A. W. y Firestone, M. K. (2010). Microbial communities acclimate to recurring changes in soil redox potential status. *Environmental Microbiology*, 12 (12), 3137–3149.

[77] Hunter, K., Wang, Y. y Cappellen, P. (1998). Kinetic modeling of microbially- driven redox chemistry of subsurface environments: coupling transport, microbial metabolism and geochemistry. *Journal of Hydrology*, 209, 53-80.

[78] Kieft, T. L., Soroker, E. y Firestone, M. K. (1987). Microbial biomass response to a rapid increase in water potential when dry soil is wetted. *Soil Biology & Biochemistry*, 19, 119- 126.

- [79] Fierer, N. y Schimel, J. P. (2003). A proposed mechanism for the pulse in carbon dioxide production commonly observed following the rapid rewetting of a dry soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 67, 798- 805.
- [80] Holford, I. C. R. y Patrick, W. H. (1981). Effects of duration of anaerobiosis and reoxidation on phosphate sorption characteristics of an acid soil. *Aust. J. Soil Res.*, 19, 69- 78.
- [81] Tate, R. L. (1995). *Soil Microbiology*. USA: John Wiley & Sons, INC. 254-282p.
- [82] FitzPatrick, E. A. (1974). *An introduction to soil science*. USA: Oliver & Boyd. 74-76p.
- [83] Bottner, P. (1985). Response of microbial biomass to alternate moist and dry conditions in a soil incubated with  $^{14}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  labelled plant material. *Soil Biology & Biochemistry*, 17, 329- 337.
- [84] Van Gestel, M., Ladd, J., Amato, M. (1992). Microbial biomass responses to seasonal change and imposed drying regimes at increasing depths of undisturbed topsoil profiles. *Soil Biology & Biochemistry*, 24, 103-111.
- [85] Halverson, L. J., Jones, T. M., Fireston, M. K. (2000). Release of intracellular solutes by four soil bacteria exposed to dilution stress. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 64, 1630-1637.

### 13. APÉNDICES

#### 13.1. Cálculos para la determinación del porcentaje de materia orgánica

$$\% \text{ MO} = 10 \times N \left[ 1 - \frac{T}{S} \right] \times \frac{12}{4000} \times \frac{1,72}{0,77} \times \frac{100}{W}$$

Donde,

$10 \times N = \text{mL} \times N (\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) = 10 \times 1$

T= Volumen de solución ferrosa 0,5M gastado por la muestra

S= Volumen de solución ferrosa 0,5M gastado por el blanco

W= masa de la muestra

$12/4000 =$  peso meq del carbono

0,77= factor de recuperación del 77% del carbono hallado por Walkley y Black

Simplificando:

$$\% \text{ MO} = \frac{\left[ 1 - \frac{T}{S} \right] \times 6,70}{W}$$

#### 13.2. Cálculos para la determinación de la humedad

$$\text{Humedad} = \frac{\text{Masa de agua}}{\text{Masa de suelo húmedo}}$$



Donde,

Masa de agua = masa de suelo húmedo – masa de suelo seco

La determinación de la humedad fue necesaria para conocer el peso seco de cada una de las alícuotas de la suspensión del suelo que se tomaron para los diferentes análisis, cuya determinación fue realizada mediante la siguiente fórmula.

$$\text{Peso seco} = Ph (1 - H)$$

Donde,

Ph = peso húmedo de la alícuota de la suspensión del suelo

H = humedad

### 13.3. Cálculos para la determinación de la concentración de P inorgánico y Fe (II)

$$C = A \times \left[ \frac{V_a}{V_b} \right] \times V_c \times \left[ \frac{1}{P_s} \right]$$

Donde,

C= concentración del elemento

A= concentración obtenida a partir de la curva de calibración

Va= volumen del balón aforado (50 mL)

Vb= volumen tomado del extracto ácido

Ps= peso seco de la alícuota de la suspensión del suelo

**13.4. Resultados de los análisis químicos de cada una de las muestras de campo tomadas para las zonas del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación bajo diferentes concentraciones de oxígeno (anóxica, subóxica y óxica)**

**Tabla 9.** Variaciones del pH, materia orgánica (%), Fe (II) (mg/Kg) y P inorgánico (mg/Kg) de cada una de las muestras de campo tomadas para las diferentes zonas del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación bajo tratamiento anóxico.

Tiempo (días)	Zonas	Muestras	pH	MO <sup>a</sup>	Fe(II)	P inorg <sup>b</sup>
0	BP	1	5,7	NM	966	50
		2	5,8	NM	838	41
		3	5,1	2,9	1487	38
		4	5,2	2,2	767	NM
		5	5,0	2,8	895	116
	BM	6	5,6	1,8	902	16
		7	5,4	2,6	1819	30
		8	5,2	2,1	1768	17
		9	5,6	3,0	1372	26
		10	5,7	2,7	1828	97
	ZP	11	5,2	2,2	1237	76
		12	5,2	2,7	1000	88
		13	5,8	2,6	2259	96
		14	5,7	2,7	811	44
		15	4,9	3,9	1911	67
15	BP	1	6,7	4,5	1645	53
		2	6,3	4,1	1126	77
		3	5,9	4,3	612	60
		4	4,9	5,6	839	46
		5	4,3	8,6	774	NM

Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

<sup>a</sup> Materia orgánica, <sup>b</sup> P inorgánico.

NM no se midió este parámetro para esta muestra y por lo tanto no se tomó en cuenta para calcular el promedio y la desviación estándar.

**Tabla 9.** Variaciones del pH, materia orgánica (%), Fe (II) (mg/Kg) y P inorgánico (mg/Kg) de cada una de las muestras de campo tomadas para las diferentes zonas del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación bajo tratamiento anóxico (continuación).

Tiempo (días)	Zonas	Muestras	pH	MO <sup>a</sup>	Fe(II)	P inorg <sup>b</sup>	
15	BM	6	5,9	6,9	2951	34	
		7	5,6	4,9	2792	36	
		8	5,9	6,9	2375	39	
		9	5,0	6,2	3176	46	
		10	6,1	7,0	3009	22	
	ZP	11	5,8	5,9	2249	109	
		12	5,6	4,6	1560	44	
		13	6,0	6,0	2050	73	
		14	6,2	5,2	1653	105	
		15	6,2	9,0	2706	68	
58	BP	1	6,4	3,2	2097	99	
		2	6,2	4,1	1932	72	
		3	5,9	4,6	785	68	
		4	4,9	8,1	2187	NM	
		5	5,1	5,2	726	114	
	BM	6	6,4	5,9	2726	48	
		7	6,1	4,6	2753	69	
		8	6,1	5,4	1869	43	
		9	6,3	6,0	3101	90	
		10	6,6	5,7	2717	65	
		ZP	11	6,4	5,5	2573	82
			12	6,6	6,2	2772	115
			13	6,5	6,8	3342	72
			14	6,7	4,9	2576	65
			15	6,3	6,2	4157	109

Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

<sup>a</sup> Materia orgánica, <sup>b</sup> P inorgánico.

NM no se midió este parámetro para esta muestra y por lo tanto no se tomo en cuenta para calcular el promedio y la desviación estándar.

**Tabla 10.** Variaciones del pH, materia orgánica (%), Fe (II) (mg/Kg) y P inorgánico (mg/Kg) de cada una de las muestras de campo tomadas para las diferentes zonas del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación bajo tratamiento subóxico.

Tiempo (días)	Zonas	Muestras	pH	MO <sup>a</sup>	Fe(II)	P inorg <sup>b</sup>
0	BP	1	5,3	2,1	1574	59
		2	5,8	2,9	966	62
		3	5,2	NM	862	109
		4	5,2	3,6	492	74
		5	5,3	1,5	404	64
	BM	6	5,6	2,1	1150	36
		7	5,3	2,6	1539	48
		8	5,7	2,1	1470	42
		9	5,4	4,4	1719	45
		10	5,8	2,4	1878	36
	ZP	11	5,2	3,9	1226	44
		12	5,3	1,7	890	56
		13	6,0	2,8	2794	82
		14	5,0	1,6	841	57
		15	5,4	3,8	2231	133
15	BP	1	5,6	4,5	1427	44
		2	5,8	3,6	1040	42
		3	5,5	5,5	911	71
		4	5,6	4,4	585	54
		5	5,1	6,9	387	74
	BM	6	6,0	5,7	1603	21
		7	5,5	3,0	1473	10
		8	5,8	6,7	1708	22
		9	5,6	6,8	2368	82
		10	6,0	7,0	1933	49

Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

<sup>a</sup> Materia orgánica, <sup>b</sup> P inorgánico.

NM no se midió este parámetro para esta muestra y por lo tanto no se tomo en cuenta para calcular el promedio y la desviación estándar.

**Tabla 10.** Variaciones del pH, materia orgánica (%), Fe (II) (mg/Kg) y P inorgánico (mg/Kg) de cada una de las muestras de campo tomadas para las diferentes zonas del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación bajo tratamiento subóxico (continuación).

<b>Tiempo (días)</b>	<b>Zonas</b>	<b>Muestras</b>	<b>pH</b>	<b>MO<sup>a</sup></b>	<b>Fe(II)</b>	<b>P inorg<sup>b</sup></b>
<b>15</b>	<b>ZP</b>	11	5,7	5,7	1901	93
		12	5,6	8,5	1863	53
		13	6,1	6,9	1802	57
		14	6,2	6,3	1573	115
		15	5,4	6,0	2602	65
<b>58</b>	<b>BP</b>	1	6,5	1,9	1556	97
		2	6,2	3,0	1346	64
		3	6,1	3,9	785	155
		4	5,0	5,1	720	78
		5	5,2	6,8	803	NM
	<b>BM</b>	6	6,5	4,6	2521	56
		7	6,3	6,3	2106	59
		8	6,2	4,5	1897	53
		9	6,3	6,9	3057	49
		10	6,4	4,9	1920	74
	<b>ZP</b>	11	6,4	4,7	3224	74
		12	6,5	3,7	1921	51
		13	6,5	8,0	3676	90
		14	6,6	5,3	2880	80
		15	6,4	2,9	2076	76

Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

<sup>a</sup> Materia orgánica, <sup>b</sup> P inorgánico.

NM no se midió este parámetro para esta muestra y por lo tanto no se tomo en cuenta para calcular el promedio y la desviación estándar.

**Tabla 11.** Variaciones del pH, materia orgánica (%), Fe (II) (mg/Kg) y P inorgánico (mg/Kg) de cada una de las muestras de campo tomadas para las diferentes zonas del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación bajo tratamiento óxico.

Tiempo (días)	Zonas	Muestras	pH	MO <sup>a</sup>	Fe(II)	P inorg <sup>b</sup>
0	BP	1	5,9	0,8	1866	58
		2	5,6	1,8	1491	65
		3	5,5	NM	388	87
		4	5,1	3,7	1092	85
		5	5,0	2,3	380	46
	BM	6	5,7	2,5	1245	87
		7	5,2	2,6	1533	17
		8	5,3	1,9	1380	18
		9	5,4	4,0	1874	NM
		10	5,8	2,0	1294	11
	ZP	11	5,3	3,9	1608	76
		12	5,3	2,3	1280	69
		13	5,6	3,2	NM	NM
		14	5,8	2,1	1162	59
		15	5,1	2,2	1206	67
15	BP	1	5,7	4,7	1248	51
		2	5,8	5,9	1579	86
		3	5,4	7,4	1321	90
		4	5,0	6,4	352	20
		5	5,0	7,2	294	71
	BM	6	5,0	6,1	1369	50
		7	5,1	3,3	1969	51
		8	5,6	4,4	821	20
		9	5,2	7,2	2254	24
		10	5,7	7,1	1888	28

Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

<sup>a</sup> Materia orgánica, <sup>b</sup> P inorgánico.

NM no se midió este parámetro para esta muestra y por lo tanto no se tomo en cuenta para calcular el promedio y la desviación estándar.

**Tabla 11.** Variaciones del pH, materia orgánica (%), Fe (II) (mg/Kg) y P inorgánico (mg/Kg) de cada una de las muestras de campo tomadas para las diferentes zonas del gradiente de perturbación durante el tiempo de incubación bajo tratamiento óxico (continuación).

Tiempo (días)	Zonas	Muestras	pH	MO <sup>a</sup>	Fe(II)	P inorg <sup>b</sup>
15	ZP	11	5,2	6,5	1520	109
		12	5,1	7,0	1338	76
		13	5,8	6,0	1353	90
		14	5,7	5,1	664	71
		15	4,9	7,9	2104	61
58	BP	1	5,0	2,4	1522	97
		2	4,5	5,0	1426	52
		3	4,4	1,8	678	55
		4	4,9	5,8	856	93
		5	4,9	6,9	NM	NM
	BM	6	4,7	4,7	1349	ND
		7	4,7	5,3	2001	29
		8	4,6	4,7	1051	66
		9	4,5	5,6	2325	47
		10	4,7	7,1	3034	70
	ZP	11	4,6	5,6	1466	66
		12	4,3	5,3	1464	79
		13	4,7	4,9	1390	98
		14	4,9	6,9	1261	135
		15	4,9	6,0	2502	120

Bosque prístino (BP), bosque con manejo moderado (BM) y, zona completamente deforestada y posteriormente plantada (ZP).

<sup>a</sup> Materia orgánica, <sup>b</sup> P inorgánico.

NM no se midió este parámetro para esta muestra y por lo tanto no se tomo en cuenta para calcular el promedio y la desviación estándar.