

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE GEOQUÍMICA



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
presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela
por la Br. Erika Yelisbeth González
Díaz como requisito para aprobar la
asignatura Proyecto Geoquímico II
y optar al Título de Licenciada en
Geoquímica.**

Caracas, Septiembre 2009

ACTA

Los abajo firmantes, designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del Jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: “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 ” presentado por la Br. Erika Yelisbeth González Díaz, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar al título de Licenciado en Geoquímica.

Dra. Noemí Chacón

Tutora

Prof. Armando Ramírez

Tutor

Prof.^a. Raiza Fernández

Jurado

Prof. William Meléndez

Jurado

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres Héctor Luis González Cartaya y Hilva Noemí Díaz Guillen, por su apoyo incondicional que me permitió culminar satisfactoriamente la Licenciatura en Geoquímica.

Su apoyo no sólo fue monetario, sino también un apoyo moral, que me permitió seguir adelante en los momentos más difíciles de esta carrera. Gracias por su paciencia y por inculcarme que es necesario estudiar y profesionalizarse para seguir adelante y así garantizar mi futuro y por supuesto el de ustedes. Por lo tanto, ahora me comprometo a retribuirles todo su esfuerzo y a seguir creciendo intelectualmente, y no conformarme con los conocimientos que he adquirido hasta éste momento.

Los amo mucho y espero que estén tan orgullosos de mi como yo lo estoy de ustedes.

AGRADECIMIENTOS

Mis sinceros agradecimientos están dirigidos principalmente a la Universidad Central de Venezuela, primera casa de estudio del país, específicamente al Instituto de Ciencias de la Tierra de la Facultad de Ciencias, por brindarme los conocimientos que me permitieron realizar dicho trabajo. A mis compañeros de clases: Jhonny Quevedo, Mariela Hernández, Virginia Rojas y María Emilia Rodríguez, los cuales, me apoyaron y facilitaron en muchísimas ocasiones la comprensión de diversos temas durante el desarrollo de la carrera que me permitieron avanzar en cada uno de los semestres y me dieron fortaleza para seguir adelante en los momentos más difíciles. Gracias a todos por ser tan especiales, les deseo un futuro lleno de mucha salud y éxitos en su vida profesional, el cual, veo garantizado, puesto que cuando alguien tiene la buena fe de servir a los demás, así como ustedes lo demostraron hacia mí, éstas buenas acciones se retribuyen y se multiplican.

También agradezco al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas por brindarme la oportunidad de realizar mi Proyecto Geoquímico en tan prestigiosa institución. A mi tutora, la Doctora Noemí Chacón por abrirme las puertas de su laboratorio y suministrar todos los recursos necesarios para el desarrollo de la parte experimental del proyecto. Igualmente le agradezco su paciencia y humildad para orientarme a la comprensión del tema propuesto y guiarme en cada una de las etapas del trabajo de investigación. Además agradezco a mi tutor el Profesor Armando Ramírez por cada uno de los aportes realizados para el desarrollo y finalización adecuada del Proyecto Geoquímico.

También es necesario destacar al personal que labora en el laboratorio de Ecología de Suelos del IVIC: Diana Benzo, Maiella Rangel, Belkis García, Isandra Ángel y Mildred Ascanio, puesto que me ayudaron en el desarrollo experimental, sirviéndome de guía para la operación de distintos equipos y reactivos necesarios para realizar las distintas determinaciones planteadas en este trabajo.

RESUMEN

El fósforo (P) es uno de los principales nutrientes limitantes de la productividad primaria neta, en los suelos de bosques húmedos tropicales, altamente meteorizados. La alta humedad prevaleciente, acoplada a un importante contenido de materia orgánica y arcilla en el suelo, puede resultar en fluctuaciones del potencial redox, lo cual, puede conducir a la reducción microbiana de los óxidos de hierro (Fe) y la subsiguiente liberación de P a la solución del suelo. En este estudio se desarrolló un experimento de laboratorio simulando condiciones variadas en el potencial redox del suelo, con la finalidad de observar el efecto de estas variaciones en las relaciones Fe-C-P en un suelo de bosque húmedo tropical de la Reserva Forestal de Imataca. Los resultados mostraron que en treinta días de incubación la condición estrictamente anóxica no conduce a la reducción bacteriana de Fe y liberación de P, probablemente debido a limitaciones en la biodisponibilidad de carbono orgánico (CO orgánico lábil). La suplencia de oxígeno (O_2) en pequeñas cantidades promueve la reducción de Fe (III) con la consecuente liberación del P asociado. La mayor eficiencia bajo estas condiciones puede deberse a dos factores (i) que ocurra un incremento en la eficiencia de oxidación de la materia orgánica debido a que 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, promoviéndose así la reducción bacteriana de los óxidos de Fe(III).

PALABRAS CLAVES: suelos altamente meteorizados, potencial redox del suelo, reducción bacteriana de Fe, liberación de fósforo, organismos aeróbicos, organismos anaeróbicos, carbono orgánico lábil.

ÍNDICE DE TEMAS

CONTENIDO	PÁGINAS
Introducción	1
Objetivo General	3
Objetivos Específicos	3
Justificación	4
Fundamento Teórico	6
Ciclo global del P	6
Biogeoquímica del P en suelos ácidos	7
Factores que controlan la movilidad del P en el suelo	8
Implicaciones del cambio en el potencial redox del suelo en la dinámica del P	13
Reducción microbiana de los óxidos de Fe	15
Mecanismos de reacción	16
Reacciones secundarias del Fe(II) y el P	17
Antecedentes	19
Antecedentes Nacionales	19
Antecedentes Internacionales	20
Marco Geológico	25
Área de estudio	25
Litología	26
Tipos de suelos	26
Colección de las muestras	27
Acceso al área	28

Metodología Experimental	29
Sistemas de Incubación	30
Determinación de Fe(II) y P extraíble con ácido clorhídrico 0,5N	31
Método de la ferrozina para la determinación de Fe(II)	31
Determinación de Fe y P extraíble con oxalato de amonio	32
Método colorimétrico para la determinación de P	33
Determinación del carbono orgánico del suelo	36
Determinación del pH del suelo	37
Resultados	38
Perfil 1	38
Perfil 2	41
Comparación de la dinámica del Fe y P entre los distintos perfiles de suelos estudiados	44
Discusión de los resultados	47
Efecto de las variaciones redox del suelo en la dinámica del Fe y P	47
Conclusiones	50
Recomendaciones	51
Referencias Bibliográficas	52
Apéndices	56

ÍNDICE DE TABLA

TABLAS	PÁGINAS
Tabla 1. Tipos de suelos de la Reserva Forestal de Imataca	27
Tabla 2. Variaciones de pH obtenidas para los horizontes A y B, correspondientes al perfil 1.	44
Tabla 3. Variaciones de pH obtenidas para los horizontes A y B, correspondientes al perfil 2.	45
Tabla 4. Variaciones del %MO obtenidas para los horizontes A y B, correspondientes al perfil 1.	45
Tabla 5. Variaciones del %MO obtenidas para los horizontes A y B, correspondientes al perfil 2.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURAS	PÁGINAS
Figura 1. Ubicación de la Reserva Forestal de Imataca en la República Bolivariana de Venezuela	25
Figura 2. Cámara anaeróbica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC)	30
Figura 3. Espectro UV-Visible del complejo azul de fosfomolibdato, formado con una solución de concentración 5 mg de P /L.	34
Figura 4. Concentraciones de Fe y P correspondientes al horizonte A del perfil 1, obtenidas en el extracto de oxalato de amonio 0,2M (a y b) y HCl 0,5M (c y d) en los distintos tratamientos y períodos de incubación.	39
Figura 5. Concentraciones de Fe y P correspondientes al horizonte B del perfil 1, obtenidas en el extracto de oxalato de amonio 0,2M (a y b) y HCl 0,5M (c y d) en los distintos tratamientos y períodos de incubación.	40
Figura 6. Concentraciones de Fe y P correspondientes al horizonte A del perfil 2, obtenidas en el extracto de oxalato de amonio 0,2M (a y b) y HCl 0,5M (c y d) en los distintos tratamientos y períodos de incubación.	42
Figura 7. Concentraciones de Fe y P correspondientes al horizonte B del perfil 2, obtenidas en el extracto de oxalato de amonio 0,2M (a y b) y HCl 0,5M (c y d) en los distintos tratamientos y períodos de incubación.	43

INTRODUCCIÓN

Los suelos de bosque húmedos tropicales son ácidos, altamente meteorizados, y frecuentemente caracterizados por la dominancia de minerales ricos en Fe, alta velocidad de ciclaje de carbono (C) y condiciones redox fluctuantes (Chacón *et al.*, 2006 b). En los suelos de los bosques húmedos tropicales, el P es uno de los principales nutrientes limitante de la productividad primaria neta (Vitousek y Sanford 1986). La meteorización de minerales primarios suministra P soluble que posteriormente es incorporado a la biomasa y materia orgánica del suelo, o por el contrario se pierde de la fuente biodisponible por lixiviación y otra parte a través de la formación de fosfatos insolubles de Fe y aluminio (Al) o sorción por oxi-hidróxidos de Fe (López-Hernández 1977; De Mello *et al.*, 1998; Miller *et al.*, 2001).

Bajo condiciones de reducción se han propuesto varios mecanismos que podrían resultar en la liberación de P desde el reservorio geoquímico, los cuales incluyen la reducción de fosfatos de Fe^{+3} , disolución e hidrólisis de fosfatos de Fe y Al y liberación de fosfatos asociados a las arcillas (Ponnamperuma 1972; Baldwin y Mitchell 2000, Chacón *et al.*, 2005).

En los suelos anaeróbicos, la reducción de los oxi-hidróxidos de Fe es principalmente biótica y es atribuida a la actividad de distintas bacterias reductoras de Fe que acoplado a la oxidación del C orgánico reducen el Fe (III) (Baldwin y Mitchell 2000). Estas bacterias pueden reducir el Fe(III) por contacto directo entre el organismo y la superficie del óxido o por mecanismos indirectos que no involucran contacto. Estos últimos incluyen transportadores de electrones y complejos solubles de Fe (III) con su subsiguiente reducción (Nevin y Lovley 2002a, b). Cuando el contenido de C orgánico del suelo es alto, las sustancias húmicas aumentan la reducción del Fe (III) porque actúan como transportadores de electrones en el proceso de transferencia de electrones extracelular entre las células bacterianas y los oxi-hidróxidos de Fe (Peretyazhko y Sposito 2005).

El Fe (II) producido por la disolución microbiana sufre complejas transformaciones químicas secundarias. Junto con la formación de complejos de Fe (II) acuoso y la adsorción de Fe (II) en la superficie de los óxidos y células de las bacterias, ocurre la precipitación de minerales secundarios con Fe (II) tales como: siderita (FeCO_3), vivianita ($\text{Fe}^{+3}(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) y magnetita (Fe_3O_4) (Fredrickson *et al.* 1998, Zachara *et al.*, 1998, Chacón *et al.*, 2006 a,b). La formación de estas fases secundarias de Fe (II) está influenciada por la presencia de P soluble,

composición atmosférica, pH, temperatura, tiempo y especies de bacterias presentes (Zachara *et al.*, 1998).

En suelos anaeróbicos la reducción microbiana de los óxidos de Fe acoplada a la oxidación de la materia orgánica, se ha indicado como uno de los principales mecanismos que conduce a incrementar la biodisponibilidad de P en este tipo de ambientes, sin embargo, poco es conocido sobre los mecanismos que controlan las relaciones Fe-C-P cuando el suelo experimenta variaciones en el potencial redox lo cual incluye estados oxicos, sub-oxicos y anoxicos.

En este estudio se desarrolló un experimento de laboratorio simulando condiciones variadas en el potencial redox del suelo, con la finalidad de observar el efecto de estas variaciones en las relaciones Fe-C-P en un suelo de bosque húmedo tropical de la Reserva Forestal de Imataca. Se espera que una condición sub-óxica del suelo pueda conducir a una mayor oxidación de la materia orgánica, debido a que bajo esta condición del suelo, los microorganismos tanto aeróbicos como anaeróbicos podrían desarrollar actividad. La actividad de ambos grupos de microorganismos puede por una parte promover la liberación de P desde el componente orgánico y por la otra inducir la reducción microbiana de los óxidos de Fe con la consecuente liberación de P desde el reservorio geoquímico.

También se estudió la variación en la relación de Fe-C-P bajo la alternancia de condiciones óxicas-anóxicas, con la finalidad de determinar si los organismos presentes en el suelo tienen la capacidad de adaptarse a las nuevas condiciones o por el contrario si tal situación conduce a la muerte de los microorganismos, incrementando con ello el reservorio de C lábil en el suelo, lo cual servirá de fuente de energía para los microorganismos que prevalezcan.

Para la realización exitosa de tal fin se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General:

- ✓ Determinar bajo condiciones de laboratorio la influencia de las variaciones del potencial redox del suelo sobre las relaciones Fe-C-P de un bosque de tierra firme desarrollado sobre suelos ácidos altamente meteorizados.

Objetivos Específicos

- ✓ Determinar la bioproducción de Fe (II) y P liberado en la solución del suelo bajo diferentes condiciones redox del suelo.
- ✓ Estudiar las posibles reacciones secundarias de Fe (II) y P, en los tratamientos con deficiencia de oxígeno.
- ✓ Analizar los cambios en el contenido de C orgánico total, generados como consecuencia de la reducción de los óxidos Fe.
- ✓ Determinar las variaciones de pH como consecuencia de la reducción de los óxidos Fe.

JUSTIFICACIÓN

El P es considerado un macroelemento, puesto que las plantas lo requieren en cantidades relativamente altas para cumplir con su normal crecimiento. La presencia de P es fundamental en los procesos de floración y fructificación de las plantas, incluyendo la formación de semillas y desarrollo de las raíces (Casanova 2005). El P es un macronutriente esencial para las actividades biológicas como un componente del ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN), adenosín trifosfato (ATP) y fosfolípidos y se ha observado que limita la productividad de una amplia gama de ecosistemas (Miller *et al.*, 2001).

En los suelos del trópico húmedo altamente meteorizados, el P es considerado como uno de los principales nutrientes limitante de la productividad primaria neta (Vitousek y Sanford 1986), debido al agotamiento de los minerales primarios como el apatito, a la formación de fosfatos de Fe y Al de baja solubilidad y a la oclusión de P en minerales de Fe secundarios (López-Hernández 1977). En suelos ácidos, los óxidos de Fe y Al cristalinos y amorfos son considerados los principales adsorbentes de los fosfatos en solución (López-Hernández 1977; Parfitt 1978). Sin embargo, los óxidos amorfos tienen el control en las reacciones de adsorción del P, debido a su gran área superficial específica (Parfitt 1989).

Hasta hace poco se pensaba que la productividad de los bosques que son desarrollados en este tipo de suelo, obtenían el P a partir de la mineralización de la materia orgánica. Sin embargo, los procesos biológicos y geoquímicos juegan un importante papel en la disponibilidad del P en los suelos de bosques húmedos tropicales (Chacón *et al.*, 2006 b).

En la zona sur de Venezuela y la Guayana, donde se ubica la Reserva Forestal de Imataca, se encuentra una gran parte de los bosques húmedos tropicales del país, junto a las principales reservas hidrográficas. Estos bosques se caracterizan por presentar variables y fluctuantes condiciones redox, puesto que es una zona de alta pluviosidad, donde llueve en mayor o menor medida durante todo el año, lo que conduce a la saturación del suelo lo cual a su vez conlleva a que se produzcan episodios de anaerobiosis (Silver *et al.*, 1999).

En experimentos de laboratorio se ha demostrado que estos episodios anaeróbicos conducen a la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III), acoplado a la oxidación del C orgánico, con la consecuente liberación de P (Baldwin y Mitchell 2000). Al retornar las condiciones de oxidación, el Fe precipita bajo la forma de óxidos de alta capacidad de reaccionar con los iones fosfato,

disminuyendo su solubilidad y por consiguiente su disponibilidad para las plantas (Ferrando *et al.*, 2002). Sin embargo, podría existir un estado intermedio que conduzca a una situación más favorable, donde ambos los microorganismos anaeróbicos y aeróbicos podrían estar actuando simultáneamente sobre el sustrato orgánico. Por esta razón, se realizará un experimento de laboratorio simulando condiciones subóxicas, donde se espera que la actividad de ambos grupos de microorganismos pueda por una parte promover la liberación de P desde el componente orgánico y por la otra inducir la reducción microbiana de los óxidos de Fe con la consecuente liberación de P desde el reservorio geoquímico.

El análisis de las relaciones Fe-C-P bajo la alternancia de condiciones óxicas-anóxicas permitirá determinar si los organismos presentes en el suelo, tienen la capacidad de adaptarse a las variaciones del potencial redox del suelo, propia de los bosques húmedos tropicales (organismos facultativos) o por el contrario si tal situación podría conducir a la muerte de los microorganismos, incrementando con ello el reservorio de C lábil en el suelo, lo cual servirá de fuente de energía para los microorganismos que prevalezcan.

FUNDAMENTO TEÓRICO

El entendimiento de los principales aspectos que determinan la liberación del P de los oxihidróxidos de Fe, aunado a las variaciones del potencial redox del suelo, involucra primero una breve revisión bibliográfica sobre aspectos generales relacionados con este último:

Ciclo global del P

De acuerdo a Schlesinger (2000) el ciclo global del P puede resumirse de la siguiente manera:

Es único entre los ciclos de los elementos biogeoquímicos mayoritarios por el hecho de no poseer ningún componente gaseoso. El potencial redox de los suelos es demasiado alto para que pueda producirse gas fosfina (PH_3), salvo en condiciones locales muy especiales. Las principales fuentes de P disponible del ciclo global del P no tienen su origen en reacciones microbianas. Prácticamente, todo el P que se encuentra sobre los ecosistemas terrestres se deriva de la meteorización de minerales de fosfato de calcio, especialmente apatita $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH},\text{F})]$. Los exudados de raíces y las micorrizas pueden aumentar la tasa de meteorización de las rocas, pero no existe ningún proceso análogo a la fijación de nitrógeno (N) que pueda aumentar drásticamente la disponibilidad de P para las plantas en medios deficientes en este elemento. El contenido de P en la mayoría de las rocas, corresponde sólo a una pequeña fracción de P disponible para los organismos. Tanto en los continentes como en el mar, los organismos persisten gracias a un reciclado eficiente del P orgánico. El principal flujo de P en el ciclo global corresponde a los ríos, que transportan unos 21×10^{12} g P/ año hasta el mar. Sólo un 10% de este flujo es potencialmente disponible para los organismos marinos; el resto está fuertemente ligado a partículas del suelo, que sedimentan rápidamente en la plataforma continental.

El tiempo de renovación de P en la materia orgánica de las aguas superficiales es de apenas unos días. Casi el 90% del P captado por los organismos marinos es regenerado en la capa superficial del océano y la mayor parte del resto es mineralizado en el océano profundo. No obstante, tarde o temprano, el P acaba por depositarse en los sedimentos oceánicos, que contienen la mayor reserva de P cerca de la superficie de la tierra. El P se acumula en los sedimentos a razón de unos 2×10^{12} g P/ año, que equivale aproximadamente a la tasa de aporte de P reactivo a los océanos con los ríos. A una escala de cientos de millones de años, el levantamiento de estos sedimentos somete las rocas sedimentarias a procesos de meteorización que completan el ciclo global.

En muchas áreas, los humanos han incrementado la disponibilidad de P mediante la explotación minera de rocas de fosfatos para la producción de abonos. La mayoría de los depósitos de P de interés económico se encuentran en rocas sedimentarias de origen marino, de modo que la actividad minera estimula directamente la circulación del ciclo global del P.

Biogeoquímica del P en suelos ácidos

De acuerdo a López-Hernández (1977) la biogeoquímica del P en suelos ácidos, puede resumirse de la siguiente manera:

Los fosfatos interactúan en un sistema dinámico-heterogéneo que envuelve 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 absorbidos por ellas, una vez que la solución del suelo es agotada en fosfatos, desde la fase sólida es liberada cierta proporción del 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 del suelo. Si el nivel de fosfatos incrementa, la adsorción de éstos sobre la superficie del suelo o su precipitación como compuestos relativamente insolubles serán los procesos que dominarán el equilibrio del fosfato. Dichos procesos son dependientes de la naturaleza del suelo, del pH y de la temperatura. También los fosfatos recién precipitados (amorfo) pueden ser transformados en formas más insolubles mediante un proceso de inmovilización el cual implica una mayor cristalinidad de los compuestos fosfatados. Las pérdidas de fosfatos en el sistema pueden ocurrir por drenaje, pero en vista de la poca concentración de fosfatos en suelos ácidos, la magnitud de esta pérdida es pequeña, excepto para aquellos suelos con baja capacidad de adsorción de fosfatos tales como: suelos arenosos o algunos suelos orgánicos poco descompuestos.

Mayores pérdidas son probablemente debidas a la entrada del P en los ciclos orgánicos, o sea, por fijación en los cuerpos vegetales. Así, sólo una parte del fosfato absorbido por la planta retorna al suelo. De acuerdo con el pH del suelo la retención de fosfato ocurre con la formación de diferentes compuestos. En condiciones ácidas los productos finales son compuestos insolubles de Fe y Al. Por lo tanto, el tipo y cantidad de minerales secundarios determinan la capacidad de adsorción de P y los procesos de aglomeración pueden físicamente ocluir el P dentro de los

agregados del suelo. El P orgánico físicamente accesible puede ser liberado por la descomposición microbiana, pero el P orgánico ocluido puede persistir en el suelo por largos períodos de tiempo.

Miller *et al.*, (2001) señala que durante los procesos de formación del suelo, el P liberado a partir de la meteorización de minerales primarios es incorporado a la materia orgánica y adsorbido por los minerales secundarios en formación. Una parte del P soluble es débilmente adsorbido en la superficie de los minerales y otra parte es herméticamente enlazado en los minerales del suelo o físicamente ocluido. En etapas posteriores de desarrollo del suelo, una vez agotados los minerales primarios, la mayor parte del P esta presente en minerales recalcitrantes o en la fracción orgánica, de esta manera la productividad de los ecosistemas depende un eficiente ciclaje del P entre la materia orgánica y los organismos del suelo.

Factores que controlan la movilidad del P en el suelo

Las propiedades químicas de los fosfatos en los suelos han sido ampliamente estudiadas, debido principalmente a la compleja interacción de estos aniones con las distintas fases sólidas que allí se encuentran (orgánicas e inorgánicas) (Chacón *et al.*, 2008).

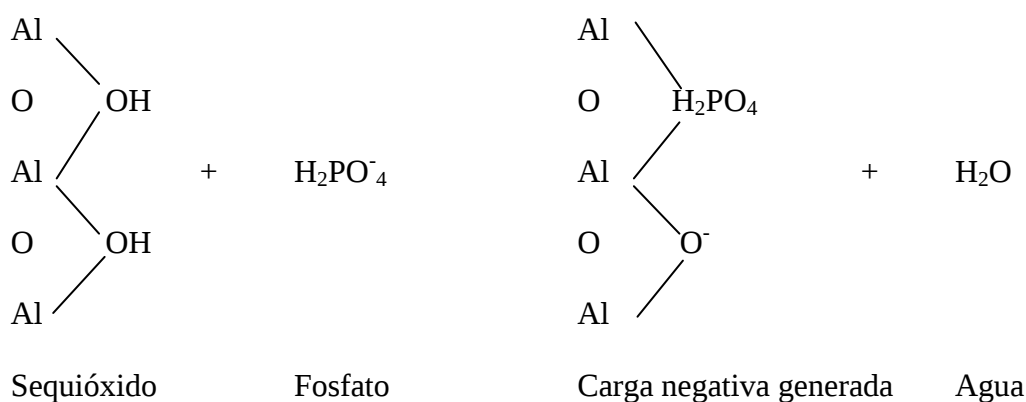
1. Mineralogía (Fase sólida inorgánica)

Los suelos tropicales y fuertemente meteorizados, contienen óxidos hidratados de Al (III) y Fe (III), silicatos laminares y aluminosilicatos de estructura desordenada (alófanos), que representan el área de superficie inorgánica reactiva en estos suelos. Dentro de estas superficies los oxi-hidróxidos de Fe y Al han sido descritos como un sistema anfotérico, es decir que presenta carga negativa o positiva producto de la ionización de los grupos hidroxilos, lo cual es una consecuencia de la variación de algunas propiedades de la solución del suelo como el pH, la fuerza iónica, entre otras (Bohn *et al.*, 1994).

Las características de carga de estos óxidos han sido suficientemente confirmadas, lo que ha permitido establecer que los óxidos de Fe y Al muestran cargas positiva y negativa a bajos y altos valores de pH respectivamente. El punto de carga cero (valor del pH donde hay neutralización de las cargas de la superficie) para el óxido de Fe, es cercano a pH = 8,00 y para el óxido de Al esta alrededor de pH= 9,00, por debajo de estos valores de pH los óxidos están cargados positivamente, pudiéndose indicar que el desarrollo de la carga positiva es más alta que la

negativa, de manera que en los suelos tropicales ácidos tienen en condiciones naturales, una capacidad de adsorción aniónica significativa (Bohn *et al.*, 1994; Casanova 2005).

La forma iónica más abundante a los niveles de pH normalmente encontrados en la solución del suelo pH 4-8 la representa el anión ortofosfato (H_2PO_4^-). El fosfato difiere del proceso de intercambio aniónico que ocurre con los iones nitrato (NO_3^-) y cloruro (Cl^-) en que la adsorción de H_2PO_4^- es sumamente fuerte pasando a la condición de fijado (no biodisponible) según la siguiente reacción:



Este proceso no sólo fija al H_2PO_4^- sino que crea cargas negativas, lo cual aumenta la capacidad de intercambio catiónico (Casanova 2005). Corresponde a una reacción de intercambio de ligando o penetración aniónica (adsorción específica), por tener lugar dentro del cristal con el desplazamiento de ligando acuoso o hidroxilos y hacer más negativa la superficie de los óxidos.

Los iones adsorbidos de esta forma, solo pueden ser reemplazados por aniones que compitan por los sitios de intercambio e incrementen la carga negativa en la superficie, por lo que han sido llamados aniones específicamente adsorbidos (Bohn *et al.*, 1994).

Con respecto a la reactividad de los alófanos en los suelos, se ha indicado en forma general que las reacciones de adsorción, específicamente con las especies de fosfato, ocurren inicialmente sobre sitios de defectos en la superficie del mineral, donde quedan expuestos grupos AlOH (aluminol) (Bohn *et al.*, 1994). Los óxidos de Fe y Al amorfos tienen el control en las reacciones de adsorción del suelo debido a su gran área superficial específica (Parfitt 1989; Chacón y Dezzee 2004).

2. Papel de la materia orgánica y de la actividad enzimática en la dinámica del P

En cuanto al papel del componente orgánico frente a los iones fosfato en solución, esta parece ejercer una doble función: por una parte la materia orgánica puede promover la biodisponibilidad del P, ya que los ácidos orgánicos pueden competir por los sitios de adsorción de P e inhibir la cristalización de óxidos de hierro y aluminio, reduciendo de ese modo la tasa de oclusión de P, pero por otra parte puede reducir la disponibilidad de P en la solución del suelo, debido a que a través de la formación de complejos órgano-minerales, se incrementa la adsorción de los fosfatos en solución (López-Hernández 1977; Chacón y Dezzee 2004).

La biomasa microbiana del suelo juega un importante papel en la degradación de la materia orgánica y en el reciclado de nutrientes en suelos inundados. Los componentes de la biomasa microbiana tienen el potencial de ser indicadores sensibles de la dinámica de la materia orgánica, puesto que la fracción microbiana cambia comparativamente rápido y la diferencia de estos cambios son detectables. Varios procesos bio-geoquímicos que ocurren en el suelo son mediados por enzimas producidas por la población microbiana y las raíces de las plantas (McLatchey y Reddy 1998).

Las enzimas son proteínas cuyo papel es catalizar las reacciones químicas en los sistemas vivos, actúan sobre sustratos específicos transformándolos en productos necesarios para los ciclos biológicos. Los organismos y las plantas liberan enzimas al suelo por secreción y por lisis celular después de su muerte. Las enzimas del suelo han sido ampliamente usadas como indicadores de la actividad biológica, aunque si bien es cierto que la medición de una actividad enzimática no necesariamente está correlacionada de manera directa con la microflora activa desde el punto de vista metabólico; ya que las enzimas pueden ser inmovilizadas por los coloides del suelo (arcillas, óxidos de hierro y aluminio y sustancias húmicas) (Nannipieri *et al.*, 1990).

Actividad Fosfatasa

Las enzimas fosfatasas son las encargadas de hidrolizar fósforo en forma orgánica hasta formas inorgánicas, haciéndolo por tanto asimilable por las plantas. Las fosfatasas constituyen un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos del ácido fosfórico (Speir y Ross 1978). Fueron clasificadas de acuerdo al pH óptimo para su actividad en fosfatasas ácidas ó fosfomonoesterasas y fosfatasas alcalinas. La relación inversa hallada entre el pH del suelo y la actividad de la fosfatasa ácida, sugirió que su estabilidad variaba con relación al pH.

Estas enzimas constituyen un índice de la potencialidad de un suelo para mineralizar el P orgánico y también estimar la actividad biológica de los suelos (Eivazi y Tabatabai 1977).

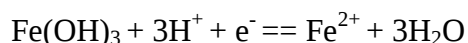
La mayoría de las investigaciones realizadas sobre el tema atribuyen un origen microbiano a la fosfatasa en el suelo, aunque en muchas ocasiones su actividad es temporal y se pierde con rapidez. La presencia de vegetación puede incrementar dicha actividad debido a una estimulación de la actividad microbiana y por la propia secreción de la enzima a través de las raíces (Dick y Tabatabai 1993). 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 incrementa cuando las plantas están deficientes en P (Hollander 1971).

En los suelos tropicales, el P disponible es principalmente liberado por la mineralización del P. La fosfatasa extracelular secretada por las plantas y los microorganismos juega un importante papel en la mineralización del P, con producción del ión fosfato (PO_4^{3-}), la cual, es la única forma de P tomada por las plantas y los microorganismos. Por lo tanto, la actividad de la fosfatasa ácida ha sido considerada un buen indicador de la mineralización de P orgánico en suelos ácidos (Chacón *et al.*, 2008, Chacón *et al.*, 2006 a).

3. pH del suelo

El pH del suelo influye en el equilibrio de los hidróxidos, carbonatos, sulfatos, fosfatos y silicatos en suelos sumergidos. Este equilibrio regula la precipitación y disolución de sólidos, la sorción y desorción de iones, la concentración de nutrientes o sustancias como Al(III), Fe(II), H_2S , H_2CO_3 y ácidos orgánicos no disociados. Las variaciones de pH determinan la solubilidad de los oxihidróxidos de Fe y Al, los cuales, son responsables en gran medida de la adsorción del P en suelos ácidos. El fosfato forma compuestos de Al^{3+} y Fe^{3+} poco solubles a pH bajo, compuestos de Ca^{2+} y Mg^{2+} más solubles a valores de pH cercanos a la neutralidad y compuestos de Ca^{2+} pocos solubles a pH más altos (Bohn *et al.*, 1994).

Bajo condiciones anaeróbicas el pH del suelo decrece durante los primeros días hasta alcanzar un mínimo, debido a la acumulación de CO_2 generado por la respiración de las bacterias aeróbicas y luego incrementa asintóticamente justamente hasta un valor estable de 6,7 – 7,2 unas semanas después, debido a la reducción microbiana de Fe (III) es un proceso de consumo de protones:



El efecto total de la anegación de los suelos es un incremento del pH en los suelos ácidos asociado a la reducción del Fe y un decrecimiento del pH en suelos sódicos y calcáreos (Ponnamperuma 1972). Una vez que ocurre la reducción del Fe (III) a Fe (II), los aniones fosfatos químicamente asociados a los óxidos de Fe (III) son liberados a la solución del suelo (Chacón *et al.*, 2006 b).

Szilas *et al.* (1998) realizaron un experimento de incubación anaeróbica con la finalidad de observar la movilización del Fe y el P. Los autores determinaron una disminución del pH de aproximadamente de dos unidades, seguido por un incremento del pH luego de 5 a 9 días de incubación. La disminución del pH durante el período inicial de incubación fue atribuida al rápido metabolismo fermentativo de los micro-organismos presentes, debido a la alta cantidad de sustrato fácilmente metabolizable (glucosa), que a su vez genera productos de fermentación como el de los ácidos acético, fórmico, butírico, entre otros. Incrementando la presión parcial de CO₂ en la atmósfera del vial de incubación anaeróbica y por lo tanto la concentración de ácido carbónico en solución. Por otra parte señalan que el incremento de pH después de 5 a 9 días de incubación, es el producto de la tendencia general de consumo de H⁺ durante la reducción del suelo.

4. Reacciones del P en el suelo

El factor más importante en la determinación de la fijación y liberación de fosfato en el suelo tiende a ser reportado de acuerdo al tipo y cantidad de arcilla, cantidades de compuestos de Fe, Al, Ca y Mg, contenido de materia orgánica y el pH del suelo. Otro factor importante es el estado redox del suelo. Son en general tres tipos de reacciones por las cuales el P es fijado en el suelo. Estas son: (1) reacciones de adsorción, (2) reacciones de precipitación y (3) reemplazamiento isomórfico. Aunque las reacciones de adsorción pueden ser químicas o físicas, las reacciones de reemplazamiento isomórfico involucra adsorción intercrystalina y reemplazamiento de aniones silicatos o hidroxilos de la estructura cristalina por el ión fosfato. En suelos ácidos una cantidad sustancial de iones de Fe y Al están presentes en forma activa. Estos iones reaccionan con los fosfatos solubles para formar precipitados cristalinos y amorfos (Patrick y Mahapatra 1968).

Los minerales de arcilla juegan un importante rol en el mecanismo de adsorción del anión, el cual incluye principalmente el reemplazamiento de iones hidroxilos (OH^-) de la superficie del mineral, especialmente alrededor del borde del cristal. Los fosfatos son fijados por los minerales de arcilla por reacción con Al soluble originado de los sitios de intercambio y de la disociación de minerales de arcilla para formar fosfatos de Al altamente insolubles (Patrick y Mahapatra 1968). Por lo tanto, la movilización del P en la solución depende de la estabilidad de los adsorbentes del suelo. Las arcillas, la gibbsita y algunos óxi-hidróxidos cristalinos constituyen matrices de adsorción estable bajo condiciones de anegación, mientras que los oxi-hidróxidos de Fe amorfos son inestables. De esta manera la dinámica del P en los suelos anegados esta fuertemente influenciada por su contenido de oxi-hidróxidos de Fe amorfos reducibles (De Mello *et al.*, 1998).

Implicaciones del cambio en el potencial redox del suelo en la dinámica del P

Las variaciones temporales en el contenido de agua de los suelos, asociadas al régimen pluviométrico y a la presencia de un horizonte B textural de alto desarrollo, determinan alternancias en la condiciones de oxidación y reducción de los suelos (Silver *et al.*, 1999). Estos cambios afectan la forma y reactividad de los compuestos de Fe en el suelo y entre ellos, los compuestos formados con el P (Ferrando *et al.*, 2002).

Bajo condiciones de saturación del suelo, el agua restringe la difusión de gas y limita la disponibilidad de oxígeno (O_2) en el suelo, disminuyendo el potencial redox del suelo. Cuando el O_2 del suelo es agotado, los microorganismos utilizan otros aceptores de electrones durante la descomposición de la materia orgánica. El O_2 es el aceptor de electrones más importante por su inagotable suplemento en la atmósfera, su rápido movimiento por difusión en suelos y sedimentos y especialmente por su facilidad de reducción (Patrick y Jugsujinda 1992). Después del O_2 , el siguiente aceptor de electrones más fuerte, disponible por lo general en los suelos, es el NO_3^- . En cuanto el O_2 y el NO_3^- son agotados, los óxidos hidratados de Fe (III) y manganeso (Mn) (III-IV) pueden reducirse, convirtiéndose en aceptores de electrones secundarios.

La reducción bacteriana de estos aceptores electrones pueden afectar el ciclo de nutrientes esenciales como el (N) y el P, los cuales globalmente tienden a ser considerados los nutrientes más limitantes de la productividad primaria neta en los ecosistemas de bosques (McLatchey y Reddy 1998; Quantin *et al.*, 2001).

Cuando el suelo se inunda, se establecen condiciones reductoras, las cuales determinan el pasaje de Fe (III) a Fe (II), aumentando la solubilidad de los compuestos de Fe con el P. Durante períodos de condiciones anóxicas del suelo, la reducción de los óxidos de Fe conduce a la liberación de P orgánico ocluido en estos minerales. El P orgánico liberado de la disolución de Fe (III) durante un evento de inundación, es una importante fuente de P para el crecimiento de las plantas. Por lo tanto, las condiciones anóxicas del suelo tienden a incrementar la actividad de la fosfatasa ácida (Chacón *et al.*, 2006 a, Chacón *et al.*, 2008).

Al retornar las condiciones de oxidación, el Fe precipita bajo la forma de óxidos de alta capacidad de reaccionar con los iones fosfato, disminuyendo su solubilidad y por consiguiente su disponibilidad para las plantas (Ferrando *et al.*, 2002).

Por lo tanto, bajo condiciones reductoras ó cuando los suelos se encuentran saturados en agua, el incremento en la liberación de P de diversas fuentes geoquímicas, puede ser resumido de la siguiente manera: (1) reducción y disolución de fosfatos de Fe (III); (2) hidrólisis y disolución de fosfatos de Fe y Al (3) y liberación de fosfatos asociados a las arcillas a través de intercambio aniónico (4) y liberación de P orgánico (atribuido en cierta medida a la muerte de las células de la biomasa microbiana del suelo seguido por el re-humedecimiento del mismo, luego de un período de sequía) (Ponnamperuma 1972; Baldwin y Mitchell 2000).

Las consecuencias de las variaciones del potencial redox del suelo originado por el agotamiento del O₂, ha sido ampliamente estudiada en suelos inundables (llanuras de inundación) (Chacón *et al.*, 2005, 2006 a, 2008) sin embargo son pocos los trabajos que evalúan la concentración de O₂ en el suelo y la relacionan con el ciclo biogeoquímico del P en suelos no inundables (bosques de tierra firme) (Silver *et al.*, 1999, Peretyazhko y Sposito 2005, Chacón *et al.*, 2006 b). Teóricamente bajo condiciones húmedas tropicales, la combinación de abundantes precipitaciones, arcillas o suelos orgánicos con alta capacidad de retención de agua y alta actividad metabólica puede llevar a condiciones donde el oxígeno es rápido y completamente consumido de los espacios porosos rellenos de gas y agua, incluso en la ausencia de inundación. Estos factores pueden ser altamente variables en espacio y tiempo, pero frecuentemente varía con respecto a las condiciones climáticas y a la topografía. El ciclo del Fe, C y el P también muestran variaciones con la posición del paisaje como una función de la topografía, temperatura y precipitación (Silver *et al.*, 1999).

Reducción microbiana de los óxidos de Fe

La actividad microbiana en los suelos esta principalmente conducida por la descomposición neta de la materia orgánica biodisponible, la cual, provee al microorganismo la energía, nutrientes y electrones que ellos necesitan para sintetizar la biomasa y sostener sus funciones vitales (Hunter *et al.*, 1998). Bajo condiciones anaeróbicas la descomposición de la materia orgánica es menor, debido a que los organismos anaeróbicos son menos eficientes en degradar la materia orgánica, a diferencia de los organismos aeróbicos, donde la alta energía liberada por la respiración aeróbica de estos organismos genera una rápida descomposición y síntesis de los sustratos orgánicos (Ponnamperuma 1972).

Los principales mecanismos que influyen en la degradación de la materia orgánica son: respiración aeróbica, desnitrificación, reducción de manganeso, reducción de hierro, reducción de sulfato y fermentación. Desde el punto de vista bioquímico, la energía proporcionada para llevar a cabo estos mecanismos metabólicos, consiste en complejas transferencias de electrones. Desde una perspectiva geoquímica, la reacción consiste en la transferencia final de electrones a un aceptor de electrones externo. Los aceptores terminales de electrones empleados en los mecanismos anteriormente nombrados son: O_2 , NO_3^- , óxidos de Mn (III, IV), oxi-hidróxidos de Fe (III) y sulfato (SO_4^{2-}). La fermentación no depende de un aceptor de electrones externo, de hecho el C del sustrato orgánico es parcialmente oxidado y parcialmente reducido. Productos intermedios de las reacciones de fermentación (ejemplo: H_2 y acetato) pueden ser usados como energía por otros organismos. El producto final de la fermentación es el CO_2 y CH_4 (Hunter *et al.*, 1998).

Químicamente la degradación de los sustratos orgánicos involucra transformaciones redox, donde los aceptores de electrones son reducidos, produciendo nuevas entidades químicas. Las reacciones microbianas ejercen un control en los procesos inorgánicos tales como: iones intercambiables, reacciones de adsorción, precipitación y disolución de minerales (Hunter *et al.*, 1998).

Los óxidos de Fe y Mn existen en una variedad de formas que incluye desde materiales amorfos a minerales altamente cristalinos. La mineralogía, la estructura del cristal y el área superficial afectan la reactividad de los óxidos de Fe. En general los óxidos amorfos de Fe poseen mayor reactividad que los óxidos más cristalinos, y son preferencialmente reducidos por las bacterias

(Hunter *et al.*, 1998). Zachara *et al.*, (1998) señalan que la velocidad y extensión de la reducción bacteriana de los óxidos de Fe (III) incrementaba linealmente con la superficie del área, sin tener en cuenta el grado de cristalinidad de los óxidos de Fe (III) y Mn o la forma estructural. Además indica que los oxi-hidróxidos de Fe amorfos tienen mayor área superficial y son extensivamente reducidos a comparación de los oxi-hidróxidos cristalinos. Los óxidos de Fe (III) cristalinos (α -FeOOH, Fe_2O_3) son también reducidos por algunos microorganismos (ejemplo: *S. putrefaciens*, Zachara *et al.*, 1998).

Mecanismos de reacción

Existen varios mecanismos que permiten la liberación del P de la fuente geoquímica, incluyendo la reducción y disolución de fosfatos de Fe (III), hidrólisis y disolución de fosfatos de Fe y Al y liberación de fosfatos asociados a las arcillas (Chacón *et al.*, 2006 b). Estos mecanismos pueden generar la reducción de Fe (III) vía enzimática o mediante mecanismos que no involucran la actividad enzimática.

a) Mecanismos de reducción enzimática de Fe (III)

Hasta hace poco se consideraba que los microorganismos reductores de Fe (III) reducen los óxidos de Fe (III) por contacto directo con los óxidos, con el fin de transferir electrones de las células a la superficie de los óxidos de Fe (III) (Nevin y Lovley 2002 a).

De acuerdo a este mecanismo la reducción ocurre en dos pasos:

- 1) Adhesión de Fe (III) a la superficie de los microorganismos.
- 2) Reducción de Fe (III) mediante la transferencia de electrones

Sin embargo, ahora se conocen una serie de mecanismos, en los cuales, los microorganismos reductores de Fe (III) no necesariamente establecen contacto directo con los óxidos. Entre estos podemos señalar:

La solubilización del Fe (III) mediante la formación de quelatos de Fe (III). En estos estudios se ha demostrado que microorganismos reductores de Fe, pueden reducir los quelatos de Fe (III) soluble, más rápidamente que los óxidos de Fe (III) (Nevin y Lovley 2002 a).

Los compuestos transportadores de electrones proveen otro mecanismo que permite la reducción de los óxidos de Fe (III) sin que los microorganismos establezcan contacto directo con la

superficie de los óxidos. Un transportador de electrones efectivo acepta electrones provenientes de los microorganismos reductores de Fe y luego los transfiere a la superficie de los óxidos Fe (III). Los quelatos de Fe (III) y compuestos transportadores de electrones solubles, son más accesibles a los terminales reductores en comparación a los óxidos de Fe (III) insolubles, aparentemente por aliviar los requerimiento para que las células entren en contacto con la superficie del óxido y las limitaciones químicas de la superficie (Nevin y Lovley 2002 a).

Las moléculas quinonas en las sustancias húmicas son capaz de aceptar electrones provenientes de los microorganismos reductores de Fe (III). Las moléculas hidroquinonas pueden transferir abióticamente electrones a los óxidos de Fe (III) insolubles, regenerando la forma oxidada de las sustancias húmicas que pueden servir una vez más como aceptores de electrones (Nevin y Lovley 2002 a).

Los microorganismos reductores de Fe pueden sintetizar y liberar compuestos transportadores de electrones. Estudios realizados por Nevin y Lovley (2002 a, b), demostraron por primera vez que el alga (*S. putrefaciens*) libera quinonas extracelulares que permiten la transferencia de electrones entra las células y los óxidos de Fe (III), sin entrar en contacto con la superficie del óxido.

b) Mecanismos de reducción no enzimática de Fe (III)

Se han postulado dos mecanismos de reducción no enzimática para la reducción de Fe (III). Las bacterias sulfato reductoras emplean el ión sulfato (SO_4^{2-}) como un aceptor de electrones para producir sulfuro de hidrógeno (H_2S), el cual puede reducir los oxi-hidróxidos de Fe(III) para formar sulfuros de hierro insolubles (FeS) (Ponnamperuma 1977; Baldwin y Mitchell 2000). Los microorganismos respiradores de Fe (III) es otro posible mecanismo para la reducción no enzimática de Fe (III). Los microorganismos respiradores de Fe (III) usan los oxi-hidróxidos de Fe (III) directamente como terminal aceptor de electrones (Baldwin y Mitchell 2000).

Reacciones secundarias del Fe^{+2} y el P

El Fe (II) producido por las reacciones de disolución bajo condiciones reductoras o por la reducción del Fe por parte de los microorganismos, puede sufrir rápidas reacciones secundarias, alguna de las cuales afectan la concentración de P en la solución del suelo. Por ejemplo: los oxi-hidróxidos de Fe (III) pueden ser reducidos a geles complejos de oxi-hidróxidos de Fe ($\text{Fe}(\text{OH})_2$) con mayor área superficial que el compuesto férrico original (Holford y Patrick 1979). La concentración de P también puede decrecer durante condiciones anóxicas, si las condiciones

geoquímicas permite una significativa remoción del P vía precipitación de fases de fosfato ferroso como la vivianita ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) y formación de fases secundarias de Fe (II) como: la siderita (FeCO_3), sulfuro de Fe (FeS), magnetita (Fe_3O_4) y compuestos “green rust” $[\text{Fe}^{\text{II}}_{(1-x)}\text{Fe}^{\text{III}}_x(\text{OH})_2]^{x+}[(x/n)\text{A}^{n-}(m/n)\text{H}_2\text{O}]^{x-}$ (Fredrickson *et al.*, 1998; Zachara *et al.*, 1998, Baldwin y Mitchell 2000, Chacón *et al.*, 2006 b). Los “green rust” son compuestos intermedios entre oxi-hidróxidos férricos y hidróxidos ferrosos (Benali *et al.*, 2001).

La formación de estas fases secundarias de Fe (II) esta influenciada por la presencia de P soluble, composición atmosférica, pH, temperatura y las especies de bacterias presentes (Zachara *et al.*, 1998).

ANTECEDENTES

Debido a la importancia del P en el ambiente natural, son muchos los trabajos que se han desarrollado con la finalidad de entender su comportamiento y los diferentes mecanismos que controlan su movilidad. En ambientes anaeróbicos, desde la década de los setenta, se han realizado estudios en los que se ha determinado el efecto de la deficiencia de O₂ en el suelo sobre la movilidad del P. Cabe destacar que la mayoría de los estudios realizados han sido conducidos sobre suelos inundables. Hasta ahora se conocen muy pocos trabajos en los que se determine las fluctuaciones en el potencial redox del suelo y sus implicaciones en la movilidad de nutrientes esenciales como el P, en bosques de tierra firme no inundables. Es importante mencionar que la alta pluviosidad que reciben anualmente estos ecosistemas aunado a un suelo de textura fina, conduce a pequeños episodios de anaerobiosis en el suelo (Silver *et al.* 1999). En Venezuela son pocos los trabajos realizados en esta área, las principales iniciativas desarrolladas en este sentido son llevadas a cabo por el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

Antecedentes Nacionales

Chacón *et al.*, (2006 b) realizaron un estudio de laboratorio en el cual se determinó el efecto de la adición de dos fuentes de C orgánico lábil (glucosa y acetato) bajo condiciones de anaerobiosis sobre la reducción microbiana de los oxi-hidróxidos de Fe (III) y la liberación de P en un suelo de un bosque húmedo tropical. En este estudio los autores también probaron la eficiencia de un compuesto transportador de electrones, para esto emplearon antraquinona - 2,6-disulfonato (AQDS), el cual es un compuesto análogo a las sustancias húmicas del suelo. Los resultados de este estudio mostraron que en los suelos ferralíticos característicos de los bosques húmedos tropicales, la disponibilidad del P está fuertemente influenciada por el ciclo del C y el Fe. Así mismo, determinaron que la adición de pulsos de C orgánico lábil generó un significativo incremento en el pH del suelo y en las concentraciones de Fe²⁺ y P extractable. Estos pulsos también contribuyeron a promover la precipitación de los complejos hidróxidos ferrosos los cuales podrían incrementar la capacidad de adsorción del P, aunque sus resultados sugirieron que la velocidad de solubilización del P excedía su re-adsorción. Como conclusión de este trabajo, los autores señalan que para este tipo de ecosistema las condiciones reductoras en el suelo acopladas con el insumo periódico de C lábil, puede estimular la reducción del Fe, puesto que estos pulsos de C lábil actúan como fuente de energía para las bacterias e incrementan la movilización de P

desde el reservorio geoquímico. Este mecanismo puede proveer una importante fuente de P para las plantas y microorganismos de estos ecosistemas.

Recientemente en un ecosistema de planicie de inundación Chacón *et al.*, (2008) determinaron cómo afecta las fluctuaciones naturales del hidropériodo en la distribución y disponibilidad del P en el suelo, en relación a la bio-geoquímica del Fe y Al y a las raíces. En este estudio las muestras fueron colectadas siguiendo un completo hidropériodo: final de la época de sequía, final de la época lluviosa y final de la subsiguiente época seca. En cada época, las muestras fueron colectadas desde tres zonas sujetas a diferentes intensidades de inundación: máxima, media y mínima, las cuales son zonas inundadas durante 8, 5 y 2 meses por año respectivamente. Los resultados mostraron que 8 meses de inundación incrementa la biodisponibilidad del P en el suelo comparado con los períodos cortos de anegación (2 a 5 meses). Este incremento del P parece estar estrechamente ligado a los procesos de disolución de los oxi-hidróxidos de Fe. Este estudio también demostró que las raíces finas fueron afectadas por los eventos de inundación. Sin embargo, este efecto fue menos pronunciado en la zona sometida al mayor período de anegación.

Antecedentes Internacionales

Fredrickson *et al.*, (1998) estudiaron la reducción bacteriana de oxi-hidróxidos de Fe por *S. putrefaciens* y la naturaleza de la formación de fases biogénicas secundaria en presencia de diferentes ligandos inorgánicos (PO_4 y HCO_3^-) bajo condiciones que pudieran promover o suprimir la asociación organismo/óxido (ejemplo: con o sin un transportador de electrones). El transportador de electrones empleado fue el AQDS. Los autores determinaron que con un buffer de HCO_3^- , más el transportador de electrones AQDS, los oxi-hidróxidos de Fe fueron rápidamente reducidos y el sólido resultante estuvo dominado por carbonato ferroso (siderita). Los autores también observaron la formación de fosfato ferroso (vivianita) con un buffer de HCO_3^- y en presencia de P. El mineral magnetita de grano fino, también estuvo presente pero en menor proporción. En la solución buffer con ácido 1,4-piperazinediethanesulfonic (PIPES) la velocidad y extensión de la reducción de los oxi-hidróxidos de Fe estuvo fuertemente influenciada por el AQDS y el P. En presencia de AQDS los oxi-hidróxidos de Fe fueron convertidos en magnetita altamente cristalina, mientras que en su ausencia la mineralización de la magnetita fue menor y amorfa. Cuando el P estuvo presente en el buffer de PIPES con AQDS se observó una fase amorfa consistente con el mineral “green rust”.

Zachara *et al.*, (1998) estudiaron los factores químicos y mineralógicos que influyen sobre la reducción bacteriana de óxidos de Fe (III) naturales y sintéticos. El propósito de este estudio fue: (1) definir los efectos de un transportador de electrones (AQDS) y los fosfatos en solución, sobre la reducción bacteriana de óxidos de Fe (III) (2) determinar si los óxidos de Fe (III) de origen geológico eran más o menos o igualmente reducibles que los sólidos sintéticos y determinar las causas de tales diferencias en caso de ser observadas. El sistema experimental involucró los siguientes sólidos sintéticos: oxi-hidróxidos de Fe, goetita y hematita y cuatro muestras de sedimentos de textura arenosa que contienen revestimientos de granos y superficies precipitadas de óxidos de Fe (III). Estas fases sólidas fueron inoculadas empleando una bacteria reductora de Fe (*S. putrefaciens*, CN32) en un buffer de bicarbonato, ambos con y sin AQDS y PO_4 . La producción de Fe (II) (sólida y acuosa) fue analizada por difracción de rayos de X. Los óxidos sintéticos fueron reducidos en una tendencia cualitativa consistente con su área superficial y energía libre: óxidos férricos hidratados > goetita > hematita. En este estudio se evidenció la presencia de la formación biogénica de vivianita y siderita, observándose que las condiciones de su formación fueron consistentes con su solubilidad. Los óxidos de Fe (III) naturales fueron igual o más reducidos que su contraparte sintética, a pesar de su asociación con fases minerales no reducibles como la caolinita. La reducción de los óxidos de origen sintético y geológico fue débilmente afectada por la concentración de PO_4 en solución, pero fue acelerada por el transportador de electrones AQDS. Los análisis de microscopía electrónica mostraron que el tamaño cristalino no fue el factor primario que causó diferencias entre el mayor grado de reducción de los óxidos naturales respecto a las fases sintéticas. Como conclusión los autores señalan que el desorden cristalino y la microheterogeneidad pueden ser más importantes. La bacteria reductora de Fe(III) CN32, generó la forma reducida del AQDS (AHDS) que tuvo el poder termodinámico para reducir los óxidos de Fe (III). AHDS aumentó la reducción de los óxidos de Fe (III), permitiendo alcanzar regiones físicas de los óxidos no accesibles a los organismos.

Ferrando *et al.*, (2002) estudiaron la disponibilidad del P del suelo para las plantas en tres suelos de Uruguay, en relación con los cambios en la reactividad de los óxidos de Fe, luego de períodos cortos de reducción de los suelos. Para este estudio analizaron tres suelos a los cuales se les determinó el P asimilable, Fe en óxidos totales, Fe en oxalato de amonio y retención de P. Los suelos fueron incubados bajo diferentes regímenes hídricos y a dos niveles de concentración de P

agregada al comienzo de los tratamientos. Al final de cada régimen hídrico se sembró raigrás, evaluando la absorción de P. Los autores observaron que durante el período de exceso de agua de los suelos se establecieron condiciones reductoras, las cuales determinaron un aumento en los contenidos y proporciones de óxidos de Fe amorfos. Luego de la oxidación del suelo, dichos niveles se mantuvieron altos, lo que indicaría su permanencia bajo formas poco cristalinas (amorfos) durante las condiciones de oxidación posteriores. En la etapa de reducción del suelo, observaron un aumento en los niveles de P asimilable, en relación con el aumento de solubilidad de los compuestos con Fe por reducción a Fe (II). Al retorno de las condiciones de oxidación, se determinó una disminución en dichos niveles, a valores aún por debajo de los iniciales (antes de inundar). Esto fue explicado como consecuencia de la re-adsorción del P en superficie de óxidos de Fe poco cristalinos recientemente precipitados. Esta menor disponibilidad de P fue también evidenciado en menores contenido de P en las plantas, respecto a las situaciones donde no hubo exceso de agua previo. Cuando existió fertilización posterior a un período de reducción, también se observó una adsorción del P del fertilizante en superficies altamente reactivas de óxidos de Fe.

Peretyazhko y Sposito (2005) realizaron un estudio basado en la hipótesis de Miller *et al.*, (2001), la cual señala que la pérdida de P biodisponible por precipitación de fosfatos insolubles de Fe y Al y por la fuerte adsorción de oxi-hidróxidos de Fe, puede ser balanceada por acumulación de P orgánico bajo un régimen de humedad > 3350 mm de precipitación anual. Con la finalidad de examinar esta hipótesis, estudiaron bajo condiciones de laboratorio la asociación del comportamiento biogeoquímico del Fe y el P en suelos de bosques altamente meteorizados, bajo un régimen de humedad de 3000-4000 mm de precipitación anual. En el estudio cuantificaron la reducción de Fe (III) y la solubilización de P, suponiendo un balance entre la disolución de oxi-hidróxidos de Fe y la acumulación de la materia orgánica, mediado por la variación de las condiciones redox del suelo, lo cual puede controlar la distribución de P en períodos de sequía y humedad, planteado en la hipótesis de Miller *et al.*, (2001). Los autores también examinaron la influencia del AQDS en el proceso de la reducción microbiana de los óxidos de Fe (III). Las formas químicas de Fe (II) y P producido bajo condiciones anóxicas, ambos con y sin aplicación de AQDS fueron determinadas. Los resultados mostraron una correlación positiva entre la producción de Fe (II) y el P liberado, lo cual fue atribuido a la reducción de los oxi-hidróxidos de Fe (III) y la solubilización de P. El Fe (II) producido fue principalmente particulado, evidentemente debido a la formación de fases sólidas de Fe (II). A través de cálculos

termodinámicos determinaron la precipitación de siderita. En presencia del AQDS ocurrió la precipitación de vivianita bajo condiciones reductoras. El P soluble 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. La producción de CO₂, consumo de H₂ y producción de Fe (II), sugiere que el proceso de reducción de los oxi-hidróxidos de Fe fue un proceso de aceptación de electrones por un terminal acoplado al consumo de H₂ y a la oxidación de C orgánico por la población nativa de microorganismos del suelo. La adición de AQDS aceleró la producción de Fe (II) y la liberación de P soluble. El estudio concluyó que el AQDS acoplado a la población microbiana nativa del suelo cataliza la reducción de Fe (III) con la consecuente liberación de P principalmente en su forma orgánica.

Fimmen *et al.*, (2008) realizaron observaciones de campo en dos suelos derivados de una litología granítica y basáltica, con la finalidad de demostrar la hipótesis de que la actividad redox de la rizósfera ejerce efectos sustanciales en la disolución de minerales y translocación coloidal en algunos suelos someros. En el estudio se señala que la rizósfera es un micrositio redox activo, en el cual en la ausencia de O₂ la oxidación de los depósitos rizósfericos puede ser acoplado a la reducción de especies activas redox tales como el Fe, mediante una reducción biogénica que conduce a la translocación y oxidación del Fe, acompañado de un sustancial flujo de protones. Estas reacciones redox de la rizósfera promueven las reacciones ácido- ligando como el principal proceso biogeoquímico que controla la meteorización de la corteza. De acuerdo a los autores en la rizosfera se inicia el ciclo redox del Fe en el suelo, el cual es un sistema biogeoquímico que conduce a la meteorización de los minerales. Los autores destacan que la principal importancia del ciclo redox del Fe y C en el suelo esta marcado por la profundidad y extensión de las raíces y manchas en el subsuelo a través de un amplio rango de comunidades de plantas, litologías, humedad y régimen de temperatura.

Liptzin y Silver (2009) realizaron un estudio de laboratorio para analizar el rol del C en la capacidad y cantidad de reducción de Fe y movilización de P asociado, en suelos de bosques tropicales. Propusieron dos hipótesis (i) la velocidad de reducción de Fe es una función de la disponibilidad de C lábil en suelos meteorizados con alto contenido de Fe (III); (ii) la reducción de Fe no podría incrementar la fuente de P mineral, debido a la rápida inmovilización microbiana en estos suelos con bajo contenido de P. Examinaron los cambios en la fuente de Fe y P extraíble,

después de la adición de un pulso de acetato y lixiviados de hojarasca poco descompuestas, en muestras de suelos incubadas bajo una atmósfera controlada (condiciones variadas del potencial redox). Los tiempos de incubación seleccionados corresponden a 2, 6, 12 y 27 días. Demostraron que la reducción de Fe ocurre sin el establecimiento de una condición estrictamente anaeróbica y sin suelos en forma de slurring (suspensión de suelo). Este estudio es uno de los documentos pioneros que indica que una mezcla más compleja de compuestos orgánicos, tal como la encontrada en hojarasca poco descompuestas, estimula la reducción de Fe, tanto como ocurre con los compuestos de C simple. El incremento en la reducción neta de Fe durante la incubación fue asociado con un paralelo incremento en el P de biomasa microbiana, pero no con el P disponible (NaHCO_3). La inmovilización del P por los microorganismos durante la incubación, proporciona un mecanismo de conservación de P en estos suelos con fluctuaciones en el potencial redox y puede estimular más el ciclo del C en estos ecosistemas altamente productivos. El ciclo del Fe parece ser una importante fuente de P para la biota y puede contribuir significativamente a la oxidación de C en suelos de bosques tropicales.

Al realizar un análisis de los antecedentes presentados anteriormente, se puede observar que los autores coinciden en que las variaciones del potencial redox del suelo tiene una importante influencia en los cambios de reactividad de los óxi-hidróxidos de Fe y por ende afecta la disponibilidad del P en el suelo. Los estudios realizados señalan que las bacterias bajo condiciones reductoras obtienen la energía necesaria para su crecimiento a partir de la oxidación de fuentes de C orgánico lábil, los electrones liberados mediante este proceso son captados por los principales aceptores de electrones en ambientes anaeróbicos, entre los más estudiados se encuentran los oxi-hidróxidos de Fe. En suelos tropicales altamente meteorizados la reducción de los óxidos Fe (III) parece ser un importante mecanismo para la liberación del P fuertemente adsorbidos en la superficie de estos óxidos. Sin embargo, es importante tomar en cuenta que la formación de fases secundarias de Fe (II) puede como los oxi-hidroxidos ferrosos, constituir una nueva superficie que compite por la adsorción de P en ambientes bajo condiciones reductoras.

MARCO GEOLÓGICO

Área de estudio

La Reserva Forestal de Imataca esta ubicada en la región sureste de la República Bolivariana de Venezuela, en la región administrativa de Guayana (Figura 1). Comprende los Distritos Piar y Roscio del Estado Bolívar y los Municipios Autónomos Tucupita y Antonio Díaz del Estado Delta Amacuro. Tiene una extensión de más de 3 millones de hectáreas de bosque con varios niveles de intervención, lo que la hace una de las zonas boscosas más importantes de Suramérica (Porder *et al.*, 2007).



Figura 1. Ubicación de la Reserva Forestal de Imataca en la República Bolivariana de Venezuela

La temperatura media anual de la zona es de 25.3°C. La máxima media de 26°C y la mínima media de 24°C aproximadamente. Las mayores temperaturas medias ocurren durante los meses de Abril, Mayo, Septiembre y Octubre y las menores durante Junio a Julio y de Diciembre a Enero (Porder *et al.*, 2007).

La zona sur de Venezuela y la Guayana, donde se ubica la Reserva Forestal de Imataca, es una zona de alta pluviosidad, donde llueve en mayor o menor medida durante todo el año. El área de estudio recibe una precipitación total media anual de entre 1400 y 1600 mm aproximadamente. El

régimen pluviométrico es de tipo unimodal, con un solo máximo anual durante los meses de Junio y Julio. El período lluvioso se extiende desde Mayo hasta Noviembre, cuando en promedio la zona recibe un 90 % de la precipitación anual. El período de baja precipitación se extiende de Enero a Abril (Porder *et al.*, 2007).

Litología

El área esta ubicada sobre las Provincias Geológicas de Pastora cuyas formaciones datan entre 2.700 y 2.000 millones de años, conocida por su producción de oro; de Imataca representada por las rocas más antiguas conocidas 3.600 a 3.500 millones de años, caracterizada por la producción de hierro; y de Roraima, productora tradicional de diamante y en menor cantidad de oro, con formaciones entre 800 y 1.400 millones de años. En orden de abundancia, las rocas pertenecientes a la Provincia de Pastora ocupan el primer lugar dentro de la superficie de la Reserva Forestal de Imataca, seguido por aluviones y las litologías propias de Imataca. La Provincia de Roraima ocupa solamente alrededor del 2,8% de total (Padilla 2003).

La Provincia de Pastora esta constituida por rocas volcánicas y plutónicas máficas, intermedias y ácidas, metasedimentarias piroclásticas y epiclásticas. La provincia de Roraima esta constituida por rocas sedimentarias epiclásticas en su mayoría, rocas sedimentarias piroclásticas, sills y diques de diabasa. La 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 esta intrusionada por cuerpos graníticos básicos (González de Juana *et al.*, 1980).

Tipos de suelos

En la Reserva Forestal de Imataca los suelos predominantes son residuales, generalmente profundos, ácidos, de baja fertilidad, pobres en macronutrientes P, Na, K, Ca, Mg, etc. no obstante, en las áreas bajo bosque se modifica, ya que los horizontes superficiales se enriquecen con materia orgánica y por consiguiente en bases, producto de la descomposición de los restos vegetales. En general poseen buen drenaje, buena estructuración y consecuentemente buena aireación, a excepción de los suelos inundables (Padilla 2003).

Padilla (2003) reporta la presencia de órdenes de suelos, según la clasificación de Taxonomía de Suelo, en la Reserva Forestal de Imataca de acuerdo a la Tabla 1, donde se observa la predominancia de Ultisoles.

Tabla 1 Tipos de suelos de la Reserva Forestal de Imataca (Padilla 2003)

Orden de Suelo	Superficie (ha)	Porcentaje (%)
Ultisoles	2.803.576	73,18
Entisoles	640.230	16,71
Inceptisoles	47.836	1,25
Histosoles	90.936	2,37
Afloramientos rocosos	175.645	4,58
Vacío de información	72.777	1,90
Total	3.831.010	99,99

La Reserva Forestal de Imataca presenta serios problemas de fertilidad debido a sus suelos muy acidificados, el cultivo agrícola requiere, en suelos de esa característica, el uso de enmiendas con cal, tasas de fertilización frecuente y moderadamente alta para la mayoría de los cultivos (Padilla 2003).

Colección de las muestras

Las muestras de suelo colectadas corresponden a la unidad de Manejo C-3, en concesión a la empresa Comafor y la misma se encuentra ubicada en la zona central de la Reserva Forestal de Imataca, al Noreste del estado Bolívar. Geográficamente la unidad C-3 se halla localizada entre los paralelos 07°00' y 07°30' de latitud Norte y entre los 60°15' de longitud Oeste y tiene una extensión de 129.335 hectáreas.

Cabe destacar que las muestras de suelos analizadas, fueron colectadas por el personal del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) y de la Universidad de Brown en

Estados Unidos. Se excavaron un total de 6 calicatas las cuales poseen un área no mayor a los 1.6 x 1.6m y una profundidad máxima de 1m. En cada calicata las muestras fueron colectadas de los horizontes diagnósticos identificados en campo. Para mitigar los impactos del muestreo por medio de calicatas, el horizonte O (capa orgánica superior) del suelo fue excavado cuidadosamente para extraerlo con un mínimo de alteración física y colocado a un lado de la calicata. El material extraído de los horizontes inferiores A, B y C al excavar la calicata fue colocado separadamente del horizonte O para su posterior uso en el cierre de la calicata. Una vez finalizada la toma de muestras, las calicatas fueron cerradas con el material original extraído de cada nivel. Primero los niveles inferiores C, B, A y por último se colocó el horizonte O en la parte superior. Las calicatas se cerraron el mismo día en que se abrieron una vez que se tomaron las muestras necesarias.

Acceso al área

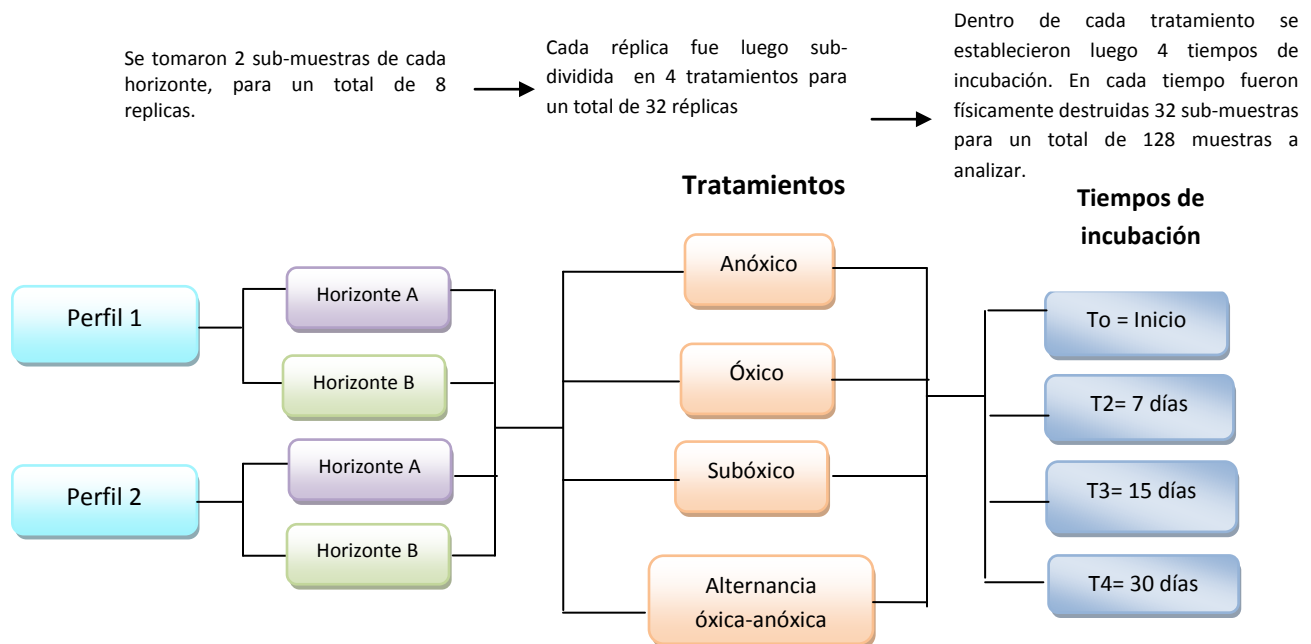
La Unidad C-3 de la Empresa Comafor, posee fácil acceso desde la ciudad de Tumeremo por medio de la carretera Bochínche-Tumeremo, la cual esta pavimentada en un 40%. Varios caminos forestales ya existentes dan acceso a las subunidades dentro de esta concesión.

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Para este estudio se realizó el análisis de dos perfiles de suelos de bosques, proveniente de la Reserva Forestal de Imataca. De cada perfil de suelo se estudiaron muestras provenientes de los horizontes diagnósticos A y B. Las muestras fueron incubadas bajo las siguientes condiciones redox (tratamientos): anóxicas, óxicas, subóxicas y alternancia óxica-anóxica. Las sub-muestras dentro de cada condición redox o tratamiento fueron físicamente destruidas en cuatro tiempos (to= inicio, t2= 7 días, t3=15 días y t4= 30 días) para los análisis químicos (pH, %C orgánico, Fe en oxalato de amonio, Fe^{+2} en HCl 0,5M y P tanto en oxalato de amonio como en HCl 0,5M), que se describirán más abajo.

De las muestras colectadas de los perfiles de suelo (n=4), se tomaron 2 sub-muestras (n=8). Cada sub-muestra fue luego sub-dividida para los 4 tratamientos (n=32) y para un total de 4 tiempos (n-total=128). Cabe destacar que en cada tiempo se destruyeron físicamente 32 sub-muestras para los análisis químicos y el resto permaneció bajo el tratamiento establecido.

La distribución del total de las muestras analizadas se puede observar de manera detallada en el siguiente esquema:



Sistemas de Incubación

Las muestras de suelos se incubaron en un vial de color ámbar de 100mL, empleando una relación suelo-agua 1:2 (10g de suelo: 20mL de agua).

Sistema de incubación anaeróbica

Las muestras en forma de suspensión se colocaron en un vial que posteriormente fue sellado. Una vez sellado, se insertaron 2 agujas: una de ellas se conectó a un sistema de suministro de gas argón (Ar) y la otra estaba libre. Por espacio de 5 minutos se hizo burbujear el gas Ar el cual fue desplazando el O_2 presente en el vial a través de la segunda aguja. Al cabo de 5 minutos se desconectó primero la aguja libre y posteriormente la que suministra el gas Ar. Luego de saturar la muestra en Ar, el vial se introdujo en una cámara anaeróbica la cual contiene una atmósfera de 95% de nitrógeno (N_2) y 5% de H_2 (Figura 2), con el propósito de mantener el estado anaeróbico, evitando que difunda O_2 del ambiente hacia el interior del vial. Bajo esta condición el vial fue abierto para los análisis químicos sólo dentro de la cámara anaeróbica.



Figura 2 Cámara anaeróbica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC)

Sistema de incubación subóxica

Esta condición fue creada inyectando al vial 95% de Ar y 5% de aire, usando el mismo sistema anterior de 2 agujas. Para los análisis químicos el vial fue abierto al aire y las alícuotas para cada determinación química se tomaron lo más rápido posible, evitando la completa oxidación de la muestra.

Condición óxica

En este caso los viales permanecieron abiertos al aire, chequeando eventualmente los pesos para verificar que no ocurrieran pérdidas importantes de agua por evaporación.

Alternancia óxica-anóxica

Los análisis químicos se realizaron primero sometiendo las muestras a condiciones óxicas y luego de 5 días se establecieron condiciones anóxicas, de acuerdo a los métodos de incubación explicados anteriormente.

Análisis químicos

Determinación de Fe (II) y P extraíble con HCl 0,5N

El Fe (II) y P producido, fueron obtenidos usando ácido clorhídrico 0,5M (Chao y Zhou 1983) y cuantificados colorimétricamente empleando el método de la ferrozina para la determinación Fe (II) (Stookey 1970) y el método de Murphy y Riley (1962) para la determinación del P. El Fe (II) obtenido fue empleado como una medida de la extensión total de la reducción (Chacón *et al.*, 2006 b). Sólo la magnetita altamente cristalina es resistente a la disolución en ácido clorhídrico 0,5M (Fredrickson *et al.*, 1998).

Procedimiento

Se pesó una alícuota de la suspensión del suelo de 5,0mL en un tubo de centrífuga de 50mL y se añadieron 30mL de una solución de HCl 0,6M para lograr una concentración final de HCl 0,5M (el volumen final de la solución era 35mL). Se agitó durante toda la noche.

Posteriormente se centrifugó a 5.000 rpm durante un período de 10 minutos. Luego se filtraron los extractos que aún poseían residuos a pesar de haber sido centrifugados y finalmente se determinó el Fe (II) y el P soluble por colorimetría.

Método de la ferrozina para la determinación de Fe(II) (Stookey 1970)

La ferrozina es una sal disódica de 3-(2-piridil)-5,6-bis (4- ácido fenilsulfónico)-1,2,4-triazina, este compuesto reacciona con el Fe divalente para formar un complejo estable $\text{Fe}(\text{ligando})_3^{2+}$. El espectro de absorción UV- visible del complejo ferroso de ferrozina presenta un máximo de absorbancia a 562 nm. El Fe (II) enlazado orgánica e inorgánicamente son indistinguibles por este método. El Fe extraíble corresponde a la suma del Fe (II) + Fe (III), donde el Fe (III) es reducido

por el hidrocloreto de hidroxilamina a Fe (II), para ser determinado mediante el método de la ferrozina. (Pereyazhko y Sposito 2005).

Para la determinación del Fe (II) a través del método de la ferrozina, se requirió la preparación de los siguientes reactivos:

- ✓ Solución ácida: se disolvieron 5,14g de ferrozina y 100g de hidrocloreto de hidroxilamina en una pequeña cantidad de agua. Posteriormente se agregó cuidadosamente 500mL de ácido clorhídrico concentrado. Se dejó enfriar a 20°C y se diluyó a 1L con agua desmineralizada.
- ✓ Solución amortiguadora, pH 5,5: se disolvieron 400g de acetato de amonio en agua. Se agregaron 350mL de hidróxido de amonio concentrado y finalmente se diluyó a 1L con agua desmineralizada.
- ✓ Solución estándar de Fe: se disolvieron 100mg de Fe generado electrolíticamente, en ácido clorhídrico concentrado y se diluyó a 1L con agua desmineralizada. Posteriormente se realizaron varias diluciones de esta solución para preparar una curva de calibración.

Procedimiento

Se limpiaron los recipientes de vidrio con ácido clorhídrico concentrado por varias horas para generar resultados satisfactorios y reproducibles. Posteriormente se colocó una alícuota de 1mL del extracto respectivo en un balón aforado de 50mL. Se agregó 1mL de solución ácida. Se calentó la solución y se mantuvo el punto de ebullición durante 10 minutos. Se enfrió a 20°C. Luego se agregó 1mL de solución amortiguadora y se diluyó hasta el aforo con agua desmineralizada. Se mezcló completamente y se esperó 1 minuto para el desarrollo de color. Finalmente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 562nm, generando una curva de calibración con patrones de Fe con un rango de concentraciones entre 0 y 2 ppm, los cuales fueron preparados a partir de soluciones estándares tratadas de la misma manera.

Determinación de Fe y P extraíble con oxalato de amonio

El Fe y P extraíbles fueron obtenidos empleando oxalato de amonio 0,2M a pH 3 en la oscuridad de acuerdo al procedimiento descrito por McKeague y Day (1966). En suelos bajo condiciones anaeróbicas la extracción con oxalato de amonio permite obtener, el Fe y P asociado a los compuestos hidróxidos ferrosos amorfos, hidróxidos ferroso- férricos, carbonatos ferrosos y Fe (II) soluble (Chacón *et al.*, 2006 b).

Procedimiento

Se pesó una alícuota de la suspensión del suelo de 5mL en un tubo de centrifuga de 50mL y se añadieron 30mL de una solución de oxalato de amonio 0,25M a pH 3 para lograr una concentración final de oxalato de amonio 0,2M a pH 3 (el volumen final de la solución era 35mL).

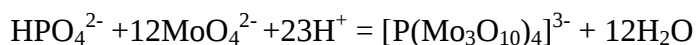
Posteriormente se cubrieron los tubos de centrifuga con papel aluminio (para simular oscuridad) y se agitó por un período de dos horas. Finalmente se centrifugó a 5.000 rpm durante un período de 10 minutos y se filtraron los extractos que aún poseían residuos luego de la centrifugación.

En el extracto ácido se determinó la concentración de Fe extraíble por espectroscopia de absorción atómica a la llama. Se tomaron 5mL del extracto de oxalato en un balón aforado de 50mL y se procedió a aforar con ácido nítrico 0,1M. Se prepararon patrones con rango de concentraciones entre 0 y 7 ppm de Fe, los cuales recibieron el mismo tratamiento que las muestras.

Para la determinación de P se siguió la metodología de (Szilas *et al.*, 1998) para evitar interferencias en el método colorimétrico del P, debido al oxalato. En esta metodología se tomaron 10mL del extracto de oxalato, el cual posteriormente fue combinado con 5mL de ácido nítrico concentrado. La mezcla seguidamente se evaporó hasta la sequedad a 100 °C. Luego de la digestión el residuo sólido se disolvió en 2mL de ácido sulfúrico 0,3M. Una vez disuelto, la solución resultante se empleó para la determinación colorimétrica del P, siguiendo el procedimiento de Murphy y Riley (1962).

Método colorimétrico para la determinación de P (Murphy y Riley 1962)

El método colorimétrico de Murphy y Riley (1962) está basado en la formación de un complejo azul de fosfomolibdato, abreviado PMB (fosfomolibdate blue). Este complejo se forma a partir de la reacción de tetraoxofosfato o formas protonadas del mismo (HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , H_3PO_4) con molibdato en solución ácida y posterior reducción hasta la formación de un compuesto heteropolio azul. La reacción ocurre en dos etapas. En la primera etapa se forma el ácido 12-molibdofosfórico, abreviado 12-(MPA) y en la segunda etapa se reduce el ácido 12-molibdofosfórico al heteropolio azul. La estequiometría de esta reacción, se puede representar mediante la siguiente ecuación iónica:



Donde MoO_4^{2-} es una abreviación utilizada para el heptamolibdato $[\text{Mo}_7\text{O}_{24}]^{6-}$, derivado de la sal comercial heptamolibdato de amonio.

El complejo formado de 12-(MPA) es reducido al complejo azul PMB, mediante la siguiente reacción:



Donde n es la cantidad de moles del agente reductor (Red), requerido para reducir un mol de 12-(MPA) a azul de fosfomolibdato. Al usar ácido ascórbico como agente reductor $n = 1$. La fórmula del heteropolio PMB no es bien conocida, pero puede envolver al molibdeno en estados de valencia de 3+ y 5+. La segunda etapa es la etapa que determina la velocidad de reacción y puede tomar un tiempo superior a un minuto a temperatura ambiente para efectuarse completamente o adquirir un alto grado de conversión. El espectro UV-Visible de este complejo es mostrado en la Figura 3. Como podemos apreciar en el espectro, el complejo presenta un máximo de absorción a 860 nm y un mínimo a 440 nm.

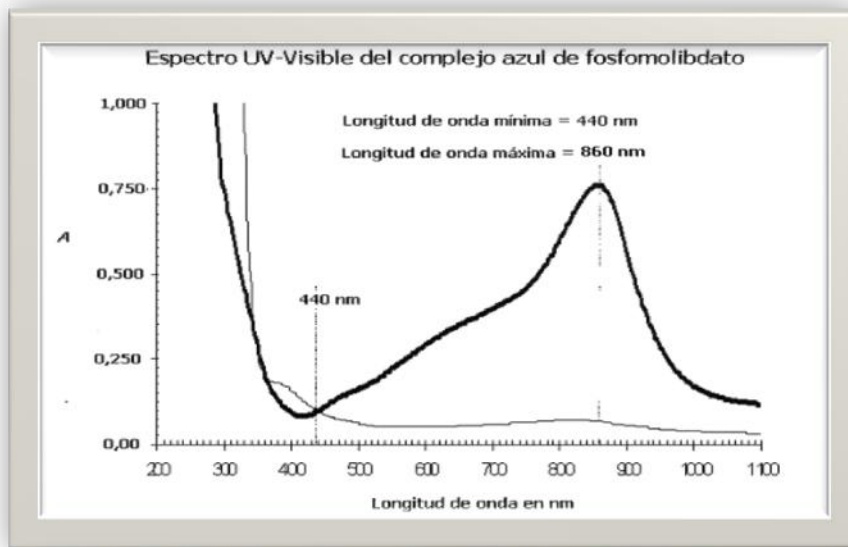


Figura 3. Espectro UV-Visible del complejo azul de fosfomolibdato, formado con una solución de concentración 5 mg de P /L.

Entre los diversos agentes reductores, el ácido ascórbico ha sido el preferido, debido a que el complejo formado por este reductor es estable por un período largo de tiempo y se puede utilizar un reactivo combinado formado por ácido sulfúrico, molibdato de amonio, ácido ascórbico y tartrato de antimonio y potasio para provocar la formación del complejo PMB. El tartrato de antimonio y potasio actúan como catalizadores de la reducción para la formación del complejo PMB.

Interferencia

Los arseniatos reaccionan con el reactivo de molibdato de amonio, generando un color azul similar a el formado con el P. Concentraciones tan bajas como 0.1 mg As/L interfieren con la determinación de fosfatos. Cromo hexavalente, oxalato y NO_2^- interfieren a concentraciones entre 1 mg/L y 10 mg/L. Sulfuros (Na_2S) y silicatos no interfieren a concentraciones entre 1.0 y 10 mg/L.

Soluciones requeridas para la preparación del reactivo de color:

1. Molibdato de amonio (40g /L)
2. Acido ascórbico (26g/500 mL)
3. Tartrato de antimonio y potasio (1,454g/500mL)
4. Acido sulfúrico 2,5 M (278mL de ácido concentrado/ 2L)

Una vez preparadas las soluciones todas fueron guardadas en frascos ámbar. Al momento de realizar la determinación de P las soluciones para el reactivo de color se mezclaron en el siguiente orden y proporción: 250mL de ácido sulfúrico 2,5 M + 75mL de molibdato de amonio + 50mL de ácido ascórbico + 25ml de tartrato de antimonio y potasio.

Para el desarrollo de color se realizó lo siguiente: se tomó una alícuota de 10mL del extracto respectivo en un balón de 50mL y se procedió a ajustar el pH agregando 3 gotas de para-nitrofenol al 0,1%, posteriormente se agregó hidróxido de sodio 4M gota a gota hasta obtener una coloración amarilla. Seguidamente se agregó ácido sulfúrico 0,25M hasta tornar la solución incolora. Una vez obtenido el pH deseado se añadieron 8mL del reactivo de color y se aforó con agua desionizada. En aproximadamente 10 minutos se obtuvo el desarrollo de un color azul cuya absorbancia se determinó con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 712nm.

Para la determinación de la concentración de P se preparó una curva patrón de P en el rango de concentraciones entre 0 y 0,80 ppm, los cuales contenían la misma alícuota ácida que las muestras y recibieron el mismo tratamiento que las muestras.

Determinación del carbono orgánico del suelo

Se realizaron a través del método de Walkley y Black (1934). Para la determinación del porcentaje de carbono orgánico, se requirieron los siguientes reactivos y soluciones:

- ✓ Ácido Fosfórico concentrado (al 0,5%)
- ✓ Fluoruro de Sodio sólido
- ✓ Ácido Sulfúrico concentrado (al 96%)
- ✓ Dicromato de Potasio 0,17M: se pesaron 49,04g de dicromato de potasio, se disolvieron y se aforó a un 1L con agua destilada.
- ✓ Difenilamina (Indicador): se pesaron 0,5g de difenilamina, la cual, se disolvió en 20mL de agua destilada y 100mL de ácido sulfúrico.
- ✓ Solución ferrosa 0,5M: se pesaron 196,1g de sulfato ferroso amoniacal, el cual, se disolvió en 800mL de agua destilada y 20mL de ácido sulfúrico concentrado y se aforó a 1L.

Oxidación de la materia orgánica

Se pesó una alícuota de 5mL de la suspensión del suelo en una fiola de 250mL. Posteriormente se añadieron 10mL de una solución de dicromato de potasio 0,17M, una pequeña cantidad de agua y 20mL de ácido sulfúrico concentrado. Tomándose de una coloración amarilla-verdosa clara. Finalmente se dejó reposar durante 20 a 30 minutos.

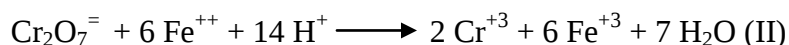
Valoración por retroceso

A la solución resultante de la oxidación de la materia orgánica se le añadieron 125mL de agua destilada, 10mL de ácido fosfórico concentrado, 0,2g de fluoruro de sodio y 4 gotas del indicador difenilamina. La disolución se valoró por retroceso con una solución de sulfato ferroso amoniacal 0,5M. El punto de equivalencia se determinó mediante el cambio de un color verde oscuro a verde brillante. Simultáneamente se realizaron dos ensayos de valoración en blanco (sin suelo).

La reacción completa entre la materia orgánica, el dicromato de potasio y el ácido sulfúrico, puede ser representada mediante la siguiente ecuación:



Estequiométricamente, en la ecuación (I) puede determinarse la cantidad de dicromato en exceso que no interviene en la reacción, mediante la técnica de valoración. Normalmente, con esta técnica se utiliza una solución de sulfato ferroso amoniacal de concentración conocida y la difenilamina como sustancia indicadora del punto de equivalencia o punto final, esto de acuerdo a la reacción de óxido-reducción siguiente:



La determinación consiste en la oxidación del carbono orgánico por una mezcla oxidante de dicromato de potasio y ácido sulfúrico concentrado, acelerada por el calor de dilución del ácido en agua. El ácido fosfórico se emplea para lograr mayor nitidez en el cambio del color de azul a verde. Walkley y Black encontraron que por este método sólo el 75% del carbono orgánico es oxidado.

Determinación del pH del suelo

La determinación del pH del suelo se realizó mediante el método desarrollado por Piper descrito por Jackson (1982).

Se tomó una alícuota de 5mL de la suspensión del suelo, la cual fue agitada por espacio de 1 minuto previo a la inserción de un electrodo calibrado a un pH entre 4 y 7 con soluciones “amortiguadoras” comerciales. Las variaciones en el pH fueron determinadas con un pH metro digital marca Benchtop.

Es importante destacar que el criterio empleado para la selección de los sistemas de incubación y los distintos métodos empleados para la determinación del Fe, P, pH, %MO y %CO, estuvo basado en que son métodos estándares empleados en análisis de suelo, lo cual, nos permite comparar nuestros resultados con trabajos previos.

RESULTADOS

Efecto de las variaciones temporales en los cambios del potencial redox del suelo sobre la concentración de Fe y P en muestras colectadas de los horizontes A y B del perfil 1

Las variaciones en el tiempo de las concentraciones de Fe y P en los extractos de HCl y oxalato de amonio, para los horizontes A y B del perfil 1, generadas por los cambios redox del suelo, son mostradas en la figura 4 y 5.

Las concentraciones de Fe extraíble y P asociado en el horizonte A, obtenidas en el extracto de oxalato de amonio, (figura 4a y b) para los 7 y 15 días de incubación mostraron un incremento en los tratamientos con variaciones en la concentración de oxígeno (O-A CA, O-A CO y CS en menor escala). Posteriormente hacia los 30 días de incubación ocurrió un marcado descenso en las concentraciones de ambos elementos.

Las concentraciones de Fe (II) soluble y P asociado, extraídos con HCl (figura 4c y d), presentaron la misma tendencia, sin embargo, el tratamiento bajo CS fue más sensible en el extracto de HCl respecto al extracto de oxalato de amonio.

En este horizonte el tratamiento de alternancia O-A CO, reflejó un consumo de materia orgánica (Tabla 4) durante el tiempo de incubación correspondiente a $t=15$. El tratamiento bajo CS presentó un consumo de materia orgánica en los tiempos de incubación correspondientes a $t=7$ y $t=15$ días, mientras que el tratamiento de alternancia O-A CA prácticamente no presentó variación en el porcentaje de materia orgánica.

En el horizonte B (figura 5) se observa la misma tendencia en los tratamientos con variaciones en la concentración de oxígeno, sin embargo, ocurrió un decrecimiento en el proceso, debido a que las concentraciones de Fe y P extraídos con oxalato de amonio y HCl disminuyeron respecto al horizonte A. En este horizonte se observa que el tratamiento de alternancia O-A CA reflejó un consumo de materia orgánica (Tabla 4) en $t=15$, mientras que el tratamiento de alternancia O-A CO y el tratamiento bajo CS lo presentaron en $t=7$ días.

En ambos horizontes se observa que el tratamiento bajo condición anóxica no condujo a la reducción de Fe y liberación de P, puesto que las concentraciones de Fe y P en HCl y oxalato de amonio, se mantuvieron cercanas o por debajo de las concentraciones arrojadas por el tratamiento bajo CO, el cual es empleado como tratamiento control. Por su parte, el pH del suelo (Tabla 2) no presentó variaciones durante todo el período de incubación.

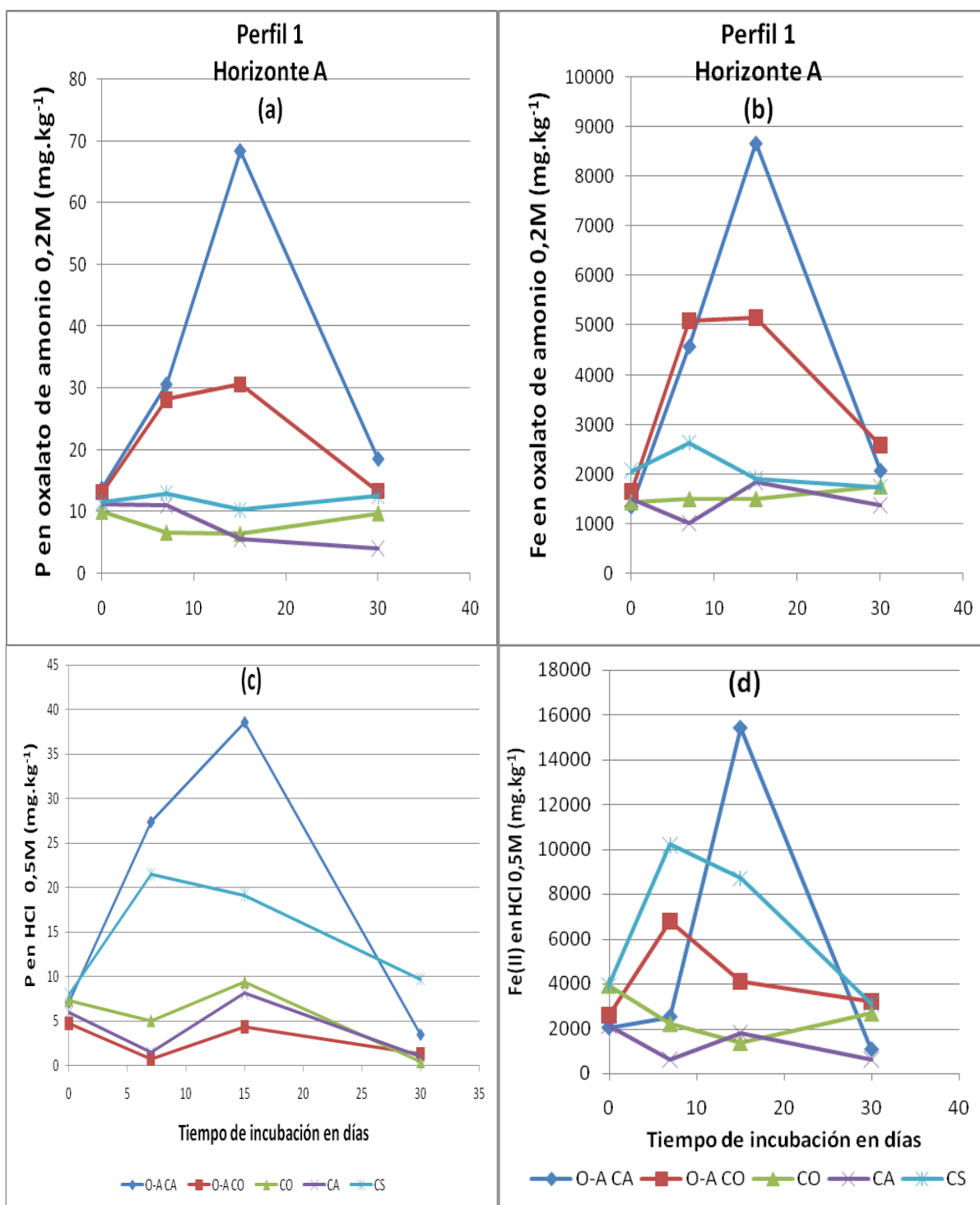


Figura 4. Concentraciones de Fe y P correspondientes al horizonte A del perfil 1, obtenidas en el extracto de oxalato de amonio 0,2M (a y b) y HCl 0,5M (c y d) en los distintos tratamientos y períodos de incubación.

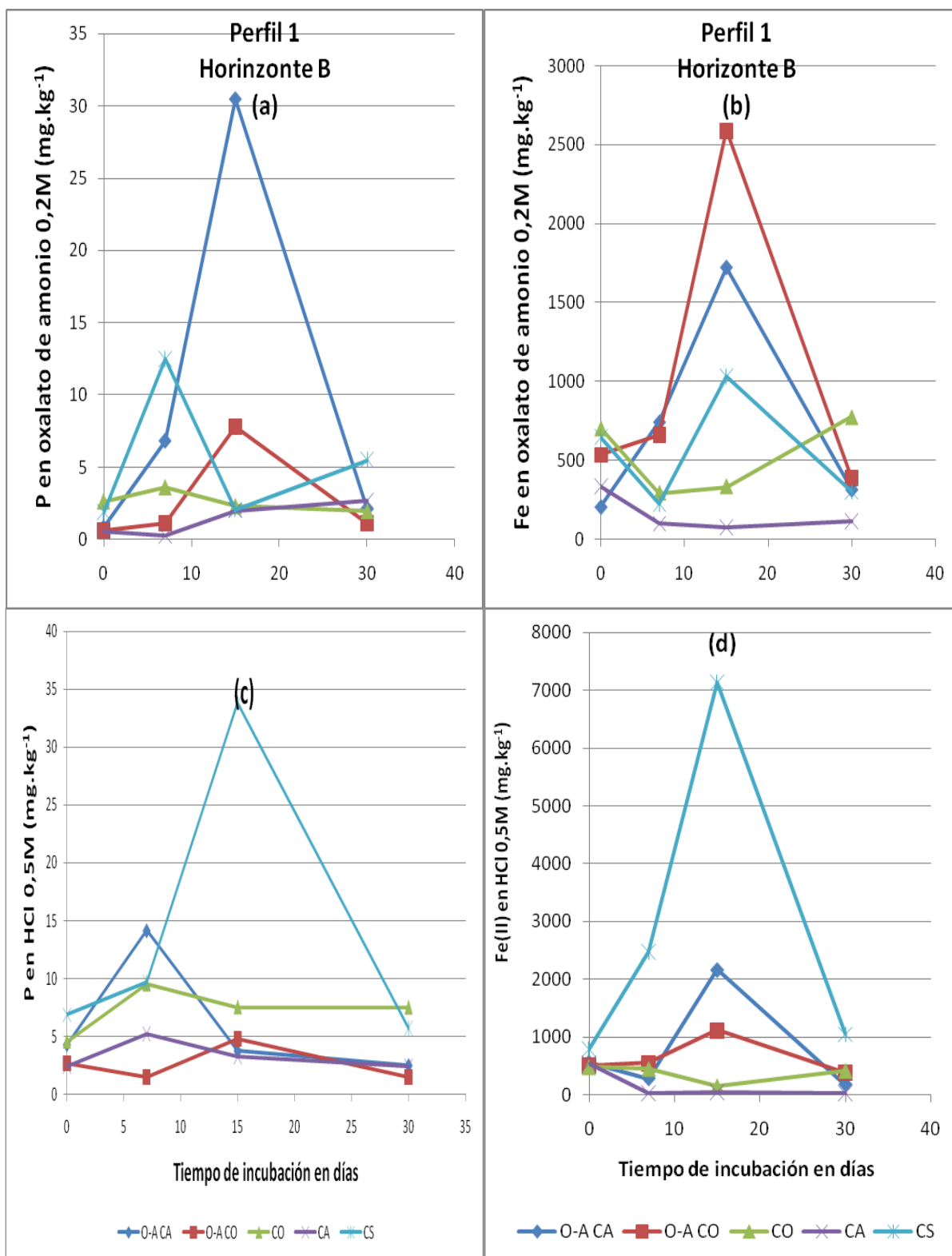


Figura 5. Concentraciones de Fe y P correspondientes al horizonte B del perfil 1, obtenidas en el extracto de oxalato de amonio 0,2M (a y b) y HCl 0,5M (c y d) en los distintos tratamientos y períodos de incubación.

Efecto de las variaciones temporales en los cambios del potencial redox del suelo sobre la concentración de Fe y P en muestras colectadas de los horizontes A y B del perfil 2

Las variaciones de las concentraciones de Fe y P en los extractos de HCl y oxalato de amonio, para el horizonte A y B del perfil 2, generadas por los cambios en el potencial redox del suelo, se presentan en la figura 6 y 7.

En el horizonte A de este perfil, se observa la misma tendencia obtenida para el perfil 1, donde los tratamientos con variaciones en la concentración de oxígeno (O-A CA, O-A CO y CS) promueven entre los 7 y 15 días de incubación el incremento de la concentración de Fe y P extraído con oxalato de amonio y HCl, con su posterior descenso hacia el final del período de incubación (t=30 días) (figura 6).

En este horizonte, ocurrió un consumo de materia orgánica (Tabla 5) en el tratamiento de alternancia O-A CO y en el tratamiento bajo CS durante los primeros 7 y 15 días de incubación. Mientras que el tratamiento de alternancia O-A CA, al igual que en el perfil 1, no presentó prácticamente variación en el porcentaje de materia orgánica.

En el horizonte B (figura 7) se observa la misma tendencia en los tratamientos con variaciones en la concentración de oxígeno, sin embargo al igual que en el perfil 1, ocurrió un decrecimiento en el proceso. En este horizonte se observa que el tratamiento de alternancia O-A CA reflejó un consumo de materia orgánica (Tabla 5) en t=7 y t=15, mientras que el tratamiento de alternancia O-A CO y el tratamiento bajo CS lo presentaron en t=15 días.

En ambos horizontes, al igual que en el perfil 1, las concentraciones de Fe (II) y P en HCl (figura 6c y d, figura 7c y d), reflejan que el tratamiento bajo CS presentó más sensibilidad en el extracto de HCl, respecto al extracto de oxalato de amonio. Por su parte el tratamiento bajo CA no presentó una tendencia clara que permita indicar que se favoreció el proceso de reducción de Fe y liberación de P. Para los diferentes tratamientos y tiempos de incubación, el pH del suelo no varió (Tabla 3).

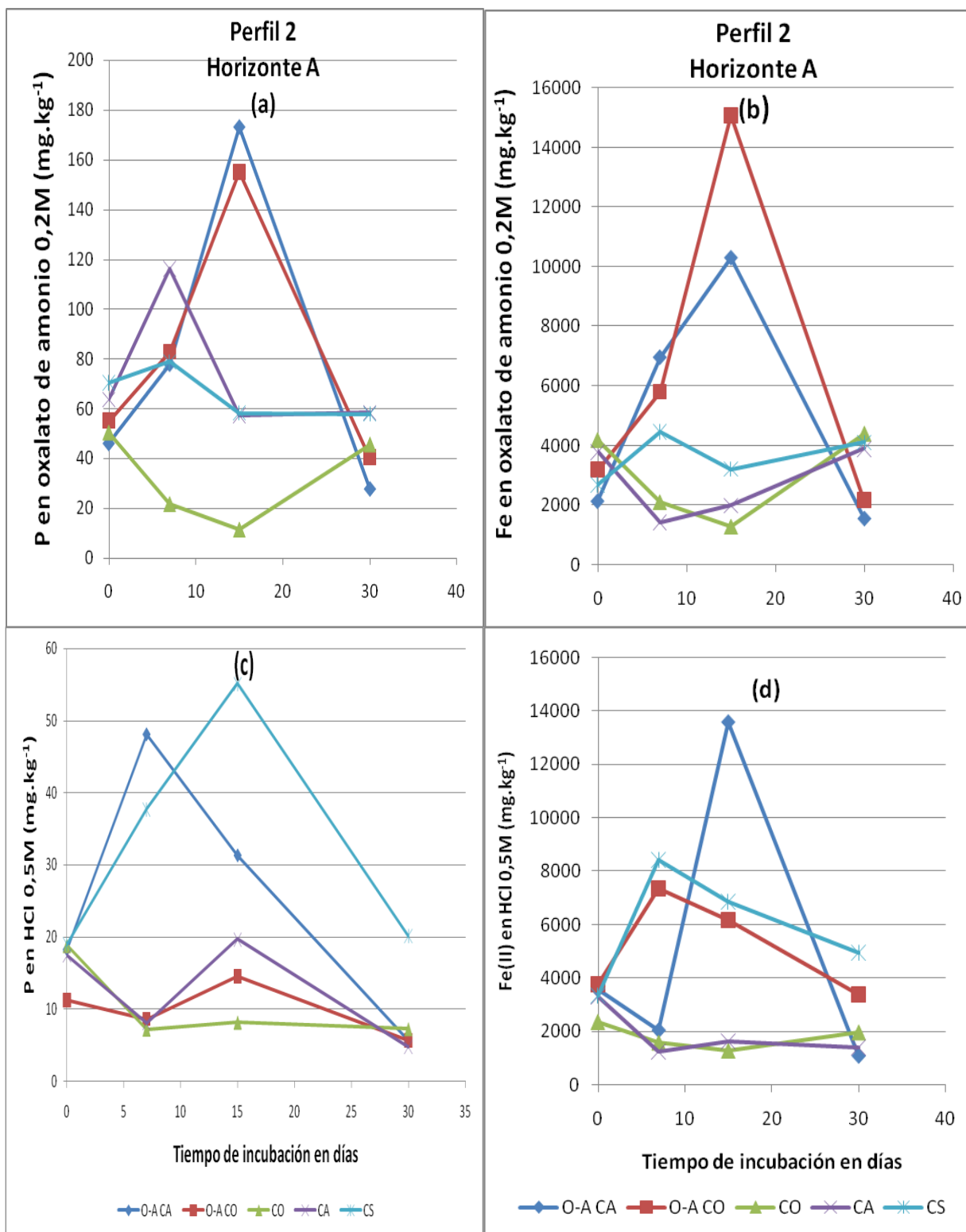


Figura 6. Concentraciones de Fe y P correspondientes al horizonte A del perfil 2, obtenidas en el extracto de oxalato de amonio 0,2M (a y b) y HCl 0,5M (c y d) en los distintos tratamientos y períodos de incubación.

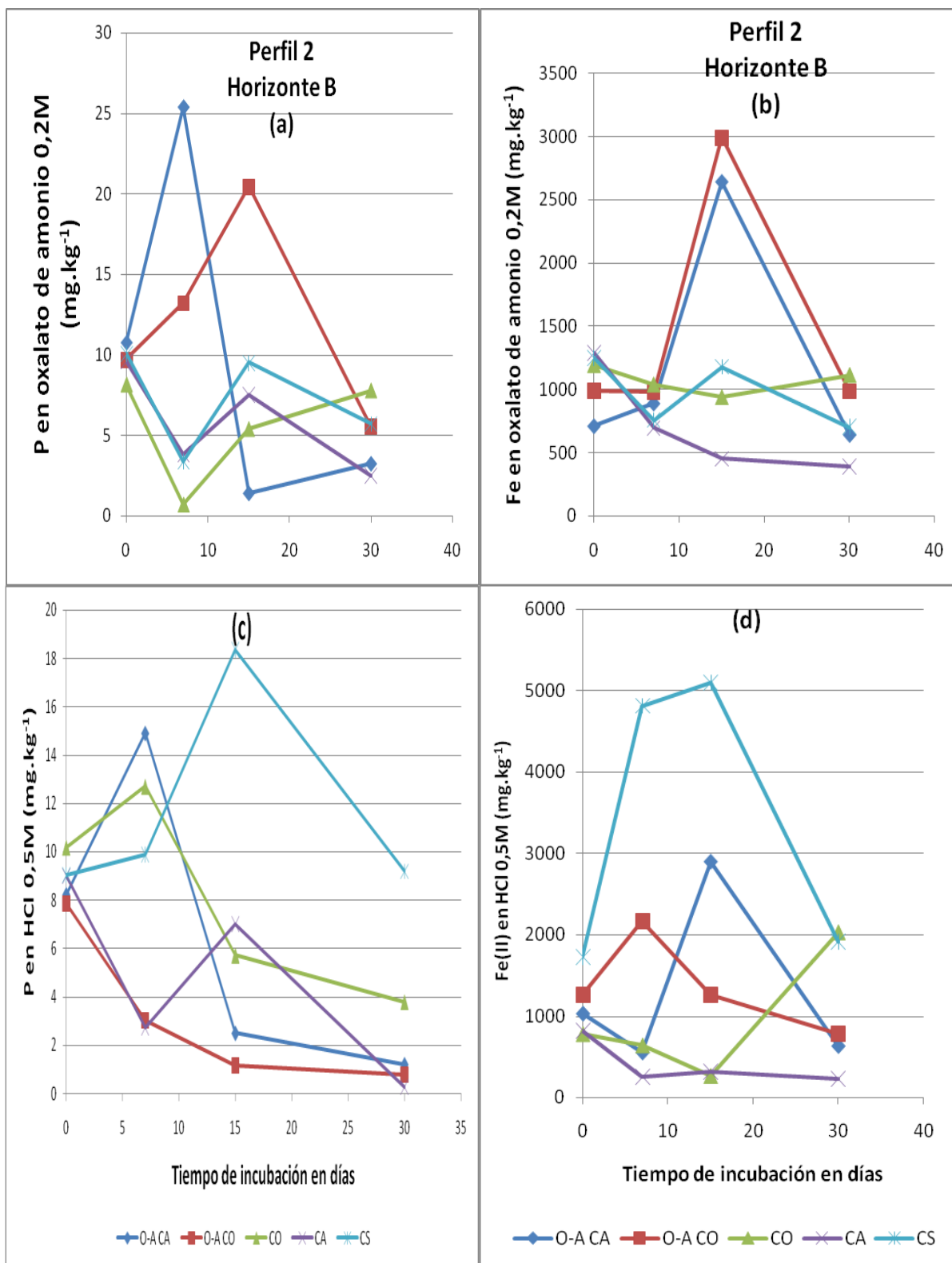


Figura 7. Concentraciones de Fe y P correspondientes al horizonte B del perfil 2, obtenidas en el extracto de oxalato de amonio 0,2M (a y b) y HCl 0,5M (c y d) en los distintos tratamientos y períodos de incubación.

Comparación de la dinámica del Fe y P entre los distintos perfiles de suelos estudiados

Al comparar las variaciones redox del suelo en el perfil 1 y en el perfil 2, se puede señalar que para ninguno de los sitios de estudio, la condición anóxica condujo a una notoria reducción de Fe y liberación de P.

Sin embargo, para ambos sitios de estudio se observó que entre los 7 y 15 días incubación, los tratamientos con variaciones en la concentración de oxígeno (O-A CA, O-A CO y CS) promovieron la reducción de Fe y liberación de P. Dicho proceso se corresponde con el consumo de materia orgánica, pero no con las variaciones del pH del suelo. Para ambas situaciones se observó que hacia el horizonte B hay un decrecimiento en el proceso, reflejado en la disminución de las concentraciones de Fe y P respecto al horizonte A.

Otra semejanza notable, es que el tratamiento bajo CS fue más sensible en el extracto de HCl respecto al extracto de oxalato de amonio.

Tabla 2. Variaciones de pH obtenidas para los horizontes A y B, correspondientes al perfil 1

Tratamiento	Tiempo de Incubación (días), pH			
Horizonte A	T= 0	T= 7	T= 15	T= 30
O-A CA	4,63 ± 0,12	4,85 ± 0,01	4,47± 0,35	4,87± 0,13
O-A CO	4,65 ± 0,27	4,67 ± 0,11	4,70 ± 0,12	4,58 ± 0,33
CO	5,01± 0,84	4,47± 0,02	4,39 ± 0,01	4,57± 0,10
CA	4,52 ± 0,06	4,64 ± 0,22	4,80 ± 0,10	4,69 ± 0,06
CS	4,62 ± 0,04	4,19 ± 0,24	4,41± 0,13	4,39± 0,30
Horizonte B				
O-A CA	5,16 ± 0,00	5,21 ± 0,28	4,82 ± 0,04	4,98± 0,02
O-A CO	5,41 ± 0,01	5,12 ± 0,01	5,05 ± 0,00	5,20 ± 0,07
CO	4,92 ± 0,30	4,97± 0,04	5,11± 0,05	5,28 ± 0,12
CA	5,15 ± 0,04	5,05 ± 0,08	5,29 ± 0,06	4,65 ± 0,07
CS	5,08 ± 0,21	4,88± 0,07	5,16± 0,00	4,98 ± 0,08

Tabla 3. Variaciones de pH obtenidas para los horizontes A y B, correspondientes al perfil 2

Tratamiento	Tiempo de Incubación (días), pH			
Horizonte A	T= 0	T= 7	T= 15	T= 30
O-A CA	4,97 ± 0,11	5,33 ± 0,05	5,19 ± 0,02	5,33 ± 0,01
O-A CO	5,33 ± 0,35	5,21± 0,14	5,18 ± 0,05	5,43 ± 0,03
CO	4,96 ± 0,02	4,70 ± 0,20	4,67 ± 0,01	5,09 ± 0,01
CA	4,87± 0,04	5,07 ± 0,25	5,31± 0,08	4,99 ± 0,11
CS	5,05± 0,11	4,77± 0,16	4,82± 0,02	5,01± 0,19
Horizonte B				
O-A CA	4,77 ± 0,23	5,07 ± 0,00	4,74 ± 0,02	4,85 ± 0,01
O-A CO	5,20 ± 0,01	4,99 ± 0,11	4,87 ± 0,01	4,94 ± 0,05
CO	4,99 ± 0,02	4,92 ± 0,17	4,95 ± 0,01	5,07 ± 0,11
CA	4,93± 0,03	5,14 ± 0,05	5,07± 0,06	4,60 ± 0,06
CS	5,05± 0,01	4,82± 0,09	4,82± 0,14	4,82± 0,01

Tabla 4. Variaciones del %MO obtenidas para los horizontes A y B, correspondientes al perfil 1

Tratamiento	Tiempo de Incubación (días), Porcentaje de materia orgánica (%MO)			
Horizonte A	T= 0	T= 7	T= 15	T= 30
O-A CA	0,134± 0,029	0,212 ± 0,028	0,194± 0,012	0,183± 0,024
O-A CO	0,248± 0,027	0,283± 0,038	0,153 ± 0,012	0,289 ± 0,020
CO	0,089 ± 0,010	0,227 ± 0,051	0,375 ± 0,019	0,218 ± 0,004
CA	0,181± 0,000	0,183± 0,037	0,342± 0,039	0,323± 0,030
CS	0,303± 0,009	0,211± 0,023	0,133±0,018	0,235± 0,012
Horizonte B				
O-A CA	0,023± 0,004	0,065 ± 0,009	0,002± 0,001	0,059 ± 0,003
O-A CO	0,057 ± 0,001	0,043 ± 0,001	0,053± 0,001	0,071 ± 0,007
CO	0,086± 0,012	0,052 ± 0,012	0,162 ± 0,004	0,060 ± 0,015
CA	0,232 ± 0,007	0,104± 0,012	0,029 ± 0,001	0,078± 0,008
CS	0,109±0,012	0,030±0,002	0,063±0,010	0,092±0,008

Tabla 5. Variaciones del %MO obtenidas para los horizontes A y B, correspondientes al perfil 2

Tratamiento	Tiempo de Incubación (días), Porcentaje de materia orgánica (%MO)			
Horizonte A	T= 0	T= 7	T= 15	T= 30
O-A CA	0,125 ± 0,010	0,148 ± 0,017	0,145± 0,012	0,172 ± 0,007
O-A CO	0,400± 0,002	0,300± 0,013	0,167± 0,013	0,508± 0,013
CO	0,351± 0,043	0,174 ± 0,037	0,392 ± 0,035	0,364± 0,003
CA	0,222 ± 0,049	0,220± 0,028	0,412± 0,049	0,435± 0,018
CS	0,513±0,034	0,379±0,028	0,291±0,002	0,296±0,001
Horizonte B				
O-A CA	0,082± 0,004	0,037± 0,001	0,004± 0,001	0,086± 0,001
O-A CO	0,023±0,001	0,095± 0,009	0,004± 0,000	0,112± 0,024
CO	0,065 ± 0,012	0,065 ± 0,006	0,110 ± 0,009	0,068 ± 0,008
CA	0,217 ± 0,015	0,086 ± 0,011	0,069± 0,002	0,098± 0,001
CS	0,072±0,004	0,082±0,009	0,038±0,005	0,025±0,005

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Efecto de las variaciones redox del suelo en la dinámica del Fe y P

Los suelos de bosques húmedos tropicales son frecuentemente caracterizados por la dominancia de minerales ricos en Fe, alta velocidad de ciclaje de C y condiciones redox fluctuantes (Chacón et al., 2006b). Los períodos 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 bacteriana de Fe (III), el cual, puede incrementar la solubilidad del P asociado con los óxidos de Fe.

Sin embargo, en este estudio se observó que el establecimiento de condiciones netamente anaeróbicas no promovió la reducción de Fe (III) y liberación de P a la solución del suelo. Es probable que el proceso de reducción microbiana de los óxidos de Fe (III) se haya visto limitada en el suministro de C lábil. Es bien conocido que la reducción bacteriana de los oxi-hidróxidos de Fe es un proceso principalmente biótico y es atribuida a la actividad de distintas bacterias reductoras de Fe las cuales requieren materia orgánica biodisponible, la cual provee al microorganismo la energía, nutrientes y electrones que ellos necesitan para sintetizar la biomasa y sostener sus funciones vitales (Hunter *et al.* 1998, Baldwin y Mitchell 2000).

La presencia de oxígeno en concentraciones variables, tal como se estableció en los tratamientos de alternancia O-A CA y O-A CO, así como en el tratamiento bajo CS, por el contrario si promovió la reducción de Fe (III) y liberación de P, entre los 7 y 15 días de incubación. Dos posibles explicaciones se podrían tener para este resultado: (i) que ambos tipos de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos están desarrollando actividad, lo cual incrementa la eficiencia en la oxidación de la materia orgánica y consecuente reducción del Fe (III), tal y como se observa en el tratamiento CS y (ii) que al realizarse la alternancia óxica-anóxica los microorganismos netamente aeróbicos o anaeróbicos, mueran al establecer una condición redox distinta a la de su medio de desarrollo y sirvan de sustrato orgánico lábil para los microorganismos que comienzan a crecer. Tal situación debería conllevar a una importante transferencia de electrones con la consecuente reducción de los óxidos de Fe (III).

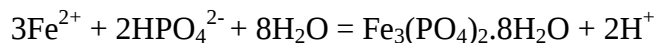
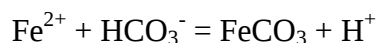
En este estudio se observó una correlación positiva entre los tiempos de incubación en los cuales, ocurrió consumo de materia orgánica, reducción de Fe (III) y liberación de P. Debido a que como

se mencionó anteriormente, la materia orgánica es empleada por los microorganismos como fuente de energía para la reducción de diferentes aceptores de electrones, como son los oxi-hidróxidos de Fe (III) (Quantin *et al.*, 2001).

En el horizonte A de ambos perfiles, se observó que en el tratamiento de alternancia O-A CA no ocurrió un consumo de materia orgánica en los tiempos de incubación $t=7$ y $t=15$ días, lo cual, se puede atribuir a que inicialmente las muestras fueron cosechadas bajo condición óxica y luego sometidas a condición anóxica, lo cual, pudo haber generado la muerte de los microorganismos aeróbicos que no se adaptaron a estas condiciones, pasando a formar parte del reservorio de carbono orgánico lábil del suelo.

Debido a la tendencia general de consumo de protones durante el proceso de reducción microbiana del Fe (III) Ponnampuruma (1972) (ver reacción en la página 11), se esperaba que el pH del suelo aumentara en los tiempos de incubación en los cuales se determinó que se promovió la reducción de Fe y liberación de P, sin embargo, el pH presentó pocas variaciones, lo cual, se puede atribuir a que la concentración de Fe (II) generado por el proceso de reducción microbiana de Fe (III), fue muy baja como para generar un aumento en el pH del suelo.

El descenso general de las concentraciones de Fe y P a los 30 días de incubación, puede atribuirse a que el Fe (II) generado por el proceso de reducción microbiana, puede experimentar reacciones químicas secundarias, las cuales, tienden a la precipitación de minerales ferrosos como la vivianita ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) y la siderita (Fredrickson *et al.*, 1998; Zachara *et al.*, 1998). En este estudio no se observó un decrecimiento en el pH del suelo, que sirva como indicativo de la formación de algunas de estas fases minerales, puesto que de acuerdo a las siguientes reacciones, se puede observar que el proceso de precipitación de vivianita y siderita, libera protones a la solución del suelo, lo cual, genera una disminución del pH:



Descartamos la precipitación del mineral vivianita, debido a que no se observó la presencia de un precipitado purpura-azul característico de la formación de la misma.

También es importante señalar, que los hidróxidos férricos ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) pueden ser reducidos a geles complejos de hidróxidos ferrosos ($\text{Fe}(\text{OH})_2$) (Ponnampuruma *et al.*, 1967). Los hidróxidos

ferrosos recién precipitados, generalmente son amorfos (Shukla *et al.*, 1971) y con mayor área superficial que el compuesto férrico original, por lo tanto, es posible que el decrecimiento de la concentración de Fe (II) y P liberado vía reducción microbiana haya sido debido a la formación de estos geles complejos y a la re-adsorción del P liberado, por estos compuestos de alta reactividad química (Holford y Patrick 1979).

El decrecimiento del proceso de reducción de Fe (III) y liberación de P, reflejado por los tratamientos con deficiencia de oxígeno en el horizonte B, se puede atribuir probablemente a dos factores: (i) la falta de energía proveniente de la materia orgánica, para que actúen los dos tipos de microorganismos, ya que este horizonte presenta menor contenido de materia orgánica respecto al horizonte A y (ii) el incremento en la concentración de arcilla hacia el horizonte B (Perfil 1: Horizonte A: 30%, Horizonte B: 62,50%; Perfil 2: Horizonte A: 20%, Horizonte B: 35%) en ambos perfiles.

La medición del Fe (II) extraído con HCl 0,5M, puede ser usado como una medida de la extensión total de la reducción (producción de Fe (II)) y el P obtenido en éste extracto, corresponde al P ligeramente adsorbido en la superficie de los óxidos de Fe (Chao y Zhou 1983; Fredrickson *et al.*, 1998). Por su parte, el extracto de oxalato de amonio 0,2M bajo condiciones anaeróbicas, extrae el Fe y P asociado a compuestos de hidróxidos ferrosos ($\text{Fe}(\text{OH})_2$), carbonato ferroso (FeCO_3) y Fe (II) soluble (Willet y Higgings 1978). Bajo condiciones de oxidación extrae el Fe asociado a los óxi- hidróxidos de Fe (III).

Por lo tanto, de acuerdo a lo anterior, se puede señalar que el extracto de oxalato de amonio no fue el más adecuado para observar el proceso de reducción microbiana de Fe (III) en el tratamiento bajo CS, debido a que tenemos una mezcla de Fe y P asociado a minerales ferrosos y a minerales férricos. Mientras que el extracto de HCl como se mencionó anteriormente nos permite observar únicamente el Fe (II) y P soluble derivados principalmente del proceso de reducción microbiana de Fe (III). Esta variación también se observa en el tratamiento de alternancia O-A CO, donde la concentración de Fe extraído con oxalato de amonio, supera marcadamente a la concentración de Fe (II) (generado bajo el establecimiento de condiciones reductoras), lo cual se corresponde con la predominancia de minerales férricos bajo condiciones de oxidación.

CONCLUSIONES

- ✓ El establecimiento de condiciones netamente anaeróbicas no promueve la reducción de Fe (III) y liberación de P a la solución del suelo, probablemente porque el proceso está limitado en C orgánico lábil.
- ✓ Los tratamientos con concentraciones variables de oxígeno (O-A CA, O-A CO y CS) promovieron la bioproducción de Fe (II) y la subsiguiente liberación de P a la solución del suelo.
- ✓ La formación de hidróxidos ferrosos amorfos (reacción química secundaria), con la subsecuente adsorción de P, probablemente es la principal causa del decrecimiento en las concentraciones de Fe y P hacia los treinta días de incubación.
- ✓ La poca variación del pH del suelo se puede atribuir a la baja concentración de Fe (II) generado por el proceso de reducción microbiana de Fe (III).
- ✓ El decrecimiento en el proceso de reducción de Fe (III), observado en el horizonte B, se puede asociar con la falta de energía proveniente de la materia orgánica para que actúen los microorganismos presentes en el suelo y al incremento en el contenido de arcilla en ese horizonte.
- ✓ El extracto de oxalato de amonio 0,2M no es el más adecuado para observar el proceso de reducción microbiana de Fe (III), en el tratamiento bajo CS, debido a que tenemos una mezcla de Fe y P asociado a minerales ferrosos y a minerales férricos.

RECOMENDACIONES

- 1) Realizar la determinación del P orgánico, con la finalidad de verificar si la mayor parte del P liberado a la solución del suelo fue en forma orgánica, lo cual, sería consistente con la verificación de la hipótesis de (Miller et al., 2001), realizada por Peretyazhko y Spósito en el año 2005.
- 2) Estimar la producción de CO_2 y la producción o consumo de CH_4 como una medida integrada de la actividad microbiana. Igualmente el consumo o producción del CO_2 , puede ser empleado para estimar la posible precipitación de fases minerales de Fe (II), como la siderita.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baldwin, D. y Mitchell, A., 2000. *The effects of drying and re-flooding on the sediment and soil nutrient dynamics of lowland river-floodplain systems: a synthesis*. Regulat. Rivers: Res. Mgmt 16, 457-467.
- Benali, O., Abdelmoula, M., Refait, P. y Génin, J., 2001. *Effect of ortophosphate on the oxidation products of Fe (II)-Fe(III) hydroxycarbonate: the transformation of green rust to ferrihydrite*. Geochimica et Cosmochimica Acta 65, 1715-1726.
- Bohn, H., McNeal, B. y O'Connor, G., 1994. *Química del Suelo* (2ª ed.). Editorial Limusa, México, 370 p.
- Casanova, E., 2005. *Introducción a la Ciencia del Suelo* (2ª ed.). Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad Central de Venezuela, Caracas, 482 p.
- Chacón, N. y Dezzee, 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.
- Chacón, N., Dezzee, N. y Flores, S., 2005. *Effect of particle-size distribution, soil organic carbon content and organo-mineral aluminum complexes on acid phosphatases of seasonally flooded forest soils*. Biology and Fertility of Soils 41, 69-72.
- Chacón, N., Dezzee, N., Rangel, M. y Flores, S., 2008. *Seasonal changes in soil phosphorous dynamics and root mass along a flooded tropical forest gradient in the lower Orinoco river, Venezuela*. Biogeochemistry 87, 157-168.
- Chacón, N., Flores, S. y González, A., 2006 a. *Implications of iron solubilization on soil phosphorus release in seasonally flooded forests of the lower Orinoco river, Venezuela*. Soil Biol Biochem 38, 1494-1499.
- Chacón, N., Silver, W., Dubinsky, E. y Cusack, D., 2006 b. *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.
- Chao, T. y Zhou, L., 1983. *Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments*. Soil Sci. Soc. Am. J. 47, 225-232.
- De Mello, J., Barrón, V. y Torrent, J., 1998. *Phosphorus and iron mobilization in flooded soils from Brazil*. Soil Science 163, 122-132.

- Dick, W. y Tabatabai, M., 1993. *Significance and Potencial Uses of Soil Enzymes*. Soil Microbial Ecology Applications in Agricultural and Environmental Management. Marcel Dekker, New York, 95-127.
- Eivazi, F. y Tabatabai, M., 1977. *Phosphatases in soils*. Soil Biol. Biochem. 9, 167-172.
- 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, 1-9.
- Fimmen, R., Richter, D., deB. Vasudevan, D., Williams, M., y West, L., 2008. *Rhizogenic Fe-C redox cycling: a hypothetical biogeochemical mechanism that drives crustal weathering in upland soils*. Biogeochemistry 88, 157-168.
- Fredrickson, J., Zachara, J., Kennedy, D., Dong, H., Onstott, T., 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, 3239-3257.
- González de Juana, C., Piccard, X. y Pimentel, N., 1980. *Geología de Venezuela y de sus cuencas petrolíferas*. Tomo I. Ediciones Foninves, Caracas, 407 p.
- Holford I.C.R. y Patrick W.H. 1979. *Effects of reduction and pH changes on phosphate sorption and mobility in an acid soil*. Soil Sci. Soc. Am. J. 43, 292-296.
- Hollander, V., 1971. *Acid phosphatase*. In: PD Boyer, ed. *The enzymes*. Vol. II. 3rd ed. Academic Press, New York, 449-498.
- 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.
- Jackson, M., 1982. *Análisis químico de suelos*. Ed. Omega, Barcelona, 662 p.
- Liptzin, D., y Silver, W. 2009. *Effects of carbon additions on iron reduction and phosphorus availability in a humid tropical forest soil*. Soil Biology & Biochemistry 41, 1696-1702.
- López Hernández, I., 1977. *La química del fósforo en suelos ácidos*. Ediciones de la biblioteca de la Universidad Central de Venezuela, Caracas, 123 p.
- McKeague, J. y Day, J., 1966. *Dithionite and oxalate extractable Fe and Al as aids differentiating various classes of soils*. Can J Soil Sci 46, 13-22.

- McLatchey, G. y Reddy, K., 1998. *Regulation of organic matter decomposition and nutrient release in a wetland soil*. J Environ Qual 27, 1268-1274.
- Miller, A., Schuur, E. y Chadwick, O., 2001. *Redox control of phosphorus pools in Hawaiian montane forest soils*. Geoderma 102, 219-237.
- Murphy, J. y Riley, J., 1962. *A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters*. Anal. Chim. Acta 27, 31-36.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B. y Grego, S., 1990. *Ecological significance of the biological activity in soil*. Soil Biochemistry 6, 293-355.
- Nevin, K. y Lovley, D., 2002 a. *Mechanisms for Accessing Insoluble Fe(III) Oxide during Dissimilatory Fe(III) Reduction by Geothrix fermentans*. Applied and Environmental Microbiology 68, 2294-2299.
- Nevin, K. y Lovley, D., 2002 b. *Mechanisms for Fe (III) Oxide Reduction in Sedimentary Environments*. Geomicrobiology Journal 19, 141-159.
- Padilla, A., 2003. *Desarrollo sostenible de la Reserva Forestal de Imataca ¿Utopía o Realidad?*. Rev. For. Lat 33, 53-80.
- Parfitt, R., 1978. *Anion adsorption by soils and soil materials*. Adv. Agron. 30, 1-50.
- Parfitt, R., 1989. *Phosphate reactions with natural allophone, ferrihydrite and goethite*. J. Soil Sci. 40, 359-369.
- Patrick, W. y Jugsujinda, A., 1992. *Sequential Reduction and Oxidation of Inorganic Nitrogen, Manganese and Iron in Flooded Soil*. Soil Sci. Soc. Am. J. 36, 1071-1073.
- Patrick, W. y Mahapatra, I., 1968. *Transformation and Availability to rice of nitrogen and phosphorus in waterlogged soils*. Adv. Agronomic 20, 323-358.
- Peretyazhko, T. y Sposito, G., 2005. *Iron (III) reduction and phosphorous solubilization in humid tropical forest soils*. Geochimica et Cosmochimica Acta 69, 3643-3652.
- Ponnamperna, F., Tianco, E y Loy, T. 1967. *Redox equilibria in flooded soils, I. The iron hydroxide systems*. Soil Sci. 103, 374-382.
- Ponnamperna, F., 1972. *The chemistry of submerged soils*. Adv. Agronomic 24, 29-96.
- 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.

- Quantin, C., Becquer, T., Rouiller, J. y Berthelin, J., 2001. *Oxide weathering and trace metal release by bacterial reduction in a New Caledonia Ferralsol*. Biogeochemistry 53, 323-340.
- Schlesinger, W., 2000. *Biogeoquímica. Un análisis del cambio global*. Ed. Ariel, Barcelona, 553 p.
- Shukla S.S., Syers J.K., Williams J.D.H., Armstrong D.E. and Harris R.F. 1971. *Sorption of inorganic phosphate by lake sediments*. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 35: 244-249
- Silver, W., Lugo A. y Keller, M., 1999. *Soil oxygen availability and biogeochemistry long rainfall and topographic gradients in upland wet tropical forest soils*. Biochemistry 44, 301-328.
- Speir, T. y Ross, D., 1978. *Soil phosphatase and sulphatase*. In *Soil Enzymes*, R. G. Burns. Academic Press, New York, 197-250.
- Stookey, L., 1970. *Ferrozine – A New Spectrophotometric Reagent for Iron*. Analytical Chemistry 42, 779-782.
- Szilas, C., Borgaard, O. y Hansen, H., 1998. *Potential iron and phosphate mobilization during flooding of soil material*. Water Air Soil Pollut. 106, 97-109.
- Vitousek P. y Sanford R., 1986. *Nutrient cycling in moist tropical forest*. Annu. Rev. Ecol. Syst. 17, 137-167.
- Walkley, A. y Black, I., 1934. *An Examination of Degtjareff Method for Determining Soil Organic Matter and a Proposed Modification of the Chromic Acid Titration Method*. Soil Sci. 37, 29-37.
- Willet I.R. y Higgins M.L. 1978. *Phosphate sorption by reduced and reoxidized rice soils*. Aust. J. Soil Res. 16: 319-326.
- Zachara, J., Fredrickson, J., Li, S-M., Kennedy, D., Smith, S. y Gassman, P., 1998. *Bacterial reduction of crystalline Fe³⁺ oxides in single phase suspensions and subsurface materials*. American Mineralogist 83, 1426-1443.

APÉNDICES

1) Cálculos para la determinación del porcentaje de carbono orgánico:

El porcentaje de materia orgánica se determinó a través de la siguiente fórmula:

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

En la cual:

$$10 \times N = mL \times N(K_2Cr_2O_7) = 10 \times 1$$

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

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

W= masa de la muestra

$$\frac{12}{4000} = \text{peso meq del carbono}$$

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

Simplificando:

$$\%MO = \frac{\left(1 - \frac{T}{S} \right) \times 6,70}{W}$$

El factor convencional para pasar de carbono a materia orgánica es 1,724 sobre la hipótesis de que la materia orgánica del suelo existe en 58% de C.

$$\text{Entonces: } \%C = \frac{\%MO}{1,724}$$

1) Variaciones del %CO obtenidas para los horizontes A y B, correspondientes al perfil 1 y 2

Tratamiento	Tiempo de Incubación (días), Porcentaje de carbono orgánico (%CO)			
Perfil 1				
Horizonte A	T= 0	T= 7	T= 15	T= 30
O-A CA	0,078 ± 0,017	0,123± 0,016	0,113± 0,007	0,106± 0,014
O-A CO	0,174 ±0,057	0,164± 0,022	0,109± 0,037	0,221 ± 0,087
CO	0,051± 0,006	0,132 ± 0,029	0,217± 0,011	0,126 ± 0,002
CA	0,105± 0,000	0,106± 0,021	0,199 ± 0,023	0,187±0,017
CS	0,209±0,053	0,140±0,039	0,077±0,011	0,136± 0,007
Horizonte B				
O-A CA	0,013± 0,002	0,038± 0,005	0,001±0,001	0,034± 0,002
O-A CO	0,033±0,001	0,025± 0,001	0,031± 0,001	0,041 ± 0,004
CO	0,050 ± 0,007	0,030 ± 0,007	0,094 ± 0,002	0,035 ± 0,009
CA	0,134± 0,004	0,060± 0,007	0,017± 0,001	0,045±0,004
CS	0,063±0,007	0,018±0,001	0,037±0,006	0,053± 0,004
Perfil 2				
Tratamiento	Tiempo de Incubación (días), Porcentaje de carbono orgánico (%CO)			
Horizonte A	T= 0	T= 7	T= 15	T= 30
O-A CA	0,072± 0,006	0,086± 0,10	0,084± 0,007	0,083± 0,021
O-A CO	0,232±0,001	0,174± 0,008	0,097± 0,008	0,295± 0,007
CO	0,203 ± 0,025	0,101± 0,021	0,227 ± 0,020	0,211± 0,002
CA	0,129± 0,028	0,128±0,016	0,239 ± 0,028	0,252± 0,010
CS	0,297±0,020	0,220± 0,016	0,188±0,025	0,171 ± 0,000
Horizonte B				
O-A CA	0,048± 0,002	0,021± 0,001	0,002± 0,001	0,050± 0,001
O-A CO	0,013±0,000	0,055± 0,005	0,002 ± 0,000	0,065 ±0,014
CO	0,038 ± 0,007	0,038 ± 0,004	0,064 ± 0,005	0,040 ± 0,004
CA	0,126 ± 0,009	0,055±0,007	0,040± 0,001	0,057± 0,000
CS	0,042±0,002	0,048±0,005	0,022±0,003	0,014 ± 0,003