



Universidad de Carabobo
Facultad Experimental de Ciencia y Tecnología
Departamento de Química



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA (RESPIRACIÓN Y BIOMASA MICROBIANA) COMO INDICADORES DE LA SALUD DE SUELOS UBICADOS EN SAN JOAQUÍN, ESTADO CARABOBO

Trabajo Especial de Grado

Autor: Derlys Palma

Valencia, Junio de 2011



Universidad de Carabobo
Facultad Experimental de Ciencia y Tecnología
Departamento de Química



**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA (RESPIRACIÓN Y
BIOMASA MICROBIANA) COMO INDICADORES DE LA SALUD DE
SUELOS UBICADOS EN SAN JOAQUÍN, ESTADO CARABOBO**

Trabajo Especial de Grado como requisito parcial para optar al título de Licenciada en
Química

Autor: Derlys Palma

C.I. 18646668

Tutor: Arnaldo Armado

Valencia, Junio de 2011



*Dedicado a la Memoria de
Constanza Palma García y
Carmen Virginia Ríos (Petra Ríos)*



Agradecimientos

Primeramente a Dios por darme la vida

A mis Padres, Efrén Palma e Iris de Palma, por brindarme todo su amor, cariño y apoyo a lo largo de toda mi vida, por enseñarme los valores del respeto y la responsabilidad para llevar con éxito todas las metas que me he propuesto en la vida. Los amo.

A mi familia, Efrén mi hermano y a mis primos Anabel Camacho, Ronald Camacho y Royer Camacho, por creer en mi y por ayudarme siempre en todo lo que necesito.

A mis tías Teresa Perdomo, Gregoria Perdomo y Estefana Palma, por su Fé en mí.

A Rodolfo Camargo, un ser incondicional que desde el primer día en la universidad me brindo su amistad. Gracias por todos los momentos vividos a lo largo de estos años, por ser mi cómplice, mi confidente, mi verdadero amigo.

A mi tutor Arnaldo Armado, gracias prof. Por darme todas las herramientas necesarias para realizar mi trabajo de grado y por todas las enseñanzas que me brindo en la carrera.

A mis amigos de toda la vida, Valeria Morales, Daviana Alvarado, Miguel Serrano, Sathya Gallardo y mis amigos de ahora Adrian Mendoza y Luis Montaner. Gracias por su amistad incondicional, su apoyo, por estar conmigo en las buenas y no tan buenas.

A todos mil gracias...



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD EXPERIMENTAL DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



Evaluación de la actividad biológica (respiración y biomasa microbiana) como indicadores de la salud de suelos ubicados en San Joaquín, estado Carabobo

Mayo 2011

Autor: Derlys Palma

Tutor: Arnaldo Armado

Resumen

El estado de las propiedades dinámicas del suelo como contenido de materia orgánica, diversidad de organismos, o productos microbianos en un tiempo particular, constituyen la salud del suelo. Se realizó el estudio de respiración y biomasa microbiana en suelos impactados con residuos urbanos, ubicados en el Sector El Ereigüe, San Joaquín, estado Carabobo. Se determinó la respiración siguiendo el desprendimiento de CO_2 por la actividad de los microorganismos del suelo, la biomasa microbiana por el método de Extracción-Fumigación y se determinó también el coeficiente metabólico $q\text{CO}_2$. Se estudiaron 10 muestras (relleno y suelo) y 2 controles. La respiración basal se determinó durante un periodo de incubación de 36 días, obteniéndose valores promedios de $(6 \pm 3 \text{ mgC-CO}_2/\text{kg suelo} \cdot \text{día})$ para el suelo, $(5 \pm 2 \text{ mgC-CO}_2/\text{kg suelo} \cdot \text{día})$ para el relleno y $(10 \pm 1 \text{ mgC-CO}_2/\text{kg suelo} \cdot \text{día})$ para los controles, observándose que los desechos urbanos inhibieron la actividad de los microorganismos del suelo posiblemente por la presencia de sustancias tóxicas. La biomasa microbiana presentó valores entre 6 y $28 \text{ mgC kg}^{-1}\text{suelo}$, los cuales son menores a valores reportados por diferentes autores. El $q\text{CO}_2$ dio valores que varían entre 0,027 y $0,252 \text{ h}^{-1}$, considerados altos en comparación a otros suelos, indicando pérdida de C en forma de CO_2 , lo cual se



traduce en un alto estrés microbiano. Se obtuvo una correlación lineal significativa ($p < 0,05$) de la cantidad de carbono orgánico total con la respiración, biomasa y qCO_2 . Según los resultados obtenidos de los parámetros bioquímicos estudiados, la salud del suelo se vio afectada de manera negativa por la presencia de residuos urbanos.

Palabras claves: respiración basal, biomasa microbiana, coeficiente metabólico, suelos contaminados.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD EXPERIMENTAL DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



Assessment of biological activity (respiration and microbial biomass) as indicators of the health of soils located in San Joaquín, **Carabobo**

Mayo 2011

Autor: Derlys Palma

Tutor: Arnaldo Armado

Abstract

The state of the dynamic properties of soil organic matter content, diversity of organisms, or microbial products in a particular time, are the soil health. Was studied respiration and microbial biomass in soils impacted with municipal waste, located in Sector The Ereigüe, San Joaquin, Carabobo state. Respiration was determined following the release of CO₂ by the activity of soil microorganisms, microbial biomass by fumigation-extraction method and also determined the metabolic rate qCO₂. We studied 10 samples (filled and soil) and 2 controls. Basal respiration was determined in an incubation period of 36 days, with average values (6 ± 3 mgC CO₂/kg soil * day) Floor, (5 ± 2 mgC CO₂/kg soil * day) for the filling and (10 ± 1 mgC CO₂/kg soil * day) for controls, showing that urban waste inhibited the activity of soil microorganisms possibly by the presence of toxic substances. Microbial biomass values between 6 and 28 mgC kg 1suelo, which are lower than values reported by different authors. The qCO₂ gave values ranging between 0.027 and 0.252 h⁻¹, considered high compared to other soils, indicating a loss of C as CO₂, which translates into a high microbial stress. We obtained a significant correlation ($p < 0.05$) in the amount of total organic carbon respiration, biomass and qCO₂.



According to the results of the biochemical parameters studied, soil health was adversely affected by the presence of urban waste.

Keywords: basal respiration, microbial biomass, metabolic rate, total organic carbon.



ÍNDICE GENERAL

	Página
Resumen	I
Abstract	III
Introducción	1
 CAPITULO I. Formulación del Problema	
1.1 Planteamiento del Problema	4
1.2 Objetivos de la Investigación	6
1.3 Justificación	7
 CAPITULO II. Marco Teórico	
2.1 Antecedentes	9
2.2 Bases Teóricas	11
2.2.1 Contaminación de suelos	11
2.2.2 Materia orgánica del suelo	12
2.2.3 Respiración del Suelo	15
2.2.4 Biomasa microbiana	16
2.2.5 Coeficiente metabólico	17



CAPITULO III. Marco Metodológico

3.1 Muestreo y preparación de las muestras	19
3.2 Caracterización fisicoquímica del suelo	22
3.3 Actividad microbiológica	22
3.3.1 Respiración basal	22
3.3.1 Carbono microbiano	23
3.4 Coeficiente metabólico	26
3.5 Análisis estadístico	26

CAPITULO IV. Resultados y Discusión

4.1 Caracterización fisicoquímica	27
4.2 Respiración basal	30
4.3 Biomasa microbiana	41
4.4 Coeficiente metabólico	43
4.5 Análisis estadístico	46

CAPITULO V. Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones	48
5.2 Recomendaciones	49



Referencias Bibliográficas	50
Apéndice	58



ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Tipos de materia orgánica en el suelo (Jaramillo, 2002).	13
Tabla 2. Coordenadas de las muestras	21
Tabla 3. Metodología sugerida para la caracterización fisicoquímica de las muestras	22
Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas de las muestras estudiadas	28
Tabla 5. Respiración de las muestras en estudio	30
Tabla 6. Biomasa Microbiana obtenida por Fumigación-Extracción	42
Tabla 7. Coeficiente metabólico (qCO_2) de las muestras en estudio	44
Tabla 8. Coeficiente Lineal de Pearson ($p < 0,05$ N: 18)	47
Tabla 9. Pesos de las muestras para la determinación de la respiración basal	58
Tabla 10. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 1	59
Tabla 11. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 2	59
Tabla 12. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 3	60
Tabla 13. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 4	60
Tabla 14. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de	



la muestra 5	61
Tabla 15. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 6	61
Tabla 16. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 7	62
Tabla 17. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 8	62
Tabla 18. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 9	63
Tabla 19. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 10	63
Tabla 20. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M del control 1	64
Tabla 21. Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1M del control 2	64
Tabla 22. Peso de las muestras utilizadas para la determinación de biomasa microbiana por el método fumigación-extracción	65
Tabla 23. Volumen de sal de morh 33,3mM gastado para la titulación de las muestras extraídas	66
Tabla 24. Datos utilizados para calcular el coeficiente lineal de Pearson	67



ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Esquema del terreno donde se realizó el muestreo	24
Figura 2. Respiracion basal de la muestra 1 (suelo y relleno)	32
Figura 3. Respiracion basal de la muestra 2 (suelo y relleno)	32
Figura 4. Respiracion basal de la muestra 3 (suelo y relleno)	33
Figura 5. Respiracion basal de la muestra 4 (suelo y relleno)	33
Figura 6. Respiracion basal de la muestra 5 (suelo)	34
Figura 7. Respiracion basal de la muestra 6 (suelo y relleno)	34
Figura 8. Respiracion basal de la muestra 7 (suelo y relleno)	35
Figura 9. Respiracion basal de la muestra 8 (suelo y relleno)	35
Figura 10. Respiracion basal de la muestra 9 (suelo y relleno)	36
Figura 11. Respiracion basal de la muestra 10 (suelo)	37
Figura 12. Respiracion basal de la muestra C1 (suelo)	38
Figura 13. Respiracion basal de la muestra C2 (suelo)	38
Figura 14. Curva de calibracion para la determinacion de carbono por el metodo Walkey-Black	58



INTRODUCCIÓN

El suelo, la capa más superficial de la corteza terrestre, constituye uno de los recursos naturales más importantes con el que se cuenta al ser el substrato que sustenta la vida en el planeta; como resultado de la interacción de la atmósfera, litosfera, hidrosfera y biosfera. Tiende en cada circunstancia a alcanzar un equilibrio natural, que sólo se ve modificado cuando uno de estos sistemas varía.

Las constantes agresiones que sufre el suelo fundamentalmente en los países industrializados, desde comienzos de siglo, por los contaminantes como: metales pesados, abonos químicos, compuestos órganoclorados y órgano fosforados, etc., han puesto de manifiesto la necesidad de analizar su comportamiento ante la llegada de elementos extraños (González *et al.*, 2003).

Un tipo especial de degradación del suelo es la producida por la presencia de sustancias químicas nocivas; dichos compuestos causan la contaminación del mismo. El contaminante está siempre en concentraciones mayores a las habituales (anomalías) y en general tiene un efecto adverso sobre algunos organismos. Por su origen puede ser geogénico o antropogénico. Los primeros proceden de la propia roca madre sobre la que se formó el suelo, de la actividad volcánica o del lixiviado de mineralizaciones y también de microorganismos, toxinas microbianas, zooparásitos, fitotoxinas, excretas, y restos de insectos, aves, roedores, etc. Por el contrario, los antropogénicos se producen por los residuos peligrosos derivados de actividades humanas, industriales, agrícolas, mineras, los residuos sólidos urbanos, etc. Desde un punto de vista legal, los



contaminantes antropogénicos son los verdaderos contaminantes (Galán y Romero, 2008).

Otro término habitualmente usado para cierto tipo de contaminantes es el de sustancia tóxica o peligrosa. Se trata de contaminantes que pueden ser intensa o crónicamente tóxicos para la especie humana. El grado de toxicidad de una sustancia representa la intensidad de los efectos nocivos que el agente contaminante crea en los organismos. Los materiales o compuestos tóxicos no tienen origen biológico, excepto el caso particular de las toxinas que son compuestos tóxicos biogénicos.

Los metales pesados y muchos compuestos orgánicos e inorgánicos son peligrosos porque tienden a bioacumularse. La bioacumulación significa un aumento en la concentración de un producto químico en un organismo biológico en un cierto plazo, comparada a la concentración del producto químico en el ambiente. Una de las anomalías biogeoquímicas que se generan por la contaminación es el aumento de la cantidad de microelementos en el suelo, los cuales por acumulación pasan a estar presentes en niveles de macroelementos, afectando negativamente la calidad del suelo alterando el número, diversidad y actividad de los organismos, inhibiendo la descomposición de la materia orgánica del suelo y afectando otros parámetros fisicoquímicos de este (Wong, 2003).

El lugar de investigación fué un antiguo vertedero ubicado en el sector El Ereigüe, San Joaquín de Carabobo, que fue saneado por el Ministerio del Poder Popular para el Ambiente y que se pretende utilizar para la recreación y turismo de los habitantes de dicho sector.



En el presente trabajo propuso el estudio de la respiración edáfica del suelo (respiración basal), el contenido de carbono orgánico asociado a la biomasa microbiana y el coeficiente metabólico como indicadores de la salud de suelos ubicados en la zona mencionada.



CAPITULO I: Formulación del problema

1.1 Planteamiento del problema

La importancia del suelo radica en que es un elemento natural dinámico y vivo que constituye la interface entre la atmósfera, la litosfera, la biosfera y la hidrosfera, sistemas en los que mantiene un continuo intercambio de materia y energía. Esto lo convierte en una pieza clave del desarrollo de los ciclos biogeoquímicos superficiales y le confiere la capacidad para desarrollar una serie de funciones esenciales en la naturaleza de carácter medioambiental, ecológico, económico, social y cultural.

La contaminación del suelo consiste en la degradación química, física y biológica que provoca la pérdida parcial o total de su productividad, como consecuencia de la acumulación de sustancias tóxicas en concentraciones que superan el poder de amortiguación natural del mismo y que modifican negativamente sus propiedades. (Macías, 1993).

Existe una amplia gama de productos derivados de las actividades humanas que una vez depositados en el suelo causan alteraciones ecológicas. Las aguas residuales industriales y urbanas, los lodos procedentes de las estaciones depuradoras y los depósitos de residuos, cuando se vierten sobre el suelo aumentan el contenido de estos agentes perturbadores. Aunque por otro lado, cuando se incorporan al suelo, materiales orgánicos se producen cambios en sus propiedades debido tanto, a la actividad biológica que se induce, como a las modificaciones de las fuerzas actuantes entre partículas por la adsorción de moléculas orgánicas en la superficie de los coloides del suelo. Estos cambios pueden ser



negativos afectando la salud del suelo, o positivos alterando la relación de las partículas con el agua y los iones en solución que las rodean, ayudando a flocular un sistema disperso de partículas o a estabilizar agregados inestables ya existentes (Pla, 1975).

La zona en estudio es un área de aproximadamente 14 hectáreas que se utilizó como vertedero y que por más de 40 años estuvo causando problemas ambientales a la comunidad El Ereigue y las poblaciones aledañas a este sector, en San Joaquín, estado Carabobo. Dicho vertedero fue cerrado y saneado por el Ministerio del Poder Popular para el Ambiente para convertirlo en un parque, bosque y caminerías para la recreación de los habitantes de la zona.

La toxicidad de ciertos metales pesados, elementos traza y demás compuestos orgánicos e inorgánicos para las plantas y los animales que los consumen hace necesario que se realicen estudios a través del tiempo para evitar cualquier riesgo ambiental mayor que el que se pretende corregir (McBride, 1995).

La estimación de la actividad microbiológica es un buen indicador del grado de contaminación de un suelo afectado por la adición de sustancias extrañas (Insam *et al.*, 1996; Kuperman y Margaret, 1997). En este trabajo se plantea el estudio de la actividad microbiológica y biomasa microbiana del suelo contaminado, ubicado en el Sector El Ereigüe, San Joaquín del estado Carabobo.



1.2 Objetivos de la investigación

1.2.1 Objetivo general

Estudiar la actividad biológica (respiración y biomasa microbiana) en suelos del sector El Ereigüe ubicado en San Joaquín, estado Carabobo como posibles indicadores de la salud de éste.

1.2.2 Objetivos específicos

- Tomar muestras impactada y en zonas aledañas que se presumen no impactadas.
- Realizar la caracterización fisicoquímica de las muestras de suelo (determinación de pH, conductividad eléctrica (CE), retención de humedad, humedad relativa, capacidad de intercambio catiónico (CIC), contenido de carbono orgánico total)
 - Determinar la respiración basal en las muestras de suelo impactadas y no impactadas.
 - Determinar el contenido de carbono orgánico asociado a la biomasa microbiana.
 - Determinar el coeficiente metabólico del suelo en estudio.
 - Calcular la correlación lineal de los parámetros físicos y químicos con los parámetros biológicos en estudio.



1.3 Justificación

Las propiedades físicas, químicas, fisicoquímicas y biológicas del suelo controlan en gran medida los ciclos biogeoquímicos superficiales, en los que actúa como un reactor complejo que sirve de elemento protector de otros medios más sensibles frente a elementos contaminantes. Así, el suelo ejerce su labor protectora a través de su poder de amortiguación o capacidad natural de depuración de la contaminación. Esta atenuación de los elementos nocivos contaminantes se realiza a través de reacciones de complejación, reacciones de adsorción y desorción, reacciones de precipitación y disolución, reacciones de oxidorreducción y reacciones ácido-base, las cuales, en general, son reacciones derivadas de procesos metabólicos. En la fracción orgánica todas estas reacciones están estrechamente controladas por propiedades del suelo como, textura, estructura, porosidad, capacidad de intercambio catiónico, pH, actividad microbiológica y contenido de nutrientes. Todas estas reacciones son importantes estudiarlas ya que son indispensables para los procesos de biorremediación (Morgan y Watkinson.; 1989). El poder de amortiguación de un suelo no es ilimitado y cuando se rebasa, el suelo deja de ser eficaz como sumidero de la contaminación, llegando incluso a invertirse el proceso y a convertirse en una fuente de contaminación para los organismos del suelo y para el medio circundante.

Cuando el contenido de metales pesados, compuestos orgánicos e inorgánicos en el suelo alcanzan niveles que rebasan los límites máximos permitidos causan efectos inmediatos como inhibición del crecimiento normal de microorganismos y el desarrollo de las plantas, y un disturbio funcional en otros componentes del ambiente así como la disminución de las poblaciones microbianas del suelo (Martín, 2000).



Es importante conocer la actividad microbiológica del suelo ya que esta se puede utilizar como un bioindicador para determinar el estado de salud de un suelo contaminado y para evaluar el efecto de las prácticas de las medidas sencillas de conservación sobre dichos suelos. Este presenta numerosas ventajas frente al empleo de indicadores físico-químicos, entre las que destacan su mayor sensibilidad, su carácter integrador, y su rápida velocidad de respuesta (Pankhurst *et al.*, 1995; Yakovchenko *et al.*, 1996; Elliott 1997). Sin embargo, se ha demostrado que la medida de las respuestas microbiológicas ofrece diferentes valores en función del tipo de suelo y del contaminante vertido (Bundy *et al.*, 2002).

Por esta razón se considera de gran importancia conocer la influencia que existe sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas en suelos, los distintos contaminantes, por lo que se plantea evaluar la respiración basal, la biomasa microbiana y el coeficiente metabólico (qCO_2) de los suelos impactados y los que se presume no impactados del sector El Ereigüe ubicado en San Joaquín, estado Carabobo.



CAPITULO II: Marco teórico

2.1 Antecedentes

Indicadores microbiológicos como marcadores de la contaminación y recuperación de suelos contaminados con queroseno.

Pérez, et al (2008) estudiaron variables microbiológicas como actividad deshidrogenasa (DH), la respiración basal (RB) y la concentración residual de hidrocarburos (THC). El recuento de heterótrofos cultivables (ufcs), con el fin de evaluar su utilidad como herramientas de monitorización de un proceso de biorremediación de un suelo contaminado con queroseno. El suelo empleado para el estudio fue un suelo con una textura franco-arcillo-limosa procedente de un área rural abandonada situada en Gallarta, Bizkaia, el cual presentó un bajo contenido de materia orgánica, lo contaminaron de manera artificial con queroseno sintético (10.000 mg kg⁻¹). Analizaron suelo contaminado con queroseno, y suelo contaminado con queroseno mas fertilizantes, observaron que el vertido de hidrocarburos sobre un suelo franco-arcillo-limoso pobre en materia orgánica y ligeramente ácido tuvo un efecto tóxico inicial al hacer disminuir la población de heterótrofos y la actividad microbiológica del suelo. La comunidad microbiana necesitó un periodo de 2-4 semanas para incrementar su actividad y biomasa, comenzando a degradar activamente los hidrocarburos vertidos. El porcentaje de degradación final resultante fue muy elevado, tanto con incorporación de nutrientes como sin ellos, indicando que el rendimiento final del proceso de biodegradación de los hidrocarburos no se vio limitado por la falta de nutrientes



Estudio de la actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos impactados con petróleo.

Guerrero (2010), realizó el estudio de la respiración basal y la biomasa microbiana en suelos impactados con petróleo, empleando el método de incubaciones estáticas siguiendo el desprendimiento CO_2 de los microorganismos y el método de Respiración Inducida por Sustrato (RIS) y Extracción- Fumigación para determinar la biomasa microbiana. El estudio se realizó en 4 pozos petroleros ubicados en la zona del Mene de San Lorenzo en Yaracal estado Falcón, tomando muestras de suelo no contaminado y contaminado con el hidrocarburo. La respiración basal se determinó por un periodo de 40 días obteniéndose valores que van desde 6,5 a 38 mg C- $\text{CO}_2 \cdot \text{KgS}^{-1}$ para las muestras contaminadas y 11,2 a 32 mg C- $\text{CO}_2 \cdot \text{KgS}^{-1}$ en las no contaminadas; y para biomasa microbiana valores de 48 a 138 μg C- $\text{CO}_2 \cdot \text{KgS}^{-1}$ para suelos contaminados y 211 y 640 μg C- $\text{CO}_2 \cdot \text{KgS}^{-1}$ para las muestras no contaminadas por el método de fumigación-extracción. Para el método de RIS se encontraron valores de biomasa entre 160 y 207 μg C- $\text{CO}_2 \cdot \text{KgS}^{-1}$ para las muestras contaminadas y para los suelos no contaminados valores entre 214 y 255 μg C- $\text{CO}_2 \cdot \text{KgS}^{-1}$, concluyendo que los parámetros bioquímicos del suelo en estudio se vieron afectados de manera negativa por la presencia de petróleo.

Estos dos trabajos de investigación son de interés puesto que en ellos se estudia el impacto negativo que tienen las sustancias contaminantes (en este caso petróleo y queroseno) sobre las propiedades químicas, físicas y biológicas de los suelos.



2.2 Bases teóricas

2.2.1 Contaminación de los suelos

Consiste en una degradación química, física y biológica que provoca la pérdida parcial o total de la productividad del suelo como consecuencia de la acumulación de sustancias tóxicas en concentraciones que superan el poder de amortiguación natural del suelo y que modifican negativamente sus propiedades. Esta acumulación se realiza generalmente como consecuencia de actividades humanas exógenas, aunque también se puede producir de forma natural o endógena cuando los procesos de edafización liberan elementos químicos contenidos en las rocas y los concentran en el suelo alcanzando niveles tóxicos. Un ejemplo de esto último lo tenemos en suelos muy evolucionados formados sobre rocas serpentizadas con altos contenidos en metales pesados como el Cr, Ni, Cu y Mn, entre otros, que se concentran en los suelos a medida que la intensa edafogénesis produce el lavado de otros constituyentes esenciales como el Ca, Mg e incluso el Si. Conforme se desarrolla esta concentración residual metálica, estos elementos que inicialmente eran constituyentes no asimilables de los minerales primarios, pasan a formas más activas, solubles y biodisponibles que influyen negativamente sobre la actividad biológica (Macías, 1993). La contaminación tiene importantes consecuencias:

- Pérdida de elementos nutrientes: por causa de los contaminantes el suelo no puede fijar estos elementos (N, P, S, K, Ca, Mg, etc). Esta pérdida puede ser de manera directa, bien al ser eliminados por las aguas que se infiltran en el suelo o bien por erosión a través de las aguas de escorrentía, o de una forma indirecta, por erosión de los materiales que los contienen o que podrían fijarlos.



- Modificación de las propiedades fisicoquímicas: acidificación, desbasificación y bloqueo de los oligoelementos que quedan en posición no disponible.
- Deterioro de la estructura. La compactación del suelo con residuos urbanos de cualquier índole, produce una disminución de la porosidad, que origina una reducción del drenaje y una pérdida de la estabilidad: como consecuencia se produce un encostramiento superficial y por tanto aumenta la escorrentía.
- Disminución de la capacidad de retención de agua: por degradación de la estructura o por pérdida de suelo.
- Pérdida física de materiales: Erosión selectiva (parcial, de los constituyentes más lábiles, como los limos) o masiva (pérdida de la capa superficial del suelo, o en los casos extremos de la totalidad del suelo).
- Incremento de la toxicidad por causa de la acumulación de productos contaminantes. Al modificarse las propiedades del suelo se produce una liberación de sustancias nocivas.

Todas estas consecuencias ocasionan desmejora en la calidad del medio ambiente, en la salud de la población, la obtención de productos agrícolas insalubres, el aumento de la inestabilidad y reducción del valor del suelo, cambio en el tipo de aprovechamiento del suelo y la pérdida de condiciones naturales para su máximo aprovechamiento.

2.2.2 Materia orgánica del suelo.

Se define como materia orgánica del suelo a todo material orgánico biológico de cualquier naturaleza, que se encuentre sobre o dentro del suelo, vivo, muerto o en estado de descomposición.

La materia orgánica del suelo (MOS) es un componente clave en los ecosistemas terrestres, tanto en su concentración como en distribución, y su contenido y calidad tienen un importante efecto en los procesos que ocurren dentro de los ecosistemas. El equilibrio entre las fracciones es dinámico y conceptualmente definido por las ganancias y pérdidas de materia orgánica.

Tabla 1. Tipos de materia orgánica en el suelo (Jaramillo, 2002).

MO biótica	microfauna, bacterias, hongos, actinomicetes
MO abiótica	Fracción lábil (10-15 % MOS) Fracción estable (Ac. Húmicos, Ac. Fúlvicos, huminas)

Según el Soil Survey Laboratory (SSL, 1995, 1996), la materia orgánica del suelo, se define como la fracción orgánica que posee el suelo, excluyendo los residuos vegetales y animales sin descomponer. La descomposición de restos orgánicos y residuos metabólicos da origen a lo que se denomina humus. Este al descomponerse da origen a una serie de productos coloidales que en unión con los minerales arcillosos, forman los nutrientes de las plantas. Estos coloides son de carga negativa, lo que les permite absorber H^+ y cationes metálicos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+) e intercambiarlos en todo momento de forma reversible entre las plantas y el suelo. La materia orgánica presenta afinidad por los metales pesados.

La MOS también puede ser definida como una serie de fracciones a lo largo de un continuo de descomposición. Su balance es mantenido por el aporte del mantillo al suelo, el cual ingresa al mismo como materia orgánica particulada (MOP). Conceptualmente, la MOP, a la que algunos autores



también la denominan materia macroorgánica (Willson *et al.*, 2001), es la fracción transitoria de la MOS que, en ese continuo de transformación, se encuentra en un estado intermedio entre el mantillo más o menos reciente y la materia orgánica humificada (MOH) y estable. Analíticamente, la MOP es una fracción de la materia orgánica total (MOT), factible de ser aislada físicamente y definida por un rango de tamaño (e.g. 0,053 a 2,0 mm), retenida sobre un tamiz de 0,053 mm luego de que el suelo ha sido dispersado (Cambardella *et al.*, 1992).

La MOP es un componente dinámico del suelo y una importante fuente de carbono orgánico (CO) y nutrientes. Por tratarse de una fracción más lábil que la MOH o asociada a la fracción mineral fina, responde selectiva y rápidamente a los cambios en el uso y el manejo del suelo (Biederbeck *et al.*, 1994; Six *et al.*, 2002; Plante *et al.*, 2006). Por tal razón, la MOP se ha considerado como un potencial indicador temprano de los cambios de la calidad del suelo, además de su preponderante rol en el control de funciones claves del mismo (Doran y Parkin, 1994).

El conocimiento de la dinámica de la materia orgánica del suelo (MOS) es esencial para entender el flujo del carbono (C) y nitrógeno (N) en el suelo (Chang *et al.* 1995; Baldock y Skjemstad, 1999). Estudios empíricos y modelos de simulación sugieren que las diferencias en cantidad y calidad de los aportes orgánicos al suelo producen las diferencias en el tamaño de los componentes de la MOS y las tasas de mineralización de C y N (Rastetter *et al.*, 1991; Matus y Maire, 2000).



2.2.3 Respiración del suelo

La respiración del suelo es la oxidación de la materia orgánica hasta CO_2 por acción de los microorganismos del suelo. En suelos no perturbados (sin adición de nutrientes) hay un balance ecológico entre los microorganismos y sus actividades, en este caso la respiración se llama respiración basal.

El desprendimiento del CO_2 producto de la mineralización de la materia orgánica se correlaciona con la actividad biológica del suelo y por ende con la biomasa microbiana. La medición de CO_2 constituye un método para determinar la actividad microbiana del suelo, (Stotzky 1965; Anderson, 1982), este se puede cuantificar empleando el método de incubaciones estáticas (Stotzky, 1965).

En la respiración del suelo se involucran diferentes procesos: bióticos, químicos y físicos.

- Procesos bióticos: respiración rizosfera (raíces y exudados de la raíz), la respiración microbiana; respiración fauna
- Proceso químico: la oxidación química de los minerales del suelo, que es relativamente pequeño en comparación con otras fuentes, pero pronunciado a altas temperaturas.
- Proceso físico: desgasificación de CO_2 del suelo y transporte de CO_2 a través del suelo hacia la superficie.

Existen varios factores que influyen sobre la tasa de respiración del suelo: la temperatura del suelo, textura, cantidad y calidad del sustrato, siendo los más importantes la temperatura y humedad del suelo (Buchmann, 2000)



- La temperatura: la respiración aumenta exponencialmente al aumentar la temperatura y esta relación se suele describir con ecuaciones exponenciales y de Arrhenius (Lloyd y Taylor, 1994).
- La humedad del suelo es otro factor importante que influye en la respiración del suelo. El flujo de CO₂ del suelo es generalmente bajo en condiciones secas y aumenta con la humedad del suelo hasta un cierto límite. En suelos con mucha humedad el flujo de CO₂ se va reduciendo debido a la limitación de la difusión del oxígeno y la supresión de las emisiones de CO₂.

La temperatura del suelo y la humedad a menudo interactúan para controlar la tasa de respiración de este, por lo general es difícil separar los efectos de ambos. Los estudios demuestran que la respiración del suelo responde a la mayoría de factor limitante, la temperatura o la humedad.

2.2.4 Biomasa microbiana

La biomasa microbiana se define como la parte viva de la materia orgánica del suelo, está compuesta por los microorganismos de aproximadamente $5 \times 10^{-3} \mu\text{m}^3$, constituye de 1 a 5% de la materia orgánica del suelo. En general se expresa en miligramos de carbono por kilogramo de suelo.

La biomasa microbiana es responsable, en alto grado, de la descomposición de la materia orgánica que se incorpora al suelo, y por otra parte es fuente de nutrientes para las plantas (Stevenson, 1994). La biomasa microbiana ejerce la función fundamental de la materia orgánica del suelo, proveer la energía metabólica necesaria para los procesos biológicos del suelo que afectan directa o indirectamente otros procesos y propiedades del suelo (Baldock y Nelson, 2000).



Para cuantificar la biomasa microbiana del suelo, actualmente existen diferentes métodos, entre ellos están:

- Fumigación-incubación
- Respiración inducida por sustrato
- Fumigación-extracción

Para este estudio se empleara el método la fumigación-extracción, ya que es un método sencillo que ofrece resultados reproducibles.

La fumigación con cloroformo provoca la muerte de las células microbianas del suelo por la ruptura de las membranas celulares, con lo que el contenido citoplasmático de las células microbianas es vertido al suelo, de donde puede ser extraído con K_2SO_4 0,5 M y ser cuantificados los distintos componentes del mismo (C, N, P, etc.). El método consta de tres fases: fumigación con cloroformo libre de etanol, extracción con K_2SO_4 0,5 M y determinación analítica de la biomasa microbiana. (Vance *et al.*, 1987).

2.2.4 Coeficiente metabólico

El coeficiente metabólico (qCO_2) también denominado respiración específica, se define como la tasa de respiración (medida como CO_2 desprendido) por unidad de biomasa microbiana (Anderson y Domsch, 1990) y por lo tanto podría evaluar que tan eficazmente la biomasa microbiana está empleando el carbono disponible para la biosíntesis (Wardle y Ghani 1995).

Este coeficiente ha demostrado ser sensible a cambios en el manejo y uso de suelos, de manera que un manejo poco intensivo del suelo causa una



disminución de este parámetro, lo que indica menor estrés de la comunidad microbiana (Liedig y Doran 1999).

En general, se encuentra que el qCO_2 es elevado mientras mas alto es el estrés del ecosistema. Aunque los datos de qCO_2 deben interpretarse con cierta cautela ya que un coeficiente mas elevado que otro puede indicar un mayor nivel de estrés, un ecosistema inmaduro o un sustrato fácilmente mineralizable (Sparling 1992).

CAPITULO III: Marco metodológico

3.1. Muestreo y preparación de las muestras

Se realizó una toma de muestra empleando el método de muestreo sistemático, en donde se dividió el terreno en cuatro partes y se tomó muestras en distintos puntos de la zona (figura 1) donde estuvo ubicado el vertedero. El primer punto fue tomado al azar y los demás a una distancia aproximada de 50 metros del punto anterior, siguiendo un patrón en zigzag. Los dos últimos puntos no se tomaron en zigzag, en esta zona del vertedero no se observó mucha cantidad de residuos urbanos. En medio del terreno no se tomó muestra puesto que esta parte estaba formada por una loma, en donde estaban ubicados unos tubos dentro de la tierra.

Cada punto de muestreo fue georeferenciado (tabla 2) (se midieron sus coordenadas mediante un GPS).

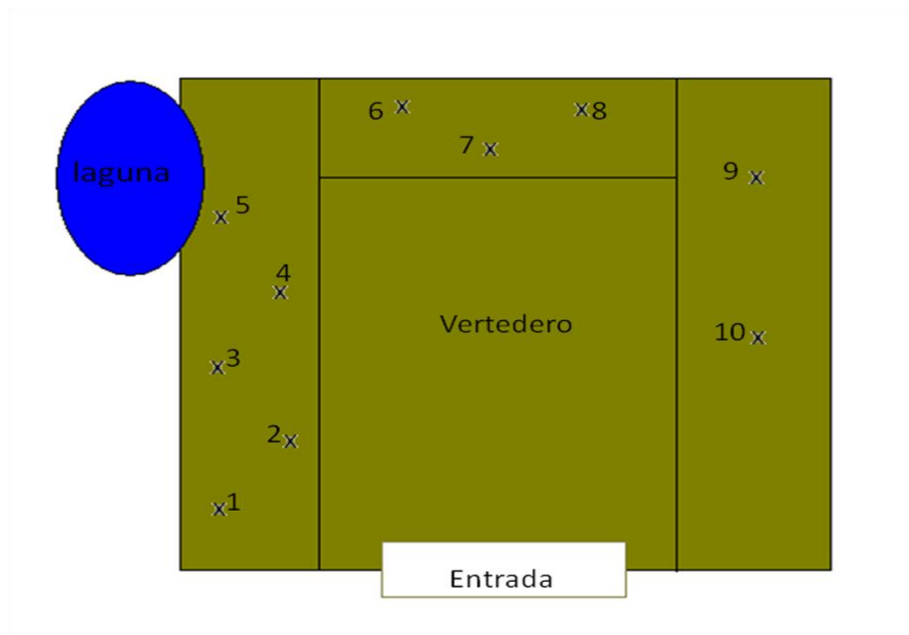


Figura 1: Esquema del terreno donde se realizó el muestreo



Se tomaron 10 puntos (pseudo repeticiones) dentro del vertedero compuestos por relleno y suelo que se diferenciaron por la profundidad de la muestra (tabla 2).

Para comparación de los suelos anteriores, se tomaron 2 puntos más fuera del terreno del vertedero, cercanos a un río, que se presumen no impactados, para evaluar los parámetros físicos, químicos y biológicos y tomarlos como control (C1 y C2).

Se recolectaron las muestras utilizando un barreno, en bolsas plásticas (polietileno), de aproximadamente 4 Kg de suelo, tomadas entre 0-15 cm (Relleno) y 15-25 cm (Suelo) de profundidad y se trasladaron en una cava cerrada herméticamente, a una temperatura de aproximadamente 20°C, hasta las instalaciones del laboratorio de investigación.

Cada muestra se estudió de manera individual puesto que la profundidad del relleno a lo largo de la zona es distinta y los residuos urbanos que se encuentran en el vertedero no están distribuidos de manera homogénea.

Para la determinación de los parámetros fisicoquímicos (textura, pH, conductividad eléctrica, contenido y retención de humedad, carbono orgánico total, parámetros de humificación, capacidad de intercambio catiónico, bases intercambiables, fósforo disponible y nitrógeno total), las muestras de suelo se secaron al aire por 72 horas, y luego se realizó la molienda y se pasaron por un tamiz de 2 mm. Se almacenaron en recipientes con tapa a temperatura ambiente.

Para la determinación de parámetros biológicos (respiración basal, carbono asociado a la biomasa microbiana) las muestras frescas (se

almacenaron a 4° C entre las 24 o 48 horas después de la toma de muestras) se extendieron sobre un plástico limpio y seco, se les retiró el material grueso (piedras, hojas, tallos, raíces), luego se pasaron por un tamiz de 2 mm. Una vez tamizadas las muestras se almacenaron en recipientes con tapa a -20°C (Frostergård *et al.*, 1993; Matsushita *et al.*, 2007) hasta su análisis.

Tabla 2: Coordenadas de las muestras

Muestra	Norte	Este	Profundidad (cm)	
			Relleno	Suelo
1	10°09'50'	67°52'10"	0-20	20-30
2	10°10'7"	67°52'47"	0-15	15-25
3	10°09'55'	67°52'117'	0-20	20-30
4	10°16'44'	67°52'47"	0-20	20-25
5	10°16'58'	67°48'27"	-	0-20
6	10°16'55'	67°48'27"	0-15	15-25
7	10°16'59'	67°48'34"	0-10	10-20
8	10°17'0"	67°48'32"	0-25	25-35
9	10°16'54'	67°48'32"	0-40	40-50
10	10°17'3"	67°48'37"	-	0-15
C1	10°16'57'	67°48'30"	-	0-20
C2	10°17'45'	67°48'47"	-	0-20

3.2 Caracterización fisicoquímica del suelo

A cada una de las muestras de suelo que fueron tomadas, se analizaron los parámetros fisicoquímicos de acuerdo a la metodología resumida en la tabla 3.

Tabla 3: Metodología sugerida para la caracterización fisicoquímica de las muestras.

Parámetro	Método	Técnica	Referencia
Humedad Relativa (%)	10g de muestra T = 105 °C en 1h.	Gravimetría	(Jackson, 1970).
Capacidad de Campo	10g de muestra, humedecer hasta que empiece a gotear y dejar en reposo T = 25°C por 6 horas	Gravimetría	(Jackson, 1970).
pH	1:1 agua o KCl 1M	Potenciometría	(I. G. “Agustín Codazzi”, 1979).
Conductividad	1 : 2,5 agua	Conductimetría	(Jackson, 1970)
Carbono orgánico	Walkley-Black modificado	Espectrofotometría 600 nm	(Walinga et al., 1992)

3.3 Actividad microbiológica

3.3.1 Respiración Basal

La actividad microbiológica del suelo se determinó mediante la medida del desprendimiento de CO₂ por la actividad de los microorganismos del suelo durante un período de tiempo, en condiciones controladas de humedad y temperatura en el laboratorio (método de incubaciones estáticas, (Stotzky,



1965) siguiendo el procedimiento descrito por Anderson (1982). Se colocaron 30 g de suelo humedecido entre 50-60 % de su capacidad de retención de humedad (capacidad de campo) en frascos con tapa de rosca (hermética) introduciendo un vial con 15 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 M. Los frascos cerrados se colocaron en oscuridad a temperatura del laboratorio (21 ± 3 °C). Los viales se repusieron según la programación del experimento a los 1, 3, 7, 10, 15, 20, 28, 36 días. Como blanco se utilizó frascos que solo contenían el vial con NaOH. El CO₂ desprendido se midió indirectamente por medio de una titulación del exceso de NaOH con ácido clorhídrico (HCl) 0,1 M, precipitando los carbonatos con cloruro de bario (BaCl₂) 0,05 M, usando fenolftaleína como indicador. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

La cantidad en miligramos (mg) de CO₂ desprendido se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Mg C-CO}_2 = (\text{VB}-\text{VM}) * \text{M}_{\text{HCl}} * 6 \text{ (Ec. 1)}$$

Donde:

VB: volumen de HCl consumidos para titular el blanco

VM: volumen de HCl consumidos para titular la muestra

M_{HCl}: concentración de ácido clorhídrico

3.3.2 Carbono microbiano

El carbono microbiano se determinó mediante el método de fumigación extracción, según el procedimiento descrito por Vance *et al.* (1987), en donde el carbono microbiano fue extraído de suelos fumigados y no fumigados. La fumigación se realizó con cloroformo libre de metanol, para ello se pesaron



20g se suelo fresco, se colocaron en un frasco de vidrio de 100mL, se humedecieron entre el 50 y 60 % de su capacidad de campo, se introdujeron en un desecador con tapa y conexión de vacío, dentro del desecador se colocó un beaker de 100mL con 25 mL de cloroformo libre de metanol, seguidamente se conectó el desecador a una bomba de vacío sometiendo el cloroformo a ebullición por dos minutos con el fin de crear una atmósfera clorofórmica, se incubaron las muestras de suelo colocándolas en oscuridad a temperatura ambiente por 7 días. Paralelamente las muestras no fumigadas también fueron incubadas en otro desecador por el mismo tiempo, pero sin cloroformo.

Transcurrido el tiempo de incubación, a las muestras fumigadas y no fumigadas se les adicionó 80 mL de solución extractora de sulfato de potasio (K_2SO_4) 0,5 M y se agitaron en un agitador orbital durante una hora. Luego se filtró en papel de filtro tipo Waltman 41. Los extractos se preservaron en la nevera a 1-2 °C hasta su análisis.

La determinación del carbono orgánico asociado a la biomasa microbiana se realizó por oxidación con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 66,6 mM y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Estas muestras fueron calentadas en un bloque digestor a 150 °C durante 30 minutos. Se realizaron dos blancos: Blanco caliente (BC) el cual contenía 8mL de K_2SO_4 0,5 M, 2mL de $K_2Cr_2O_7$ 66,6 mM y 10 mL de H_2SO_4 concentrado y se colocó en el digestor; el blanco frío (BF) fue realizado con 8mL de agua destilada y los reactivos (dicromato y ácido sulfúrico) sin colocar en digestión (Vance *et al.*, 1987).

Una vez digerido el extracto se trasvasó cuantitativamente a una fiola de 250 mL con 100 mL de agua destilada, añadiendo 3 gotas del indicador



fenantrolina, seguidamente se procedió a titular con una solución de sulfato ferroso amoniacal (sal de mohl) 0,0333M.

Se determinó el carbono orgánico extraído tanto en las muestras fumigadas como en las no fumigadas mediante la siguiente formula:

$$C(\text{mg Kg}^{-1} \text{ suelo}) = (A) * (M \text{ sal de mohl}) * (0,003) * (K) * 1000 * 1000 / (V) * (P) \text{ (Ec. 2)}$$

Donde:

K: cantidad de extractante (mL)

P: peso de la muestra (g)

$$A: ((BC-M) * (BF-BC)) / BF + (BC-M)$$

M: volumen de sal de mohl consumidos en la titulación de la muestra (mL)

BC: volumen de sal de mohl consumidos en la titulación del blanco caliente.

BF: volumen de sal de mohl consumidos en la titulación del blanco frio.

M: molaridad de la sal de mohl (mol/L)

V: alícuota del extracto (mL)

0,003: peso en gramos de un milimol de carbono

Luego el carbono microbiano se calculó empleando la siguiente ecuación:

$$C_{mic} = 2,64 C_{ext} \text{ (Ec. 3)}$$



Donde C_{mic} es el carbono microbiano, C_{ext} es la diferencia entre el carbono en las muestras de suelo fumigada y no fumigada (Vance *et al.*, 1987).

3.4 Coeficiente metabólico

La fracción de $C-CO_2$ liberado por unidad de biomasa microbiana, llamado cociente metabólico (qCO_2) se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación (Anderson y Domsch, 1990, 1989):

$$qCO_2 = (\mu g C-CO_2 basal h^{-1} \times \mu g C_{mic}^{-1}) \times 10^3$$

3.5 Análisis estadísticos de los datos

Se determinó el promedio de cada variable y su desviación estándar, así como también se estimó la correlación lineal entre las variables utilizando el coeficiente lineal de Pearson (r). Todos los análisis se realizaron utilizando Microsoft Office Excel 2007.



CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización fisicoquímica

Es importante conocer las propiedades físicas y químicas del suelo ya que éstas influyen sobre la cantidad de microorganismos, la concentración de sustratos, enzimas y nutrientes inorgánicos en el suelo y en consecuencia sobre las actividades biológicas como lo son la respiración edáfica y biomasa microbiana (Stotzky y Burns, 1982). Por esta razón se realizó la caracterización fisicoquímica de las muestras en estudio, obteniéndose los resultados mostrados en la tabla 4.

Como se observa, con respecto al pH, no hay diferencia significativa entre las muestras estudiadas, obteniéndose valores cercanos a la neutralidad para todas ellas. Esto puede traducirse como un aspecto positivo puesto que el pH afecta de manera significativa la actividad microbiana de un suelo y por ende la biodegradación, que generalmente, es eficiente en un intervalo entre 6 y 8 (Thayer, 1991), en el que se hallan los suelos estudiados. Por lo que se puede esperar que los microorganismos degraden la materia orgánica proveniente de diferentes fuentes (animales, vegetales y carne en descomposición, desechos humanos, papel, entre otros).

Los resultados de la conductividad eléctrica arrojaron valores entre 69 y 1720 μS . En su mayoría los valores son bajos (exceptuando el relleno de la muestra 6) lo que sugiere que estos suelos no presentan problemas con el contenido de sales. Boulding (1994) indica que suelos con valores menores de 1,2 dS m^{-1} ($1200\mu\text{S cm}^{-1}$) son considerados no salinos.

Tabla 4: Propiedades fisicoquímicas de los suelos estudiados

Muestra		pH 1:1	Conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Humedad Relativa (%)	Retención de Humedad (%)	COT (%)
1	R	6,4 $\pm$ 0,1	930 $\pm$ 38	4,69 $\pm$ 0,06	31,00 $\pm$ 0,90	0,15 $\pm$ 0,03
	S	6,5 $\pm$ 0,1	848 $\pm$ 16	4,42 $\pm$ 0,02	32,00 $\pm$ 3,00	0,54 $\pm$ 0,08
2	R	7,2 $\pm$ 0,2	540 $\pm$ 42	7,75 $\pm$ 0,09	18,60 $\pm$ 0,02	0,02 $\pm$ 0,01
	S	6,9 $\pm$ 0,3	749 $\pm$ 136	3,9 $\pm$ 0,04	41,61 $\pm$ 0,08	0,05 $\pm$ 0,01
3	R	6,4 $\pm$ 0,1	350 $\pm$ 10	3,48 $\pm$ 0,09	41,10 $\pm$ 2,00	0,182 $\pm$ 0,009
	S	6,8 $\pm$ 0,2	650 $\pm$ 35	6,95 $\pm$ 0,05	53,40 $\pm$ 7,40	0,99 $\pm$ 0,07
4	R	7,1 $\pm$ 0,2	225 $\pm$ 5	5,72 $\pm$ 0,60	39,44 $\pm$ 0,08	0,22 $\pm$ 0,02
	S	7,3 $\pm$ 0,1	193 $\pm$ 5	6,02 $\pm$ 0,05	38,30 $\pm$ 0,70	0,90 $\pm$ 0,01
5	S	7,0 $\pm$ 0,1	168 $\pm$ 1	10,70 $\pm$ 0,03	27,98 $\pm$ 3,27	0,49 $\pm$ 0,31
6	R	6,71 $\pm$ 0,01	1380 $\pm$ 16	7,09 $\pm$ 0,05	26,17 $\pm$ 0,99	0,0100 $\pm$ 0,0001
	S	7,18 $\pm$ 0,12	1087 $\pm$ 14	8,98 $\pm$ 0,04	28,95 $\pm$ 3,21	0,074 $\pm$ 0,002
7	R	7,60 $\pm$ 0,20	1380 $\pm$ 43	10,03 $\pm$ 0,35	41,26 $\pm$ 0,37	0,014 $\pm$ 0,001
	S	7,43 $\pm$ 0,03	1720 $\pm$ 60	9,64 $\pm$ 0,28	32,41 $\pm$ 5,76	0,023 $\pm$ 0,002
8	R	7,23 $\pm$ 0,03	95 $\pm$ 3	8,89 $\pm$ 0,05	26,86 $\pm$ 0,79	0,40 $\pm$ 0,01
	S	7,53 $\pm$ 0,19	199 $\pm$ 9	7,05 $\pm$ 0,08	28,37 $\pm$ 1,27	1,53 $\pm$ 0,15
9	R	7,7 $\pm$ 0,4	189 $\pm$ 4	7,45 $\pm$ 0,68	69,00 $\pm$ 4,00	0,44 $\pm$ 0,05
	S	7,9 $\pm$ 0,1	1080 $\pm$ 20	8,23 $\pm$ 1,16	74,00 $\pm$ 3,00	0,90 $\pm$ 0,16
10	S	6,9 $\pm$ 0,1	69 $\pm$ 10	7,89 $\pm$ 1,10	25,00 $\pm$ 1,00	0,39 $\pm$ 0,01
C1	S	7,3 $\pm$ 0,1	157 $\pm$ 24	5,30 $\pm$ 0,30	64,50 $\pm$ 0,94	2,93 $\pm$ 0,94
C2	S	7,0 $\pm$ 0,2	166 $\pm$ 3	6,20 $\pm$ 0,40	29,60 $\pm$ 0,90	0,52 $\pm$ 0,05

COT: Carbono orgánico total



En cuanto a la humedad de las muestras, estas se encuentran entre 3,48 y 10,70 %; valores bajos, lo que refleja que las muestras fueron tomadas en condiciones de sequía.

Los valores de retención de humedad están entre 18 y 69 %, valores altos que indican que las partículas del suelo de las muestras analizadas contiene fracciones de arcilla y materia orgánica que comúnmente imparten a la superficie del suelo, con una carga negativa que permite al suelo retener la humedad por su interacción electrostática con el agua, debido a su característica polar y a la carga parcial positiva al átomo de hidrógeno en la molécula (Bohn *et al.*, 1993).

Los valores de carbono orgánico total son bajos, entre 0,01 y 2,93 %. El C orgánico del suelo se encuentra en forma de residuos orgánicos poco alterados de vegetales, animales y microorganismos, en forma de humus y en formas muy condensadas de composición próxima al C elemental (Jackson, 1964). Los valores obtenidos indican que la cantidad de carbono en las muestras en estudio es bastante baja; por lo que se presume que la mayoría de los residuos urbanos que se encuentran en zona son latas, plástico, chatarra, telas y otros componentes orgánicos que no pueden ser degradados por los microorganismos que se encuentran en el suelo.

Se observa menor contenido de carbono orgánico en el relleno que en el suelo. En condiciones naturales, el C orgánico del suelo resulta del balance entre la incorporación al suelo del material orgánico fresco y la salida de C del suelo en forma de CO₂ a la atmósfera (Swift, 2001) erosión y lixiviación. En el relleno hay menor cantidad de microorganismos y menos material orgánico fresco que permita ese balance. El CO₂ emitido desde el suelo a la atmósfera no solo se produce por la mineralización de la MOS

donde participa la fauna edáfica (organismos detritívoros) y los microorganismos del suelo, sino también se genera por el metabolismo de las raíces de las plantas (Fortín *et al.*, 1996). La zona en estudio tenía muy poca vegetación donde pudiese ocurrir dicho metabolismo donde participen los microorganismos de ese suelo.

4.2 Respiración basal

Tabla 5: Respiración Basal de las muestras en estudio

Respiración Basal		
C(mg /Kg suelo*día)		
Muestra	Relleno	Suelo
1	3 ± 1	3 ± 1
2	4 ± 1	8 ± 1
3	6 ± 1	9 ± 3
4	3 ± 1	3 ± 1
5	-	8 ± 2
6	8 ± 2	9 ± 2
7	3 ± 1	3 ± 1
8	4 ± 1	3 ± 1
9	7 ± 2	7 ± 2
10	-	4 ± 1
C1	-	11 ± 3
C2	-	9 ± 2



En la tabla 5 se observa que para las muestras relleno la respiración basal osciló entre 3 y 8 mg CO₂/Kg suelo*día, para las muestras de suelo la respiración se encontró entre 3 y 11 mg CO₂/Kg suelo*día incluyendo los suelos tomados como control (C1 y C2). Los valores obtenidos se encuentran por debajo de los valores reportados por Sánchez *et al.* (2005) para suelos de la cuenca del río Maracay estado Aragua. Dichos valores fueron entre 13,68-98,64 mgCO₂/Kg suelo. Los residuos urbanos que allí se encuentran afectaron las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo y alteraron su condición natural y por ende el ecosistema. La mayoría de los elementos minerales necesarios están disponibles en el sustrato o suelo. Los principales nutrientes para las bacterias heterotróficas son carbón orgánico y nitrógeno. Una deficiencia en una de estas dos fuentes de nutrientes puede limitar el metabolismo y por ende, la respiración (Boyd, 1995).

La respiración es uno de los parámetros más antiguos para cuantificar la actividad microbiana. Ella representa la oxidación de la materia orgánica hasta la formación del CO₂ por organismos aeróbicos del suelo. Los microorganismos respiran continuamente y la tasa de respiración es un índice confiable de la tasa de crecimiento (Moreira y Siqueira, 2002).

Se realizaron gráficas de la tasa de mineralización del carbono (respiración basal) de cada muestra estudiada, para ver el desprendimiento de CO₂ en los distintos puntos del vertedero donde fue tomada la muestra, puesto que los residuos urbanos en el vertedero se encuentran distribuidos de manera heterogénea en toda la zona, lo que afecta el contenido de materia orgánica mineralizable en los diferentes puntos donde se tomó la muestra (tabla 4).

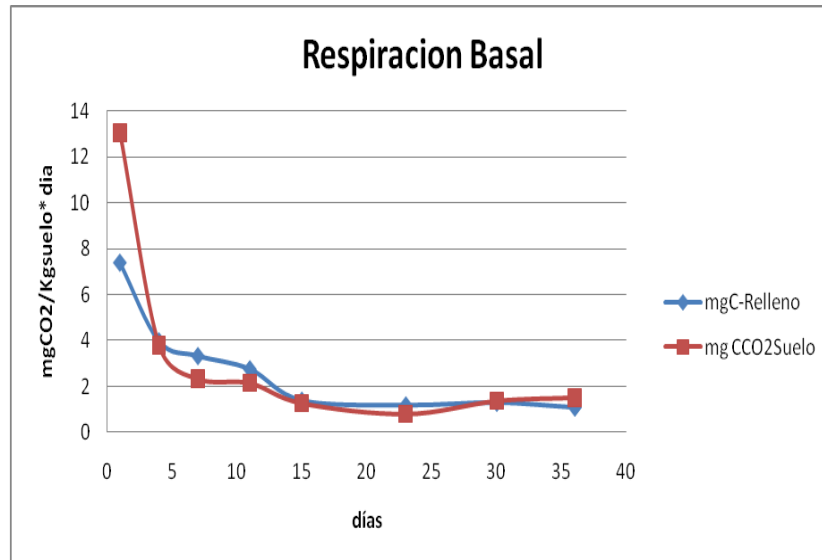


Figura 2: Respiracion basal de la muestra 1 (suelo y relleno)

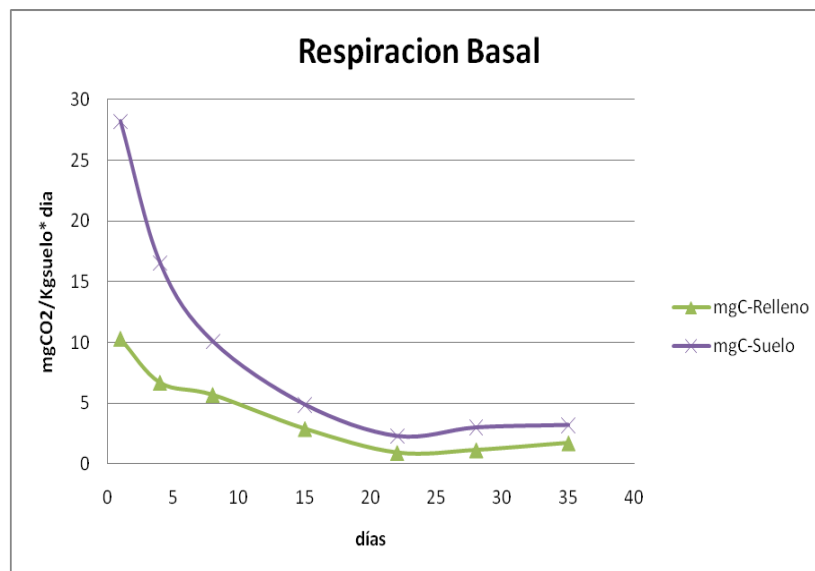


Figura 3: Respiracion basal de la muestra 2 (suelo y relleno)

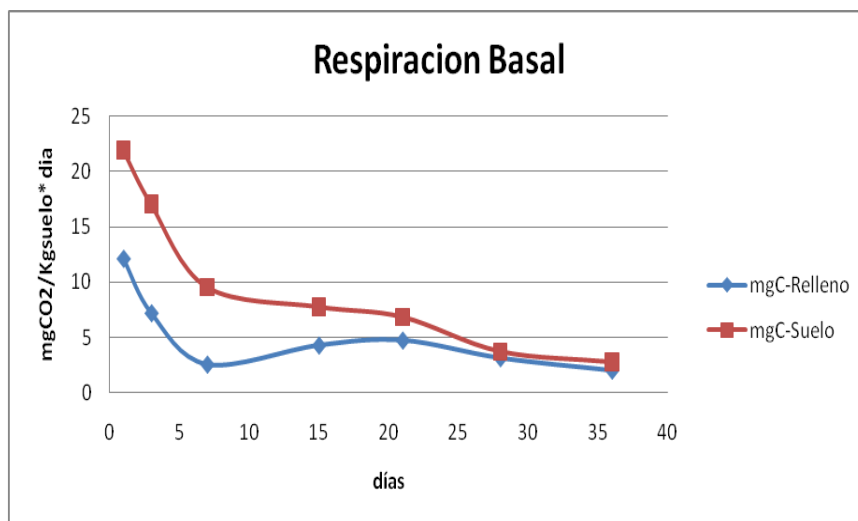


Figura 4: Respiracion basal de la muestra 3 (suelo y relleno)

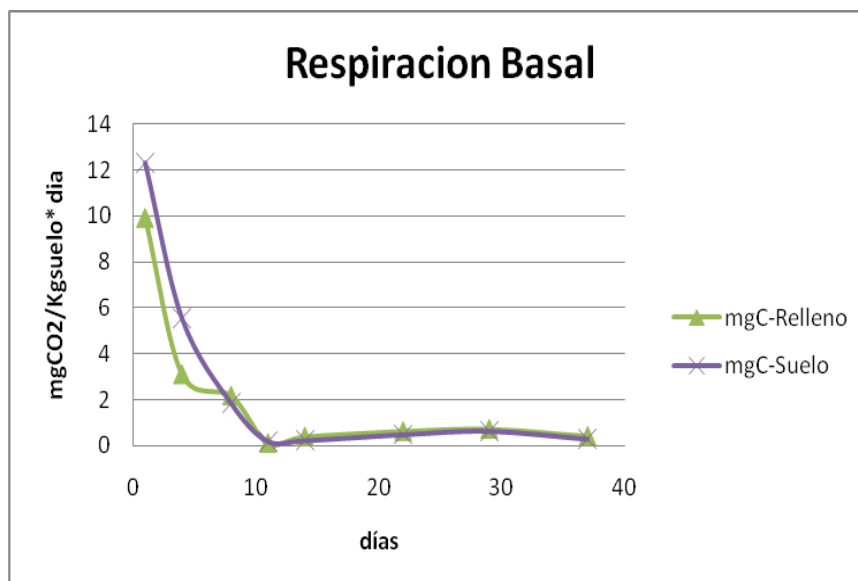


Figura 5: Respiracion basal de la muestra 4 (suelo y relleno)

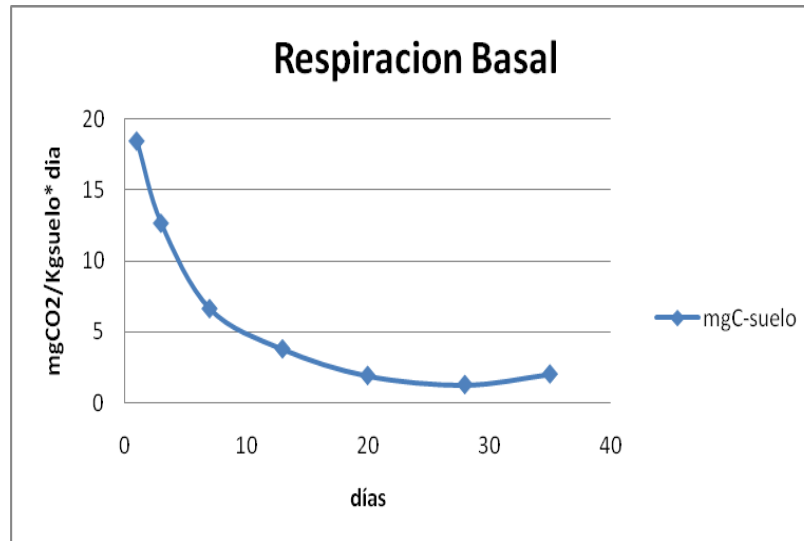


Figura 6: Respiracion basal de la muestra 5 (suelo)

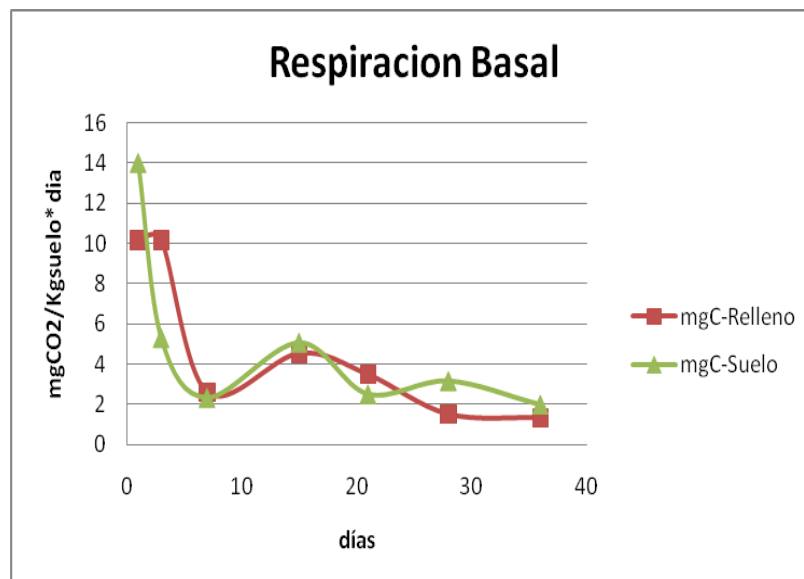


Figura 7: Respiracion basal de la muestra 6 (suelo y relleno)

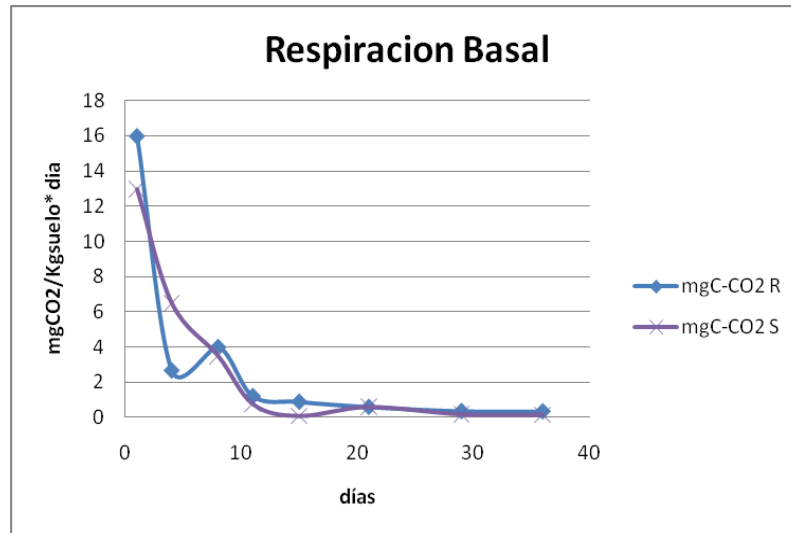


Figura 8: Respiracion basal de la muestra 7 (suelo y relleno)

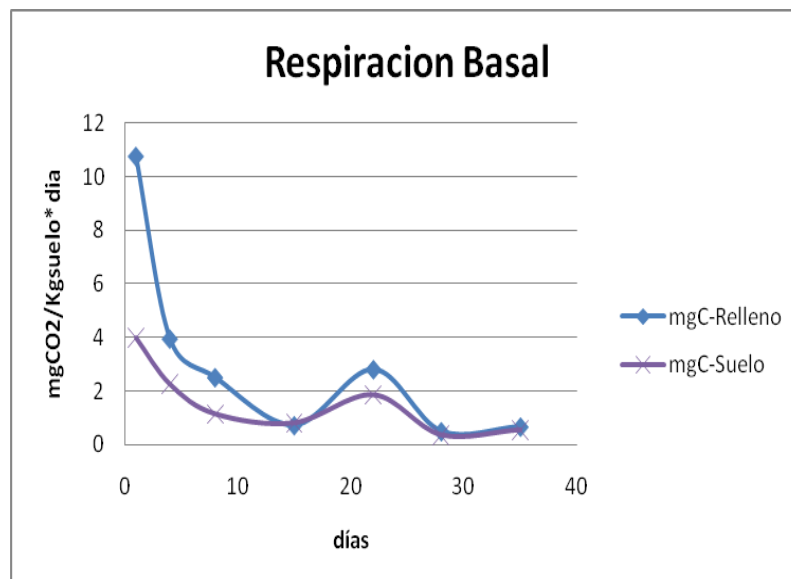


Figura 9: Respiracion basal de la muestra 8 (suelo y relleno)

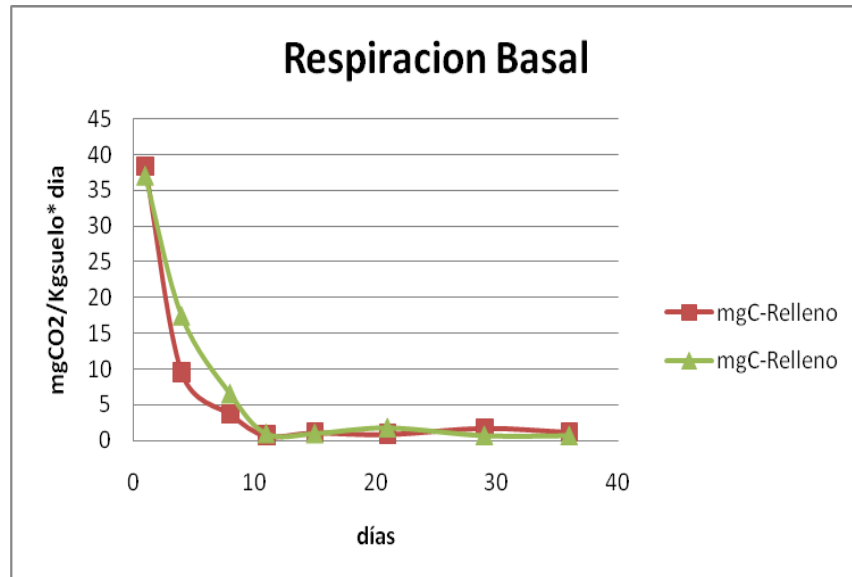


Figura 10: Respiracion basal de la muestra 9 (suelo y relleno)

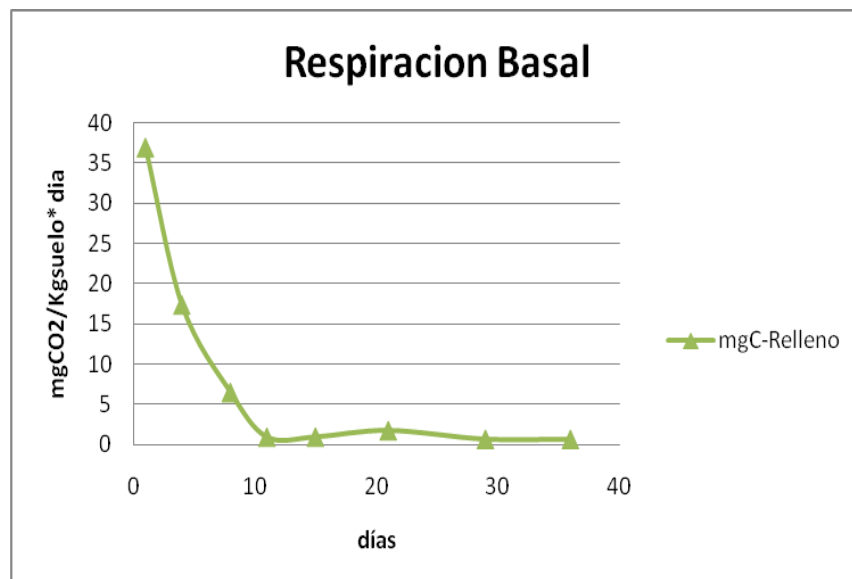


Figura 11: Respiracion basal de la muestra 10 (suelo)

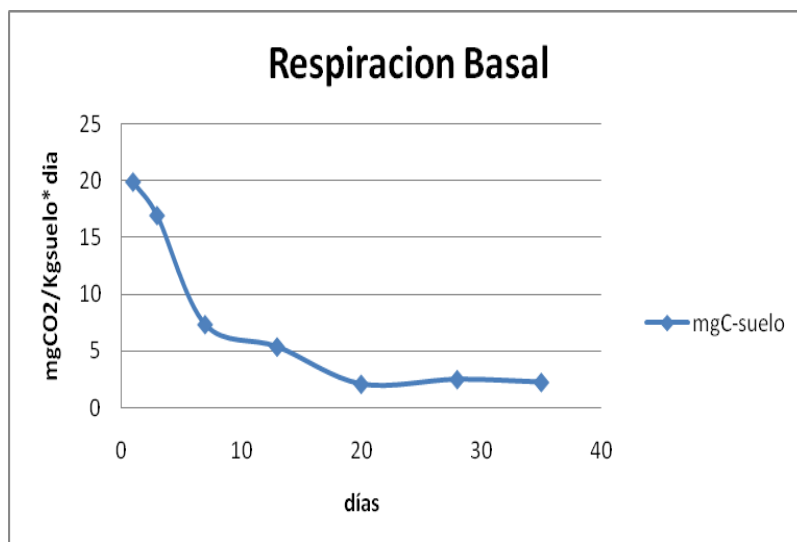


Figura 12: Respiracion basal de la muestra C1 (suelo)

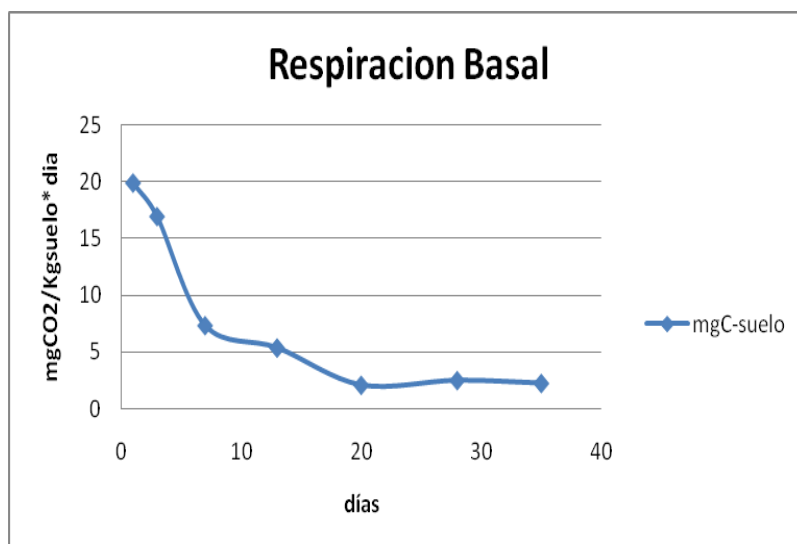


Figura 13: Respiracion basal de la muestra C2 (suelo)

En promedio, la respiración basal de los suelos (6 ± 3 mg C-CO₂/Kg suelo*día) es similar a la de los rellenos (5 ± 2 mg C-CO₂/Kg suelo*día), lo que se traduce en una actividad microbiológica igual. Las muestras control



reflejan una respiración promedio (10 ± 1 mg C-CO₂/Kg suelo*día) mayor que el resto de las muestras. Estas fueron tomadas fuera de la zona contaminada y su actividad microbiológica se debe al desarrollo natural de la materia orgánica y de los microorganismos que no están afectados por los residuos urbanos, que pueden presentar sustancias tóxicas que inhiben el crecimiento de los mismos. En un vertedero de basura se puede encontrar cualquier cantidad de materiales, metales, plásticos, entre otros que pueden afectar negativamente la actividad microbiológica.

La distribución y el comportamiento de los compuestos orgánicos contaminantes en suelos están gobernados por diferentes factores que incluyen las características del suelo (pH, contenido en materia orgánica y arcilla, potencial redox, contenido en nutrientes, actividad microbiológica, etc.), las propiedades específicas de cada compuesto (presión de vapor, solubilidad, estabilidad química, biodegradabilidad, características de sorción, etc.) y factores ambientales como la temperatura y la precipitación. Así, estos compuestos pueden sufrir procesos de lavado, biodegradación, volatilización, fotodescomposición e hidrólisis, óxidos, oxihidróxidos, etc., y transferencia a organismos (Jones *et al.*, 1996). Todos estos procesos hacen que los contaminantes permanezcan o se desplacen hacia el fondo del suelo haciendo que estas sustancias que allí se encuentra disminuyan el desarrollo de los microorganismos de ese suelo.

Como es bien sabido los factores que mas influyen en la respiración del suelo son la temperatura, el pH y la humedad.

Se encontró en la mayoría de las muestras estudiadas, un pH neutro entre 6,4 - 7,9 lo que favorece el crecimiento de los microorganismos del suelo según Arroyo y Quesada (2004), los cuales indican que gran parte de



los microorganismos tienen mayor crecimiento en un pH entre 6-8. Sin embargo, en este caso particular no se ve observó influencia del pH sobre la actividad microbiana.

A medida que aumenta la humedad, aumenta la respiración del suelo, hasta cierto punto, puesto que el exceso de humedad también inhibe la respiración de los microorganismos. Los suelos con mayor humedad relativa tuvieron mayor respiración, pues contienen el agua suficiente como para que se desarrollen mas microorganismos degradadores de la materia orgánica que se encuentra allí presente, ya que el agua forma parte del protoplasma bacteriano y sirve como medio de transporte a través del cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hasta el interior de las células. En las muestras 3 y 6, la humedad relativa del relleno es menor que la del suelo, lo cual explica que haya mayor respiración en el suelo que en el relleno. Las muestras 1, 4, 7, 8 y 9 la humedad relativa del relleno y suelo no difieren significativamente lo que evidencia una respiración similar en el relleno y el suelo de estas muestras. En la muestra 2 ocurre que la humedad del relleno es mayor que la del suelo, sin embargo el suelo tiene mayor contenido de carbono orgánico totales y la respiración es mayor. La humedad relativa de la muestra 5 también es alta al igual que la de los controles por lo que dichas muestras obtuvieron la mayor respiración (tabla 5).

El carbono orgánico es esencial para la actividad biológica del suelo (Aguilera, 2000). Proporciona recursos energéticos a los organismos del suelo (OS), mayoritariamente heterótrofos, en forma de carbono lábil (hidratos de carbono o compuestos orgánicos de bajo peso molecular) (Borie *et al.*, 1999).



La descomposición de los residuos orgánicos ocurre en tres fases: 1) fragmentación y mezcla con el suelo mineral efectuada por la macro y mega fauna (2-20 mm), 2) ruptura de grandes moléculas mediante la acción de enzimas liberadas por algunos hongos y bacterias y, 3) asimilación y transformación de los productos solubles generados en la etapa anterior a través de los microorganismos del suelo (microflora y microfauna < 100µm) (Singer y Munns, 1996, y Paul *et al.*, 1999). Los productos secundarios del metabolismo de los organismos y de la ruptura de grandes moléculas se acumulan como una sustancia coloidal compleja (humus). Los productos finales de la descomposición de los residuos orgánicos y el humus son energía, agua y elementos en formas minerales.

Se observa en los resultados obtenidos de COT (tabla 4) que la mayoría de las muestras el suelo tuvo mayor contenido de COT que el relleno lo que también se refleja en la respiración. En las muestras 4 y 9 el COT del suelo es mayor que el del relleno, pero como se dijo anteriormente, poseen una humedad relativa que no difiere de manera significativa una de la otra, en cambio, la muestra 7 el COT de ambos, suelo y relleno, no difieren significativamente.

La relación entre la materia orgánica, la humedad del suelo y el pH con la actividad biológica ha sido comprobada por varios autores, como Paul y Clark, (1989); Burbano (1989); Wild (1992); Alexander, (1994); Siquiera *et al.*, (1994); Coyne, (1999); Madigan *et al.*, (1999).



4.3 Biomasa Microbiana

La biomasa microbiana se define como la parte viva de la materia orgánica. La biota del suelo representa de 1 a 3% del COS y el componente microbiano varía desde 100 hasta 1000 $\mu\text{g C g}^{-1}$ de suelo (Paul *et al.*, 1999). La actividad biológica actúa en la solubilización, movilización y disponibilidad de nutrientes para las plantas (Borie *et al.*, 1999) y es un indicador de cambios tempranos que modifican la dinámica de nutrientes antes que éstos puedan ser detectados por análisis químicos (Powlson *et al.*, 1987).

Existen varios factores que influyen en la biomasa microbiana como son: la temperatura, la luz, contenido de materia orgánica, humedad, entre otros (Sparling, 1992).

La biomasa microbiana medida como C biomásico se puede utilizar como un indicador sensible al manejo (Timan *et al.*, 1999) y a la toxicidad debido a pesticidas, metales y otros contaminantes antropogénicos (Paul *et al.*, 1999). Se estima que en suelos de pradera templados la biomasa microbiana alcanza alrededor de 1 a 2 Mg ha⁻¹ (Nannipieri *et al.*, 1989).

El carbono asociado a la biomasa microbiana de las muestras de suelo en estudio se determinó por el método fumigación-extracción (FE), cuyos resultados se encuentran en la tabla 6.

Tabla 6: Biomasa Microbiana obtenida por Fumigación-Extracción

Biomasa Microbiana C(mg Kg ⁻¹ suelo)		
Muestra	Relleno	Suelo
1	12 ± 3	13±4
2	9 ± 1	14±3
3	10 ± 2	13±2
4	12 ± 3	13±1
5	-	14±4
6	7 ± 1	14±3
7	9 ± 2	10±1
8	6 ± 1	11±2
9	10 ± 0,1	22±3
10	-	24±3
C1	-	17±2
C2	-	28±5

Como se observa, los valores obtenidos para la biomasa microbiana varían entre 6 y 28 mg Kg⁻¹suelo. Acosta y Paolini (2006), encontraron valores de biomasa microbiana (por FE) entre 126 y 304 mg Kg⁻¹ suelo, para un suelo aridisol, de la Península de Paraguaná estado Falcón. Kolse y Tabatabai (1999) cuantificaron la biomasa microbiana por el método FE para un grupo de suelos agrícolas de Iowa (USA) obteniendo valores entre 31 y 740 mg Kg⁻¹suelo. Fortubel (2004) estudió la biomasa microbiana de suelos de la zona del lago Titikaka en Bolivia y obtuvo valores entre 74 y 233 mg Kg⁻¹suelo. Los resultados de la determinación de la biomasa microbiana de



las muestras en estudio se encuentran por debajo, fuera de los valores reportados por los diferentes autores mencionados anteriormente, lo que significa que el suelo es poco saludable para microorganismos que allí residen.

La biomasa esta asociada a los procesos de descomposición de la materia orgánica. Sánchez *et al.* (2005) encontraron una respiración basal mas alta en suelos con mayor contenido de carbono orgánico, indicando que niveles mas altos de CO se traduce en una mayor fuente de energía y de nutrimentos para los microorganismos, lo cual contribuye a su desarrollo y una actividad microbiológica mas alta, que se refleja en una mayor producción de CO₂. Esto explica por qué los valores de biomasa no se encuentran dentro de los reportados puesto que los resultados de COT obtenidos (tabla 3) de las muestras en estudios son bajos, al igual que los valores obtenidos para respiración de basal. Sin embargo, se nota la tendencia de que a mayor respiración mayor biomasa microbiana (tabla 4 y 5). La respiración del suelo es una medida de su actividad; su determinación proporciona la información concerniente a la cantidad de biomasa microbiana que es activa en el suelo (García *et al.*, 2003). De allí la diferencia entre el suelo y relleno de las muestras 3, 6 y 8. Las muestras 1, 4, 7 y 9, en donde la respiración y el contenido de COT de los suelos y rellenos son bastante similares, se observa valores de biomasa microbiana parecidos (tabla 6).

4.4 Coeficiente Metabólico

El coeficiente metabólico es el cociente resultante de la relación entre la actividad microbiológica y la biomasa microbiana, el cual representa la



mineralización de carbono por unidad de biomasa microbiana. Los resultados obtenidos de qCO_2 se muestran en la tabla 7.

Tabla 7: Coeficiente metabólico (qCO_2) de las muestras en estudio

$qCO_2 (h^{-1})$		
Muestra	Relleno	Suelo
1	0,036±0,002	0,054±0,003
2	0,036±0,001	0,112±0,002
3	0,060±0,001	0,117±0,003
4	0,036±0,002	0,039±0,001
5	-	0,112±0,002
6	0,056±0,004	0,126±0,003
7	0,027±0,001	0,033±0,002
8	0,030±0,001	0,066±0,003
9	0,070±0,002	0,077±0,001
10	-	0,096±0,001
C1	-	0,002±0,001
C2	-	0,003±0,001

Como se observa en la tabla 7 los valores de qCO_2 varían entre 0,027 y 0,126 h^{-1} . Estos resultados pueden considerarse altos en función de otros valores manejados por Witter y Kanal (1998) quienes obtuvieron resultados para qCO_2 FE entre 0,0006 y 0,0017 h^{-1} para suelos centrales en Suecia con diferentes niveles de COT.

También se puede observar que el coeficiente metabólico de los suelos fue mayor que el del relleno, lo que indica que hubo una tendencia mayor al gasto de carbono en la respiración por unidad de biomasa microbiana y por consiguiente un estrés microbiano. Los valores altos de



qCO_2 indican que hay una mayor pérdida de C, en la forma de CO_2 , en los suelos que en los rellenos, lo contrario a su asimilación en el protoplasma microbiano (Knoepp *et al.*, 2000). En los suelos tomados como control el valor de qCO_2 es menor que la de los suelos impactados mostrando que existe en ellos un menor estrés microbiano.

Los valores obtenidos indican que la alta actividad respiratoria corresponde un alto cociente metabólico y, en consecuencia, una baja asimilación del C orgánico, y a la inversa, a un bajo cociente metabólico corresponde una alta relación C_{mic}/C_{org} , esto es: una mayor asimilación del C orgánico en la biomasa microbiana y en la construcción de la materia orgánica del suelo (Anderson y Domsch, 1989, 1990). Lo que quiere decir que los residuos urbanos que se encuentran en el suelo estudiado impiden el aprovechamiento del poco C orgánico que se encuentra en este.

De modo que para mantener a la comunidad microbiana a un estado estable, debe descomponerse una fracción más recalcitrante del carbono y en consecuencia, más CO_2 por unidad de biomasa es liberado (Anderson y Domsch, 1990).

El estado de las propiedades dinámicas del suelo como contenido de materia orgánica, diversidad de organismos, o productos microbianos en un tiempo particular, constituyen la salud del suelo (Romig *et al.*, 1995). Los indicadores biológicos integran gran cantidad de factores que afectan la calidad del suelo como la abundancia y subproductos de micro y macroorganismos, incluidos bacterias, hongos, nemátodos, lombrices, anélidos y artrópodos. Incluyen funciones como la tasa de respiración, ergosterol y otros subproductos de los hongos, tasas de descomposición de los residuos vegetales, N y C de la biomasa microbiana (Karlen *et al.*, 1997).



El flujo de CO₂ teóricamente representa una medición integrada de la respiración de raíces, respiración de la fauna del suelo y la mineralización del carbono desde las diferentes fracciones de la materia orgánica del suelo; la biomasa microbiana representa la cantidad de microorganismos que degradan a dicha materia orgánica y el coeficiente metabólico indica la relación entre el carbono orgánico y el carbono microbiano. Estas mediciones también proveen una indicación sensitiva del suelo ante los efectos de humedecimiento, secado, la aplicación de agroquímicos o elementos metálicos, la exudación de sustancias supresoras, la contaminación por residuos urbanos y el manejo del medio, entre otros (García *et al.*, 2003).

No existe un suelo ideal que se pueda considerar 100% saludable, sin embargo tomando como referencia un suelo ubicado en la Sierra San Luis, estado Falcón, con valores de COT entre 2,37 y 4,77 %; respiración basal entre 1530 y 23880 mg C-CO₂/g suelo*día y biomasa microbiana entre 739 y 2 635 µg C /g de suelo (Mogollón y Martínez, 2009), donde no hay ningún tipo de contaminación por residuos urbanos, los resultados obtenidos de los parámetros físicos, químicos y biológicos determinados, indican que los suelos estudiados son poco saludables.

4.5 Análisis estadístico

El coeficiente lineal de Pearson se estimó relacionando los parámetros biológicos con el pH, la humedad y COT determinado por Walkey y Black.

En la tabla 8 se muestran los valores de correlación obtenidos para las variables analizadas del relleno y suelo.



Tabla 8: Coeficiente Lineal de Pearson ($p < 0,05$ N: 18)

Parámetro	Respiración	Biomasa	qCO ₂
pH	0,00	-0,10	0,00
Humedad	0,65	0,73	0,76
COT	0,81	0,83	0,75

Se en la tabla, tanto el coeficiente metabólico qCO₂ como la respiración y la biomasa se correlacionaron significativamente de manera directa con el COT. Esto indica que al aumentar el contenido de carbono orgánico total incrementa, el qCO₂, la biomasa y la respiración, tanto en el relleno como en los suelos, afirmado que cuando hay mayor materia orgánica en el suelo hay mayor actividad microbiológica y mayor estrés microbiano.

El pH no tuvo correlación con ningún parámetro puesto que este no varía de manera significativa en las muestras de suelos estudiadas (tabla 4)

La humedad se correlaciona significativamente y de forma directa con la biomasa. Cuando aumenta la humedad relativa de las muestras aumenta la respiración de estas y por lo tanto la biomasa microbiana.



CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se obtuvo una respiración basal de (6 ± 3 mg C-CO₂/Kg suelo*día) para suelos y (5 ± 2 mg C-CO₂/Kg suelo*día) para los rellenos, encontrándose por debajo de los valores reportados por otros autores, indicando que hay una baja actividad microbológica.
- La respiración basal promedio es similar tanto en el relleno como en el suelo y a su vez es baja en comparación con el promedio de los suelos controles, lo que indica la poca salud de estos.
- Los resultados de biomasa microbiana (entre 6 y 28 mg Kg⁻¹suelo) son bajos de acuerdo a valores reportados por otros autores, esto puede deberse al poco contenido de COT en las muestras.
- El coeficiente metabólico (qCO₂) fue mayor en las muestras de suelos que los rellenos, indicando mayor estrés microbiano causado por la presencia de los residuos urbanos.
- Existe una correlación directa de la cantidad de carbono orgánico y la humedad relativa de las muestras con los valores obtenidos de respiración, biomasa microbiana y coeficiente metabólico.
- La biomasa microbiana y la respiración basal sirven como indicadores de la salud del suelo, sin embargo, estos solos, no son suficientes para determinar de manera definitiva el estado de salud del mismo.



5.2 Recomendaciones

- Puesto que la humedad del suelo tiene una marcada influencia sobre los parámetros biológicos estudiados, se recomienda el estudio de la biomasa microbiana y la respiración basal en los suelos contaminados con residuos urbanos en el sector El Ereigüe ubicado en San Joaquín del estado Carabobo, en época de lluvia.
- Para poder inferir acertadamente sobre la salud del suelo, se recomienda realizar estudios sobre la diversidad microbiana, biomasa microbiana (ATP) y actividad enzimática conjuntamente con los parámetros estudiados
- En vez de utilizar muestreo al azar estratificado podría utilizarse un muestreo sistemático para reducir la variabilidad de las muestras o bien podría ser estratificado, pero tomando una mayor cantidad de submuestras y realizar muestras compuestas que sirvan para el análisis de las propiedades de los suelos.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **Acosta, Y. y Paolini, J.,** (2006) Dinámica de la biomasa microbiana (C y N) en suelos de la península de Paraguaná tratados con residuos orgánicos. Multiciencias vol. 6, N° 002, p. 183-187.
- **Aguilera, S.M.,** (2000). Importancia de la protección de la materia orgánica en suelos. Simposio Proyecto Ley Protección de Suelo. Boletín N° 14. Valdivia, Chile. p. 77–85.
- **Alexander, M.** (1994) Introducción a la microbiología del suelo. Trad. J.J. Peña, México: Libros y Editoriales. 419 p.
- **Anderson, J. P.** (1982) Soil respiration. p. 831-871. En: Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2nd ed. (A.L. Page, R H. Miller and D.R. Keeney eds.) Soil Science Society of America Number 9. SSSA, Madison, Wisconsin, USA.
- **Anderson, J. P. y Domsch, K. H.** (1989) A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.*, **10**: 215-221.
- **Anderson, T.H.; Domsch, K. H.** (1990) Application of ecophysiological quotients (qCO_2 and qD) on microbial biomass from soils of different cropping histories. *Soil Biol. Biochem.* 22:251-255.
- **Arroyo, M., Quesada, J.** (2004) Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. División de Protección Ambiental, Guadalajara-México. p 299.
- **Baldock, J. A. y Nelson, P. N.** (1999). Soil Organic Matter. En “*Handbook of Soil Science*”. (Ed M. E. Sumner.) CRC Press: Boca Raton, USA. P.p. B25-B84.
- **Baldock, J. A. y Skjemstad, J. O.** (1999). Soil organic carbon/soil organic matter. In “*Soil Analysis: an Interpretation Manual*”. (Eds. K. I.



Peverill, L. A. Sparrow, and D. J. Reuter.) CSIRO Publishing: Collingwood. P.p. 159-170.

- **Biederbeck, VO; HH Janzsen; CA Campbell y RP Zentner.** (1994). Labile soil organic matter as influenced by cropping practices in an arid environment. *Soil Biology and Biochemistry* 26: 1647-1656

- **Bohn, H.; McNeal, B. L. y O'Connor, G. A.** (1993) Química del Suelo. Editorial Limusa. México. P. p. 370.

- **Borie, G., Aguilera, S.M. y Peirano, P.** (1999) Actividad biológica en suelos. *Frontera Agrícola*. 5, 29-32.

- **Boyd, C. E.** (1995) Bottom soils, sediment and pond aquaculture. Chapman and Hall, New York, New York, EE.UU.

- **Burbano, H.,** (1989) El suelo, una visión sobre sus componentes biogénicos. Pasto: Universidad de Nariño, p 447.

- **Buchmann, N.** (2000). Factores bióticos y abióticos control de la respiración del suelo en las tasas de Picea abies stands. *Biología del Suelo y Bioquímica* 32, pp. 1625-1635.

- **Bundy, J. G., Paton, G. I., Campbell, C. D.** (2002). Microbial communities in different soil types do not converge after diesel contamination. *Journal of Applied Microbiology* 92:276-288.

- **Cambardella, CA y ET Elliott.** (1992). Particulate organic matter changes across a grassland cultivation sequence. *The Soil Science Society of America Journal* 56: 777-783.

- **Chang, S. X., Preston, C. M. y Weetman, G. F.** (1995) Soil microbial biomass and microbial mineralizable N in a clear-cut chronosequence on north Vancouver Island, British Columbia. *Canadian J. Forest Research*, 25: 1595-1607.

- **Coyne, M.S.** (1999) Soil microbiology: An exploratory approach. Albany; Delmar Publisher, p 462.



- **Doran, JW y TB Parkin.** (1994). Defining and assessing soil quality. 3-21. In: JW Doran *et al.*, (ed.). Defining soil quality for a sustainable environment. SSSA Special Publication. Nº 35. Madison, Wisconsin.
- **Fonturbel, R.F.;** (2004) Uso de algunos parámetros microbiológicos y bioquímicos para la evaluación de la contaminación por hidrocarburos y la biodegradación de los mismos, en la zona del lago Titikaka (San Pedro de Tiquina, Bolivia) *Ecología Aplicada*, 3(1,2), ISSN 1726-2216.
- **Fortin, M.-C., rochette, P., Pattey, E.,** (1996). Soil carbon dioxide fluxes from conventional and no-tillage smallgrain cropping systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60, 1541-1547.
- **Frostergård, Å.; Bååth, E. y Tunlid, A.** (1993) Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biol. Biochem.*, 25: 723-730.
- **García, C.; Gil-Sotres, F.; Hernández, T.; Trasar-Cepeda, C.** (2003). Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Mundi-Prensa, Madrid. 371 p.
- **Galán E.; Romero A.;** (2008) Contaminación de suelos por metales pesados. Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola. Facultad de Química. Apartado 553. Universidad de Sevilla. Sevilla 41071
- **González, C.; López A.; Moreno L.; Martín M.; López G.;** (2003) Estudio de la influencia de los suelos contaminados por metales pesados en las aguas naturales, p.p 875-879.
- **Guerrero, G.** (2010). Estudio de la actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos impactados con petróleo, ubicados en Yaracal estado Falcón. Monografía.
- **I. G. A. C.** (1979). Métodos Analíticos del laboratorio de suelos. Instituto Geográfico "Agustín Codazzi" 4ª Ed. Olarte, L. I. Editor. Bogotá, Colombia. P.p. 664.



- **Islam, K.R.; Weil, R.R.** (2000) Land use effects on soil quality in tropical forest ecosystem of Bangladesh. *Agric. Ecosyst. Environ.* 79, 9-16.
- **Insam, H., Hutchinson, T.C., Reber, H.H.,** (1996). Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. *Soil Biology & Biochemistry* 28, 691–694.
- **Jackson, M. L.** (1965) Análisis químico de suelos. 2ª Ed. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. P.p. 662.
- **Jaramillo, Daniel** (2002) Introducción a la Ciencia del Suelo. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias pp 202-205
- **Jones, K. C., Alcock, R. E., Johnson, D. L., Nothcott, G. L., Semple, K. T., y Woolgar, P. J.** (1996). Organic chemicals in contaminated land: analysis, significance and research priorities. *Land Contamination and Reclamation*, 3: 189-197.
- **Karlen, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F. y Schuman, G.E.** (1997). Soil quality: a concept, definition and framework for evaluation. *Soil Science Society of America J.* 61: 4-10.
- **Knoepp, J. D., D. C. Coleman, D. A. Crossley Jr., and J. S. Clark.** (2000). Biological indices of soil quality: an ecosystem case study of their use. *For. Ecol. Manage.* 138: 357-368.
- **Kolse, S.; y Tabatabai, M.A.:** (1999) Arylsulphetase activity of microbial in soil, soil. *Sci. Soc. Am. J.* 63: 669-574.
- **Kuperman, R.G., Margaret, M.C.** (1997) Soils heavy metals concentrations: microbial biomass and enzyme activities in contaminated grassland.
- **Liebig M., y J.W. Doran** (1999) Impact of organic production practices on soil quality indicators. *J. environ. Qual.* 28:1601-1609.



- **Lloyd J. y Taylor JA**, (1994). On the temperature dependence of soil respiration. *Functional Ecology*. Pp 315-323.
- **Macías, F.** (1993) Contaminación de suelos: algunos hechos y perspectivas. En: Ortiz Silla, R., (Ed.), *Problemática Geoambiental y Desarrollo*, tomo I, pp 57-74. V Reunión Nacional de Geología Ambiental y Ordenación del Territorio. Murcia.
- **Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; Parker, J.** (1999). Brock: Biología de los microorganismos. 8va ed. Madrid: Prentice, p.986.
- **Matsushita, M.; Ito, S.; Meguro, S. y Kawachi, S.** (2007) Structure of soil microbial communities in sugi plantations and seminatural broad-leaved forests with different land-use history. *Can. J. For. Res.* 37: 236-246.
- **Martin, C.W.** 2000. Heavy Metals Trends in Floodplain Sediments and Valley Fill. *Catena* 39, 53-68.
- **Matus, F.J. y Maire G., C. R.** (2000) Relación entre la materia orgánica del suelo, textura del suelo y tasas de mineralización de carbono y nitrógeno. *Agric. Téc.*, **60(2)**: 112-12.
- **Mc Bride, M.B.** (1995). Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: are USEPA regulations protective? *J. Environ. Qual.* 24, 5-18.
- **Moreira, M. M. S., y Siqueira, J. O** (2002) Microbiología e bioquímica do solo. Ed. UFLA. Brasil.
- **Morgan, P., Watkinson, R. J.;** (1989).- Hydrocarbon degradation in soils and methods for soils biotreatment. *CRC Critical Rev. in Biotechnol.* 8: 308-310.
- **Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M. T., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G.,** (2003). Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, 54, 655-670.
- **Pankhurst, C. E., Hawke, B. G., McDonald, H. J., Kirkby, C. A., Buckerfield, J. C., Michelsen, P., O'Brien, K. A., Gupta, V.V. S. R., y**



Doube, B. M. (1995). Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 35:1015-1028.

- **Paul, E.A., Harris, D., Klug, M.J., Ruess, R.W.,** (1999). The determination of microbial biomass. En G.P. Robertson, D.C. Coleman, C.S. Bledsoe, and P. Sollins: Standard soil methods for long-term ecological research. Oxford University Press. New York. Pp. 291-317.

- **Paul, E.A.; Clark, F.E.** (1989). Soil microbiology and biochemistry. San Diego: Academy Press. p 275.

- **Plante, AF; CE Stewart; RT Conant; K Paustian, y J Six.** (2006). Soil management effects on organic carbon in isolated fractions of a Gray Luvisol. *Canadian Journal of Soil Science* 86: 141-151.

- **Pérez, E., Garrido, P., Laca, M.** (2008). Indicadores microbiológicos como marcadores de la contaminación y recuperación de suelos contaminados con queroseno. *Ecosistemas* 17(3):133-138.

- **Powlson, D.S., Brookes, P.C., Christensen, B.T.,** (1987). Measurements of soil microbial biomass provides an early indication of changes in soil total organic matter due to straw incorporation. *Soil Biol. Biochem.*, 19, 159-164.

- **Rastetter, E. B.; McKane, R. B.; Shaver, G. R.; Melillo, J. M.; Nadelhoffer, K. J.; Hobbie, J. E. y Aber, J. D.** (1991) A general biogeochemical model describing the responses of the C and N cycles in terrestrial ecosystems to changes in carbon dioxide, climate, and nitrogen deposition. *Tree Phys.*, 9: 101-126.

- **Romig, D.E., Garlynd, M.J., Harris, R.F. y McSweeney, K.** (1995). How farmers assess soil health and quality. *J. Soil Water Conservation* 50: 229-236.



- **Sánchez, B., Ruiz, M., y Rios, M.M.,** (2005) materia orgánica y actividad biológica del suelo en relación con la altitud en la cuenca del río Maracay estado Aragua. Scielo. *Agronomía trop.* 55(4):507-534.
- **Singer, M.J., Munns, D.N.,** (1996.) Soils. An introduction. Third edition. Prentice- Hall, Inc. New Jersey. p 480.
- **Siquiera, J.O.; Moreira, F.M. de S.; Grisi, B.M.; Hungria, M.; Araujo, R.S.** (1994). Microorganismos e procesos biológicos do solo. Perspectiva Ambiental. Brasília: Embrapa, p 142.
- **Six, J; PT Callewaert; S Lenders; S De Gryze, SJ Morris; EG Gregorich** (2002). Measuring and Understanding Carbon Storage in Aforested Soils by Physical Fractionation. *The Soil Science Society of America Journal* 66: 1981-1987
- **Soil survey laboratory (SSL).** 1995. Information manual. Soil Survey Investigations Report Nº 45. Version 1.0.
- **Soil survey laboratory (SSL).** 1996. Methods manual. Soil Survey Investigations Report Nº 42. Version 3.0.
- **Sparling, G.P.** (1992) Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as sensitivity indicator of changes in soil organic matter. *Aust. J. Soil. Res.* 30:195-207.
- **Stevenson, F. J.** (1994). *Humus Chemistry. Genesis, composition, reactions.* Wiley and Sons, New York.
- **Stotzky, G.** (1965) Microbial respiration. En: *Methods of Soil Analysis.* Part 2 (Black, C.; Evans, D.; Ensminger, L.; White, J. and Clark, F., editores). American society of Agronomy, Madison, USA. Pp. 1550-1572.
- **Stotzky, G. y Burn, R.G.** (1982) The soil environment: clayhumus-microbe interactions. In: Burn, R.G.; J.H. slayter (Eds.). *experimental microbial ecology.* Oxford. p. 105-133.



- **Swift, R. S.**, (2001). Sequestration of carbon by soil. *Soil Sci.*, 166, 858-871.
- **Thayer, A. M.** 1991. Bioremediation: Innovative technology for cleaning up hazardous waste. *Chemical Engineering News*. 26 23-42
- **Vance, E. D.; Brookes, P. C. and Jenkinson, D. S.** (1987) An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* **19(6)**: 703-707.
- **Visser. S. y Parkinson, D.**, (1992) Soil biological criteria as indicators of soil quality: Soil microorganisms. *Am. J. Alternat Agric.* Vol. 7(1/2): 33-37.
- **Wardle, D.A., Ghani, A.A.**, (1995) Critique of the microbial metabolic (qCO_2) as indicator of disturbance and ecosystem development. *Soil Biol. Biochem.* 27: 1601-1610.
- **Wild, A.** (1992). Condición del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. Madrid: Mundi-Prensa, p 1045.
- **. Willson, TC; EA Paul y RR Harwood.** (2001). Biologically active soil organic matter fractions in sustainable cropping systems.
- **Witter, E., y Kanal, A.** (1998) Characteristics of the soil microbial biomass in soil from a long-term field experiment with different levels of C input. *Applied Soil Ecology* 10: 37-49.
- **Wong M.H.** (2003). Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*. 6: 775-780.
- **Yakovchenko, V.P., Sikor, L. J., Kaufman, D. D.** (1996). A biologically based indicator of soil quality. *Biology and Fertility of Soils* 21:251–345.

APÉNDICE

Figura 14: Curva de calibración para la determinación de carbono por el método Walkey y Black.

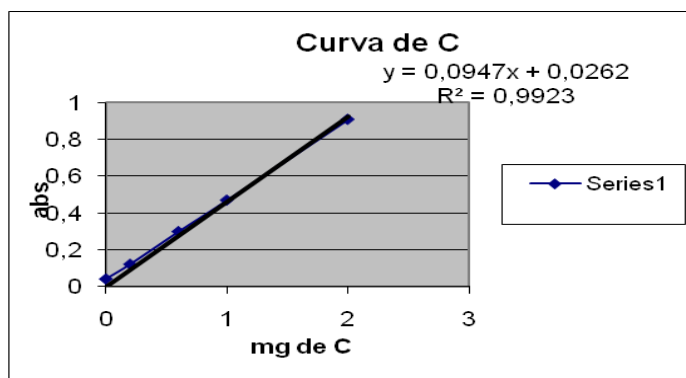


Tabla 9: Pesos de las muestras para la determinación de la respiración basal

Muestra	Peso de Relleno (g)			Peso de Suelo (g)		
1	30,0422	30,1934	30,1345	30,0110	30,1373	30,0159
2	30,0441	30,0434	30,0782	30,6444	30,0298	30,0483
3	30,0051	30,0617	30,1072	30,0145	30,1818	30,0155
4	30,0541	30,0267	30,0148	30,0513	30,0609	30,0172
5	-	-	-	30,2821	30,4625	30,0152
6	30,0195	30,0147	30,0025	30,3501	30,0342	30,2823
7	30,0540	30,0372	30,1075	30,0233	30,2327	30,0965
8	30,0427	30,0505	30,0454	30,6174	30,0778	30,1378
9	30,1660	30,0145	30,0971	30,0143	30,0268	30,1150
10	-	-	-	30,2168	30,0356	30,1488
C1	-	-	-	30,0313	30,0695	30,1642
C2	-	-	-	30,2749	30,0598	30,0875

C1: Control 1; C2: Control 2

Tabla 10: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 1

Día	Volumen de HCl gastado (mL)							[HCl]
	Blanco	Relleno			Suelo			M
		R1	R2	R3	S1	S2	S3	
1	23,5	22,9	22,4	23	22,2	22,5	22,3	0,0519
4	22,1	22,1	21,8	20,0	22,0	21,8	22,1	0,0519
7	22,2	21,5	20	20,9	21,2	19,7	21,9	0,0519
11	20,8	19,7	18,7	19,5	20,5	18,9	20,4	0,0504
15	22,1	22,1	21,1	21,7	21,5	20,4	21,7	0,0509
23	20,3	19,3	19,2	19,7	20,1	19,6	19,9	0,1063
30	43,4	42,6	42,4	42,9	42,0	41,6	42,3	0,1031
36	44,0	43,0	42,6	43,5	42,4	41,8	42,5	0,1063

Tabla 11: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 2

Día	Volumen de HCl gastado (mL)							[HCl]
	Blanco	Relleno			Suelo			M
		R1	R2	R3	S1	S2	S3	
1	22,4	21,3	21,3	21,6	19,7	20,0	19,6	0,0504
4	21,6	20,0	20,0	20,7	18,0	18,2	18,0	0,0504
8	22,7	20,2	20,2	20,5	18,6	19,2	18,6	0,0509
15	20,3	19,6	19,6	19,5	19,0	19,0	18,6	0,1063
22	41,3	41,0	41,0	40,9	40,3	40,5	40,5	0,0131
28	44,5	43,0	43,3	43,3	41,6	41,5	41,5	0,0990
35	22,8	20,9	21,3	21,5	20,8	20,8	20,5	0,1063

Tabla 12: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 3

Día	Volumen de HCl gastado (mL)							[HCl]
	Blanco	Relleno			Suelo			M
		R1	R2	R3	S1	S2	S3	
1	22,7	22,2	22,2	22,3	22,0	22,0	22,0	0,0509
3	23,5	22,5	22,7	22,6	20,4	20,2	20,8	0,0509
7	41,9	41,2	41,7	41,5	40,7	39,9	39,5	0,1010
15	43,0	40,0	39,6	40,0	38,0	38,0	39,5	0,1031
21	48,2	45,4	45,3	45,5	45,3	43,8	45,5	0,0990
28	24,3	21	23,2	22,6	20,8	19,9	22,5	0,1063
36	46,8	45,3	45,6	45,5	44,1	43,3	44,8	0,1041

Tabla 13: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 4

Día	Volumen de HCl gastado (mL)							[HCl]
	Blanco	Relleno			Suelo			M
		R1	R2	R3	S1	S2	S3	
1	17,5	16,5	16,9	16,7	16,4	16,5	16,6	0,0604
4	14,6	13,6	13,8	13,5	12,8	12,8	12,7	0,0604
8	18,7	16,9	16,9	18,1	17,4	17,5	17,7	0,0604
11	21,0	20,9	20,9	21,0	20,5	21,0	21,0	0,0519
14	20,4	19,8	20,0	20,0	20,2	20,1	20,0	0,0519
22	17,4	15,8	16,4	16,2	13,0	16,0	14,1	0,0509
29	18,5	17,3	17,3	18,0	17,5	17,8	17,6	0,1010
37	37,8	37,1	37,2	37,0	37,4	37	37,5	0,1063

Tabla 14: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 5

Día	Volumen de HCl gastado (mL)					[HCl]
	Blanco		Suelo			M
			S1	S2	S3	
1	44,5		44,5	44,5	44,5	0,1063
3	45,9		44,3	43,4	44,8	0,1063
7	44,5		42,7	42,5	42,7	0,1063
13	46,2		43,5	43,8	43,8	0,0990
20	21,0		19,6	18,5	19,5	0,1063
28	45,3		43,8	43,0	44,0	0,1041
36	27,5		23,8	24,5	25,7	0,1041

Tabla 15: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 6

Día	Volumen de HCl gastado (mL)							[HCl]
	Blanco	Relleno			Suelo			M
		R1	R2	R3	S1	S2	S3	
1	44,5	44,2	44,5	44,1	44,5	44,5	44,5	0,1063
3	45,9	44,6	44,1	44,3	45,4	45,0	45,0	0,1063
7	44,5	44,1	39,9	39,7	43,4	43,9	43,9	0,1031
15	46,2	45,3	45,7	45,9	42,0	42,0	42,0	0,0990
21	21,0	20,8	20,4	20,3	18,1	18,3	18,5	0,1063
28	45,3	44,7	44,8	44,2	39,5	39,5	39,1	0,1041
36	27,5	26,3	25,9	25,8	23,5	22,4	25,6	0,1041

Tabla 16: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 7

Día	Volumen de HCl gastado (mL)							[HCl]
	Blanco	Relleno			Suelo			M
		R1	R2	R3	S1	S2	S3	
1	24,2	22,8	22,8	23,2	23,4	24,0	23,4	0,1000
4	22,5	22,5	21	21,8	19,9	23,2	20,5	0,0982
8	18,2	17,2	17,3	17,2	17,4	17,6	17,3	0,0982
11	14,6	12,6	14,0	14,0	13,3	14,9	13,6	0,0604
15	19,6	18,3	18,6	18,6	19,6	19,6	19,4	0,0604
21	19,5	18,4	18,8	18,8	18,3	18,3	18,3	0,0519
29	17,4	16,4	16,4	16,4	16,9	16,8	16,9	0,0509
36	18,8	18,4	18,1	18,1	18,2	18,6	18,7	0,1010

Tabla 17: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 8

Día	Volumen de HCl gastado (mL)							[HCl]
	Blanco	Relleno			Suelo			M
		R1	R2	R3	S1	S2	S3	
1	22,4	21,3	21,2	21,2	21,8	22,1	22,2	0,0504
4	21,6	20,0	20,0	19,0	20,9	20,8	20,9	0,0504
8	22,7	20,3	20,2	20,7	21,7	21,9	21,7	0,0509
15	19,1	18,5	18,6	18,2	18,7	18,5	18,3	0,1010
22	41,3	38,2	38,5	38,1	39,8	38,8	39,2	0,1031
28	44,5	44,0	44,0	43,3	44,0	44,0	44,0	0,0990
36	22,8	21,8	21,8	21,4	22,0	21,8	21,0	0,1063

Tabla 18: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 9

Día	Volumen de HCl gastado (mL)							[HCl]
	Blanco	Relleno			Suelo			M
		R1	R2	R3	S1	S2	S3	
1	24,2	22,0	22,5	22,6	22,7	22,5	22,4	0,0556
4	22,5	20,5	21,2	20,5	19,0	19,5	19,4	0,0556
8	18,2	17,5	17,5	17,3	15,8	16,5	16,9	0,1008
11	14,6	13,6	13,6	14,9	13,8	13,8	13,8	0,0426
15	19,6	18,0	18,5	18,3	18,4	18,6	18,6	0,1000
21	19,5	16,5	18,8	18,4	16,2	14,9	17,5	0,1000
29	17,4	12,5	12,8	12,8	14,3	16,7	15,7	0,1000
36	18,8	16,8	16,9	16,8	17,8	17,8	17,5	0,1000

Tabla 19: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M de la muestra 10

Día	Volumen de HCl gastado (mL)					[HCl]
	Blanco		Suelo			M
			S1	S2	S3	
1	17,5		16,4	16,7	16,5	0,0604
4	14,6		12,9	15,1	15,0	0,0604
8	18,7		17,3	17,3	17,5	0,0604
11	21,0		20,8	21,0	20,8	0,0519
14	22,2		20,0	22,0	22,0	0,0519
22	17,4		13,2	15,4	15,5	0,0509
29	18,5		17,9	17,9	17,9	0,1010
37	37,8		37,7	37,6	37,4	0,1063

Tabla 20: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M del control1

Día	Volumen de HCl gastado (mL)				[HCl]	
	Blanco		Suelo		M	
			S1	S2		S3
1	44,5		43,5	43,3	43,7	0,1063
3	45,9		44,0	42,9	44,0	0,1063
7	44,5		42,2	42,0	42,2	0,1031
13	46,2		42,8	42,7	42,9	0,0990
20	21,0		19,5	18,0	19,8	0,1063
28	45,3		42,1	41,8	42,0	0,1041
36	27,5		24,1	23,4	24,6	0,1041

Tabla 21: Volumen de HCl gastado en la titulación de NaOH 0,1 M del control 2

Día	Volumen de HCl gastado (mL)					[HCl]
	Blanco		Suelo			M
			S1	S2	S3	
1	17,5		17,2	17,1	16,9	0,0604
4	14,6		14,2	14,3	14,1	0,0604
8	18,7		18,0	18,2	18,2	0,0604
11	21,0		20,9	19,7	20,9	0,0519
14	22,7		22,0	22,0	22,0	0,0519
22	17,4		15,6	15,8	26,0	0,0509
29	18,5		18,5	18,7	18,1	0,1010
37	37,8		37,5	37,7	37,5	0,1031

Tabla 22: Peso de las muestras utilizadas para la determinación de biomasa microbiana por el método fumigación-extracción.

Muestra	Peso de Relleno (g)				Peso de Suelo (g)			
	Con cloroformo		Sin cloroformo		Con cloroformo		Sin cloroformo	
1	20,1189	20,0939	20,2661	20,0472	20,2728	20,0751	20,1253	20,0042
2	20,1467	20,0787	20,1637	20,1175	20,0891	20,0116	20,0129	20,0506
3	20,3104	20,0145	20,0003	20,0412	20,0765	20,0641	20,0326	20,0343
4	20,0236	20,0104	20,0352	20,0443	20,0179	20,1580	20,0809	20,0180
5	-	-	-	-	20,4480	20,3807	20,1333	20,0988
6	20,0457	20,3108	20,0426	20,0586	20,0540	20,0968	20,0662	20,1260
7	20,0626	20,0143	20,0488	20,0040	20,0380	20,0148	20,0083	20,0862
8	20,0095	20,2791	20,2102	20,0041	20,0057	20,0193	20,0747	20,0248
9	20,0121	20,0287	20,0214	20,1296	20,0102	20,0633	20,0355	20,0086
10	-	-	-	-	20,3006	20,0621	20,0336	20,076
C1	-	-	-	-	20,0246	20,0311	20,0944	20,0390
C2	-	-	-	-	20,0646	20,0603	20,1172	20,0432

C1: Control 1; C2: Control 2

Tabla 23: Volumen de sal de morh 33,3mM gastado para la titulación de las muestras extraídas

Muestra	Volumen de titulante (mL)									
	BF	BC	R1		R2		S1		S2	
			CC	SC	CC	SC	CC	SC	CC	SC
1	25,4	22,0	20,8	19,5	21,6	19,5	18,6	18,3	19,2	17,0
2	24,5	22,0	19,0	19,8	18,7	19,6	11,2	16,7	10,1	15,0
3	26,5	24,2	20,9	21,2	19,9	21,8	18,7	18,0	19,4	16,8
4	24,5	22,0	20,5	20,5	20,3	20,4	17,0	18,2	16,5	18,0
5	25,3	24,0	-	-	-	-	17,6	20,0	17,4	21,0
6	24,5	22,0	17,2	19,3	17,5	18,0	14,6	17,0	16,0	16,5
7	24,5	22,0	17,1	18,4	17,3	18,3	16,1	17,6	16,9	17,8
8	25,3	24,0	8,0	18,8	8,5	17,5	17,4	23,1	17,1	22,7
9	24,5	22,0	20,0	19,9	19,5	19,8	11,1	12,5	10,4	12,4
10	25,3	24,0	-	-	-	-	13,0	19,5	13,2	19,1
C1	26,5	24,2	-	-	-	-	8,6	19,0	8,1	19,2
C2	25,3	24,0	-	-	-	-	14,8	21,6	15,4	21,0

C1: control1; C2: control 2; BF: Blanco frio; BC: Blanco caliente; R1: Relleno 1; R2: Relleno 2; S1: suelo 1; S2: suelo 2; CC: con cloroformo; SC: sin cloroformo.

Tabla 24: Datos utilizados para calcular el coeficiente lineal de Pearson

pH	Humedad	COT	Respiración	Biomasa	qCO ₂
6,4	4,69	0,15	3	12	0,036
6,5	4,42	0,54	3	18	0,054
7,2	7,75	0,02	4	9	0,036
6,9	3,9	0,05	8	14	0,112
6,4	3,48	0,182	6	10	0,06
6,8	6,95	0,99	9	13	0,117
7,1	5,72	0,22	3	12	0,036
7,3	6,02	0,9	3	13	0,039
7	10,7	0,49	8	14	0,112
6,71	7,09	0,01	8	7	0,056
7,18	8,98	0,074	9	14	0,126
7,6	10,03	0,014	3	9	0,027
7,43	9,64	0,023	3	11	0,033
7,23	8,89	0,4	5	6	0,03
7,53	7,05	1,53	3	22	0,066
7,7	6,45	0,44	7	10	0,07
7,9	8,23	0,9	7	11	0,077
6,9	7,89	0,39	4	24	0,096
7,3	5,3	2,93	11	17	0,002
7	6,2	0,52	9	28	0,003

COT: carbono orgánico total; qCO₂: coeficiente metabólico.