

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



**DIVERSIDAD CATABÓLICA COMO BIOINDICADOR DE LA CALIDAD EN  
SUELOS UBICADOS EN EL SECTOR EL EREIGÜE, SAN JOAQUÍN,  
ESTADO CARABOBO**

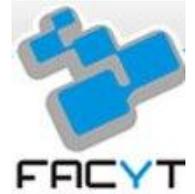
Elaborado por: Desiree Linares

Tutor: Profesor Arnaldo Armado

Bárbula, Julio de 2011



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



**DIVERSIDAD CATABÓLICA COMO BIOINDICADOR DE LA CALIDAD EN  
SUELOS UBICADOS EN EL SECTOR EL EREIGÜE, SAN JOAQUÍN,  
ESTADO CARABOBO**

Trabajo especial de grado como requisito parcial para optar al título de  
Licenciada en Química

Autor: Desiree Linares

Tutor: Profesor Arnaldo Armado

Bárbula, Julio de 2011

---

*A mi madre maravillosa Elena  
Martínez, de la cual siempre tuve  
el amor, la fortaleza y su  
incondicional apoyo para cumplir el  
logro más importante en mi vida,  
mi formación profesional. ¡Te adoro  
mami!...*

---

## AGRADECIMIENTOS

A Jesucristo, mi Dios, quien ha estado conmigo en todo momento, gracias por darme la vida, la salud y la capacidad para obtener este logro. Por ser el pilar del cual me sostengo en los momentos que caigo. Gracias por levantarme de nuevo y darme la fuerza para no rendirme nunca. No te apartes de mí jamás.

A la Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias y Tecnología y al Departamento de Química, instituciones que fueron mi segunda casa a lo largo de todo este periodo.

A mi madre, gracias por confiar en mí siempre, por hacerme saber que todo es posible, no fue fácil para ti, estuviste sola, fueron momentos muy difíciles, pero pudiste y gracias a tu inmenso amor, tus hijas son todas unas profesionales. Eres la mejor madre del mundo. ¡Te amo!

A mi hermana Karusea Linares, eres mi ejemplo de vida, gracias por brindarme tu apoyo en los momentos que te he necesitado, te quiero muchísimo...

A mi padre Oswaldo Linares, porque no importan los errores cometidos, sino el valor humano para rectificar. Gracias, porque en este momento, cuando te necesite, me apoyaste y me has demostrado que lo seguirás haciendo incondicionalmente.

A Jesús Martínez, mi "chuchi", el hombre que elegí para compartir mi vida, gracias por aguantarme, yo sé que no soy nada fácil, he llorado, reído, disfrutado... junto a ti, me has apoyado de todas las formas posibles y cada día me demuestras que quieres permanecer junto a mí. ¡Te Amo muchiiiiisimo!

A la Sra. Marta Herrera y al Sr. Jhonis Martínez, estoy casi segura de que no existen mejores suegros, muchísimas gracias..., porque han sido unos segundos padres para mí. Gracias por abrirme las puertas de su casa y por hacerme sentir como en la mía. Este triunfo también es de ustedes. Los quiero y respeto mucho.

A Jhoe, gracias por hacerme sentir parte de tu familia, porque haces ameno y cálido cada momento en casa, gracias por esta convivencia y por tener esos niños maravillosos Sofi y Dani, que a pesar de sus travesuras, me llenan de alegría todo el tiempo.

A mi tutor Arnaldo Armado, gracias por creer en mí y darme todo el conocimiento necesario para la realización de este trabajo.

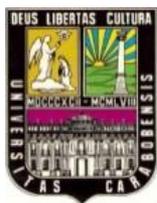
A la profesora Ygmar Jiménez por los conocimientos brindados, Lic. Yelitza Armas, por la dotación de parte de los reactivos necesarios para llevar a cabo esta investigación, T.S.U. Beatriz Moy, y T.S.U. Diolcidy González, por el apoyo brindado en el Laboratorio de fisicoquímica y Química General respectivamente, a la Lic. Sikleb Noguera, asistente del Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas y mi gran amiga. Gracias a ustedes pude concluir mi trabajo.

A mis compañeros y amigos: Georgina Gerrero, Luis Montaner, Anyohindra Sanz, Derlys Palma, Diana Lizcano, William Blanco, Bárbara Bejarano, Soyibel Aponte, Yuribeth Zerpa y Rodolfo Camargo. A todos gracias por la compañía y el apoyo en el laboratorio durante el tiempo que estuvimos todos allí trabajando juntos.

A todo el resto de mi familia: primos, tíos José y Zoraida, tías maternas: Petra, Carmen e Hilda por apoyarme y tenerme siempre en sus oraciones. Y a mi tía María, aunque ya no estés físicamente, se que desde el cielo nos cuidas y proteges siempre.

Y finalmente a todas las personas que de cualquier forma, siempre tienen una palabra de aliento y un buen deseo para mí. Muchísimas gracias.

Esto es para ustedes....



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



## **DIVERSIDAD CATABÓLICA COMO BIOINDICADOR DE LA CALIDAD EN SUELOS UBICADOS EN EL SECTOR EL EREIGÜE, SAN JOAQUÍN, ESTADO CARABOBO**

**Autor: Desiree Linares**

**Tutor: Profesor Arnaldo Armado**

### **RESUMEN**

La diversidad catabólica, como una medida de la actividad microbiológica del suelo representa un bioindicador que determina la calidad del mismo y puede ser medida empleando la técnica de respiración inducida por sustratos (RIS), la cual evalúa la diversidad funcional de los organismos del suelo usando patrones de sustratos. En este trabajo se aplica esta técnica para evaluar la diversidad catabólica del suelo que perteneció a un vertedero ubicado en el sector El Ereigüe, San Joaquín, Estado Carabobo, verificándose la variación de la actividad microbiana del suelo contaminado y no contaminado. Se estudió un total de 20 muestras (10 suelos, 8 rellenos y 2 controles) las cuales fueron inicialmente caracterizadas y luego tratadas con 32 sustratos que incluían una gama de ácidos carboxílicos, alcoholes, aminas, amidas, aminoácidos polímeros y carbohidratos. Se obtuvo una amplia diversidad catabólica, observándose mayor potencial de degradación para ácidos carboxílicos y menor para carbohidratos. Debido a que la mayoría del material orgánico que se halló en este suelo fue degradado hace un tiempo prudencial (año y medio aproximadamente), los perfiles de respuesta de RIS para los 32 sustratos utilizados, mostraron que el suelo contaminado presenta mayor respiración que el relleno para todas las muestras. Esto es así, debido a que los microorganismos de este suelo poseen muy poca fuente de nutrientes, motivo por el cual, al ser impactados con los sustratos orgánicos, los degradaron en gran medida. Los datos fueron tratados empleando el análisis por componentes principales (ACP) y correlacionados mediante análisis de ANOVA.

Fueron obtenidos dos componentes, que describen el sistema satisfactoriamente, con un 88,03% de variabilidad de la data original. Las muestras: R1, R2, R3, R4, S5, C1 Y C2 pertenecen al componente 1, y el resto: S1, S2, S3, S4, S6, R6, S7, R7, S8, R8, S9 Y S10, pertenecen al componente 2. Se determino que los microorganismos de suelo cercano a la laguna (S5), por ser esta un sistema acuífero, cuentan con una fuente de alimentación constante, por lo tanto S5 presenta un equilibrio biológico estable, el cual corrobora la buena calidad de los suelos controles C1 y C2. Las muestras S1, S2, S3, S4, S6, R6, S7, R7, S8, R8, S9 Y S10, representan el foco de contaminación principal del terreno, presentando todas estas muestras un comportamiento similar. El COT se correlacionó con la RIS sólo para el ácido cítrico, la galactosa y etanolamina, mientras que la humedad relativa mostro correlación con la RIS para ácido maleico, tartrato sódico de potasio, ácido oxálico, sacarosa, dextrina, agarosa, almidón, etanolamina y urea. Se obtuvieron valores de  $P < 0,01$  con un 99% de confianza y  $P < 0,05$  con un 95% de confianza. Los demás sustratos no mostraron correlación significativa.

**Palabras clave:** Diversidad catabólica, respiración inducida por sustratos, suelos contaminados con residuos urbanos, calidad del suelo.



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



## CATABOLIC DIVERSITY AS QUALITY BIOMARKER IN SOILS AT EL EREIGÜE, SAN JOAQUÍN, STATE CARABOBO.

**Autor: Desiree Linares**

**Tutor: Profesor Arnaldo Armado**

### ABSTRACT

Catabolic diversity as a measure of soil microbial activity is a biomarker that determines its quality and can be measured using the technique of substrate induced respiration (RIS), which evaluates the functional diversity of soil organisms using patterns of substrates. In this paper we apply this technique to assess the catabolic diversity of soil that belonged to a landfill located in the El Ereigüe, San Joaquin, Carabobo, verifying the change of microbial activity of soil polluted and unpolluted. We studied a total of 20 samples (10 soils, 8 fillings and 2 controls) which were initially characterized and then treated with 32 substrates including a range of carboxylic acids, alcohols, amines, amides, amino acids, carbohydrates and polymers. We obtained a catabolic diversity, pointed out a potential degradation to carboxylic acids and lower for carbohydrates. Because all organic material was found in this soil was degraded makes a reasonable time, the RIS response profiles for all 32 substrates showed that the contaminated soil respiration has increased the fill for all samples. This is because these soil microorganisms do not have any source of nutrients, which is why, when impacted with organic substrates, the widely degraded. The data were processed using principal component analysis (PCA) and correlated using ANOVA analysis. Two components were obtained, which describe the system successfully, with 88.03% of variability of the original data. Samples: R1, R2, R3, R4, S5, C1 and C2 belong to component 1, and the rest: S1, S2, S3, S4, S6, R6, S7, R7, S8, R8, S9 and S10, belong to component 2. It was determined that the microorganisms in soil near the pond (S5), as this is an aquifer system, have a

constant power supply, so S5 has a stable biological balance, which confirms the good quality of the soil controls C1 and C2. Samples S1, S2, S3, S4, S6, R6, S7, R7, S8, R8, S9 and S10 represent the main source of contamination of the land, all samples showing similar behavior. The COT was correlated with the RIS only citric acid, galactosa and ethanolamine, while the relative humidity was correlated with the RIS to maleic acid, potassium, sodium tartrate, oxalic acid, sucrose, dextrin, agarose, starch, ethanolamine and urea. Values of  $P < 0.01$  with 99% confidence level and  $P < 0.05$  with 95% confidence. The other substrates showed no significant correlation.

**Keywords:** Diversity catabolic, substrate induced respiration, soil polluted with urban waste, soil quality.

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
Resumen	VI
Abstract	VIII
Introducción	1
CAPÍTULO I. Formulación Del Problema	3
1.1. Planteamiento del problema	3
1.2. Objetivos de la investigación	4
1.3. Justificación	5
CAPÍTULO II. Marco Teórico	7
2.1. Antecedentes	7
2.2. Bases Teóricas	9
2.2.1. Contaminación del suelo	9
2.2.2. Muestreo del suelo	10
2.2.3. Humedad del suelo	11
2.2.4. Propiedades físicas del suelo	11
2.2.5. Constantes de humedad del suelo	12
2.2.6. Capacidad de intercambio catiónico	13
2.2.7. Calidad del suelo	14
2.2.8. Parámetros que determinan la calidad del suelo	15
2.2.9. Respiración del suelo	19
2.2.10. Microbiología del suelo y biomasa microbiana	20
2.2.11. Respiración inducida por sustratos	21
2.2.12. Análisis estadístico por componentes principales	23
2.2.13. Análisis de ANOVA	23
CAPÍTULO III. Marco Metodológico	24
3.1. Muestreo y preparación de las muestras	24
3.2. Caracterización fisicoquímica de las muestras	25

3.3.	Medición de la diversidad catabólica	28
3.4	Determinación de los perfiles de respuesta de RIS	29
3.4.	Análisis estadístico de los datos	29
CAPÍTULO IV. Resultados y discusión		30
4.1.	Parámetros fisicoquímicos	30
4.2.	Determinación de la diversidad catabólica	33
4.3.	Determinación de los perfiles de respuesta de RIS	43
4.4.	Análisis estadístico de los datos	53
CAPÍTULO V. Conclusiones y Recomendaciones		60
5.1.	Conclusiones	60
5.2.	Recomendaciones	61
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS		62
APÉNDICE		69
APÉNDICE A: Ubicación del antiguo vertedero del Ereigüe, San Joaquín. Estado Carabobo.		69
APÉNDICE B: Estructura química de los 32 sustratos utilizados en la RIS.		70
APÉNDICE C: Generalización de los perfiles de respuesta de RIS por grupos funcionales de sustratos.		73

## ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
<b>Figura 1.</b> Separación en unidades de muestreo (Jaramillo, 2002)	11
<b>Figura 2.</b> Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Ácido ascórbico, B: Ácido acético., C: Ácido cítrico, D: Ácido oxálico.	43
<b>Figura 3.</b> Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Ácido salicílico, B: Ácido ftálico, C: Ácido maleico, D: Tartrato sódico de potasio.	44
<b>Figura 4.</b> Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Fumarato de sodio, B: L-Tirosina, C: Histidina, D: Fenilalanina.	45
<b>Figura 5.</b> Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Arginina, B: Glicina, C: Triptofano, D: Butanol.	46
<b>Figura 6.</b> Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Etanol, B: Tris-Base, C: Etilenglicol, D: Metanol.	47
<b>Figura 7.</b> Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: Urea, B: Anilina, C: Etanolamina, D: Trietanolamina.	48
<b>Figura 8.</b> Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Dextrina, B: Agarosa, C: Almidón, D: Celulosa.	49
<b>Figura 9.</b> Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Glucosa, B: Sacarosa, C: Galactosa, D: Lactosa.	50
<b>Figura 10.</b> Ciclo natural de nutrición del suelo (Harrison L, 2001).	51
<b>Figura 11.</b> Comportamiento de los componentes obtenidos del ACP.	55
<b>Figura 12.</b> Flujo energético del proceso de descomposición en el sistema de transferencias tróficas (energéticas y materiales), (Wetzel, 1999).	57

## ÍNDICE DE TABLAS

Contenido	Página
<b>Tabla 1.</b> Clasificación textural del suelo. (Sagardoy M. et al., 2004).	12
<b>Tabla 2.</b> Clasificación del suelo de acuerdo a su contenido de materia orgánica. (Bandick y Dick 1999).	16
<b>Tabla 3.</b> Calidad edáfica del suelo de acuerdo a la relación C/N. (Bandick y Dick (1999).	17
<b>Tabla 4.</b> Clasificación del suelo de acuerdo al pH (Bandick y Dick (1999).	18
<b>Tabla 5.</b> Lista de 83 sustratos orgánicos utilizados por Degens y Harrys (1997).	22
<b>Tabla 6.</b> Características de las muestras.	24
<b>Tabla 7.</b> Preparación de soluciones patrones a partir de una solución madre de glucosa para la elaboración de la curva de calibración.	26
<b>Tabla 8.</b> Metodología sugerida para la determinación de los parámetros fisicoquímicos de cada una de las muestras (Fuente: Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas, FACYT-UC 2011).	28
<b>Tabla 9.</b> Sustratos utilizados para la aplicación del método de RIS (Fuente: Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas, FACYT-UC 2011).	28
<b>Tabla 10.</b> Caracterización fisicoquímica de las muestras de suelo estudiadas.	31
<b>Tabla 11.</b> Concentraciones de CO <sub>2</sub> provenientes de la RIS para ácidos carboxílicos.	34
<b>Tabla 12.</b> Concentraciones de CO <sub>2</sub> provenientes de la RIS para aminoácidos.	36
<b>Tabla 13.</b> Concentraciones de CO <sub>2</sub> provenientes de la RIS para alcoholes.	37
<b>Tabla 14.</b> Concentraciones de CO <sub>2</sub> provenientes de la RIS para aminas y amidas.	38
<b>Tabla 15.</b> Concentraciones de CO <sub>2</sub> provenientes de la RIS para	39

polímeros.	
<b>Tabla 16.</b> Concentraciones de CO <sub>2</sub> provenientes de la RIS para carbohidratos.	40
<b>Tabla 17.</b> Intervalos máximos de CO <sub>2</sub> , producto de la respiración microbiana.	41
<b>Tabla 18.</b> ACP de los datos.	54
<b>Tabla 19:</b> Componentes principales extraídos de la data original	55
<b>Tabla 20:</b> P valores obtenidos en el análisis de ANOVA.	58

## INTRODUCCIÓN

En Venezuela existen alrededor de 400 vertederos de basura que pueden ser controlados con todas las consideraciones ambientales empleando unos 100 o 150 rellenos sanitarios. De estos vertederos, sólo uno cumple las disposiciones ambientales sanitarias establecidas por la ley, lo que ocasiona un fuerte impacto ambiental, donde el suelo representa uno de los principales entes contaminados (Ley de residuos y desechos sólidos, Gaceta Oficial N° 38.068 del 18/11/04).

Debido a su complejidad estructural y a la carencia de métodos eficientes para su evaluación, el suelo, como recurso, es el compartimiento más difícil de estudiar (además del agua y aire). Presenta los mayores desafíos científicos en términos ambientales dada la gran cantidad de funciones ecosistemáticas que presta a la humanidad, tales como, la descomposición de materia vegetal y animal, los ciclos biogeoquímicos, entre otras (Turco et al., 1994; Widmer et al., 2001).

Actualmente, un elemento central del estudio del suelo es la variación de los cambios en su calidad, donde la componente biológica ha mostrado ser de gran relevancia, especialmente la flora microbiana (Stenberg, 1997), ya que es la encargada de sustentar las diferentes funciones del suelo, por lo que una alteración de la misma -por cambios de cobertura vegetal u otro tipo de impacto ambiental- puede desencadenar cambios drásticos en las propiedades globales del suelo, como su fertilidad, entre otras. (Haldeman et al., 1995, Bossio et al., 1997).

Un análisis más profundo de esta componente del suelo se ha intentado realizar a través de la evaluación de las propiedades funcionales del ecosistema microbiano, mediante la determinación de la biomasa microbiana, la tasa de respiración microbiana, la tasa de transformación de nutrientes específicos, las actividades enzimáticas generales y específicas, y parámetros ecofisiológicos (Insam & Ohlinger, 1995). Debido a la dependencia directa existente entre estos parámetros y la calidad del suelo, estos estudios lograron mostrar su validez (de acuerdo a tratamientos estadísticos) en el monitoreo de los cambios de sus propiedades, pero no han permitido develar el funcionamiento interno del ecosistema microbiano edáfico, manteniendo a este en una condición de "caja negra", lo que impide comprender como los diferentes impactos ambientales afectan la fragilidad y sustentabilidad de estos ecosistemas (Tiedje et al., 1999).

Por todo lo dicho anteriormente, en los últimos quince años, en diferentes trabajos de investigación, se ha planteado como prioritario el estudio de los cambios provocados por los impactos ambientales en la estructura de los ecosistemas microbianos edáficos, a manera de poder evaluar y predecir las futuras variaciones de la calidad de los suelos, basados en los cambios de características del ecosistema y en el hallazgo de bioindicadores y biomarcadores (Turco et al., 1994; Tiedje et al., 1999).

En el sector El Ereigüe, San Joaquín, Estado Carabobo, existió por más de 40 años un vertedero con una extensión de 14 hectáreas, el cual fue causante de innumerables problemas ambientales. Gracias a la colaboración del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente y de la comunidad organizada, el 9 de Junio de 2008, se llevó a cabo su clausura y se conoció, por voz del Viceministro de Conservación Ambiental Miguel Rodríguez, la creación de un parque tipo bosque, del cual gocen las comunidades aledañas. Sin embargo, se piensa que este terreno aun presenta contaminación, por lo que no es apto para tal fin.

Por estas razones, el siguiente trabajo plantea evaluar la diversidad catabólica a través de un método fisiológico, el cual utiliza las diferencias entre la respiración inducida por sustratos (RIS) como respuesta de las comunidades microbianas ante compuestos orgánicos simples, en suelos del sector El Ereigüe, antiguo vertedero de desechos urbanos, donde se presume que aún existe contaminación.

## **CAPÍTULO I: Formulación del Problema**

### **1.1 Planteamiento del Problema**

Un poco más del 80% de la basura que se genera en Venezuela permanece expuesta en nuestras ciudades. Sus consecuencias se evidencian directa e indirectamente sobre nuestra salud, con un marcado deterioro del paisaje urbano (Ley de residuos y desechos sólidos, Gaceta Oficial N° 38.068 del 18/11/04).

Expertos en temas relacionados con la disposición final de la basura reconocen a los rellenos sanitarios como una de las alternativas más recomendables en este sentido. Sin embargo, de todos estos establecimientos existentes en el país, solo el vertedero La Bonanza (ubicado en la carretera nacional que une la Autopista Regional del Centro con los Valles del Tuy) funciona eficientemente como relleno sanitario, pues la gran mayoría opera como botaderos o vertederos de basura.

En los vertederos se producen reacciones químicas y biológicas entre los constituyentes de la materia orgánica e inorgánica. Los productos tóxicos son arrastrados como lixiviados por el agua de lluvia, trayendo como consecuencia aguas superficiales y subterráneas que se contaminan, deterioro del paisaje, contaminación del aire por malos olores o quemas aisladas y como interés de estudio, la degradación del suelo, con disminución y hasta pérdida de la calidad del mismo (Díaz D, 2000).

El residuo sólido acumulado en un vertedero constituye un bioreactor que produce en distintas fases, de forma aeróbica y luego anaeróbica metano ( $\text{CH}_4$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), así como un lixiviado contaminante durante un periodo que puede durar hasta 30 años, en cuyo proceso químico de fermentación, el agua desempeña un papel fundamental como disolvente de muchos contaminantes. Dichas emisiones junto con los lixiviados si no son controladas, constituyen una elevada contaminación medioambiental (Gómez D., 2004).

Los lixiviados arrastran e incrustan en los suelos las sustancias tóxicas producidas en el vertedero. La agencia de Medio Ambiente de EE.UU (USEPA) ha analizado hasta 200 compuestos diferentes presentes en los lixiviados, de los cuales son cancerígenos: el cloruro de metilo, tetracloruro de carbono, clorobencenos (de los que destaca el hexaclorobenceno, por su toxicidad) y

arsénico. Al igual que las sustancias organocloradas, son persistentes y bioacumulativas en todos los eslabones de la cadena trófica.

El plomo, cadmio y el mercurio son metales pesados presentes en el lixiviado de los vertederos. El plomo procede principalmente de las baterías de autos y electrodomésticos, plásticos, vidrio, cerámica, pigmentos, etc. El plomo ocasiona lesiones cerebrales en los niños e hipertensión arterial en adultos. El mercurio produce lesiones renales y neurológicas. El cadmio produce lesiones renales y hepáticas. Las fuentes de cadmio y mercurio son fundamentalmente las pilas (Gómez D., 2004).

Se pretende evaluar la diversidad catabólica ante un conjunto de sustratos aplicados al suelo que perteneció a un vertedero ubicado en el Sector el Ereigüe, San Joaquín estado Carabobo, mediante la variación de la actividad microbiológica que presenta, medida en función del desprendimiento de dióxido de carbono proveniente de la respiración de los microorganismos, para determinar las respuestas que produce el suelo en un estado contaminado como no contaminado.

## **1.2 Objetivos de la Investigación**

### **1.2.1 Objetivo General**

Evaluar la diversidad catabólica como bioindicador de la calidad en suelos ubicados en el sector El Ereigüe, San Joaquín, estado Carabobo.

### **1.2.2 Objetivos Específicos**

- Tomar muestras representativas en suelos contaminados y no contaminados mediante el esquema de muestreo al azar.
- Determinar algunos parámetros fisicoquímicos en las muestras de suelo en estudio, tales como: pH, conductividad eléctrica (CE), capacidad de intercambio cationico (CIC), retención de humedad y humedad relativa y carbono orgánico total.
- Evaluar la respuesta de las comunidades microbianas del suelo ante diversos compuestos orgánicos simples, mediante la aplicación de la técnica de respiración inducida por sustratos (RIS).
- Determinar los perfiles de respuesta de RIS para cada muestra.

- Realizar un análisis estadístico que permita relacionar los perfiles de las respuestas de RIS ante los diferentes sustratos utilizados con la presencia o ausencia de un agente contaminante.

### **1.3 Justificación**

Diferentes estudios sobre el análisis del territorio venezolano han arrojado que existe una gran cantidad de puntos de vertido de residuos urbanos que si bien, han pasado a ser definitivamente el lugar oficial donde se depositaron los residuos generados, se presentan hoy día como lugares cuyo estado ambiental, en muchos casos, se desconoce y únicamente en contadas ocasiones se adecua a la normativa comunitaria sobre vertido (Ley sobre sustancias, materiales y desechos peligrosos, Gaceta Oficial N° 5.554).

Según la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación), la ocupación que producen los residuos depositados en el suelo provoca un impacto directo e inmediato sobre el sistema edáfico, ya que sustituye éste por residuos. Estas características especiales y el concepto de suelo como sustrato físico, plantea la necesidad de considerar los puntos de vertido como lugares que deben ser caracterizados y diagnosticados ambientalmente con el objeto de convertirlos en puntos conocidos y puedan ser considerados, basándose en sus características ambientales, partícipes de los diferentes programas de planificación territorial.

La contaminación generada por un vertedero representa un cambio indeseable en las características físicas, químicas y biológicas del suelo, que puede agotar y/o deteriorar nuestros recursos de materias primas e inclusive poner en riesgo la vida humana y animal de acuerdo al nivel de ésta.

Aunque las investigaciones realizadas en las últimas décadas y el análisis funcional del ecosistema microbiano edáfico han logrado definir las relaciones con los cambios en la calidad del suelo, estos hallazgos son difíciles de interpretar en términos ecosistémicos (Schinner et al., 1996), por lo cual su interpretación y su uso se ha realizado en forma reduccionista.

La actividad microbiológica del suelo representa un bioindicador que determina la calidad del mismo y debe ser conocida si se desea idear futuros mecanismos de recuperación. Sin embargo se ha demostrado que la medida

única de una respuesta microbiológica ofrece diferentes valores en función del tipo de suelo y del contaminante vertido (Bossio et al; 1998).

Se ha planteado una técnica para evaluar la diversidad funcional de los organismos del suelo usando patrones de sustratos, tales como: carbohidratos (glucosa, sacarosa, entre otros), ácidos carboxílicos (ácido ascórbico, ácido oxálico, entre otros), polímeros (celulosa, entre otros), etc (Degens y Harrys, 1997). La técnica se ha aplicado para evaluar los cambios de la diversidad de comunidades microbianas en la rizosfera de suelos contaminados con petróleo, alterados con distintos tipos de materiales y en suelos agrícolas modificados con agentes de control biológico.

En este trabajo se plantea la aplicación de esta técnica para evaluar la diversidad catabólica en el suelo que perteneció a un vertedero ubicado en el sector El Ereigüe, San Joaquín, estado Carabobo, verificándose la variación de la actividad microbiana del suelo contaminado y no contaminado, cuyo planteamiento puede servir como base para el desarrollo de futuros mecanismos de recuperación en este tipo de suelos.

## **CAPÍTULO II: Marco Teórico**

### **2.1 Antecedentes**

#### **Desarrollo de un enfoque fisiológico para la medición de la diversidad catabólica de las comunidades microbianas del suelo.**

Degens y Harrys (1997) desarrollaron y aplicaron un método fisiológico para evaluar la diversidad catabólica de las comunidades microbianas del suelo. El método utiliza las diferencias entre la respiración inducida por sustratos (SIR) como respuesta de las comunidades microbianas a compuestos orgánicos simples para cuantificar la diversidad catabólica.

La investigación se llevó a cabo en tres etapas: (1) selección de las concentraciones de sustrato adecuadas, (2) la selección de sustratos, y (3) aplicación del método para evaluar la diversidad catabólica en el suelo durante cortos y largos períodos de tiempo. Las concentraciones óptimas de sustratos como respuesta de la respiración se determinaron en cuatro tipos de suelos (tres de pastizales y uno de bosque) con 12 sustratos seleccionados de una serie de aminoácidos, ácidos carboxílicos, polímeros y carbohidratos.

Estos resultados se utilizaron para seleccionar las concentraciones óptimas de sustratos para el análisis de las respuestas de RIS de cinco suelos distintos (tres de pastizales, uno cultivado, y uno boscoso) a 83 sustratos (azúcares simples, ácidos carboxílicos, aminoácidos, polímeros, aminas y amidas).

El análisis estadístico por Componentes Principales (PCA) y el cálculo del error estándar de las respuestas individuales de sustrato a través de los suelos, se utilizaron para identificar los 36 sustratos que proporcionaron las mayores diferencias en las respuestas de RIS entre los cinco suelos. Los perfiles de respuesta de RIS se determinaron utilizando 36 sustratos en los suelos bajo diferentes condiciones: hierbas de pradera, pastizales resembrados, pastizales, herbáceos y en suelo glucosaminado.

Los análisis revelaron que las diferencias en las respuestas de RIS entre los sustratos iban disminuyendo conforme aumentaba la perturbación de los pastizales en suelos de cultivo. Hubo sólo pequeños cambios en la diversidad catabólica de las tierras de cultivo modificadas con glucosa, a pesar de un aumento de 1.35 veces en el carbono de la biomasa microbiana durante los primeros 7 días.

La técnica fisiológica es razonablemente rápida y es un método simple para evaluar la diversidad catabólica de las comunidades microbianas sin necesidad de extraer o cultivar organismos de los suelos.

**La disminución de las reservas de carbono orgánico en los suelos puede reducir la diversidad catabólica de las comunidades microbianas de estos.**

Bradley et al., (1999) utilizaron la uniformidad catabólica microbiana como un componente de medida de la diversidad microbiana del suelo. La uniformidad catabólica se evaluó midiendo las respuestas de respiración a corto plazo del suelo para una serie de compuestos orgánicos simples.

Las diferencias en la uniformidad catabólica entre suelos autóctonos y a los que se les dio algún tipo de uso, estaban relacionadas con las diferencias en los depósitos de C orgánico (C orgánico total, C de la biomasa microbiana, y C potencialmente mineralizable).

Este enfoque permitió comparar los diferentes tipos de suelo solo con el estudio de la actividad en los depósitos orgánicos sin tomar en cuenta otras características de los diferentes suelos. En general, la uniformidad catabólica microbiana fue mayor en los suelos de vegetación autóctona; (intervalo: 19,7-23,3), y menor en los suelos cultivados de: cereales, maíz y cultivos de hortalizas (intervalo: 16,4-19,6). Para los suelos de cultivos mixtos la uniformidad catabólica se mantuvo entre el siguiente intervalo (17,7-20,5), pero para la silvicultura del pino no se presentó nivel característico de uniformidad (intervalo: 15,1-22,3).

Hubo una correlación pobre de la uniformidad catabólica con los valores absolutos para los depósitos de C orgánico del suelo ( $r^2 < 0,36$ ). Sin embargo, a través de una serie de comparaciones (por pares) entre los suelos de vegetación autóctona y de otros usos, se observó una mayor diferencia en la uniformidad catabólica microbiana, lo que se corresponde con una mayor diferencia en el C orgánico ( $r^2 = 0,76$ ) y, en menor medida, con las diferencias en el C de la biomasa microbiana ( $r^2 < 0,45$ ) y el C potencialmente mineralizable ( $r^2 < 0,13$ ).

Por lo tanto, las tierras que agotan las reservas de C orgánico en los suelos, pueden causar disminución de la diversidad catabólica de las comunidades microbianas de este. Aunque estas implicaciones para los procesos microbianos son desconocidas, el C orgánico del suelo puede ser importante para la conservación de la diversidad microbiana.

## **2.2 Bases Teóricas**

### **2.2.1 Contaminación del Suelo**

El suelo es una cubierta delgada sobre la tierra que consiste en una mezcla de minerales, material orgánico, organismos vivos, aire y agua, que soporta el crecimiento de las plantas y la vida en general (Plaster 2000; Enger y Smith 2006). Además es un recurso y un elemento asociado con factores como la producción de la biomasa, ciclos hidrológicos, formación de energía, biodiversidad y amortiguamiento de cambios climáticos (Enkerlin y Mier, 1997).

La contaminación del suelo tiene lugar al añadir al mismo, compuestos orgánicos e inorgánicos, deseables o indeseables, cuyo exceso puede ejercer efectos adversos sobre la calidad y funcionamiento del suelo (Martínez et al., 2005), también se puede producir de forma natural cuando los procesos de edafización liberan elementos químicos contenidos en las rocas y los concentran en el suelo alcanzando niveles tóxicos. Un suelo se puede degradar al acumularse en él, sustancias a unos niveles tales que repercuten negativamente en la productividad de los suelos, ya que las sustancias a esos niveles de concentración se vuelven tóxicas para los organismos de este (Porta J, 2008).

La contaminación del suelo puede inhibir el crecimiento de plantas, resultar tóxico o servir de sustrato (alimento) para los organismos del suelo, o bien puede ser transferida a otro compartimento ambiental (capa freática) pudiendo afectar con ello la calidad del agua y la sostenibilidad ecológica (Calvo F. et al., 2006). La contaminación del suelo representa una serie de consecuencias y efectos nocivos, tanto para el hombre como así también, para la flora y la fauna en general. La amplia variedad de repercusiones toxicológicas depende en gran medida de cada sustancia en particular con el que se ha degradado la salud del suelo.

El comportamiento de los contaminantes en el suelo está relacionado con las siguientes propiedades químicas: fenómenos superficiales (adsorción, desorción), formación de complejos con la materia orgánica, reacciones de precipitación y dilución, reacciones redox, ácido-base y reacciones derivadas de procesos metabólicos, que determinarán su biodisponibilidad, la velocidad con la que se moverán en el suelo y en qué dirección lo harán, es decir, en el comportamiento biogeoquímico del elemento en el suelo. Todos estos procesos

están controlados por propiedades del suelo, tales como: su textura, estructura, porosidad, capacidad de intercambio cationico, pH y actividad microbológica (Macías, 1993).

La destrucción y el deterioro del suelo son frecuentes en las ciudades y sus alrededores, se presenta en cualquier parte donde se arrojen desechos con sustancias contaminantes. Los principales agentes de contaminación son: basura, pesticidas o plaguicidas, lixiviados y fertilizantes (Macías, 1993).

### **2.2.2 Muestreo del suelo**

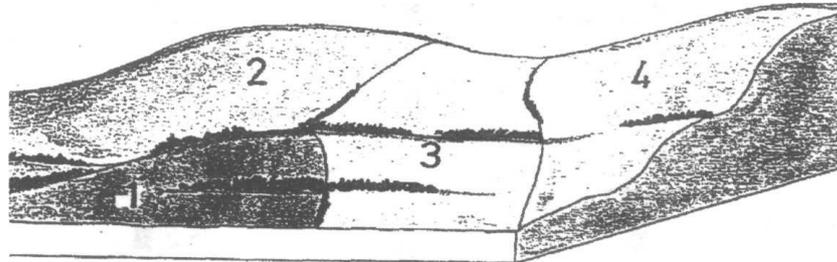
Una muestra de suelo se define como aquella cantidad de tierra compuesta por varias porciones de igual tamaño (submuestras), obtenidas de diversos puntos del área que se desea estudiar y mezcladas de forma homogénea (Rodríguez O, 1993).

Una muestra representativa es aquella que mejor refleja las condiciones de fertilidad de un área específica. Para que exista representatividad, la muestra de suelo debe estar compuesta de varias submuestras de igual tamaño. El número de submuestras por muestra está dado por la variabilidad que presenta el nutriente más móvil dentro de los que se desea analizar. Estudios realizados señalan que esa variabilidad se compensa con 20 o 25 submuestras por unidad de muestreo (Rodríguez O, 1993).

El primer paso para proceder al muestreo es subdividir el área en unidades de suelos homogéneos (cartografía). En esta subdivisión se debe considerar el tipo de suelo, topografía, vegetación e historia del manejo previo. Una vez realizada la división se toma una muestra compuesta al azar, este es el esquema de muestreo al azar estratificado. El muestreo por área de referencia es un tipo de muestreo al azar estratificado donde se involucra una pequeña área considerada representativa del campo y se toman muestras al azar, este procedimiento reduce costos y minimiza los problemas de muestreo asociados a áreas extensas, siempre y cuando la selección del área de muestreo sea adecuada (Rodríguez O, 1993).

Un método muy usado es el muestreo sistemático o de grilla. En este las muestras se toman a intervalos regulares en todas las direcciones. Este tipo de muestreo aumenta considerablemente la exactitud en los análisis de suelos y provee información valiosa de la variabilidad del campo. Por ser el método más costoso, a veces su utilización no es rentable (Roberts y Henry, 2000).

Para este estudio, las muestras serán tomadas empleando el esquema de muestreo al azar, el cual consiste en tomar muestras de forma aleatoria a lo largo de la zona de muestreo para luego A: formar muestras compuestas o B: analizarlas por separado. En este caso, las muestras fueron analizadas por separado.



**Figura 1:** Separación en unidades de muestreo (Jaramillo, 2002)

### 2.2.3 Humedad del suelo

La humedad es uno de los factores más importantes que regula la actividad y composición de la comunidad biótica de un suelo. La humedad afecta directamente a los microorganismos determinando el trabajo que debe realizar un organismo para mantener un nivel adecuado de agua en su protoplasma. La humedad también afecta la cantidad de aire de que disponen los organismos del suelo, puesto que el agua y el aire ocupan competitivamente los poros del suelo. Si el agua se incrementa en un suelo disminuye el contenido de aire del mismo y viceversa. En general, cuando se incrementa el contenido de humedad en un suelo seco, se aumenta la proliferación de los organismos el mismo (Sagardoy M. et al., 2004).

### 2.2.4 Propiedades físicas del suelo

El suelo desde el punto de vista hidrológico, es un depósito o almacén de agua cuya capacidad para retenerla y contenerla depende de sus propiedades físicas:

- **Textura del suelo:** Es la composición física de un suelo, se refiere al porcentaje con que se presentan los diversos materiales constitutivos de un suelo. La clasificación internacional de estos con respecto a su tamaño se observa en la tabla 1.

**Tabla 1:** Clasificación textural del suelo. (Sagardoy M. et al., 2004.)

Arenas finas	Partículas con diámetro entre 0,02 y 0,2 mm
Limos	Partículas con diámetro entre 0,002 y 0,02 mm
Arcillas	Partículas con diámetro menor de 0,002 mm

- **Estructura del suelo:** Se refiere al arreglo de las partículas del suelo con respecto a las tres dimensiones del espacio, a su forma de unión y a sus aglutinantes, lo cual permite conocer la continuidad del suelo en cuestión y los espacios y huecos que posee, que son los conductos para el agua y el aire, necesarios para el desarrollo de las plantas.
- **Densidad o peso específico real:** Es el peso o la densidad de las partículas que forman un suelo. Naturalmente su cifra es próxima a  $2.6 \text{ g/cm}^3$ .
- **Densidad aparente o peso específico aparente:** Es la relación entre el peso de un volumen de tierra tomado en un suelo seco y el peso del mismo volumen de agua. Este concepto tiene en cuenta la textura, la estructura y la compactación.
- **Porosidad:** Es el porcentaje el volumen que ocupan los huecos o espacios vacíos del suelo. (Llenos de aire o agua) en relación con el volumen total.
- **Permeabilidad:** Se define como la velocidad de filtración de un suelo para el agua, cuando el gradiente hidráulico es la unidad. (Ferreiro A. et al., 2003).

#### 2.2.5 Constantes de humedad del suelo

- **Coefficiente higroscópico:** contenido de humedad que contiene el suelo cuando se seca al aire; esta unidad es retenida a una tensión de 30 atm aproximadamente.
- **Punto de marchitez permanente:** contenido de humedad del suelo al cual la planta marchita irreversiblemente; el agua del suelo en este punto esta retenida a -15 atm aproximadamente.

- **Capacidad de campo:** es el contenido de humedad con que queda el suelo, luego de que sus macroporos han drenado completamente, se llega a esta condición de humedad luego de dejar drenar el suelo saturado, entre 48 y 72 horas, el agua en esta condición esta retenida a tensiones comprendidas entre -0.1 y -0.3 atm.
- **Agua aprovechable:** Es la humedad retenida que presenta el suelo entre el punto de marchitez permanente y la capacidad de campo. Se determina el contenido de agua en las muestras de suelo (humedad relativa) por diferencia de peso (método gravimétrico), así como también la retención de humedad de las mismas (capacidad de campo). (Jaramillo 2000).

### 2.2.6 Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

El intercambio iónico es un proceso reversible, estequiométrico y rápido, mediante el cual la fase sólida retiene y retira algunos iones de la solución del suelo, al tiempo que entrega cantidades equivalentes de otros, para establecer un nuevo equilibrio entre las dos fases. Estos procesos se dan tanto con cationes, como con aniones (Jaramillo, 2000).

La cantidad de iones que pueden adsorber los coloides del suelo depende de la cantidad de carga superficial que ellos tengan; y la fuerza con que son retenidos depende de la densidad de carga del coloide (Zhang y Zhao, 1997). Los procesos de intercambio iónico se ven afectados, tanto por las propiedades del cambiador, como por las del ion.

La CIC es la medida de la capacidad que posee un suelo para adsorber cationes y es equivalente a la carga negativa del suelo. Esta propiedad es la que define la cantidad de sitios disponibles para almacenar los cationes en el suelo. Los cationes que son sometidos a esta retención quedan retenidos contra los procesos que tratan de evacuarlos del suelo, como la lixiviación, evitando así que se pierdan nutrientes para las plantas.

Además, como la retención se hace superficialmente obedeciendo las diferencias de carga electrostática, los cationes adsorbidos pueden ser intercambiados por otros de la solución del suelo, convirtiéndose en cationes intercambiables, necesarios en los procesos de nutrición de las plantas.

La CIC ocurre en la fracción orgánica y mineral del suelo, incluyendo parte de la fracción limosa, la totalidad de la arcilla y material coloidal. En general los suelos con grandes cantidades de arcilla y materia orgánica tienen mayor CIC que suelos arenosos bajos en materia orgánica.

Los cationes más importantes en los procesos de intercambio catiónico, por las cantidades de ellos que participan en dichos procesos, son  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{K}^{+}$  y  $\text{Na}^{+}$  (las bases del suelo) y  $\text{NH}_4^{+}$ ; en suelos ácidos a partir de ciertos valores de pH, el  $\text{Al}^{+3}$  juega un papel muy importante en el complejo de intercambio catiónico del suelo constituyendo, junto con el  $\text{H}^{+}$ , la acidez intercambiable del mismo.

La CIC del suelo se expresa como  $\text{cmol (+) kg}^{-1}$  de suelo o en  $\text{meq (100 g de suelo)}^{-1}$  y depende de la cantidad y del tipo de coloides que tiene:

$$\text{CIC del suelo} = \text{CIC de la arcilla} + \text{CIC de la materia orgánica}$$

El valor que toma la CIC de un suelo también está fuertemente afectado por el valor de pH al cual se hace la determinación, aumentando el valor de la misma al aumentar el pH. (García 2005).

### **2.2.7 Calidad del suelo**

Según Schloter et al., (2006), la calidad edáfica es la capacidad del suelo para funcionar como un sistema vital dentro de los límites de la tierra y ecosistemas, para sostener la productividad biológica, promover la calidad ambiental y mantener la salud de plantas, animales y humanos

La calidad debe interpretarse como la utilidad del suelo para un propósito específico en una escala amplia de tiempo (Carter et al., 1997). El estado de las propiedades dinámicas del suelo, como contenido de materia orgánica, diversidad de organismos, o productos microbianos en un tiempo particular, constituye la salud del suelo (Romig et al., 1995).

La calidad del suelo, ha sido percibida de muchas formas desde que este concepto se popularizó en décadas anteriores (Karlen et al., 1997). La calidad del suelo es un instrumento que sirve para comprender la utilidad y salud de este recurso. A pesar de su importancia, la ciencia del suelo no ha avanzado lo suficiente para definir claramente lo que se entiende por calidad.

El término calidad del suelo se empezó a acotar al reconocer las funciones del suelo: (1) promover la productividad del sistema sin perder sus propiedades físicas, químicas y biológicas (productividad biológica sostenible); (2) atenuar contaminantes ambientales y patógenos (calidad ambiental); y (3) favorecer la salud de plantas, animales y humanos (Karlen et al., 1997). Al desarrollar este concepto, también se ha considerado que el suelo es el sustrato básico para las plantas; capta, retiene y emite agua; y es un filtro ambiental efectivo (Larson y Pierce, 1991). En consecuencia, este concepto refleja la capacidad del suelo para funcionar dentro de los límites del ecosistema del cual forma parte y con el que interactúa (Parr et al., 1992).

Para Gregorich et al. (1994) la calidad de suelo es una medida de su capacidad para funcionar adecuadamente con relación a un uso específico. Arshad y Coen (1992) le dieron a este concepto una connotación más ecológica; la definieron como su capacidad para aceptar, almacenar y reciclar agua, minerales y energía para la producción de cultivos, preservando un ambiente sano.

Las definiciones más recientes de calidad del suelo se basan en la multifuncionalidad del suelo y no sólo en un uso específico, concepto que aun continúa evolucionando (Singer y Ewing, 2000). Estas definiciones fueron sintetizadas por el Comité para la Salud del Suelo de la Soil Science Society of America (Karlen et al., 1997) como la capacidad del suelo para funcionar dentro de los límites de un ecosistema natural o manejado, sostener la productividad de plantas y animales, mantener o mejorar la calidad del aire y del agua, y sostener la salud humana y el hábitat.

### **2.2.8 Parámetros que determinan la calidad del suelo**

La calidad del suelo se puede determinar a través de una serie de parámetros y factores, que recogen e integran determinadas características edáficas, estos son:

- **Contenido de materia orgánica**

Es un parámetro relacionado directamente con la calidad edáfica. Todos los residuos de origen vegetal y animal que llegan al suelo conforman la materia orgánica del mismo, la principal fuente de ella son los residuos vegetales, los cuales aportan energía y alimento a los organismos del suelo, al mismo tiempo

que son la materia prima para la formación de los coloides orgánicos (humus) que se acumulan en el suelo.

Según su contenido de materia orgánica, los suelos pueden clasificarse como se muestra en la tabla 2.

**Tabla 2:** Clasificación del suelo de acuerdo a su contenido de materia orgánica. (Bandick y Dick, 1999).

<b>% MO</b>	<b>Clasificación del suelo.</b>
0-2	Muy deficiente en MO
2-4	Deficiente en MO
4-6	Contenido normal de MO
6-8	Contenido apreciable en MO
8-10	Humífero
>10	Muy humífero

El contenido de materia orgánica interviene en la estructura del horizonte, ayuda a formar los complejos arcillo-húmicos del suelo, mejora la capacidad de infiltración del agua en suelos arcillosos, aumenta la capacidad de retención en los suelos arenosos y determina la disponibilidad de nutrientes, influyendo por tanto positivamente en la productividad del suelo Bandick y Dick (1999).

Según Motta et al., (1990), los compuestos húmicos generalmente representan entre 50 y 85% de la materia orgánica total del suelo; para fines prácticos, la MF (materia orgánica fresca) y la MNH (materia orgánica no húmica) se consideran como un solo grupo de materiales.

La materia orgánica en todas sus diferentes formas, tiene efectos marcados en casi todas las propiedades del suelo; entre los que más se relacionan con la evolución del mismo pueden destacarse: color, humedad, estructura, CIC, pH, disolución de minerales, compuestos órgano-minerales, microorganismos, hidrofobicidad.

- **Relación Carbono-Nitrógeno**

Es un parámetro que evalúa la calidad de los restos orgánicos del suelo. Esta relación determina el grado de mineralización de la materia orgánica que existe en el suelo, así como el tipo de humus que se halla en él. Cuanto menor sea el

valor de la relación mayor será el grado de mineralización de la materia orgánica, y por tanto, la calidad edáfica será mayor tal como se muestra en la tabla 3.

**Tabla 3:** Calidad edáfica del suelo de acuerdo a la relación C/N. (Bandick y Dick ,1999).

C/N	Calidad edáfica
<8	Muy buena
8-12	Buena
12-15	Mediana
15-20	Deficiente
20-30	Mala
>30	Muy mala

Los microorganismos necesitan el carbono como fuente energética (oxidan el C y lo devuelven a la atmosfera en forma de CO<sub>2</sub>) y el nitrógeno, el cual incorporan a su protoplasma. Tanto el C, como el N son tomados de restos vegetales. En los restos vegetales, el C es aproximadamente el 60%, siendo menor el porcentaje de N, el cual es motivo de competencia entre microorganismos y las raíces de las plantas. Llega a ser un factor límite.

C/N=100 (alta): La actividad biológica es limitada, debido a que el contenido de N es poco.

C/N= 20: El suelo es capaz de soportar una intensa actividad microbiana, debido a que los restos contienen suficiente N. (Crosara, 2008).

- **Determinación de pH**

La contribución del pH a la calidad intrínseca del suelo viene dada por su influencia en los procesos de humificación y mineralización a través de los microorganismos existentes. Además puede inducir toxicidades, al hacer asimilables sustancias perjudiciales para las plantas e interviene en los procesos de difusión y floculación del complejo adsorbente.

La clasificación del suelo según los valores de pH se muestra en la tabla 4.

**Tabla 4:** Clasificación del suelo de acuerdo al pH (Bandick y Dick, 1999).

<b>pH</b>	<b>Clasificación del suelo</b>
<4	Extremadamente ácido
4-4,7	Muy fuertemente ácido
4.8-5.5	Fuertemente ácido
5.6-6,5	Moderadamente ácido
6.6-7,3	Neutro
7,4-8	Moderadamente básico
8,1-8,5	Fuertemente básico
>8,5	Extremadamente básico

El pH del suelo está influenciado por la composición de los cationes de intercambio, composición y concentración de sales solubles y la presencia o ausencia de yeso y carbonatos de metales alcalinotérreos.

Cuando los iones  $\text{Na}^+$  en la solución del suelo se presentan como sales neutras (es decir como  $\text{Cl}^-$  o  $\text{SO}_4^{2-}$ ), el pH es cercano a la neutralidad. Cuando el anión acompañante es carbonato ácido o carbonato, resulta un pH entre 8.5 y 11. Suelos cuyo pH es inferior a 7.5 casi nunca contienen carbonatos de metales alcalinotérreos, y si el pH es menor que 7 el suelo seguramente contendrá una porción de hidrogeno de intercambio. El pH del suelo se mide potencialmente en el sobrenadante de una suspensión de una mezcla de suelo-agua (generalmente en porciones que varían de 1:1, 1:2.5, 1:5 o 1:10) y en una solución iónica que habitualmente es  $\text{KCl}$  1M o  $\text{CaCl}_2$  0.01M (Bravo, 2000).

En el caso de las soluciones iónicas, se produce un reemplazo de los hidrogeniones del complejo de cambio del suelo por el catión de la solución, lo que provoca un incremento de la concentración de hidrogeniones y como consecuencia una disminución del valor de pH, que suele estar alrededor de una unidad en relación al medido en agua (García, 2005). Cuando el suelo está saturado, no es posible la liberación de hidrogeniones, por lo que ambos valores de pH deberían coincidir, no obstante se produce una disminución similar, en este caso el potasio añadido se intercambia por el calcio del complejo, que al ser una base más débil, y por lo tanto menos disociada, provoca un empobrecimiento en oxidrilos que tiene un efecto semejante al incremento en hidrogeniones que se producían en el caso anterior. Las mediciones de pH en las soluciones salinas, enmascaran los efectos de la variabilidad del contenido de

sales en el suelo, lo que garantiza una medida más real. Este valor no está afectado por las fluctuaciones climáticas, ya que se compensa con las variaciones que se producen en el complejo de cambio; no se trata de un valor real de pH del suelo. Por esta razón a este valor se conoce como “real” en contraposición al medido con agua que se le conoce como “actual” (García, 2005). La diferencia de pH entre los extractos con el agua y con las soluciones salinas se conocen con el nombre de efecto salino y se representan con el símbolo  $\Delta\text{pH}$ . De este modo:

$$\Delta\text{pH} = \text{pH del suelo en solución salina} - \text{pH del suelo en agua}$$

Así los valores de  $\Delta\text{pH}$  son positivos para los suelos con una carga neta positiva, y negativos para suelos con carga neta negativa, siendo la magnitud proporcional a la carga (Faithfull, 2005).

### **2.2.9 Respiración del suelo**

El carbono entra en los ecosistemas terrestres a través de un único proceso, la fotosíntesis, pero se devuelve a través de una variedad de procesos, denominados colectivamente como la respiración (Ryan y Law, 2005; Trumbore, 2006).

La respiración edáfica es un proceso ecológico que se reconoce como la principal fuente de flujo de C (Pell et al., 2006) procedente de la superficie del suelo y uno de los componentes cruciales dentro del ciclo del carbono en los ecosistemas terrestres (Raich y Schlesinger, 1992). También puede ser definida como la disminución de las concentraciones de oxígeno en el suelo por el consumo realizado por la actividad biológica y al mismo tiempo el aumento de las concentraciones de  $\text{CO}_2$  debido a la respiración (García et al., 2003).

En este proceso participan microorganismos como bacterias, hongos, algas y protozoos que ayudan a la descomposición de la materia orgánica del suelo y macroorganismos como lombrices de tierra, nematodos e insectos (Schinner et al., 1996; García et al., 2003; Pell et al., 2006). De la respiración total que tiene lugar en los suelos, entre un 20 y un 40% se debe a las raíces, mientras que el resto tiene origen microbiano que da lugar a la producción de  $\text{CO}_2$  (Coyne, 2000; García et al., 2003). Además, la respiración edáfica comprende un proceso clave dentro del ecosistema, ya que tiene una gran relación con los sistemas de productividad y fertilidad del suelo (Lou y Zhou, 2006).

La respiración depende de muchos factores como la dinámica de la raíz, ciclos de nutrientes, la temperatura, la humedad del suelo, la calidad y cantidad

del sustrato (Buschmann, 2000), la concentración de oxígeno, la biodisponibilidad de carbono (Pell et al., 2006), pH (Krebs, 2003), así como también de los usos de la tierra, cobertura vegetal, mineralogía y prácticas de manejo (Mora, 2006).

### **2.2.10 Microbiología del suelo y biomasa microbiana**

El suelo puede considerarse un organismo vivo que está en constante interacción con los microorganismos y las plantas con el propósito de lograr el crecimiento y desarrollo de la vegetación.

Según Benedetti et al., (2006) la evaluación de la calidad del suelo se debe basar en parámetros como la biomasa y la actividad microbiana del suelo, los cuales son de determinación sencilla tanto en el laboratorio como en el campo.

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

La biomasa microbiana es medida por el  $\text{CO}_2$  respirado (Mora, 2006) y se determina para dar una indicación de la respuesta de la microbiota del suelo al manejo, cambio ambiental, alteración del sitio, contaminación (Kandeler, 2007) y fertilidad del suelo (Beck, 1997). La biomasa microbiana se mide en unidades de mg de carbono por kg de suelo; su importancia está asociada con la fertilidad del suelo, los ciclos biogeoquímicos, la descomposición de adiciones naturales o sintéticas y la formación estructural y estabilización física de los agregados.

Los ciclos de la mayoría de los elementos son impulsados en parte o totalmente por la cantidad y la actividad de los organismos que asimilan los compuestos minerales o descomponen la materia orgánica (Fliebbach, 2006). Además conduce a la liberación de los nutrientes disponibles para las plantas y son de importancia crucial en los ciclos biogeoquímicos (Dilly, 2006)

Existen factores intrínsecos y extrínsecos que constituyen un indicador de la dinámica del suelo y de condiciones físicas y químicas que permitan el desarrollo de los procesos metabólicos de bacterias, hongos, algas y actinomicetos y de su acción sobre los sustratos orgánicos (Coyne 2000, Mora 2006).

Para conocer la biomasa y la actividad microbiana del suelo existen métodos bioquímicos y fisiológicos, los más utilizados son: respiración por sustrato inducido, respiración, fumigación incubación y la fumigación- extracción (Benedetti y Dilly, 2006).

### **2.2.11 Respiración inducida por sustrato (RIS)**

Es un método que estima la cantidad de carbono retenido en microorganismos heterótrofos a través de la medición de la respiración inicial después de la adición de un sustrato disponible (Anderson y Domsh, 1978). Este método permite conocer la biomasa microbiana del suelo mediante la estimulación de la respiración como respuesta de los microorganismos del suelo a la aplicación de glucosa como sustrato.

El principio detrás del SIR es la medición de la “máxima respuesta inicial respiratoria” de la muestra de suelo después de su modificación con glucosa (Heinemeyer et al., 1998); esta respiración máxima inicial es proporcional a la cantidad de carbono presente en la muestra de suelo (Kandeler, 2007).

La concentración óptima de glucosa para lograr la máxima respiración inicial debe determinarse y aplicarse para cada tipo de suelo para que el método se estandarice. (Kandeler, 2007; Hoper, 2006).

Según Lange et al., (1967), la cantidad de CO<sub>2</sub> adsorbido es equivalente a la cantidad de NaOH consumido; la cantidad de NaOH inicialmente presente menos la cantidad remanente al final del periodo de incubación, se utiliza para computar la cantidad de CO<sub>2</sub> retenido por los microorganismos del suelo, que entra en la solución y reacciona con el NaOH.

El método propuesto por Degens y Harrys (1997) se aplica de la misma forma, pero además de la glucosa, se emplea una serie de compuestos orgánicos como sustrato. Las concentraciones óptimas de estos sustratos fueron determinadas con 12 compuestos seleccionados de una serie de aminoácidos, ácidos carboxílicos, polímeros y carbohidratos. Se aplicó la RIS a cuatro suelos distintos empleando concentraciones diferentes de estos 12 sustratos, obteniéndose una respuesta máxima para las siguientes concentraciones 15 mM para los aminoácidos, aminas y amidas; 60 mM para alcoholes, 15 mM para compuestos aromáticos, 75 mM para carbohidratos, 190 mM para ácidos carboxílicos y 30 mM para los polímeros. Con estos parámetros, se aplicó la RIS a cinco suelos distintos para 83 sustratos seleccionados, de los cuales 36

proporcionaron las mayores deferencias de RIS de acuerdo al análisis estadístico. Los sustratos utilizados se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5:** Lista de 83 sustratos orgánicos utilizados por Degens y Harrys (1997).

Ácido cetoglutarico*	Serina*	Ácido aminobutírico	Ácido propionico*
Ácido cetobutirico	Ácido acético	Hidroxiprolina	Putrescina
Ácido oxálico*	Fenilalanina*	Alaninamida	Ácido quinico*
Acido fumarico*	Tirosina*	Ornitina	Tween 80*
Acido malonico*	Ciclodextrina*	Fructosa	Sorbitol
Citrato de sodio*	Ácido urocanico*	Ácido galactonico	Glicilfenilalanina
Ácido cetovalerico*	Ácido pantotenico*	Arabitol	Glucoronamida
Ácido ascórbico*	Glucosamina*	Manitol	Alanina
Ácido tartárico*	Cisteína*	Trealosa	Ácido glutámico
N-Metilglutamina*	Arginina*	Rafinosa	Metionina
Ácido málico*	Ácido hidroxibutarico	Glucosa*	Ácido glucorónico
Formato de sodio*	Butanediol	Mesoinositol	Xilosa
Asparaguina*	Succinamida*	Sacarosa	Alanilglicina
Ácido úrico*	Ácido glutamico*	Galactosa	Melibiosa
Lisina*	Ácido láctico	Prolina	Lactosa
Ácido gluconico*	Leucina*	Xilitol	Glicina
Acido maleico	Glutamina*	Eritriol	Arabinosa
Acido valérico	Histidina*	Triptosan	Manosa*
Metilsuccínico	Ácido piroglutamico	Acetilglucosamina	Glicerol
Ácido hidroxibutarico*	Inosina	Ácido aspártico	Treonina
Ácido succinico*	Dextrano	Ramosa	---

**NOTA:** (\*) Se marcan los 36 sustratos usados por Degens y Harys (1997), que proporcionaron las mayores diferencias en las respuestas de RIS.

### **2.2.12 Análisis estadístico por componentes principales**

El Análisis de Componentes Principales (ACP) es una técnica estadística de síntesis de la información, o reducción de la dimensión (número de variables). Es decir, ante un banco de datos con muchas variables, el objetivo será reducirlas a un menor número perdiendo la menor cantidad de información posible. Los nuevos componentes principales o factores serán una combinación lineal de las variables originales, y además serán independientes entre sí. Un aspecto clave en ACP es la interpretación de los factores, ya que ésta no viene dada a priori, sino que será deducida tras observar la relación de los factores con las variables iniciales (habrá, pues, que estudiar tanto el signo como la magnitud de las correlaciones). Esto no siempre es fácil, y será de vital importancia el conocimiento que el experto tenga sobre la materia de investigación. (Salafranca L. et al., 2005).

### **2.2.13 Análisis de ANOVA**

Es un modelo estadístico que consiste en una relación lineal múltiple, entre una variable dependiente y un conjunto variables independientes de interés. La correlación se establece de acuerdo a un P valor, cuya condición debe ser:

$P < 0,1$  con un intervalo de confianza establecido por el modelo.

### CAPÍTULO III: Marco metodológico

#### 3.1 Muestreo y preparación de muestras

La toma de las muestras se realizó empleando el método de muestreo al azar en el terreno que perteneció a un vertedero ubicado en el sector El Ereigüe, San Joaquín, Estado Carabobo (Ver apéndice A). Se partió de un punto tomado al azar, a partir del cual se tomaron puntos de muestreo, cuya distancia de recorrido fue de 20 m aproximadamente. Se recolectó un total de 20 muestras, utilizando un barreno, en bolsas plásticas (polietileno). Cada muestra presentó un peso aproximado de 4 kg. Las profundidades de las muestras se especifican en la tabla 6. Adicionalmente se tomaron muestras libres de contaminación, que sirvieron como control en este estudio.

**Tabla 6:** Características de las muestras.

Muestra		Profundidad (cm)	Coordenada de ubicación	
			Norte	Oeste
1	S	20-30	10°9'53''	67°57'11''
	R	0-20		
2	S	15-25	10°10'31''	67°52'44''
	R	0-15		
3	S	20-30	10°9'55''	67°52'47''
	R	0-20		
4	S	20-25	10°9'44''	67°52'47''
	R	0-20		
5	S	0-20	10°16'58''	67°48'27''
6	S	15-25	10°16'55''	67°48'27''
	R	0-15		
7	S	10-20	10°16'59''	67°48'34''
	R	0-10		
8	S	25-35	10°17'0''	67°48'32''
	R	0-25		
9	S	40-50	10°16'54''	67°48'32''
	R	0-40		
10	S	0-15	10°17'34''	67°48'37''
C1	S	0-20	10°16'57''	67°48'30''
C2	S	0-20		

R: Relleno; S: Suelo, C: Control.

Para la determinación de los parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad eléctrica, retención de humedad, humedad relativa, carbono orgánico total y capacidad de intercambio catiónico), las muestras de suelo fueron secadas al aire por un período de 72 horas, posteriormente se realizó la molienda y tamizado, empleando un tamiz de 2 mm de tamaño de poro. Las muestras fueron almacenadas en recipientes tapados a temperatura ambiente.

Para determinar la diversidad catabólica (parámetro biológico) las muestras frescas fueron almacenadas a 4°C entre las 24 y 48 horas después de su recolección. Luego, se extendieron sobre un plástico limpio y seco, donde se les retiró el material grueso como piedras, hojas, tallos y raíces. Posteriormente fueron tamizadas, empleando también un tamiz de 2 mm de porosidad y almacenadas en recipientes con tapa a 20°C (Frostergardet al., 1993, Matsushita et al., 2007) para su análisis.

## **3.2 Caracterización fisicoquímica del suelo**

### **3.2.1 Determinación del % de humedad relativa**

1. Se tomó un recipiente vacío (hecho de papel de aluminio), el cual se pesó y reportó su peso.
2. Sobre este recipiente, se pesaron 10 g de suelo y se reportó su peso.
3. La muestra contenida en el recipiente se llevó a una estufa a 105 °C por un periodo de 24 h.
4. Transcurrido el tiempo, se colocó la muestra en un desecador durante 5 min.
5. Se pesó nuevamente la muestra contenida en el recipiente y reportó el nuevo peso.

### **3.2.2 Determinación de pH**

Se realizó midiendo el pH a un extracto 1:1 suelo-agua y 1:1 suelo-KCl, los cuales fueron preparados de la forma siguiente:

1. Se tomó un tubo de ensayo de plástico. Sobre el cual se pesaron 5 g de suelo.
2. Se adicionó 5 ml de agua o KCl, 0,01 (según el caso) y se tapó herméticamente.
3. Se agitó por un periodo de 1 h en el agitador orbital.
4. Se centrifugó a 3000 rpm por 10 min.
5. Se trasvasó el sobrenadante a otro tubo de ensayo.

6. Se midió pH a los extractos empleando un pHmetro digital. Se reportaron los valores.

### 3.2.3 Determinación de la conductividad eléctrica

Se realizó también mediante la preparación de un extracto de proporciones 1:2,5 suelo-agua. El extracto fue preparado de la misma forma que el realizado para la medición de pH. Se midió la conductividad eléctrica empleando un conductímetro digital.

### 3.2.4 Determinación de carbono orgánico

1. Sobre un tubo de ensayo se pesó por triplicado 0,1 g de suelo.
2. Se añadieron 2 ml de solución 2N de dicromato de potasio y 4 ml de ácido sulfúrico concentrado.
3. Se dejó en reposo por un periodo de 24 h.
4. Transcurrido el tiempo se llevó a un volumen de 25 ml en un balón aforado.
5. Se centrifugó a 3000 rpm por 10 min.
6. Al sobrenadante se le determinó la absorbancia a una longitud de onda de 600 nm en un spectronic 20.
7. A partir de una solución madre de glucosa de concentración 50 mg C/ml, se prepararon soluciones patrones para realizar una curva de calibración, la cual se muestra en la tabla 7.
8. Se determinó la absorbancia de las soluciones patrones a una longitud de onda de 600 nm.

**Tabla 7:** Preparación de soluciones patrones a partir de una solución madre de glucosa para la elaboración de la curva de calibración.

Volumen de solución madre de concentración 50 mg C/ml. (ml)	Masa de carbono (mg C)	Concentración de solución patrón (mg C/ml)
0	0	0
5	250	2,5
10	500	5,0
15	750	7,5
20	1000	10,0

### 3.2.5 Determinación de la CIC

1. Se pesaron 5,0 g de suelo seco (6 réplicas por muestras) en frascos de compota (100 mL), a los cuales se agregaron 25 mL de acetato de amonio 1 N a pH 7,0.
2. Los frascos fueron agitados en un agitador orbital por 30 min, luego se dejaron en reposo por un período de 15 min.
3. El contenido de los frascos fue centrifugado a 5000 rpm por 15 min.
4. Se filtró el sobrenadante.
5. El suelo (precipitado) fue redissuelto en una porción de 10 mL de acetato de amonio 1N, y se volvió a centrifugar.
6. Los filtrados se recogieron en balones aforados de 100 mL, y se guardaron para la determinación de bases (Na, K, Ca, Mg).
7. El suelo fue redissuelto nuevamente en 50 mL de etanol al 95 % para eliminar el exceso de amonio, y se centrifugó por 10 min a 5000 rpm.
8. Se descartó el etanol sobrenadante.
9. El suelo (precipitado) fue redissuelto en 50 mL de solución de NaCl al 10 % y se dejó en contacto (reposo) por toda la noche.
10. Transcurrido el tiempo, se centrifugó por 15 min a 5000 rpm y se filtró el sobrenadante.
11. El suelo se lavó con 2 porciones de 10 mL de agua destilada. Esta agua de lavado fue recogida en una fiola de 250 mL junto con el sobrenadante anterior.
12. Se adicionó a esta solución (aguas de lavado y sobrenadante) 10 mL de formaldehído al 40 %.
13. Se agregaron dos gotas de fenolftaleína y se tituló con una solución estandarizada de NaOH 0,1 N, reportando el volumen gastado de solución de NaOH 0,1 N para cada muestra.
14. Se tituló también con la solución de NaOH 0,1 N, blancos contentivos de 50 mL de NaCl al 10%, 10 mL de formaldehído al 40% y 20 mL de agua destilada (6 réplicas).

La metodología planteada para la determinación de los parámetros fisicoquímicos se encuentra resumida en la tabla 8.

**Tabla 8:** Metodología sugerida para la determinación de los parámetros fisicoquímicos de cada una de las muestras.

Parámetro	Método	Técnica	Referencia
Humedad Relativa (%)	10g de muestra T = 105 °C en 24h.	Gravimetría	(Jackson, 1970)
Capacidad de campo	10g de muestra T=25°C Humedecer completamente, dejar en reposo 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)
CIC-suelo	NH <sub>4</sub> OAC 1M pH 7	Extracción y alcalimetría	(Schollenberger y Simón, 1945)

(Fuente: Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas, FACYT-UC 2011).

### 3.3 Medición de la diversidad catabólica

Los sustratos utilizados a las concentraciones especificadas anteriormente se muestran en la tabla 9.

**Tabla 9:** Sustratos utilizados para la aplicación del método de RIS.

<b>Aminoácidos</b>	11.Dextrin	22. Ácido ftálico
1.Arginina	12 Celulosa	23.Ácido ascórbico
2.L-Tirosina	13.Almidón	24.Fumarato de sodio
3.Glicina	14.Agarosa	25.Acido oxálico
4 Fenilalanina	<b>Carbohidratos</b>	26.Ácido maleico
5.Histidina	15.Galactosa	27.Tartrato sódico de potasio
6.Triptofano	16.Glucosa	<b>Alcoholes</b>
<b>Aminas y Amidas</b>	17.Lactosa	28.Butanol
7.Urea	18. .Sacarosa	29.Etilenglicol
8.Anilina	<b>Ácidos carboxílicos</b>	30.Tri-base
9.Etanolamina	19.Ácido salicílico	31. Etanol
10.Trietanolamina	20.Ácido acético	32.Metanol
<b>Polímeros</b>	21.Ácido cítrico	

(Fuente: Laboratorio de Investigaciones bioquímicas, FACYT-UC, 2011)

La respiración inducida por sustrato (RIS) fue determinada mediante la cuantificación del CO<sub>2</sub> desprendido por la actividad de los microorganismos del suelo durante un periodo de tiempo establecido a condiciones controladas de humedad y temperatura en el laboratorio (método de incubaciones estáticas; Stotzky, 1965) mediante el procedimiento descrito por Anderson y Domsh (1978). Se humedecieron 30 g de cada una de las muestras de 50 a 60% de su capacidad de campo. Las muestras estaban contenidas en frascos con tapa de rosca hermética. Se incubaron por 2 h para activar la respiración microbiana, luego se añadieron 2 ml de sustrato y se introdujo a cada frasco un vial con 20 ml de NaOH 0,1 M. Los frascos se mantuvieron a la temperatura y humedad del laboratorio (23°C y 65% respectivamente), incubándose por un periodo de 4 h. También se realizó un tratamiento control sin sustrato, añadiendo agua destilada a los suelos, humedecidos de 50 a 60% de su capacidad de campo, para determinar si cada sustrato provocaría una respuesta por encima de la respiración basal. El CO<sub>2</sub> desprendido se midió de forma indirecta al titular el exceso de NaOH con HCl 0,1 M (estandarizado), precipitando los carbonatos con BaCl<sub>2</sub>, 0,05 M, usando fenolftaleína como indicador. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

### **3.4 Determinación de los perfiles de respuesta de RIS**

Estos perfiles de respuesta fueron obtenidos al graficar la concentración de CO<sub>2</sub> proveniente de la respiración de los microorganismos, µg CO<sub>2</sub>/gss, con respecto a cada una de las muestras (suelos, rellenos, controles) para los 32 sustratos utilizados.

### **3.5 Análisis estadístico de los datos**

El manejo estadístico de los datos obtenidos se realizó mediante la metodología de análisis por componentes principales (ACP) a partir de las 32 variables, correspondientes a cada uno de los sustratos utilizados, mediante el programa statgraphics plus, versión 5.1.

Mediante análisis de ANOVA, aplicación del programa statgraphics plus, versión 5.1, se establecieron correlaciones múltiples entre la respiración inducida por sustratos (RIS) y los parámetros fisicoquímicos humedad relativa y carbono orgánico total (COT).

## **CAPÍTULO IV: Resultados y Discusión**

### **4.1 Parámetros fisicoquímicos**

Conocer las principales características fisicoquímicas del suelo es de fundamental importancia debido a que, a través de éstas, es posible determinar la calidad, utilidad y funcionalidad de un determinado suelo. Estas características son una medida directa de los cambios producidos en el suelo, ya sean de forma natural o inducida y de los procedimientos que pudieran aplicarse para la recuperación de un suelo que ha sido degradado o que ha perdido su estructura fundamental. Además tienen una influencia directa sobre la cantidad de microorganismos, concentración de nutrientes inorgánicos y en consecuencia sobre las actividades biológicas: respiración edáfica y biomasa microbiana (Stotzky y Burns, 1982). De acuerdo a la metodología resumida en la tabla 8, los resultados de la caracterización fisicoquímica se reportan en la tabla 10.

**Tabla 10:** Caracterización fisicoquímica de las muestras de suelo estudiadas.

Muestra		pH 1:1	Humedad relativa (%)	Retención de humedad (%)	COT (%)	CE ( $\mu\text{Scm}^{-1}$ )	CIC (meq/100g suelo)
1	R	6,4 ± 0,1	1,46 ± 0,06	31,0 ± 0,9	0,15 ± 0,03	930 ± 38	17 ± 2
	S	6,5 ± 0,1	1,72 ± 0,02	32 ± 3	0,54 ± 0,08	848 ± 16	18 ± 3
2	R	7,2 ± 0,2	7,75 ± 0,09	18,60 ± 0,02	0,02 ± 0,01	540 ± 42	18 ± 1
	S	6,9 ± 0,3	2,09 ± 0,04	41,61 ± 0,08	0,05 ± 0,01	749 ± 36	26 ± 1
3	R	6,4 ± 0,1	3,48 ± 0,09	41 ± 2	0,182 ± 0,009	350 ± 10	22 ± 5
	S	6,8 ± 0,2	6,95 ± 0,05	53 ± 7	0,99 ± 0,07	650 ± 35	22 ± 6
4	R	7,1 ± 0,2	2,4 ± 0,6	39,44 ± 0,08	0,22 ± 0,02	225 ± 5	30 ± 1
	S	7,3 ± 0,1	2,06 ± 0,05	38,3 ± 0,7	0,90 ± 0,01	193 ± 5	17,0 ± 0,1
5	S	7,0 ± 0,1	10,70 ±	28 ± 3	0,5 ± 0,3	168 ± 1	20 ± 7
6	R	6,71 ±	2,36 ± 0,05	26 ± 0,1	0,0100 ± 0,0001	1380 ±	20,7 ± 0,7
	S	7,2 ± 0,1	3,98 ± 0,04	29 ± 3	0,074 ± 0,002	1087 ±	19 ± 2
7	R	7,6 ± 0,2	10,0 ± 0,3	41,2 ± 0,4	0,0140 ± 0,0010	1380 ±	41 ± 1
	S	7,43 ±	9,6 ± 0,3	32 ± 6	0,023 ± 0,002	1720 ±	49 ± 2
8	R	7,23 ±	0,89 ± 0,05	26,86 ± 0,79	0,40 ± 0,01	95 ± 3	45 ± 13
	S	7,5 ± 0,2	7,05 ± 0,08	28 ± 1	1,5 ± 0,1	199 ± 4	48,0 ± 0,3
9	R	7,7 ± 0,4	6,5 ± 0,7	69 ± 4	0,44 ± 0,05	189 ± 4	39,2 ± 0,3
	S	7,9 ± 0,1	8 ± 1	74 ± 3	0,9 ± 0,2	1080 ±	38,2 ± 0,3
10	S	6,9 ± 0,1	3 ± 1	25 ± 1	0,39 ± 0,01	69 ± 10	20,0 ± 0,7
C1	S	7,3 ± 0,1	5,3 ± 0,3	64,5 ± 0,9	2,9 ± 0,9	157 ± 24	27 ± 6
C2	S	7,0 ± 0,2	1,2 ± 0,4	29,6 ± 0,9	0,52 ± 0,05	166 ± 3	29,0 ± 0,6

**R:** Relleno; **S:** Suelo; **C:** Control; **COT:** Carbono orgánico total; **CE:** Conductividad eléctrica; **CIC:** Capacidad de intercambio catiónico. n=3.

Con respecto al pH, para todas las muestras, se obtienen valores en el intervalo (6,40-7,90), por lo que este suelo presenta un comportamiento que va, de ligeramente ácido a alcalino, el cual es apropiado según Thayer (1991); debido a que la actividad microbiana es eficiente en un intervalo de pH de 6 y 8, encontrándose los valores reportados dentro del mismo.

Para la CE, se encontraron valores ubicados en el intervalo (69 y 1380)  $\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Esto indica que en general hay una solubilización adecuada de las sales presentes en este suelo, en un grado variable, unas muestras más que otras debido a la amplitud del intervalo. Por lo tanto este suelo puede ser clasificado

como no salino, de acuerdo a Boulding (1994), el cual afirma que suelos con valores menores de  $1200 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$  presentan esta denominación.

La humedad relativa de las muestras va de 0,89 a 10,70, lo cual indica que este suelo es poco húmedo. La precipitación en este sector tiene un valor medio anual de 1.150 mm, siendo los meses de más baja humedad febrero, marzo y abril. En esta época el valor vegetal tiende a disminuir, predominando la vegetación de paja y arbustos, propios de este clima (Tauche M, 1995). El muestreo se realizó a mediados del mes de Enero, mes de sequía, por lo que se obtienen dichos resultados.

La retención de humedad para este suelo se halla en el intervalo (18-69) %. Este es un suelo franco arenoso, cuya característica principal es su formación porosa y arenosa (Tauche M, 1995). Un suelo franco arenoso contiene un porcentaje elevado de arena (43-85), lo cual los hace incapaces de almacenar agua suficiente como para permitir un crecimiento adecuado de plantas, perdiendo grandes cantidades de minerales nutrientes por lixiviación hacia el subsuelo (Jaramillo, 2002). Esto se evidenció claramente, debido a que este terreno presenta poca vegetación, predominando la paja y arbustos, tal como se mencionó anteriormente.

Con respecto al COT, los valores obtenidos fueron significativamente bajos y se ubican en el intervalo (0,01-2,93) %, lo que indica que los desechos que se encuentran en este suelo son compuestos que no pueden ser mineralizados por los microorganismos, por lo cual no se incorporan al mismo. La poca materia orgánica que posee el suelo está siendo degradada continuamente. 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).

La CIC presentó valores que se ubican en el intervalo (17-49 meq/100gs), presentando este suelo una CIC media, debido a los minerales y el tipo de arcilla que lo conforman. La CIC presenta una relación directamente proporcional con el COT, el cual en este caso presentó valores bajos. La CIC de un suelo se incrementa, al aumentar el contenido de materia orgánica de este, debido a que la humificación incrementa el número de grupos carboxilo (-COOH) y fenólicos (-OH) que pueden disociarse, adquiriendo cargas negativas. Al incrementarse la CIC del suelo, se reducen y hasta evitan las pérdidas por lixiviación (Jaramillo

2002). En este suelo esto no ocurre debido a que, como se dijo anteriormente, su alto porcentaje de arena, hace que pierda grandes cantidades de minerales nutrientes por lixiviación hacia el subsuelo.

#### **4.2 Determinación de la diversidad catabólica**

La diversidad catabólica de las muestras estudiadas se determinó mediante la medida de desprendimiento de CO<sub>2</sub> liberado por los microorganismos, producto de la respiración aeróbica, de acuerdo a la metodología planteada por Anderson y Domsh (1978). Esto es posible, debido a que la medición de la respuesta de RIS de los microorganismos del suelo ante una amplia gama de sustratos proporciona una medida rápida de la diversidad catabólica de las comunidades microbianas en suelos (Degens y Harrys, 1997), como una medida de la diversidad funcional de las comunidades microbianas de estos.

El CO<sub>2</sub> desprendido por los microorganismos se determinó por titulación, del NaOH 0,1 M, utilizado como trampa para su recolección, con HCl estandarizado a concentración 0,1 M, precipitando previamente los carbonatos con BaCl<sub>2</sub>.

Los valores de CO<sub>2</sub> liberado por la degradación de los 32 sustratos orgánicos utilizados, por acción de los microorganismos del suelo, se muestran en las tablas 11 a 16.

**Tabla 11:** Concentraciones de CO<sub>2</sub> provenientes de la RIS para ácidos carboxílicos.

Muestra	Ac. Ascórbico	Ac. Acético	Ac. Cítrico	Ac. Oxálico	Ac. Salicílico	Tart. Sódico de Potasio
	µgCO <sub>2</sub> /gss					
<b>S1</b>	199±8	592±19	891±9	407±16	217±9	98±9
<b>R1</b>	58±5	245,0±0,5	403±10	38±9	152±9	21±9
<b>S2</b>	285±8	729±15	1129±9	286±25	243,1±0,1	149±9
<b>R2</b>	236±4	287±17	265±10	252,9±0,3	157±9	37±9
<b>S3</b>	283±5	697±24	987,7±0,6	446±25	249±30	190,9±0,1
<b>R3</b>	233±5	209±16	172±9	60±19	156±9	0
<b>S4</b>	267±8	790±24	1148±10	331,6±0,1	226±9	168±9
<b>R4</b>	89±8	467±9	242±9	165,17±0,01	198,2±0,2	68±9
<b>S5</b>	366±9	650±11	250±20	139,63±0,07	145±10	149,0±0,2
<b>S6</b>	298±12	856±33	1090±20	331±20	348±10	157±9
<b>R6</b>	237,2±0,4	603±29	911±19	33,4±0,2	190±10	185±9
<b>S7</b>	398±10	723±18	1368±20	448±17	144±10	196,5±0,3
<b>R7</b>	361±13	687±10	906±10	346,0±0,5	29±10	115,15±0,09
<b>S8</b>	371±12	592±10	1089,8±0,7	531±9	207±10	122±9
<b>R8</b>	328±5	530±17	917±20	359±17	160±10	49±16
<b>S9</b>	206±8	626±17	1172±16	323±17	181±10	86±9
<b>R9</b>	103±9	521±24	744±25	249,86±0,05	94±10	79,11±0,03
<b>S10</b>	110±13	462±9	1026±20	214±42	79±10	37±9
<b>C1</b>	88±8	279±17	148±16	313±16	219±9	52±9
<b>C2</b>	57±8	298,7±0,4	133±16	77±10	165,7±0,3	31,48±0,06

**Tabla 11:** Continuación.

Muestra	Fumarato de Sodio	Ac. Fftálico	Ac. Maléico
	$\mu\text{gCO}_2/\text{gss}$	$\mu\text{gCO}_2/\text{gss}$	$\mu\text{gCO}_2/\text{gss}$
<b>S1</b>	307±10	181±9	509±9
<b>R1</b>	91±9	160±9	31,55±0,008
<b>S2</b>	201±9	159±18	130±9
<b>R2</b>	77±9	155±9	76±9
<b>S3</b>	175±9	148±9	447±9
<b>R3</b>	105±9	46,01±0,04	26±9
<b>S4</b>	270±9	194±9	491±9
<b>R4</b>	124±10	73±9	79,6±0,1
<b>S5</b>	119,2±0,3	171±9	16,6±0,3
<b>S6</b>	195±9	222±9	490±10
<b>R6</b>	93±9	138±9	296±9
<b>S7</b>	292±9	175±9	360±9
<b>R7</b>	192±10	77±9	300,3±0,3
<b>S8</b>	284±9	244±9	560±9
<b>R8</b>	240±10	130,02±0,06	358±10
<b>S9</b>	244±9	172±9	421±9
<b>R9</b>	158±9	137±9	278±9
<b>S10</b>	177±9	86±9	108±9
<b>C1</b>	381±9	167±9	101±9
<b>C2</b>	113,88±0,02	137±9	16,03±0,01

**Tabla 12:** Concentraciones de CO<sub>2</sub> provenientes de la RIS para aminoácidos.

Muestra	L-Tirosina	Arginina	Histidina	Glicina	Triptofano	Fenilalanina
	µgCO <sub>2</sub> /gss					
<b>S1</b>	81,51±0,02	255±9	154±9	83±9	88±9	175,3±0,1
<b>R1</b>	0	205±9	128±0,1	52±9	52±9	107±9
<b>S2</b>	157±25	361±9	164±9	103±9	118±9	561±9
<b>R2</b>	45±10	291±9	105±9	85±9	80,23±0,06	253±10
<b>S3</b>	240±9	278±9	125±9	106±9	116±9	300±10
<b>R3</b>	75±9	227,47±0,09	84±9	76,59±0,09	56±9	173,8±0,1
<b>S4</b>	165,7±0,1	384±9	119±9	136±9	105±9	232±9
<b>R4</b>	165,34±0,03	321±9	70±9	73±9	62,81±0,01	205±9
<b>S5</b>	0	267±9	80±10	60±9	82,5±0,7	136,70±0,08
<b>S6</b>	85,6±0,1	381±9	145±10	135±9	81,33±0,05	290±9
<b>R6</b>	28±10	257±9	120±9	85±9	74±9	71±9
<b>S7</b>	172,50±0,03	254±9	191±9	136±9	109±9	410±10
<b>R7</b>	58±10	168±9	141±10	109±9	82,22±0,09	299±10
<b>S8</b>	167,64±0,08	278±9	131,09±0,03	122±9	106±9	344,8±0,2
<b>R8</b>	63±10	230±9	78±10	76±9	87±9	307±9
<b>S9</b>	84,89±0,06	229±9	72±9	107±9	124±9	260±10
<b>R9</b>	39±10	167±9	27±9	84±9	68±9	206±9
<b>S10</b>	84,47±0,08	307±9	177±9	112,51±0,04	86±9	287±9
<b>C1</b>	0	289±9	183±9	78,15±0,04	68±9	381±9
<b>C2</b>	0	223±9	70±9	37±9	47,35±0,04	254±10

**Tabla 13:** Concentraciones de CO<sub>2</sub> provenientes de la RIS para alcoholes.

Muestra	Etanol	Tris-Base	Etilenglicol	Metanol	Butanol
	µgCO <sub>2</sub> /gss				
S1	57±9	92,93±0,07	89±9	136±9	159,2±0,6
R1	83±9	77,57±0,05	31,52±0,03	68±9	117±9
S2	164±9	215,6±0,1	52±9	135±9	196±9
R2	69±9	118±9	16,29±0,01	76±9	165,4±0,1
S3	79,39±0,7	85±9	48,48±0,02	203±9	234±8
R3	51±9	51±9	21±9	72±9	132±9
S4	147±9	247±9	95,94±0,07	116±9	233±9
R4	136±9	136±9	42±9	74±9	156±9
S5	125±8	177±9	16,7±0,02	44±9	113±10
S6	124±9	119±9	99,1±0,1	153±9	296±10
R6	106±9	85±9	70±9	91±9	153±9
S7	93±9	158±9	49,93±0,04	121±10	259±10
R7	82,19±0,04	98,6±0,1	16,70±0,02	89±10	169,5±0,2
S8	106±9	138±9	69±8	80,60±0,02	199±7
R8	87±9	65,021±0,08	27±9	82,18±0,05	156±9
S9	107±9	96,74±0,05	60±9	120±9	177±9
R9	68±9	68±9	27±9	79,9±0,2	125±9
S10	86±9	43±9	60±9	70±9	177±9
C1	89±9	182±9	26±9	116±9	279±9
C2	58±9	116±9	21±9	74±9	135±9

**Tabla 14:** Concentraciones de CO<sub>2</sub> provenientes de la RIS para aminas y amidas.

<b>Muestra</b>	<b>Anilina</b>	<b>Etanolamina</b>	<b>Trietanolamina</b>	<b>Urea</b>
	<b>µgCO<sub>2</sub>/gss</b>	<b>µgCO<sub>2</sub>/gss</b>	<b>µgCO<sub>2</sub>/gss</b>	<b>µgCO<sub>2</sub>/gss</b>
<b>S1</b>	85±9	134±9	89±9	152±19
<b>R1</b>	53±9	108,51±0,01	31,44±0,02	92±9
<b>S2</b>	74±9	119±9	119±9	92±9
<b>R2</b>	27±9	75±9	70±9	28±9
<b>S3</b>	98,4±0,2	164±9	75±9	251±17
<b>R3</b>	31,5±0,1	101±9	36±8	0
<b>S4</b>	92±9	178±9	122±9	265±17
<b>R4</b>	54±9	105±9	42±9	88±9
<b>S5</b>	73±19	38±9	83,1±0,8	20±5
<b>S6</b>	78±10	108±9	164,56±0,09	46±10
<b>R6</b>	44±9	58±9	80,5±0,1	0
<b>S7</b>	146±10	126±9	127±9	241±17
<b>R7</b>	90±10	44±9	94±9	162±20
<b>S8</b>	109±9	122±9	118±9	273±19
<b>R8</b>	73±10	64,99±0,06	55±9	154±17
<b>S9</b>	89±10	86±9	109±9	203±17
<b>R9</b>	22±9	53±9	80,03±0,05	66±17
<b>S10</b>	49,70±0,02	118±9	27±9	135±33
<b>C1</b>	140±9	146±9	105±9	38±9
<b>C2</b>	70±9	100±9	69±9	0

**Tabla 15:** Concentraciones de CO<sub>2</sub> provenientes de la RIS para polímeros

Muestra	Agarosa	Celulosa	Dextrín	Almidón
	µgCO <sub>2</sub> /gss	µgCO <sub>2</sub> /gss	µgCO <sub>2</sub> /gss	µgCO <sub>2</sub> /gss
S1	89±9	180±9	151±9	99±9
R1	37±9	41±9	73±9	21±9
S2	104±9	133±9	104±9	73±9
R2	59±9	69±9	86±9	38±9
S3	75±9	90±9	139±9	53±9
R3	21±9	66±9	113±9	36±9
S4	74±9	89±9	106±9	90±9
R4	37±9	73±9	74±9	53±9
S5	61±10	104±9	115±1	22±10
S6	159±10	108±9	164,6±0,1	110±9
R6	91±9	53±9	107±9	59±9
S7	160±9	158±9	210±9	105±9
R7	89±10	88±9	161±9	44±9
S8	139±9	101±9	140±9	91±9
R8	93±9	59±9	88±9	60±9
S9	152±9	91±9	103±9	87±9
R9	91±9	68±10	75±9	21±9
S10	103±9	91±9	92±9	59±9
C1	90±9	99±9	121±9	53±9
C2	15,97±0,01	58±9	106±9	21±9

**Tabla 16:** Concentraciones de CO<sub>2</sub> provenientes de la RIS para carbohidratos.

<b>Muestra</b>	<b>Galactosa</b>	<b>Glucosa</b>	<b>Sacarosa</b>	<b>Lactosa</b>
	<b>µgCO<sub>2</sub>/gss</b>	<b>µgCO<sub>2</sub>/gss</b>	<b>µgCO<sub>2</sub>/gss</b>	<b>µgCO<sub>2</sub>/gss</b>
<b>S1</b>	149±9	135±8	7,959±0,003	0
<b>R1</b>	123±9	53±9	0	0
<b>S2</b>	196±9	82±9	21±4	26±9
<b>R2</b>	110±9	60±5	8,23±0,01	0
<b>S3</b>	180,1±0,6	101±5	60±5	58±9
<b>R3</b>	147±9	66±4	26±4	0
<b>S4</b>	178±16	86±5	59±5	26±9
<b>R4</b>	124±9	48,385±0,003	19±5	0
<b>S5</b>	210±10	57±5	102±8	0
<b>S6</b>	206±10	89±5	28±5	54±9
<b>R6</b>	126±9	68±5	8,15±0,06	0
<b>S7</b>	180±10	98±5	39±5	27±9
<b>R7</b>	135,69±0,07	53±5	14±4	0
<b>S8</b>	235±9	106,41±0,08	33±8	0
<b>R8</b>	173±10	53±5	8,352±0,003	0
<b>S9</b>	205±9	97±5	24,9±0,01	38±9
<b>R9</b>	168±9	43±5	0	0
<b>S10</b>	188±9	8,26±0,002	30±5	43±9
<b>C1</b>	220±9	102±12	21±5	62,50±0,01
<b>C2</b>	119±9	0	8,10±0,01	0

De acuerdo a estos resultados, la degradación por parte de los microorganismos se llevo a cabo (en orden descendente) de la siguiente manera:

Ácidos carboxílicos > Aminoácidos > Alcoholes > Amidas y Aminas > Polímeros > Carbohidratos.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Degens y Harrys (1997), en su investigación. El orden de degradación de los grupos de sustratos es equivalente, aunque, se presenta variación en los valores, debido a que, en primer lugar, los suelos en estudio son completamente distintos y en segundo lugar, porque no se usaron exactamente los mismos sustratos; sino los que estaban disponibles y presentaran cierta similitud estructural.

Debido a la gran cantidad de datos, para tener una visión condensada de los resultados; en la tabla 17 se pueden observar los intervalos máximos de CO<sub>2</sub>, producto de la respiración microbiana para cada grupo de sustrato obtenidos en este estudio y en la investigación realizada por Degens y Harris en 1997.

**Tabla 17:** Intervalos máximos de CO<sub>2</sub>, producto de la respiración microbiana.

Grupo de sustratos	Respiración (µgCO <sub>2</sub> /gss)	
	Este estudio	Degens y Harris, 1997
Ácidos carboxílicos	250-1600	160-2135
Aminoácidos	140-600	155-230
Alcoholes	120-350	155-215
Aminas y amidas	120-300	150-185
Polímeros	120-250	140-170
Carbohidratos	70-250	80-160

Como se observa en la tabla 17, las respuestas presentaron similitud para los grupos de sustratos similares, tales como aminoácidos y carbohidratos, lo cual no se cumple estrictamente en todos los casos, como por ejemplo, en los ácidos carboxílicos, los cuales produjeron intervalos hasta diez veces mayores en las respuestas de RIS dentro de cada muestra. Además de ello, en algunos casos se obtuvieron respuestas bastante variadas entre sustratos pertenecientes a la misma familia, debido a que, no se puede asegurar que la comunidad microbiana que conforma los grupos de los microorganismos en cada muestra de suelo, sea del todo homogénea o del mismo tipo, por lo que se presentaron respuestas diferentes al momento de adicionar los sustratos, incluso en las replicas. Estas

diferencias, también están justificadas por las particulares propiedades fisicoquímicas de cada muestra de suelo, las cuales presentan una influencia directa en los perfiles de respuesta de RIS. Las propiedades fisicoquímicas del suelo tienen una influencia directa sobre la cantidad de microorganismos, concentración de nutrientes inorgánicos y en consecuencia sobre las actividades biológicas: respiración edáfica y biomasa microbiana (Stotzky y Burns, 1982).

El hecho de que los ácidos carboxílicos, sean los sustratos que se degraden más fácilmente, se debe a que está ocurriendo una descarboxilación oxidativa, consecuencia de su degradación (oxidación), proceso mediante el cual, el grupo carboxilo es eliminado de la molécula de ácido, formando un grupo acetilo y liberando CO<sub>2</sub>. Este proceso ocurre con frecuencia en sistemas biológicos, siendo un ejemplo de ello, la descarboxilación del piruvato en el ciclo de Krebs.

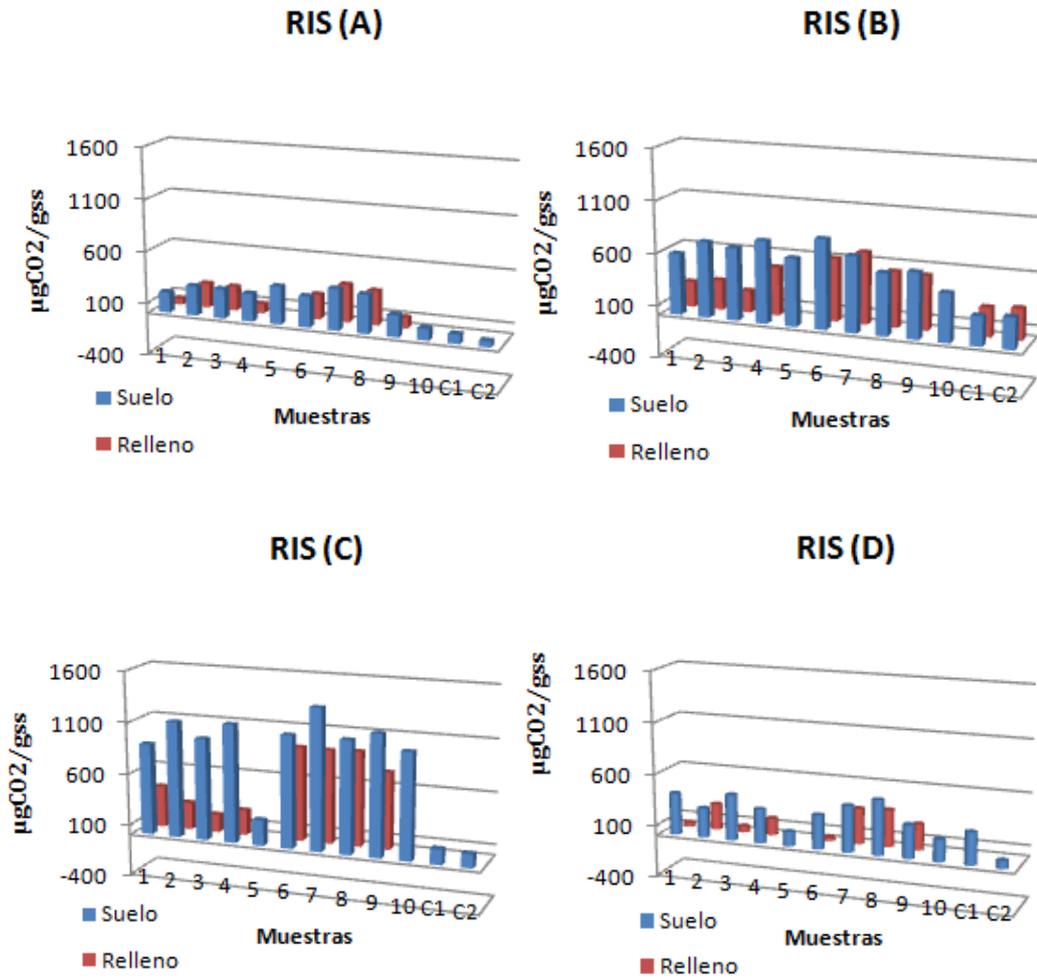
El motivo por el cual los carbohidratos presentan las menores respuestas, se debe a que, los azúcares en el catabolismo de los microorganismos son componentes fijos del metabolismo de los microorganismos del suelo, y por tanto su razón de degradación es fija. El azúcar en el catabolismo de los microorganismos del suelo tiene un valor establecido y está relacionada con la biomasa microbiana más que con el catabolismo de otros sustratos orgánicos. (Hopkins et al. 1994).

Además de económico y sencillo, el procedimiento resultó ser bastante sensible a las modificaciones realizadas con cada sustrato, lográndose una evaluación efectiva de la capacidad de respuesta directa de las comunidades microbianas de minerales a una variedad de sustratos, obteniéndose una diversidad apreciable de la diversidad de organismos capaces de tener un rápido crecimiento en sustratos en condiciones de cultivo para este suelo. Por lo general, menos del 1% de los microorganismos en los suelos pueden ser cultivados en placas de agar (Fzgrí et., 1977; Domsch et al., 1979; Gray, 1990), lo cual no representa una medida apreciable de la diversidad de las comunidades microbianas.

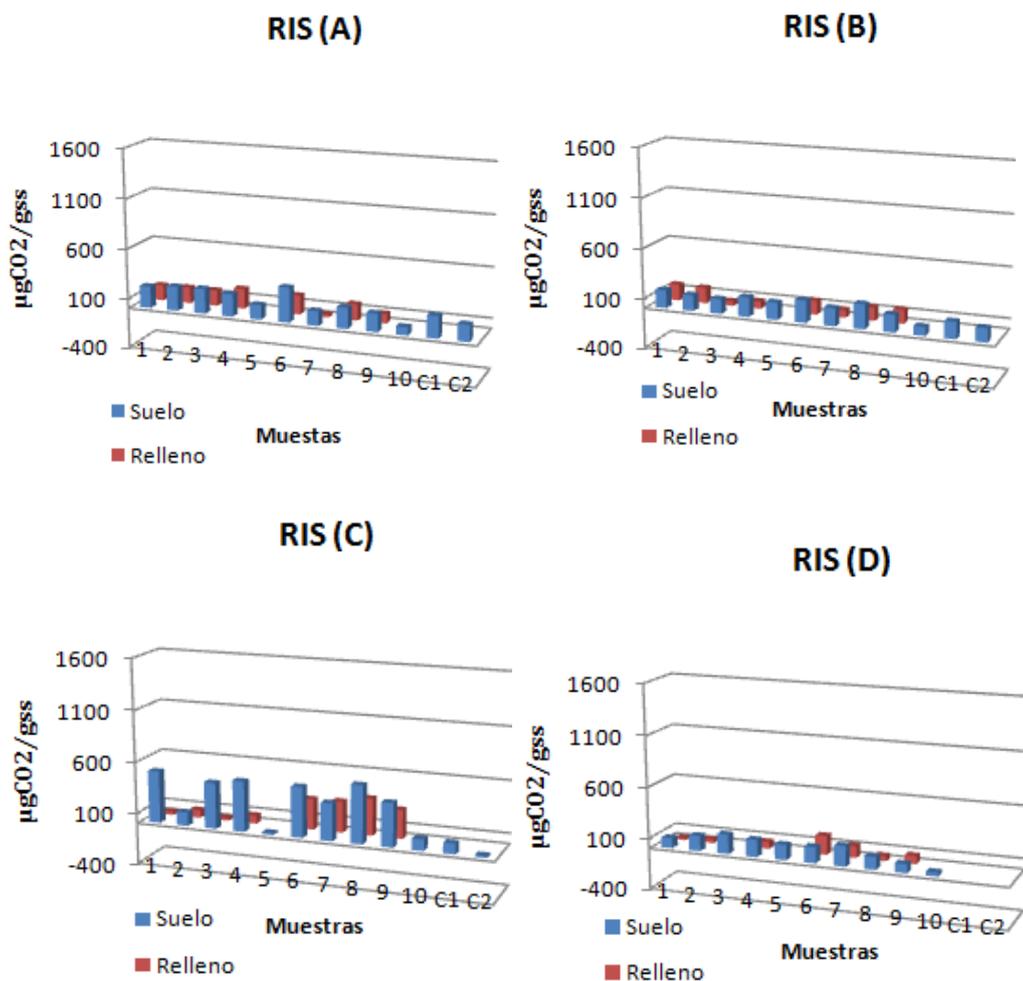
Por lo tanto, el suelo que perteneció al vertedero, ubicado en el Ereigüe, San Joaquín, Estado Carabobo presenta una gran diversidad catabólica, debido a que casi todos los sustratos orgánicos fueron degradados en su mayoría, de acuerdo a su necesidad de incorporación al metabolismo celular.

### 4.3 Determinación de los perfiles de respuesta de RIS

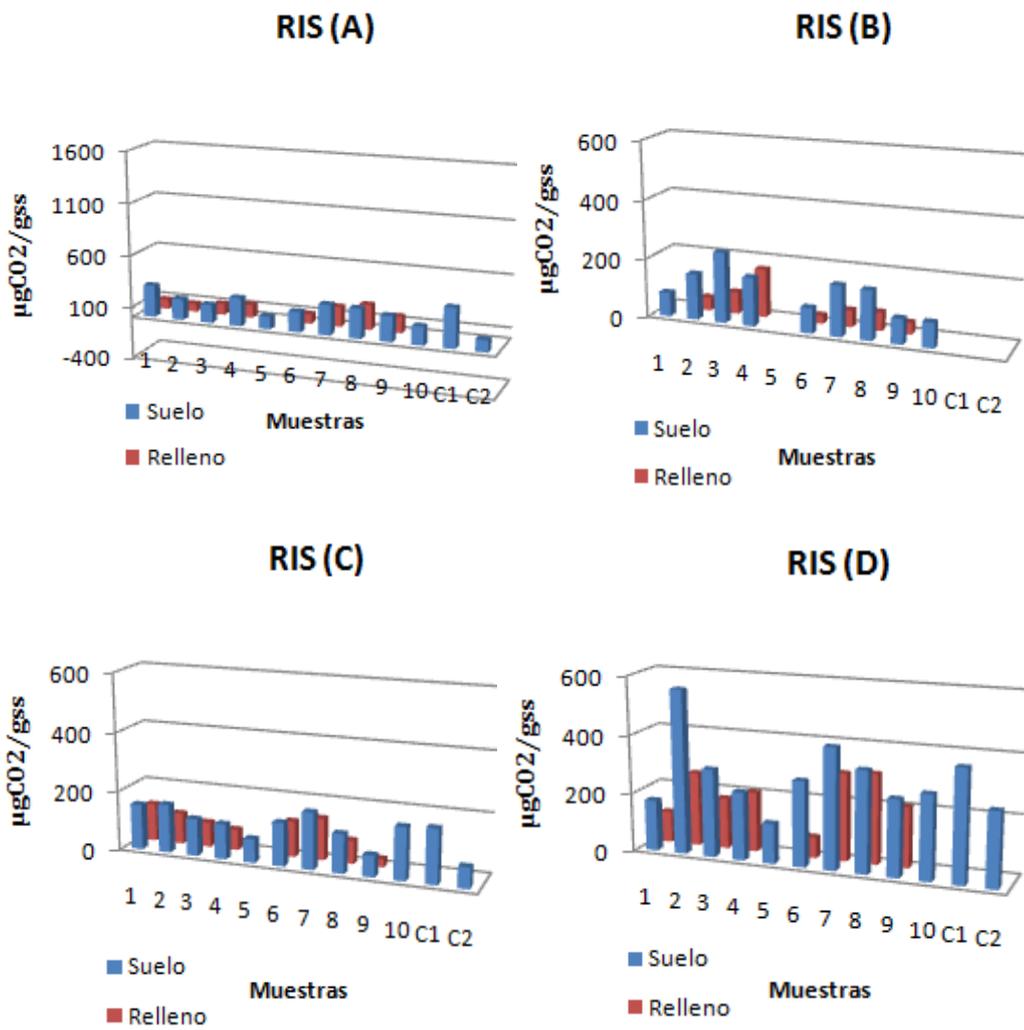
Los perfiles de respuesta de RIS para cada sustrato se observan en las figuras 2 a la 9.



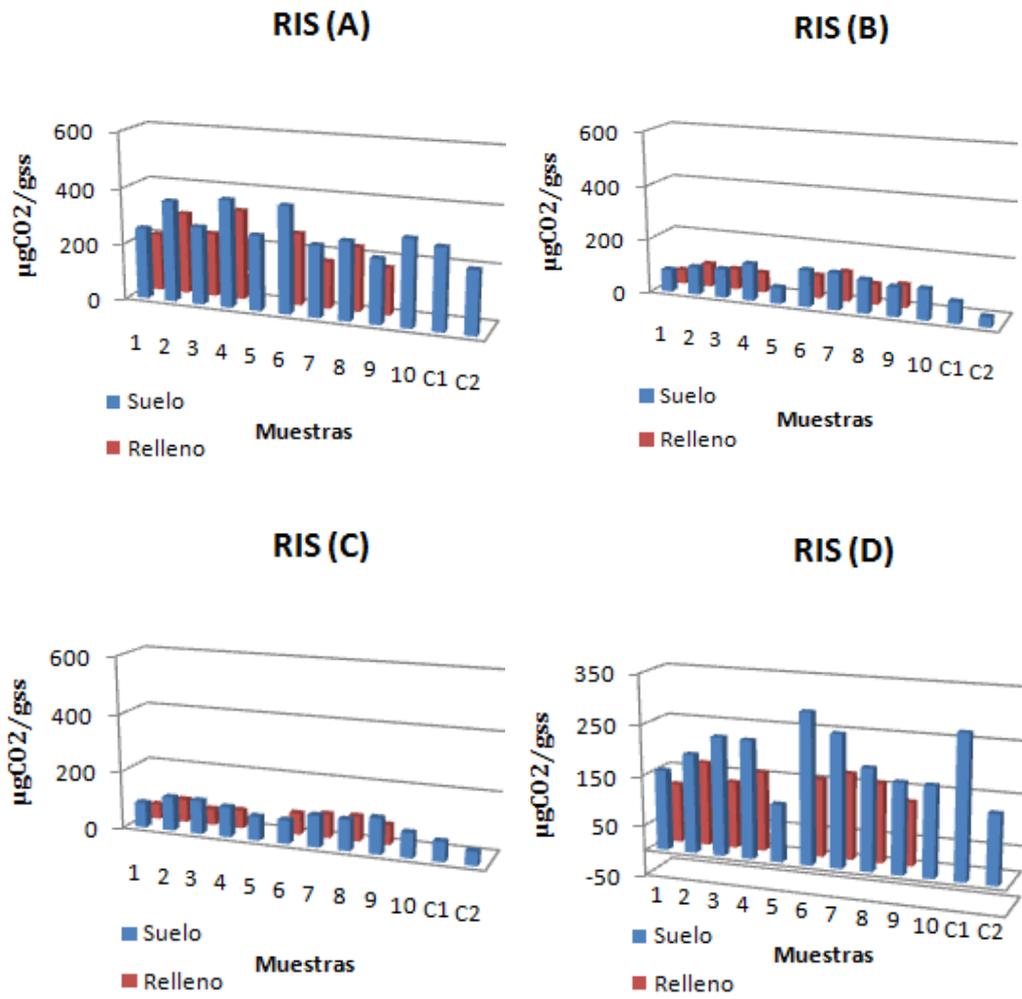
**Figura 2:** Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Ácido ascórbico, B: Ácido acético., C: Ácido cítrico, D: Ácido oxálico.



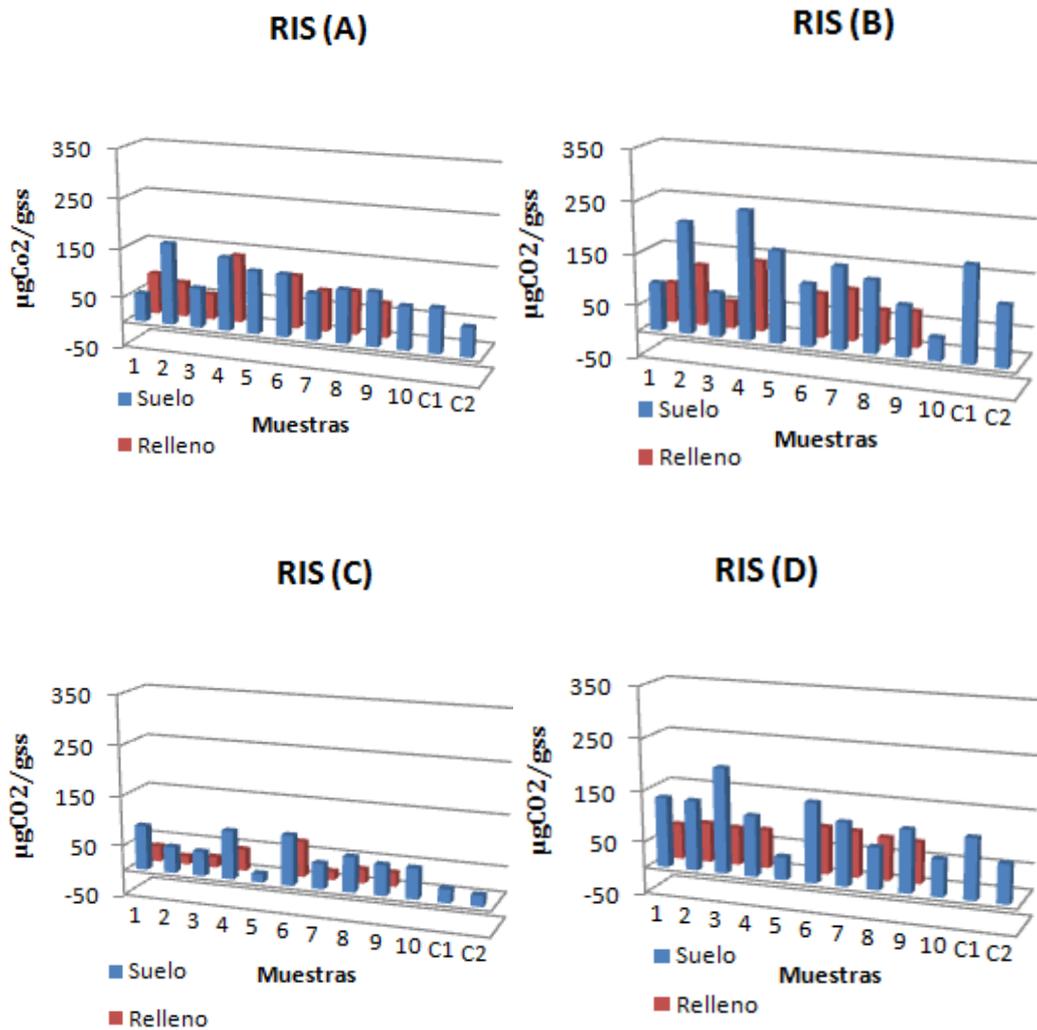
**Figura 3:** Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Ácido salicílico, B: Ácido ftálico, C: Ácido maléico, D: Tartrato sódico de potasio.



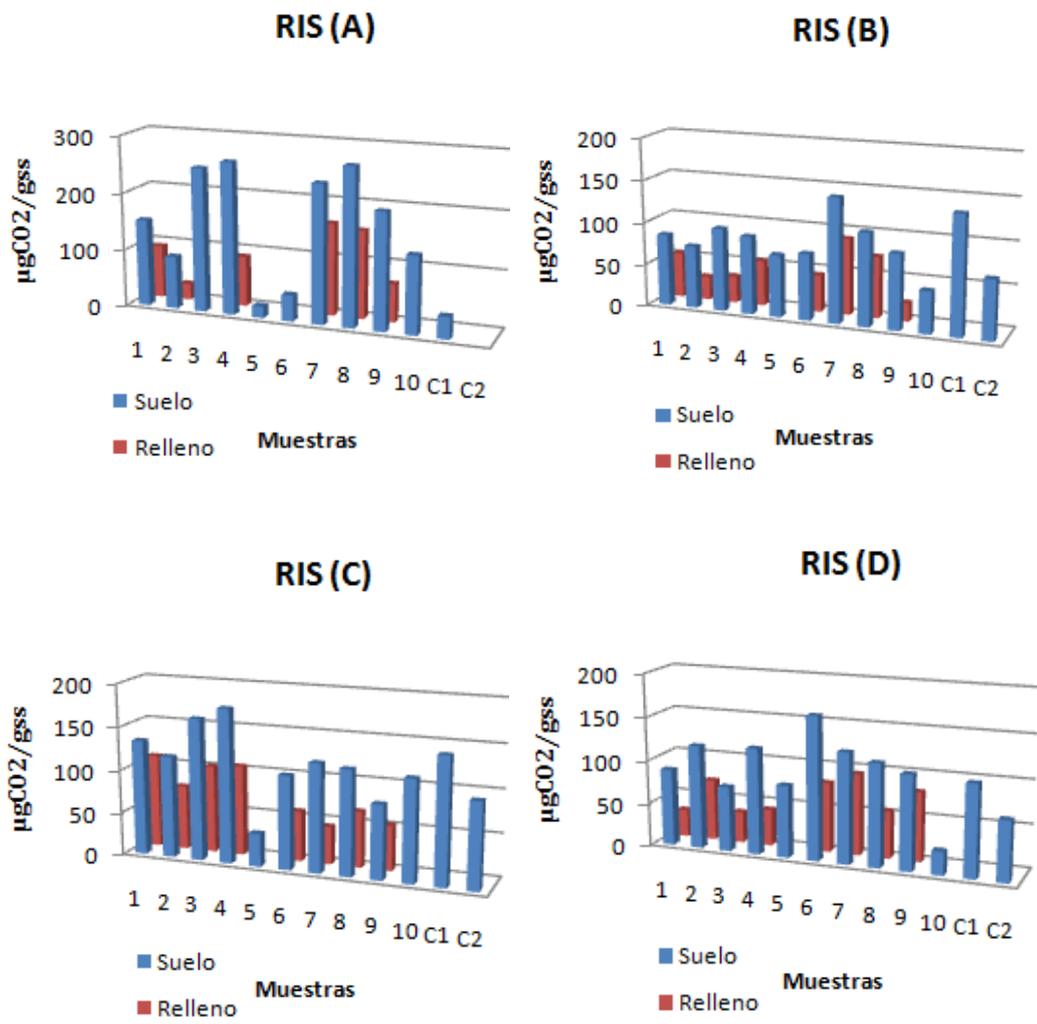
**Figura 4:** Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Fumarato de sodio, B: L-Tirosina, C: Histidina, D: Fenilalanina.



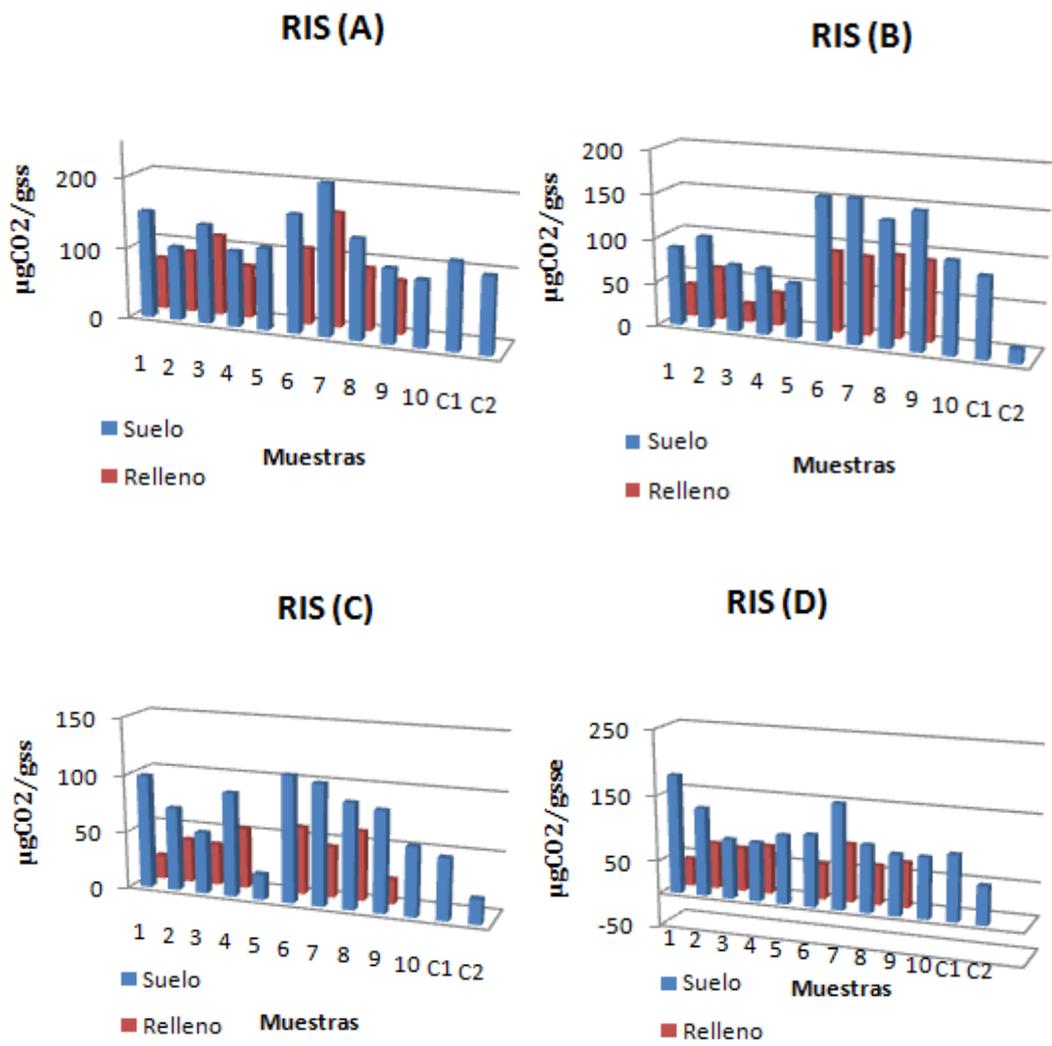
**Figura 5:** Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Arginina, B: Glicina, C: Triptofano, D: Butanol.



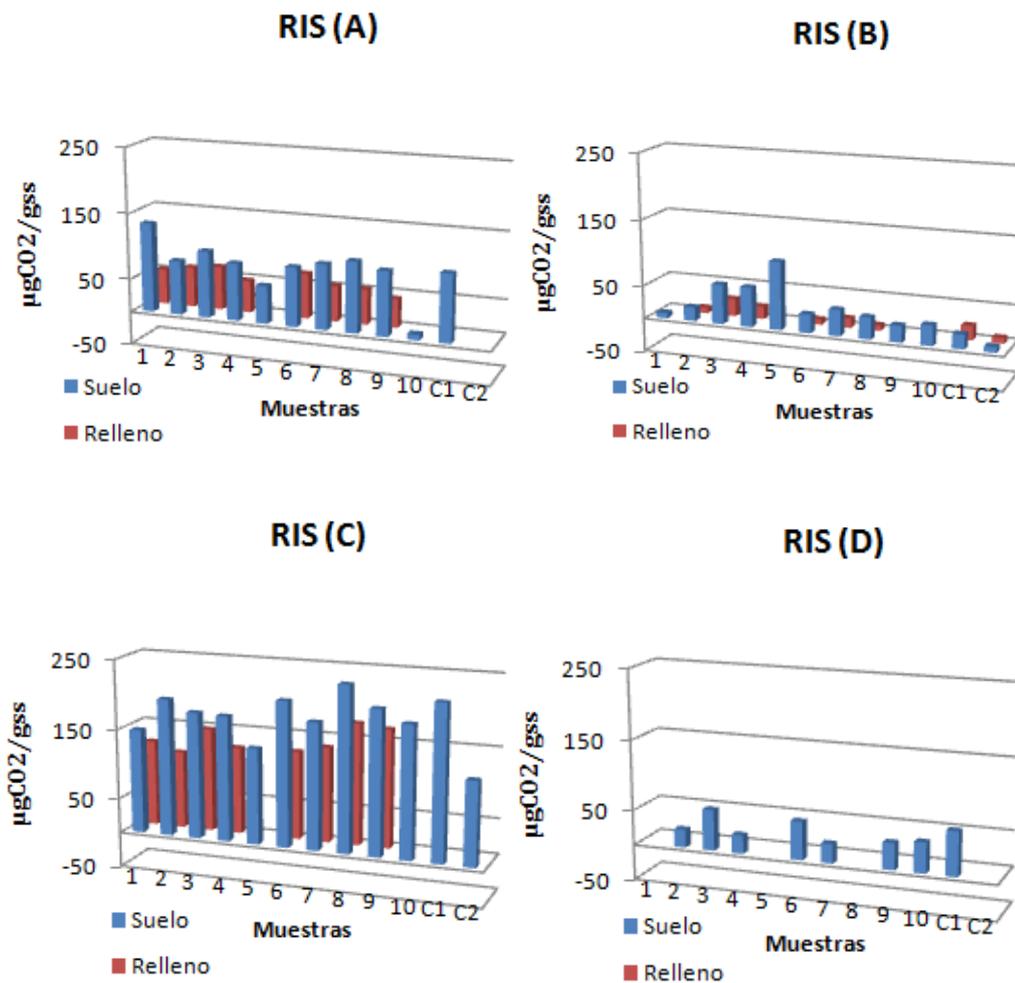
**Figura 6:** Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Etanol, B: Tris-Base, C: Etilenglicol, D: Metanol.



**Figura 7:** Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Urea, B: Anilina, C: Etanolamina, D: Trietanolamina.

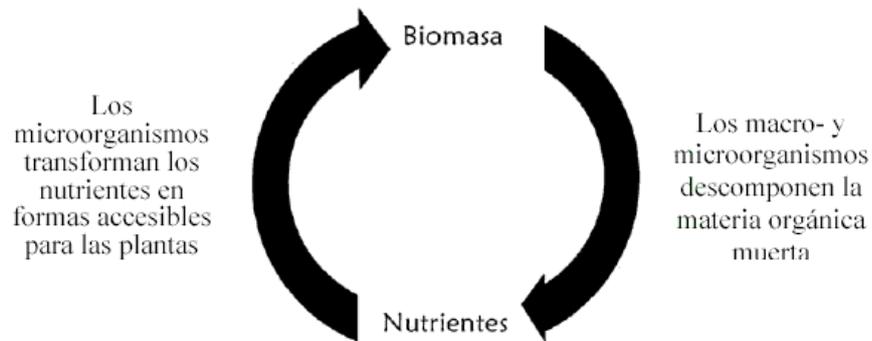


**Figura 8:** Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Dextrina, B: Agarosa, C: Almidón, D: Celulosa.



**Figura 9:** Perfil de respuesta de RIS para los sustratos: A: Glucosa, B: Sacarosa, C: Galactosa, D: Lactosa.

Sabemos que el suelo por ser una mezcla de material orgánico e inorgánico, macro y microorganismos, soporta las plantas, las cuales extraen agua y nutrientes de él (biomasa), y que estos nutrientes son devueltos nuevamente al suelo por la acción de sus organismos de acuerdo al ciclo mostrado en la figura 10.



**Figura 10:** Ciclo natural de nutrición del suelo (Harrison L, 2001).

Un suelo sano debe ser un suelo bien aireado, contener bastante materia orgánica y presentar alta actividad de macroorganismos (lombrices, hormigas), que hagan túneles bajo la tierra, llevando la materia orgánica hacia el fondo al excretar sus heces (Harrison L, 2001).

El suelo estudiado presentó un bajo contenido de COT (ver tabla 10) y no se evidenció la presencia de macroorganismos, por lo cual es un suelo poco fértil y de baja calidad, no presentó vegetación fresca, ni árboles frondosos, solo vegetación de paja seca en un ambiente árido. La presencia de plantas y árboles autóctonos u ornamentales son muy útiles para alojar distintos microorganismos biorreguladores. Factores físicos, como el clima, por si solos no pueden mantener las poblaciones microbianas en una situación de equilibrio (Harrison L, 2001).

Como puede observarse en los perfiles de respuesta de RIS, la tendencia general es que todas las muestras de suelo presenten mayor respiración que las muestras de relleno a pesar de que el suelo es el que está impactado directamente por los desechos urbanos.

Este terreno funcionó por 40 años como vertedero y su clausura se llevó a cabo hace 3 años, como es bien sabido, la materia orgánica tiene un periodo de degradación que va de 6 a 12 meses, por lo que la mayoría del material orgánico que allí se encontraba presente fue degradado hace bastante tiempo, quedando sólo los residuos de largo o escaso periodo de degradación, como: latas, vidrio, plásticos, etc. Este cambio afectó las propiedades físicas, químicas y biológicas

del suelo, alterando su condición natural y erosionándolo, con la consecuente pérdida de humedad y materia orgánica, además de la compactación que sufrió (al ser rellenado), dejándolo sin aireación. Sin materia orgánica ni aireación no puede producirse vegetación, por lo que el suelo quedó expuesto a la precipitación, haciendo que sus minerales se pierdan por lavado y lixiviación.

La respiración depende de muchos factores como la dinámica de la raíz, ciclos de nutrientes, la temperatura, la humedad del suelo, la calidad y cantidad del sustrato (Buschmann, 2000), la concentración de oxígeno, la biodisponibilidad de carbono (Pell et al., 2006), pH (Krebs, 2003), así como también de los usos de la tierra, cobertura vegetal, mineralogía y prácticas de manejo (Mora, 2006).

Aunque se demostró que existe gran diversidad catabólica, los microorganismos de este suelo poseen muy poca fuente de nutrientes, motivo por el cual, al ser impactados con los sustratos orgánicos, los degradaron en gran medida, inclusive más que los microorganismos presentes en las muestras de relleno.

Los controles también fueron degradados medianamente, presentando en casi todos los casos, el C1, mayor potencial de degradación que el C2, lo cual era de esperarse de acuerdo a los porcentajes de humedad relativa y COT, que presenta cada uno. Para el C1, los valores son: 5,30 y 2,93 respectivamente y para el C2: 1,20 y 0,52 respectivamente, (ver tabla 10), lo que indica una calidad mayor del C1, que del C2, por cual, los perfiles de respuesta de RIS presentaron esta tendencia.

Un suelo donde se depositó basura, además de sufrir una fuerte erosión, se modifica por la presencia de gases producidos anaeróbicamente, la humedad y disponibilidad de compuestos:  $N-NH_4$ , Fe, Mg, Zn y Cu, los cuales aumentan significativamente en el suelo con presencia de gases. Se cree que estos compuestos se producen principalmente por las condiciones reductoras del suelo y por la actividad anaeróbica de los microorganismos; el pH tiende a la neutralidad en suelos con gases por la presencia de ácidos orgánicos producidos durante la descomposición de los desechos enterrados. La tasa de degradación de los desechos está en función de la permeabilidad de la cubierta, la profundidad de la basura, la cantidad de lluvia, el contenido de humedad de los desechos, la compactación, el pH y el tiempo de funcionamiento del basurero (Flower et al., 1978).

El principal gas que se libera es el metano. Los factores que más afectan la producción de metano son el contenido de humedad, la temperatura y el pH; aunque ha sido reportado por varios autores que el factor definitivo es la humedad, siendo esta una variable directamente proporcional a la formación de

metano y que la temperatura óptima para la formación de metano es entre 30 y 37°C, con un pH cercano a la neutralidad.

Además de metano, en los terrenos donde funcionan vertederos, también se han encontrado otros gases que forman parte del biogás de los basureros, tales como: etano, propano, fosfina, ácido sulfhídrico, nitrógenos y óxidos nitrosos, todos ellos altamente tóxicos para la vegetación, así como para otras poblaciones de organismos del suelo, como los nematodos (Flower et al., 1978).

En los vertederos, también se producen incendios, bien de forma natural, por la temperatura y concentraciones de gases, o inducidos por el hombre, produciendo que suelos fértiles y ricos en materia orgánica queden destruidos e inutilizados, produciendo suelos pobres y enfermos, incapaces de sostener un buen rendimiento por si mismos; cuyo efecto, aunque no se considera irreversible, tarda un periodo de varias décadas para volver a recuperar su riqueza.

*“Un boleto usado, una lata aplastada, un vaso roto, una zapatilla vieja. Todo lo que no sirve va a parar a la basura. Pero allí no termina la historia. En realidad, allí degradarlos”*

#### **4.4 Análisis estadístico de los datos**

Para realizar el análisis por componentes principales, los datos fueron estandarizados (media =0 y varianza=1). El propósito de este análisis es obtener el menor número de combinaciones lineales para las 20 muestras (suelo, relleno y controles), que contengan la mayor variabilidad en la data. Fueron obtenidos dos componentes que describen el sistema satisfactoriamente con un 88,03% de variabilidad en la data original. El análisis estadístico se resume en la tabla18.

**Tabla 18:** ACP de los datos.

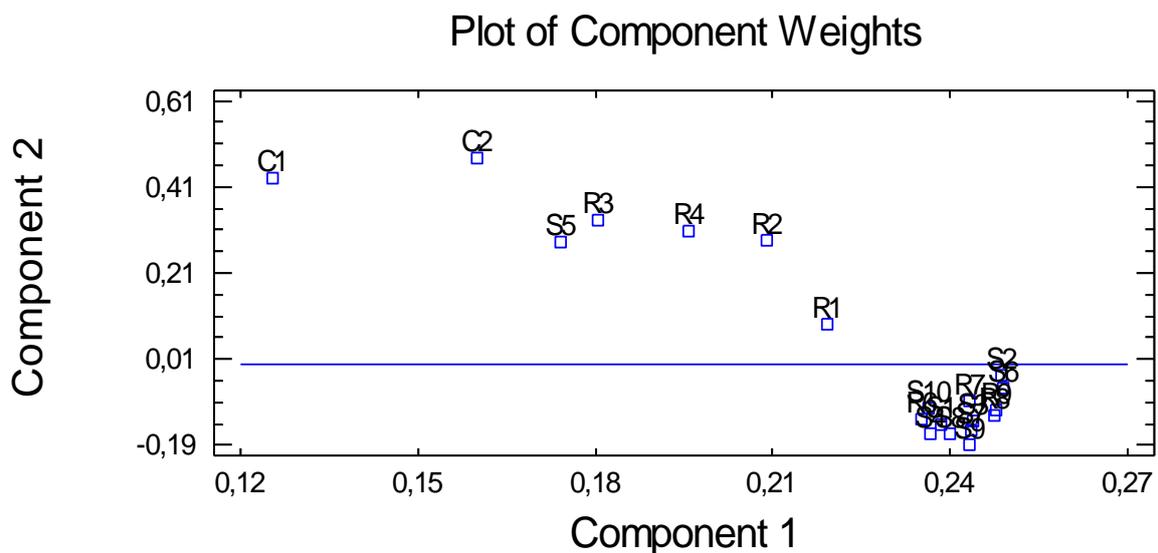
<b>N de componente</b>	<b>Autovalor</b>	<b>Varianza individual (%)</b>	<b>Varianza acumulativa (%)</b>
1	15,264	76,320	76,320
2	2,34184	11,709	88,029
3	0,659071	3,295	91,325
4	0,471903	2,360	93,684
5	0,384298	1,921	95,606
6	0,230979	1,155	96,761
7	0,173242	0,866	97,627
8	0,121882	0,609	98,236
9	0,109151	0,546	98,782
10	0,067287	0,336	99,118
11	0,0495944	0,248	99,366
12	0,0331075	0,166	99,532
13	0,0254529	0,127	99,659
14	0,0220272	0,110	99,769
15	0,0181643	0,091	99,860
16	0,0102954	0,051	99,912
17	0,00885483	0,044	99,956
18	0,00504144	0,025	99,981
19	0,00325352	0,016	99,997
20	0,000521981	0,003	100,000

Como se observa en la tabla 18, los primeros dos componentes presentan los máximos autovalores, los cuales contienen la varianza significativa de toda la data. Los componentes del 3 al 20, no representan contribución en esta, por lo cual no son tomados en cuenta. Los valores de los dos componentes obtenidos para cada una de las muestras se muestran en la tabla 19.

**Tabla 19:** Componentes principales extraídos de la data original.

Muestra	Componente 1	Componente 2
S1	0,23839	-0,141341
R1	0,219155	0,0898188
S2	0,248669	-0,02841
R2	0,209027	0,286261
S3	0,243816	-0,132395
R3	0,180402	0,333725
S4	0,236811	-0,161156
R4	0,195736	0,30896
S5	0,174044	0,282668
S6	0,249176	-0,0581022
R6	0,235188	-0,12827
S7	0,243742	-0,152999
R7	0,24339	-0,0866711
S8	0,23998	-0,164093
R8	0,247623	-0,118536
S9	0,243437	-0,186429
R9	0,247839	-0,10712
S10	0,236352	-0,103281
C1	0,125445	0,429333
C2	0,159988	0,475417

El comportamiento de estos componentes, se observa en la figura 11.



**Figura 11:** Comportamiento de los componentes obtenidos del ACP

La figura 11 muestra claramente que los componentes se encuentran delimitados por el valor del componente 2 para S2: -0,02841 (línea azul). Las muestras: R1, R2, R3, R4, S5, C1 Y C2 pertenecen al componente 1, y el resto: S1, S2, S3, S4, S6, R6, S7, R7, S8, R8, S9 Y S10, pertenecen al componente 2. Se nota claramente el comportamiento distinto de los controles, C1 y C2, lo cual corrobora los resultados obtenidos en los perfiles de respuesta de RIS e indica que son suelos cuya diversidad es diferente del resto de las muestras, las cuales están impactadas directamente por los contaminantes presentes en el vertedero. La muestra S5, se comporta similar a los controles, además de ser ésta la muestra que presenta humedad mayor (ver tabla 10), fue tomada muy cercana a la laguna, la cual por ser un sistema acuático es fuente natural de abundante material orgánico.

El carbono detrítico o materia orgánica muerta (MOM), representa un 50 % del total de flujo de carbono en las redes tróficas de sistemas acuáticos (Mann, 1988). La MOM, se divide en materia orgánica disuelta (MOD) y materia orgánica particulada (MOP). La MOD, debido a su pequeño tamaño es mayoritariamente consumida por microorganismos (hongos y bacterias principalmente, y diversos protozoos y componentes de la meiofauna). Estos organismos mueren y liberan otra vez la MO como MOD que es nuevamente asimilada. Este proceso domina los procesos de regeneración de nutrientes y reciclado de carbono (Wetzel, 1999).

La MOD puede a su vez subdividirse en dos categorías: la materia orgánica disuelta de carácter lábil (MODL) y la de carácter recalcitrante (MODR). La MODL, formada por MO de bajo peso molecular, es rápidamente asimilada y metabolizada por los organismos osmotróficos (hongos y bacterias). Sin embargo, la mayoría de MOD está en forma de MODR, formada por compuestos de alto peso molecular, en el que dominan distintos biopolímeros, como proteínas, polinucleótidos, lípidos, polisacáridos, y geopolímeros y donde hay una gran cantidad de componentes lignocelulósicos derivados de plantas superiores, y que llega a constituir de un 80 a 90% de la MOD. Estos últimos son altamente recalcitrantes y se componen mayoritariamente de compuestos húmicos, principalmente ácidos fúlvicos solubles (McKnight y Aiken, 1998).

Este conjunto de sustancias que conforman la MODR son metabolizadas dentro de los sistemas acuáticos de forma muy lenta, entre 0.5 y 1.0 % por día. (Wetzel, 1990), este proceso logra romper los compuestos orgánicos de gran tamaño en monómeros facilitando su absorción por los microorganismos.

Por lo tanto, los microorganismos de suelo cercano a la laguna (S5), cuentan con una fuente de alimentación constante, por lo cual S5 presenta un equilibrio biológico estable, lo cual corrobora que la calidad de los suelos controles C1 y C2 es buena, representando estos el comportamiento de un suelo sano, muestras que de hecho pertenecen a zonas aledañas del río ubicado en el “Parque El Ereigüe”.

Los microorganismos actúan de vínculo entre los procesos de producción primaria y secundaria (productores primarios y consumidores, respectivamente), propician la reintroducción de compuestos inorgánicos y producen biomasa microbiana susceptible de servir como alimento a organismos detritívoros. Por lo cual el proceso de descomposición, regula la dinámica de nutrientes del sistema, y actúa como vía de redistribución de la energía (Wetzel, 1992). Todo esto hace que tenga también importantes efectos en la estabilidad del ecosistema (Wetzel, 1999). El proceso de descomposición se observa en la figura 12.



**Figura 12:** Flujo energético del proceso de descomposición en el sistema de transferencias tróficas (energéticas y materiales), (Wetzel, 1999).

R3, R4, R2 y R1, son rellenos que presentan un moderado equilibrio biológico (en orden descendente); posiblemente porque en esta zona, se crían unas pocas reses, cuyos excrementos proveen algo de materia orgánica, la cual los microorganismos pueden aprovechar como fuente de nutrientes.

El resto de las muestras (S1, S2, S3, S4, S6, R6, S7, R7, S8, R8, S9 Y S10), representan el foco principal de contaminación del terreno estudiado tal como lo indica la figura 11; estos suelos poseen una escasa fuente de MO disponible para la nutrición de sus microorganismos, por lo que todas presentan un comportamiento similar.

Los resultados obtenidos en el análisis de ANOVA se muestran en la tabla 20.

**Tabla 20:** P valores obtenidos en el análisis de ANOVA.

COT		Humedad relativa	
RIS	P	RIS	P
Ac. Cítrico	0,0039	Acido maleico	0,0069
Fumarato de sodio	0,0000	Tartrato sódico de potasio	0,0242
Galactosa	0,0072	Ac. oxálico	0,0078
Etanolamina	0,0491	Sacarosa	0,0448
-	-	Dextrina	0,0107
-	-	Agarosa	0,0077
-	-	Almidón	0,0021
-	-	Etanolamina	0,0376
-	-	Urea	0,0676

De acuerdo a los resultados mostrados en la tabla 20, las correlaciones entre los sustratos y el COT se efectuaron de la siguiente forma:

Hubo correlación sólo para el ácido cítrico, con un  $P_{cm}=0,0001<0,01$  y un nivel de confianza de 99%. De los carbohidratos, sólo la galactosa se correlacionó significativamente, mostrando un  $P_{cm}=0,0072<0,01$ , con un nivel de confianza de 99%. La etanolamina se correlacionó significativamente, con un  $P_{cm}=0,0491<0,05$ , a un nivel de confianza de 95%. Alcoholes, polímeros, aminas y aminoácidos, no mostraron correlación significativa, mostrando un  $P_{cm}>0,1$ .

Con respecto a la humedad relativa, ácido maleico, tartrato sódico de potasio y ácido oxálico, mostraron correlación significativa, con un  $P_{cm}=0,0134<0,05$ , a un nivel de confianza de 95%. De los carbohidratos, solo la sacarosa se correlacionó significativamente, mostrando un  $P_{cm}=0,0448<0,05$ , a un nivel de confianza de 95%. Para los polímeros dextrina, agarosa y almidón, se obtuvo correlación significativa con un  $P_{cm}=0,030<0,05$ , a un nivel de confianza de 95%. De las aminas y amidas, la etanolamina y la urea, mostraron correlación significativa, con un  $P_{cm}=0,0761<0,10$ , y un nivel de confianza de 90%. Alcoholes y aminoácidos no se correlacionaron significativamente con un  $P_{cm}>0,1$ .

Se observa una mayor correlación de la RIS con la humedad que con el COT. Esto es así, debido a que la humedad es uno de los factores más importantes que regula la actividad y composición de la comunidad biótica de un suelo. Afecta directamente a los microorganismos determinando el trabajo que

debe realizar un organismo para mantener un nivel adecuado de agua en su protoplasma y afecta también la cantidad de aire de que disponen los organismos del suelo, puesto que el agua y el aire ocupan competitivamente los poros de este (Sagardoy M. et al., 2004).

Los microorganismos necesitan el carbono como fuente energética (oxidan el C y lo devuelven a la atmosfera en forma de CO<sub>2</sub>) y el nitrógeno, el cual incorporan a su protoplasma. Ya fue discutida la baja cantidad de COT que presenta este suelo en la caracterización fisicoquímica y que además carece de minerales orgánicos para su nutrición, por lo que las correlaciones entre la RIS y este parámetro son menores.

## CAPITULO V: Conclusiones y recomendaciones

### 5.1 Conclusiones

- El suelo que perteneció al vertedero, ubicado en el Ereigüe, San Joaquín, Estado Carabobo presenta una gran diversidad catabólica.
- Los ácidos carboxílicos, son los sustratos que se degradan más fácilmente, debido a que ocurre una descarboxilación oxidativa. Este proceso ocurre con frecuencia en sistemas biológicos.
- Los carbohidratos son los sustratos que presentan las menores respuestas, debido a que, los azúcares son componentes fijos del catabolismo de los microorganismos del suelo, y por tanto su razón de degradación es fija.
- La aplicación de la técnica de RIS, es un procedimiento bastante sensible a las modificaciones realizadas con cada sustrato que permite obtener una evaluación efectiva de la capacidad de respuesta directa de las comunidades microbianas de minerales a una variedad de sustratos.
- Los perfiles de respuesta de RIS, mostraron que el suelo contaminado presenta mayor respiración que el relleno para todas las muestras estudiadas.
- La mayoría de la materia orgánica que se hallaba en el suelo fue degradada, quedando sólo los residuos de difícil o escasa degradación, afectándose las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.
- Los microorganismos de este suelo poseen pocas fuentes de nutrientes, motivo por el cual, al ser impactados con los sustratos orgánicos, los degradaron en gran medida, presentando mayor potencial de degradación el suelo, que el relleno.
- Fueron obtenidos dos componentes, que describen el sistema, con un 88,03% de variabilidad en la data original. Las muestras: R1, R2, R3, R4, S5,

C1 Y C2 pertenecen al componente 1, y el resto: S1, S2, S3, S4, S6, R6, S7, R7, S8, R8, S9 Y S10, pertenecen al componente 2.

- Los microorganismos de suelo cercano a la laguna (S5), por ser esta un sistema acuífero, cuentan con una fuente de alimentación constante. Por lo tanto S5 presenta un equilibrio biológico estable, el cual corrobora la buena calidad de los suelos controles C1 y C2.
- Las muestras S1, S2, S3, S4, S6, R6, S7, R7, S8, R8, S9 Y S10, representan el foco de contaminación principal del terreno, presentando todas estas muestras un comportamiento similar.
- El COT se correlaciono con la RIS solo para el acido cítrico, la galactosa y etanolamina. Los demás sustratos no mostraron correlación significativa.
- La Humedad relativa se correlaciono con la RIS para acido maleico, tartrato sódico de potasio, acido oxálico, sacarosa, dextrina, agarosa, almidón, etanolamina, urea. Los demás sustratos no mostraron correlación significativa.

## **5.2 Recomendaciones**

1. Se recomienda aplicar un tipo de muestreo diferente, donde con un pequeño número de muestras se obtenga una buena representatividad del terreno y reproducibilidad de los valores, como por ejemplo, el muestreo al azar estratificado, donde el terreno se divide en secciones, de las cuales se toma un número apreciable de submuestras y luego se forman muestras compuestas.
2. Utilizar los resultados de esta investigación, junto a otros obtenidos mediante distintas metodologías que sirvan para determinar bioindicadores de calidad, para complementar el estudio de la salud del suelo que perteneció al vertedero del Ereigüe, San Joaquín, estado Carabobo

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- **Anderson J.** (1982). *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.
- **Arshad M. y Coen G.** (1992). Characterization of soil quality: Physical and chemical criteria. *American J. of Alternative Agriculture.*
- **Bernier V. R.** (1990). Técnicas de muestreo de suelo para el análisis de fertilidad. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Serie Remehue N°71.
- **Bossio D, Scow, K, Gunapala N & Graham K** (1998). Determinants of soil microbial communities: effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. *Microbial Ecology.*
- **Bradley P., Schipper L., Sparling G., Vojvodic-Vukovic M.** (1999). Decreases in Organic C Reserves in Soils Can Reduce the Catabolic Diversity of Soil Microbial Communities. Ecosystems Research Group, Department of Botany, The University of Western Australia, Nedlands, Australia.
- **Bravo S.** (2000). Aspectos Básicos de Química de Suelos. Ediciones de la Universidad Ezequiel Zamora, Colección Ciencia y Tecnología. Barinas, Venezuela.
- **Calvo F., Zamorano M., Moreno B.** (2006). Metodología de Diagnostico Ambiental de Vertederos como Herramienta en la Planificación Ambiental. Universidad de Granada.
- **Carrasco L.** (2004). Métodos de Estudio de los Cambios Estructurales en Ecosistemas Microbianos Edáficos y su Aplicación Ambiental. *Ciencia al Día Internacional.* Numero 2, Volumen 5.

- **Carter M, Gregorich E, Anderson D, Doran J, Janzen H y Pierce F. (1997).** Concepts of soil quality and their significance. En *Soil quality for crop production and ecosystem health*.
- **Degens B., Harrys J. (1997).** Development of a Physiological Approach to Measuring the Catabolic Diversity of Soil Microbial Communities. Department of Environmental Sciences, University of East London, Romford Road, London, U.K.
- **Díaz. D. (2000).** VITALIS. Organización Nacional no Gubernamental, disponible en <http://www.vitalis.net/quienessomos.htm>. (Consultado el 24 de Enero de 2011).
- **Faithfull. Nigel T. (2005).** Métodos de Análisis Químico Agrícola. Manual Práctico. Ed. Acribia, Madrid (1990).
- **Ferreiro A. et al., UNCo. (2003).** Estructura, Propiedades, y Comportamiento del Cuerpo Suelo. Cátedra de Edafología. Facultad de Ciencias Agrarias. UNCo. Capítulo XII.
- **Frostergård, Å.; Bååth, E. and Tunlid, A. (1993)** Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biol. Biochem.*
- **García N, A. (2005)** Propiedades del suelo. Propiedades fisicoquímicas. Reacción del suelo. Edafología. Ciencias Ambientales. Universidad de Extremadura, facultad de ciencias, área de edafología y química agrícola. Disponible en <http://www.unex.es/edafo/ECAP/ECAL5PFQReaccion.htm> (Consultado el 10 de Septiembre de 2010).
- **Gómez D. (2004).** Recuperación de espacios degradados. Grupo Mundi Prensa: Madrid, Barcelona, México.

- **Gonzales N.** (2009). Respiración de Suelo pos Sustrato Inducido en un Bosque Siempreverde Montano Bajo y en una Cronosecuencia de Pastizales en la Provincia de Zamora Chinchipe. Universidad católica de Loja, Ecuador.
- **Guido L, Vega C, Hernandez F., Vasquez S, Trujillo T, Ramirez F y Dendoven L.** (2002). Actividad Microbiana en Suelos. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav.
- **Gregorich E, Carter M, Angers D, Monreal C. y Ellert B.** (1994). Towards a minimum data set to asses soil organic matter quality in agricultural soils. *Canadian J. of Soil Science*.
- **Haldeman D, Amy P, Ringelberg D, White D, Garen R, Ghiorse W** (1995). Microbiological growth and resuscitation alter community structure after perturbation. *FEMS Microbiology Ecology*.
- **Harrison L.** (2001). Dinámica de un suelo sano y vivo. Australia.
- **Insam H & Öhlinger R** (1995). Ecophysiological Parameters. En: Schinner, F, Öhlinger, R, Kandeler, E & Margesin, R (eds.), *Methods in Soil Biology*, Springer Verlag, Berlin, Alemania.
- **Jackson, M. L.** (1970) Análisis químico de suelos. 2ª Ed. Ediciones Omega, S. A. Barcelona. España. Pp. 662.
- **Jaramillo D.** (2002). Introducción a la Ciencia del Suelo. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias. Medellín.
- **Karlen D, Wollenhaupt N, Erbach D, Berry E., Swan J, Each N. y Jordahl J** (1994). Crop residue effects on soil quality following 10-years of no-till corn. *Soil Tillage Research*.

- **Krebs L.** (2003). Respiración del suelo como herramienta para evaluar calidad de fondos en acuicultura. Desarrollo de un protocolo estándar para medir dióxido de carbono. Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar.
- **Larson W. y Pierce F** (1991). Conservation and Enhancement of Soil Quality. In Evaluation for sustainable land management in the developing world. En *Proc. of the Int. Work-shop on Evaluation for Sustainable Land Management in the Developing World, Chiang Rai*.
- **Ley sobre Sustancias, Materiales y Desechos Peligrosos.** Extraordinario de fecha 13 de noviembre de 2001. Gaceta Oficial N° 5.554. Asamblea Nacional de la Republica Bolivariana de Venezuela.
- **Ley de Residuos y Desechos Sólidos.** Fecha de aprobación de la 2º Discusión: 10/08/2004. Fecha de Sanción: 21/10/2004. Gaceta Oficial Número: 38.068 del 18-11-04. Asamblea Nacional de la Republica Bolivariana de Venezuela.
- **Matsushita, M.; Ito, S.; Meguro, S. and Kawachi, S.** (2007) Structure of soil microbial communities in sugi plantations and seminatural broad-leaved forests with different land-use history.
- **Macías F.** (1993). Contaminación de suelos: algunos hechos y perspectivas. En: Ortiz Silla, R., (Ed.), Problemática Geoambiental y Desarrollo, Tomo I. V Reunión Nacional de Geología. Ambiental y Ordenación del Territorio. Murcia.
- **Mara D., Valos P., Romero L.** (1999). Formación Cívica y Ética 2. Fondo de Cultura Económica. USA. p 230.
- **McKnight, D. y Aiken, G.** (1998). Sources and age of aquatic humus. En Aquatic Humic Substances. Hessen, D.O. y Tranvik. L.J. (Eds). Springer-Verlag. Berlin Heidelberg.
- **Maturana E** (2003). Revista Enlace, Ediciones N°59 y 60. CIAL.

- **N. W. Hudson (1997).** Medición sobre el terreno de la erosión del suelo y la escorrentía. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).Roma.
- **Olarte. L. I. (1979).** Métodos analíticos del Laboratorio de suelos 4ta Ed. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá, Colombia. p 664.
- **Parr J, Papendick R, Hornick S. y Meyer R. (1992).** Soil quality: attributes and relationships to alternative and sustainable agriculture. *American J. of Alternative Agriculture*.
- **Paz J. (1980)** Propiedades Bioquímicas de Suelos de Prado de Galicia. Universidad de Santiago de Compostela USC. Pp. 35-37.
- **Pérez-Batallón, P.; Ouro, G., Merino, A. y Macías F. (1998)** Descomposición de materia orgánica, biomasa microbiana y emisión de CO<sub>2</sub> en un suelo forestal bajo diferentes manejos selvícolas. *Edafología*, **5**: Pp. 83-94.
- **Porta J., López M., Poch R. (2008).** Introducción a la Edafología. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid-España. Pp 263-265.
- **Roberts, T. L. and Henry, J. L. (2000)** El muestreo de suelos: Los beneficios de un buen trabajo. *Informaciones Agronómicas del Cono Sur*.
- **Rodríguez O. J. (1993).** Métodos de muestreo. Casos prácticos. Manual de La Universidad de Málaga-España. Madrid: CIS.
- **Romig D, Garlynd M, Harris R y McSweeney, K. (1995).** How farmers assess soil health and quality. *J. Soil Water Conservation*.
- **Sagardoy M., Mandolesi M. (2004).** Biología del Suelo. Universidad Nacional de Sur (UNS), Departamento de Agronomía.

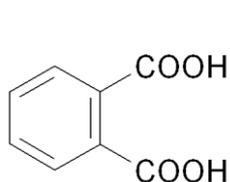
- **Salafranca L, Sierra V, Nuñez M, Solanas E y Leiva D.** (2005) Análisis estadístico mediante aplicaciones informáticas: SPSS, statgraphics, minitab y exel. Ediciones de la Universidad de Barcelona.
- **Singer M. y Ewing S.** (2000). Soil Quality. *En Handbook of Soil Science.* (ed. Sumner, M. E.). CRC Press, Boca Raton, Florida.
- **Schinner, F Öhlinger R, Kandeler E & Margesin R** (1996). *Methods in Soil Biology.* Springer-Vellag, Berlin Heidelberg, Alemania.
- **Stenberg B** (1997). Chemical and biological properties of agricultural soil. PhD Thesis/Dissertation University of Uppsala, Sweden.
- **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.
- **Tauche M.** (1995). Utilización de una cepa microbiana heterogénea aeróbica en la depuración de acuíferos en aéreas del vertedero de San Joaquín, Estado Carabobo (Venezuela). Instituto Universitario de Tecnología Valencia.
- **Tiedje, J, A sumin S, Nisslein K, Marsh TL & Flynn S** (1999). Opening the black box of soil microbial diversity. *Applied Soil Ecology.*
- **Turco, R, Kennedy, A, Jawson, M,** (1994). Microbial indicators of soil quality. En: Doran, JW, Coleman, DC, Bezdicek, DF & Stewart, BA (eds.), *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment,* American Society of Agronomy, Madison, EEUU.
- **USEPA, United States Environmental Protection Agency,** (Fundación 2/12/1970). Administradora: Lisa P Jackson. Sitio web: [epa.gov](http://epa.gov).

- **Wetzel R.** (1990). Land-water interfaces. Metabolic and limnological regulators. Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie.
- **Wetzel R.** (1992). Gradient-dominated ecosystems: sources and regulatory functions of dissolved organic matter in freshwater ecosystems. Hydrobiologia.
- **Wetzel R.** (1999). Biodiversity and shifting energetic stability within freshwater ecosystems. Archiv für Hydrobiologie. Spec. Issues Advanc. Limnol.
- **Widmer, F, Flieábch, A, Laczk E, Schulze-Aurich, J & Zeyer, J** (2001). Assessing soil biological characteristics: a comparison of bulk soil community DNA, PLFA and biolog analyses. Soil Biology and Biochemistry.

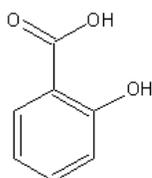


**APÉNDICE B:** Estructura química de los 32 sustratos utilizados en la RIS.

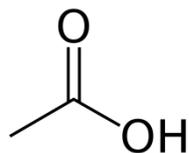
**Ácidos carboxílicos y sales de éstos:**



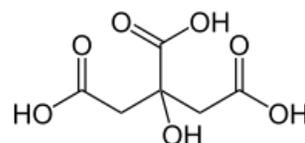
Ácido ftálico



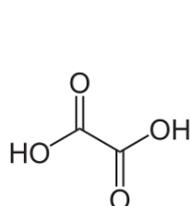
Ácido salicílico



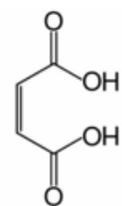
Ácido acético



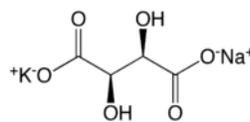
Ácido cítrico



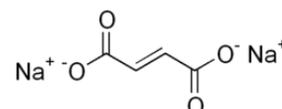
Ácido oxálico



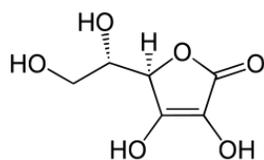
Ácido maleico



Tartrato sódico  
de potasio

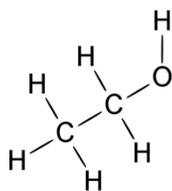


Fumarato de sódio

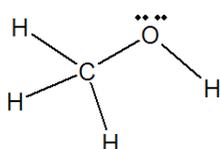


Ácido ascórbico

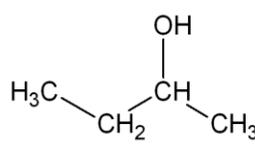
**Alcoholes:**



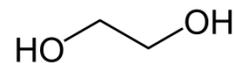
Etanol



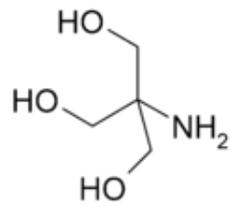
Metanol



Butanol

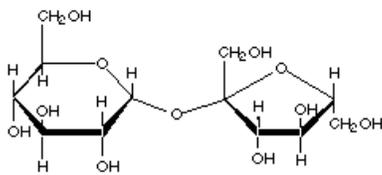


Etilenglicol

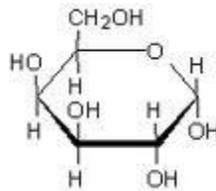


Tri-Base (Trishidroximetilaminometano)

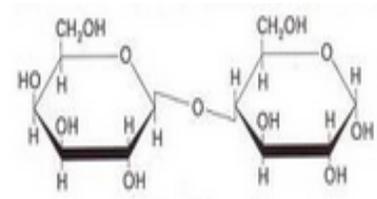
**Carbohidratos:**



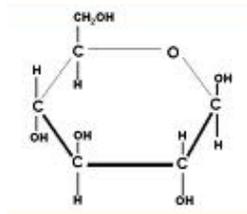
Sacarosa



Galactosa

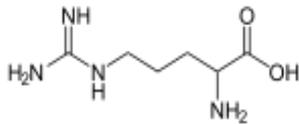


Lactosa

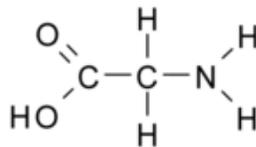


Glucosa

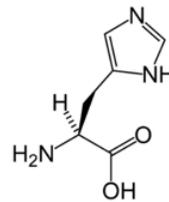
**Aminoácidos:**



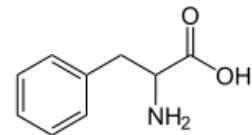
Arginina



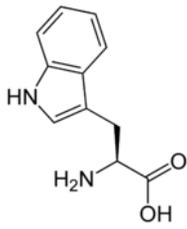
Glicina



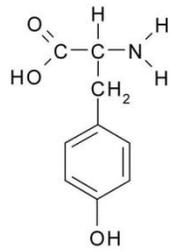
Histidina



Fenilalanina

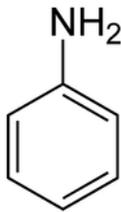


Triptofano

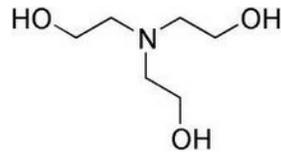


L-Tirosina

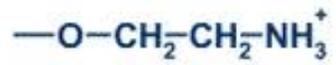
**Aminas:**



Anilina

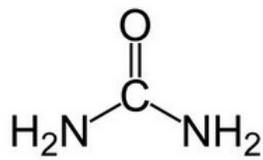


Trietanolamina



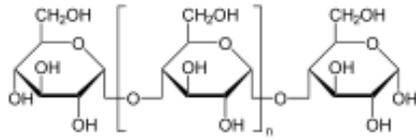
Etanolamina

**Amidas:**

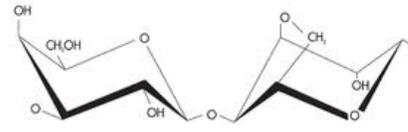


Urea

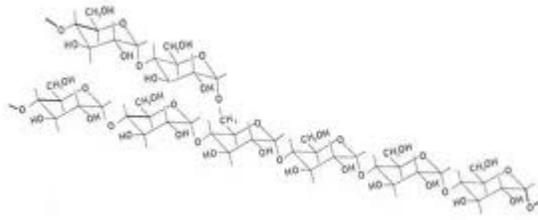
**Polímeros**



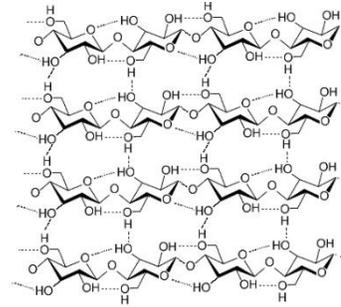
Dextrina



Agarosa



Almidón



Celulosa

**APÉNDICE C:** Generalización de los perfiles de respuesta de RIS por grupos funcionales de sustratos.

