



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

ACTIVIDAD ARILSULFATASA Y AZUFRE EN SUELO Y TEJIDO FOLIAR EN  
CUATRO ESPECIES DE CONÍFERAS EN BOSQUE TEMPLADO

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**B I Ó L O G A**

**PRESENTA:**  
BALTAZAR ARENAS MARGARITA

DIRECTOR DE TESIS: DR. GERARDO CRUZ FLORES  
FES Zaragoza, UNAM



Octubre del 2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A MIS PADRES

Ramón Baltazar Cortes  
Zenaida Arenas Campos

Gracias

## DEDICATORIA

A Dios por su ayuda en los momentos más difíciles de mi vida.

A mi querido padre Ramón Baltazar Cortes.  
Por su acertada y rica herencia es su ejemplo  
Mi padre merece hoy, mañana y siempre todos mis honores, mi cariño y respeto.

A mi madre Zenaida Arenas Campos  
Recibe esta modesta dedicación como un homenaje a tu grandeza  
Tus brazos siempre se abren cuando necesito un abrazo. Tu corazón sabe comprender  
cuándo necesito una amiga. Tus ojos sensibles se endurecen cuando necesito una  
lección. Tu fuerza y tu amor me han dirigido por la vida y me han dado las alas que  
necesitaba para volar

A mis hermanos Guadalupe, Ricardo, Claudia por que con su ejemplo por su inmenso  
cariño, muestras de afecto y darme animos para alcanzar esta meta tan importante en  
mi carrera profesional.

A mis hermanas pequeñas Susana y Ofelia por

A mis queridos sobrinos Citlali, Cesar y Ramón por llenarme de felicidad con su llegada  
y sus ocurrencias los quiero mucho.

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, institución de la que estoy muy orgullosa de haber pertenecido.

Estoy agradecida con la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser parte de ella y por que soy orgullosamente UNAM.

Al Dr. Gerardo Cruz Flores, por su valioso apoyo, orientación, confianza y amistad. Gracias por el tiempo dedicado a la realización de este trabajo de investigación.

A los miembros del jurado: Biól. Elvia García Santos, Dr. Gerardo Cruz Flores, Dra. Socorro Orozco Almanza, Biól. Rubén Zulbarán Rosales y al Biól. Juan Manuel Valderrábano Gómez, por su ayuda y valiosas observaciones en esta investigación.

Gracias Biól. María de los Ángeles Galván Villanueva por el tiempo y apoyo brindado de forma totalmente altruista muchísimas gracias.

También merecen un reconocimiento especial mis amigos y compañeros de laboratorio Beyibet, Alma, Paco, Enriqueta, Nancy, Cintia, Mario, Evelyn, Enrique, Cohetero y Miguel gracias por su apoyo en campo y en laboratorio.

A mis amigas Verito, Alejandra, Maribel, Elia, Norma, Vero Juárez, ya que ni el tiempo ni la distancia han logrado romper los lazos de amistad que siempre nos han unido gracias por ser mis amigas.

A mis amigos, Mario, Miguel, Luis, Rene, Cristian por su amistad y su apoyo gracias.

Gracias a todos lo que de alguna manera me brindaron su ayuda para alcanzar esta meta.

## ÍNDICE TEMÁTICO

	PÁGINA
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Importancia de los bosques templados	3
2.2 EL CICLO BIOGEOQUÍMICO	4
2.2.1 Las ganancias y salidas de nutrimentos	6
2.3. CONCEPTO DE SUELO	7
2.3.1. Funciones edáficas vitales	8
2.4. SUELO FORESTAL	8
2.5. CALIDAD DEL SUELO	8
2.5.1 Indicadores de la calidad del suelo	9
2.6. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DEL SUELO	11
2.6.1 Propiedades bioquímicas	11
2.7. ENZIMAS DEL SUELO	13
2.8. ARILSULFATASA	15
2.9. AZUFRE	17
2.9.1. El azufre en el suelo	17
2.9.2. Azufre en las plantas	18
2.9.3. Funciones de azufre en las plantas	18
2.9.4. Azufre en el sistema suelo – planta	18
3. NUTRICIÓN DE LAS PLANTAS	21
3.1. Elementos esenciales	21
3.1.1. Nutrientes en tejido foliar	24
3.1.2. Análisis foliar	25

---

3.1.3. Usos del análisis foliar	26
3.1.4. Nutrientes acumulados en la hojarasca	26
3.1.5. Nitrógeno	27
3.1.6. Fósforo	28
4. JUSTIFICACIÓN	29
5. OBJETIVOS	30
6. HIPÓTESIS	31
7. ÁREA DE ESTUDIO	32
7.1. Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl	32
7.1.1. Edafología	33
7.1.2. Vegetación	34
7.1.3. Bosques	35
7.1.4. Zacatonal y pastizales alpino y subalpino	36
8. MATERIAL Y MÉTODOS	37
8.1. Zona de estudio	37
8.1.1. Toma de muestras	38
8.1.2. Muestras de suelo	38
8.1.3. Pretratamiento de muestras de suelo	39
8.1.4. Muestras foliares	39
8.1.5. Recolección de muestras foliares	40
8.1.6. Determinaciones en laboratorio	41
8.1.7. Análisis físicos y químicos en suelo	41
8.1.8. Análisis bioquímico del suelo	42
8.1.9. Análisis en tejido vegetal	42
8.2. Análisis estadístico de las variables	42
9. DIAGRAMA DE FLUJO	43
10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
10.1. Descripción del sitio de estudio	44
11. PROPIEDADES FÍSICAS DEL SUELO	46
12. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO	51

13. PROPIEDADES BIOQUÍMICAS DEL SUELO	56
13.1. Actividad arilsulfatasa (AAS)	56
14. CONCLUSIONES	69
15. LITERATURA CITADA	71
16. ANEXO	76



## ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁG.
FIGURA. 1 Ciclo biogeoquímico de elementos minerales en ecosistemas forestales	5
FIGURA. 2 Ciclo de la materia en un ecosistema	7
FIGURA. 3 Localización de enzimas del suelo	13
FIGURA. 4 Diagrama conceptual del ciclo del azufre	20
FIGURA. 5 Interpretación del análisis foliar estableciendo intervalos de suficiencia o deficiencia	26
FIGURA. 6 Ubicación del Parque Nacional Iztaccíhuatl –Popocatepetl	32
FIGURA. 7 Unidades ambientales	37
FIGURA. 8 Toma de muestra de suelo de 0 a 20 cm de profundidad	38
FIGURA. 9 Almacenamiento de muestra de suelo colectadas entre 0 y 20 cm de profundidad	38
FIGURA. 10 Muestras de 0 a 5 y 6 a 10 cm de profundidad para el análisis bioquímico	39
FIGURA. 11 Colecta y guardado de la muestra foliar	40
FIGURA. 12 Tratamiento de la muestra foliar	41
FIGURA. 13 Toma de muestra de suelo con el cilindro	41
FIGURA. 14 Variación de DA y CE de suelos forestales en función de la altitud	49
FIGURA. 15 Porcentaje de espacio poroso en relación al contenido de humedad y a la altitud	50
FIGURA. 16 Valor promedio por localidad de materia orgánica y pH activo	54
FIGURA. 17 Relación entre MOS con porcentaje de Nitrógeno foliar	55
FIGURA. 18 Actividad arilsulfatasa del suelo (AAS) a dos profundidades y su relación a la altitud	57

---

FIGURA. 19 Porcentaje de AAS a dos profundidades del suelo por unidad ambiental	58
FIGURA. 20 Contenido de MOS en relación con la AAS 0 a 5 cm y a la altitud	59
FIGURA. 21 Promedio de la AAS a una profundidad de 0 a 5 cm en relación al grado de conservación	60
FIGURA. 22 Promedio de AAS a una profundidad de 6 a 10 cm en relación al grado de conservación	60
FIGURA. 23 Actividad Arilsulfatasa de 0 a 5 cm en relación a los $\text{SO}_4^{-2}$ extractables en HCl y $\text{NH}_4\text{F}$	61
FIGURA. 24 Relación entre Actividad Arilsulfatasa de 0 a 5 cm con los $\text{SO}_4^{-2}$ extractables con Bicarbonato 0.5M pH 8.5	62
FIGURA. 25 Relación entre Actividad Arilsulfatasa de 0 a 5 cm con $\text{SO}_4^{-2}$ extractables en $\text{H}_2\text{O}$	63
FIGURA. 26 Comportamiento de $\text{SO}_4^{-2}$ extractados con tres diferentes soluciones a lo largo de un gradiente altitudinal	64
FIGURA. 27 Porcentaje de azufre foliar en relación a la altitud	65
FIGURA. 28 Porcentaje de azufre foliar en relación al género de <i>Pinus</i> y <i>Abies religiosa</i>	66
FIGURA. 29 Porcentaje de azufre foliar en relación a las especies de Pino y <i>Abies religiosa</i>	67
FIGURA. 30 Comparación del porcentaje de azufre foliar en individuos de edad juvenil y adultos	67

---

ÍNDICE DE CUADROS		PÁG.
CUADRO 1.	Indicadores físicos, químicos y biológicos de calidad de suelo	10
CUADRO 2.	Estados de oxidación del azufre	17
CUADRO 3.	Clasificación de los nutrientes minerales en las plantas	22
CUADRO 4.	Ubicación geográfica y descripción de las Unidades Ambientales estudiadas en el Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl.	45
CUADRO 5.	Propiedades físicas del Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl.	47
CUADRO 6.	Propiedades químicas de los suelos estudiados en el Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl.	52
CUADRO 7.	Valores mínimo, máximo y promedio de la actividad Arilsulfatasa a dos profundidades	56

---

## RESUMEN

La Arilsulfatasa es una enzima que participa en el proceso de hidrólisis del ester-sulfato de la materia orgánica del suelo (MOS) liberando azufre, elemento esencial, como ión  $\text{SO}_4^{-2}$  el cual es tomado por las raíces de las plantas y árboles para su óptimo desarrollo y crecimiento. La determinación de la actividad enzimática del suelo es útil como indicador del grado de degradación así como de la calidad del suelo por su buena correlación con la disponibilidad de nutrimentos. El presente estudio se realizó en suelos del Parque Nacional Izta-Popo localizados bajo el dosel de especies arbóreas de Pino y *Abies religiosa* con el objetivo de determinar la actividad arilsulfatasa del suelo (AAS) y sus relaciones con  $\text{SO}_4^{-2}$  (extractables en  $\text{H}_2\text{O}$ , en  $\text{NaHCO}_3$  0.5N pH 8.5 y en  $\text{NH}_4\text{F}$  0.03N-HCl 0.025N) y con Azufre en tejido vegetal. En un gradiente altitudinal entre 2600 y 3800 m se definieron seis unidades de muestreo de 50x20m en donde se recolectaron muestras de suelo de 0-5 y 6-10 cm de profundidad para determinar AAS y de 0-20 cm para conocer sus propiedades físicas y químicas. Se recolectaron además, en individuos juveniles y adultos de Pino y *Abies religiosa*, muestras foliares del último año para evaluar el porcentaje de azufre total. Como resultados, se encontró que la AAS fue mayor de 0 a 5 cm ( $0.00276 \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) que de 6 a 10 cm. A las dos profundidades 0-5 y 6-10 cm evaluadas la AAS presentó correlación significativa con los sulfatos extractables en  $\text{H}_2\text{O}$  ( $r=0.84$ ) pero no con los extractados en  $\text{NaHCO}_3$  0.5N pH 8.5 y  $\text{NH}_4\text{F}$  0.03N-HCl 0.025N. Con referencia al porcentaje de Azufre (S) foliar tanto en *Abies* como en Pinos, se encontró que los sulfatos extractables en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{NaHCO}_3$  0.5N pH 8.5 también tuvieron correlación significativa. Al comparar la AAS entre suelos bajo el dosel de individuos de Pino y *Abies religiosa*, se encontró que no hubo diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), sin embargo en la comparación de AAS entre suelos bajo las especies de Pino presentes, se encontró que bajo *Pinus hartwegii* fue mayor a todas con diferencia significativa. La AAS mostró correlación significativa y de signo positivo con MOS ( $r=0.38$ ); pH potencial ( $r=0.43$ ) y significativa con signo negativo con Altitud ( $r=-0.36$ ) y azufre en tejido foliar ( $r=-0.41$ ).

## ABSTRACT

The arylsulfatase contributes to the hydrolysis of ester-sulphate soil organic matter (SOM) to release sulfur as  $\text{SO}_4^{-2}$  ion may be absorbed by microorganisms and roots of plants and trees for optimum growth and development. To determine soil enzymatic activity is useful as sensor of soil quality degradation to its good correlation with the availability of nutrients. The study was conducted in National Park Izta-Popo soil, low tree species of *Pinus* and *Abies religiosa* to determine the soil arylsulfatase activity (SAA) and their relationships with soil  $\text{SO}_4^{-2}$  (extractables in deionized  $\text{H}_2\text{O}$ , in  $\text{NaHCO}_3$  0.5 N  $\text{NH}_4\text{F}$  pH 8.5 and 0.03N-0.025N HCl) and tissue plant sulfur. We selected six ecological units in altitudinal gradient (2600-3800 m) and divided into quadrants of 50x20m. The ecological units were characterized and collected soil samples from 0-5 and 6-10 cm to determine SAA and other samples from 0-20 cm to determine its physical and chemical *properties*. Were collected also in juvenile and adult individuals of *Pinus* and *Abies religiosa*, leaf samples of the last year for its share of total sulfur. It was found that the SAA was increased from 0 to 5 cm ( $0.00276 \text{ mg p-NP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) compared with the depth of 6 to 10 cm. In two depths studied, correlated significantly with AAS sulphates extractables in deionized  $\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{NaHCO}_3$ 0.5N pH8.5 but not in extracts  $\text{NH}_4\text{F}$ 0.03N-HCl 0.025N. With reference to the percentage of foliar S in both *Abies* and *Pines*, it was found that sulfate extractables in deionized  $\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{NaHCO}_3$ 0.5N pH8.5 also had significant correlation In the soils under *Abies* and *Pines*, the SAA did not show significant difference, however the comparison between soils under the species present, the SAA in soils under *Pinus hartwegii* was higher at all with significant difference. When comparing the SAA between soils under *Abies* and *Pines*, she found no significant difference, however, in comparison between soils under SAA species were found under *Pinus hartwegii* was greater at all with significant difference. The SAA showed significant correlation with SOM ( $r=0.38$ ); potential pH ( $r=0.43$ ) and significant but negative with altitude ( $r=-0.36$ ) and sulfur in leaf tissue ( $r=-0.41$ ).

## 1. INTRODUCCIÓN.

De los 16 nutrientes esenciales responsables de la formación y metabolismo de tejidos, el azufre (S) es un elemento de gran importancia en la nutrición vegetal por que forma parte de compuestos tan importantes como aminoácidos esenciales, cistina y metionina, de la coenzima A y de las vitaminas biotina y tiamina, glicósidos, etc., por lo que es esencial para la síntesis de proteínas y formas enzimáticas y metaproteínas, de gran importancia como las llamadas sulfoproteínas que actúan en los ciclos de los hidratos de carbono y de los lípidos, importantes para el adecuado crecimiento de plantas (Santana, 2002). Además el S interviene en los mecanismos de oxido-reducción de las células con el glutatión (Domínguez, 1989; López, 1990). El S es uno de los nueve macronutrientes que en conjunto representan 99% de la biomasa y en particular su concentración en las plantas varía entre 0.1 y 0.5% con base en peso seco (Marschner, 1995).

El azufre en el suelo lo encontramos en formas inorgánicas (sulfatos, sulfuros y  $S^0$  constituyendo 0.06% de la corteza terrestre) y orgánicas presentes en la materia orgánica del suelo (MOS). Al igual que el nitrógeno (N), la mayor parte del S en el sistema suelo-planta se encuentra en la fracción orgánica del suelo dentro de la cual, la fracción biótica es fundamental y está constituida por microorganismos (biomasa) responsables de las reacciones bioquímicas que permiten la liberación de energía y elementos importantes como C, N, P y S para el desarrollo de la vida (Bartolini, 1991). Todas las reacciones bioquímicas son catalizadas por enzimas con poder de activación específica. Las enzimas del suelo son principalmente de origen microbiano pero también proceden de exudados de plantas y animales y, en complejos con coloides húmicos, pueden ser estabilizadas en superficies de arcilla y materia orgánica.

De las enzimas del suelo, la arilsulfatasa (arilsulfatasa sulfohidrolasa, EC 3.1.6.1) es la que cataliza la hidrólisis del anión arilsulfato por fisión del enlace O-S (Tabatabai, 1994), en ésteres de sulfato aromáticos ( $R-O-SO_3^-$ ) liberando fenoles ( $R-OH$ ) y sulfato

( $\text{SO}_4^{2-}$ ). Esta enzima es importante para la movilización de ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) inorgánico. Además ha sido utilizada como factor para evaluar calidad de suelos y como un actor principal en la mineralización de S en suelos forestales (Chen *et al.*, 2001).

Los bosques desempeñan un papel fundamental en el equilibrio de la naturaleza los ecosistemas forestales cumplen tres importantes funciones: ecológica, social y económica. El suelo forestal manifiesta características adquiridas bajo la influencia de la hojarasca o del humus forestal, de las raíces de árboles y de los organismos específicos, cuya existencia depende de la presencia de vegetación forestal (Bockheim y Young, 1991). El suelo es uno de los recursos naturales más importantes. De él depende el buen estado de los hábitats naturales. En México el 20.9% de la superficie, está cubierta de bosques, entre los que destacan los de coníferas y latifoliadas, que ocupan una superficie de 25 millones de hectáreas, de las que anualmente se deforestan 341,872 km<sup>2</sup>.

Dentro de esta superficie se encuentran los bosques templados que constituyen el pilar más importante por su gran biodiversidad, así como por su alto porcentaje de especies endémicas (Rzedowski, 1978). Además proporcionan sitios de recreación, esparcimiento y belleza escénica y tienen un papel importante en la captación de humedad para mantener los mantos freáticos. Dada la función que desempeñan los bosques templados es importante contribuir al estudio de los principales indicadores edáficos para mantener su conservación y mejorar la calidad del mismo por lo que la presente investigación tiene como objetivo evaluar la actividad arilsulfatasa (AAS) como índice de calidad edáfica y su relación con S del suelo y de tejido foliar de *Pinus sp* y *Abies religiosa* que permita contribuir a conocer la calidad del suelo en bosques templados del Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl, y la disponibilidad del S que es fundamental para el crecimiento de las especies forestales. Además debe señalarse que en el país no se han realizado investigaciones sobre la disponibilidad de azufre, en suelos de bosque templados.

## 2. MARCO TEÓRICO.

### 2.1. Importancia de los bosques templados

México, con un territorio de 1 millón 972 mil 544 km<sup>2</sup>, ocupa el cuarto lugar en diversidad biológica, que se distribuye en grandes y extensos sistemas montañosos de bosques holárticos, llanuras, áreas desérticas, selvas tropicales altas, medianas y bajas, lagunas y planicies costeras y manglares. La abundancia de especies, tanto de su flora como de su fauna, es consecuencia de su historia biogeográfica, que ha dado como resultado una degradación de climas que abarcan al Reino Neártico en el Norte y al Neotropical en el Sur (Contreras, 2001)

La región de los volcanes Popocatepetl e Iztaccíhuatl es de enorme importancia desde el punto de vista de la prestación de servicios ambientales para millones de mexicanos. Su cercanía a la ciudad de México (75 km), Puebla (40 km) y la de Cuautla Morelos (36 Km) entre las más importantes, indica lo estratégico para todo el centro del país. Tan solo en agua; aproximadamente 17 millones de personas viven de la extracción de los acuíferos formados en las laderas de los volcanes. Los aportes en bienes vegetales, faunísticos y minerales han sido y son fundamentales para el desarrollo de las urbes próximas. Este territorio padece dos grandes amenazas: la natural, que es el potencial destructivo del volcán Popocatepetl, y la antropogénica, consistente en el deterioro de los ecosistemas ocasionado por la acción del hombre (Contreras, 2001).

Los bosques desempeñan un papel fundamental en el equilibrio de la naturaleza y cumplen tres funciones importantes: ecológica, social y económica.

1. Función ecológica: Se entiende como la regulación del ciclo del agua, mejorando su calidad así como la conservación o restauración de la fertilidad del suelo, previniendo o paralizando los procesos de erosión o desertificación, conservación y uso sostenible de la biodiversidad de las propias especies forestales y de la fauna, su contribución a la



variedad y belleza del paisaje, al efecto sumidero del carbono y otros gases que generan el efecto invernadero y el cambio climático y, en general, al equilibrio del intercambio de los gases atmosféricos.

2. Función social: contempla a los bosques como zonas de esparcimiento y turismo de la población, práctica de deportes (caza, pesca, de aventura, etc.), zona paisajística, y de asentamiento y trabajo de la población.

3. Función económica: es decir el aprovechamiento de los recursos naturales renovables de carácter forestal implicados en la producción, transformación, comercialización de los recursos forestales y todos los productos derivados del monte (madera, leña, resinas, corcho, pastos para el ganado, frutos, etc.), la producción de madera es, sin duda, la de mayor importancia.

Los ecosistemas forestales se ven sometidos a diferentes perturbaciones naturales como pueden ser el viento, el fuego, las inundaciones o el consumo por parte de los herbívoros, que provocan que su evolución difiera de la que podría esperarse de un bosque “perfecto” (Frelich, 2002). Pero además de estas alteraciones la más importante puede ser la del uso de los bosques por parte del hombre. Asumiendo que la explotación de los bosques es necesaria para la economía, debemos asegurarnos que esta explotación sea sostenible.

## 2.2 EL CICLO BIOGEOQUÍMICO.

Se define el ciclo biogeoquímico como “el paso de los elementos del suelo y de la atmósfera a los organismos vivos, su transformación en complejos nuevos y su retorno al suelo y a la atmósfera, en el momento de la eliminación anual de una parte de la materia orgánica o, por la muerte de los organismos que entran en la composición de la biocenosis”. El ciclo biogeoquímico de la materia orgánica y los elementos minerales representan las relaciones existentes entre suelo, vegetación y ambiente. Los

ecosistemas forestales aseguran, principalmente, mediante este ciclo sus necesidades de elementos nutritivos. (Berg, 2000). El cual se caracteriza por la diferente distribución de los nutrientes en cada compartimiento del ecosistema y en la velocidad del flujo entre éstos (Figura 1).

La interacción entre los organismos y su ambiente, así como la disponibilidad y uso de cada nutriente, determina los procesos de dicho ciclo (Schlesinger, 2000). La transferencia de elementos biógenos en los ecosistemas forestales sigue dos caminos. El ciclo biológico o cerrado se refiere a la circulación de los elementos biógenos en el seno del ecosistema, entre el suelo forestal y las comunidades vegetales y animales; afectando por tanto a la biocenosis. Este ciclo anual, se compone de la absorción de nutrientes a través del sistema radical del árbol; de la retención de nutrientes que se incorporan a la biomasa de troncos y ramas que se producen anualmente, por lo que entrarán en un ciclo mucho más lento; y del retorno o regreso anual al suelo mediante la hojarasca que los almacena hasta que son absorbidos de nuevo, con lo que se cierra este ciclo. El ciclo bioquímico es un ciclo abierto, comprende ganancias y pérdidas de elementos minerales (Lebret *et al.*, 2001).

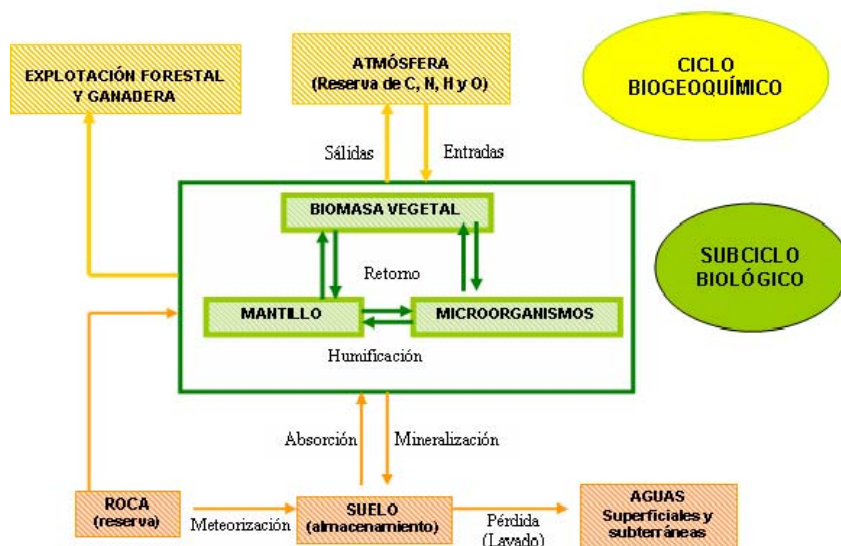


Figura 1. Ciclo biogeoquímico de elementos minerales en ecosistemas forestales (Martín *et al.*, 1996)

### 2.2.1 Ganancias y Salidas de nutrimentos

Las ganancias son los aportes de nutrimentos que entran al ecosistema por diferentes vías como pueden ser por.

1) Partículas suspendidas en la atmósfera y otras previamente sedimentadas sobre las hojas, que son arrastradas hacia el suelo a través de las precipitaciones de lluvia, nieve o por aerosoles, polvos.

2) Adiciones por alteraciones de la roca madre. De esta manera, parte de los elementos químicos son transferidos, por diversos medios, a los horizontes superiores del suelo y así pueden ser absorbidos por las raíces y si son solubles, pueden ser incorporados por las raíces más profundas.

3) Por fijación microbiana. En el caso del nitrógeno, el intercambio con la atmósfera es debido a la actividad de los microorganismos fijadores de nitrógeno tanto de vida libre como endosimbióticos. El nitrógeno es muchas veces factor limitante, por lo que aportes atmosféricos a través de la fijación biológica, junto con el agua de lluvia, constituye una ayuda para el ecosistema forestal, una fertilización crónica a bajo nivel (Pritchett, 1991).

La salida de nutrimentos se entiende como las pérdidas de nutrimentos del ecosistema las cuales pueden ser por:

1) Evacuación, en gran medida por las aguas de drenaje que exporta a zonas fuera del dominio del ecosistema los nutrientes disueltos en ellas.

2) Podas y talas parciales o totales del bosque, que si se realizan de manera incontrolada conducen irremediablemente a una pérdida de productividad.

3) Una pequeña parte del nitrógeno de las sales minerales puede ser reincorporado a la atmósfera por desnitrificación y algún otro elemento, como el fósforo, puede reincorporarse a la roca madre.

Es esencial entender la dinámica de los nutrientes en los ecosistemas forestales, la (Figura 2) muestra la proporción en que caen y se descomponen los restos vegetales que contribuye a la regulación del ciclo de nutrientes, a la fertilidad del suelo y a la producción primaria en los ecosistemas forestales (Martín *et al.*, 1996; Berg, 2000).

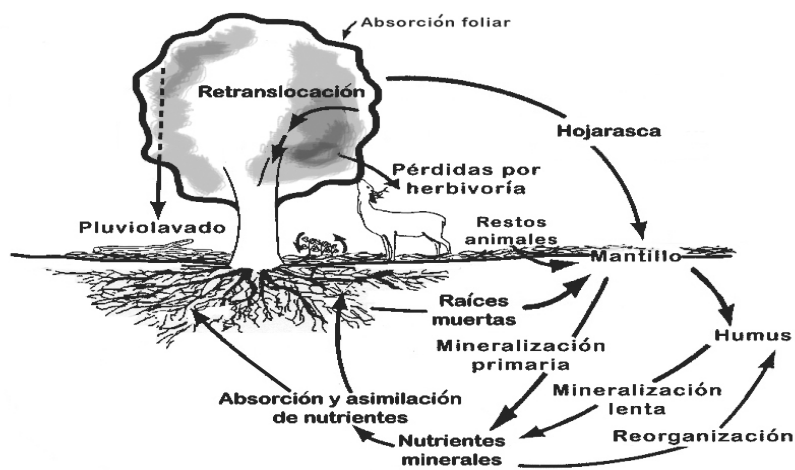


Figura 2. Ciclo de la materia en un ecosistema (Bosco, 2004)

### 2.3. CONCEPTO DE SUELO

El suelo es definido como el material mineral u orgánico no consolidado, que yace sobre la superficie de la tierra que ha sido sometido e influenciado, con acción sostenida durante el tiempo, por el material parental, clima, topografía, macro y microorganismos y que difiere en sus propiedades físicas, químicas, biológicas y morfológicas del material del cual se derivó. Un nuevo concepto funcional, lo considera como un sistema vivo y dinámico cuyas funciones principales están las de mantener la productividad de las especies vegetales, contribuir en el mantenimiento de la biodiversidad, calidad del

aire y agua así como la salud humana y el hábitat (Sojka y Upchurch, 1999; Etchevers *et al.*, 2000).

#### 2.3.1. Funciones edáficas vitales.

1. Sostener la actividad, diversidad y productividad biológica.
2. Regular el agua y flujo de solutos.
3. Filtrar, drenar e inmovilizar materiales orgánicos e inorgánicos con potencial de toxicidad.
4. Almacenar y posibilitar el ciclo de nutrientes y otros elementos dentro de la biosfera de la tierra.

#### 2.4. SUELO FORESTAL

Se ha definido al suelo forestal como “una parte de la superficie terrestre, que sirve como medio para el sostenimiento de la vegetación forestal; consta de material mineral y orgánico impregnado por diversas cantidades de agua, aire y está habitada por organismos. Manifiesta características peculiares adquiridas bajo la influencia de tres factores que son poco comunes en otros suelos: hojarasca o humus forestal, raíces de árboles y organismos específicos, cuya existencia depende de la presencia de vegetación forestal” (Pritchett, 1991). Los suelos son importantes para los árboles debido a que: ofrecen soporte mecánico, retienen y transmiten el agua, gases y sirven como hábitat para los macro y microorganismos y retienen, intercambian y fijan las sustancias nutritivas (Pritchett, 1991).

#### 2.5. CALIDAD DEL SUELO

Durante la última década, la calidad del suelo ha sido uno de los temas de gran interés en la ciencia del suelo. Este interés se ha enfocado en la definición del concepto de calidad del suelo y en la búsqueda de caminos seguros para evaluar esta calidad. De entre las muchas definiciones de calidad del suelo, esta la aportada por Karlen *et al.* (1997) quien la define como: “Capacidad de un tipo específico de suelo, sin límites

naturales ni de manejo, para sostener una productividad animal y vegetal, mantener o mejorar la calidad del agua y aire, y sostener la salud humana”. Las definiciones más reciente de calidad de suelo se basan en la multifuncionalidad del suelo y no sólo en un uso específico. El Comité para la salud del suelo de la Soil Science Society of America la define como la capacidad del suelo para funcionar dentro de los límites de un ecosistema natural o manejado, sostener la productividad de las plantas y animales, mantener o mejorar la calidad del aire y del agua, sostener la salud humana y el hábitat (Bautista *et al.*, 2004). Igualmente, se han llevado a cabo intentos para separar los conceptos de calidad y salud del suelo. El límite entre los dos conceptos no está claro, pero se acepta que el término calidad se refiere a la aptitud del suelo para llevar a cabo una función específica, mientras que el de salud se refiere a su condición total (Doran, 2002).

#### 2.5.1 Indicadores de la calidad del suelo

Según Adriaanse (1993) los indicadores son instrumentos de análisis que permiten simplificar, cuantificar y comunicar fenómenos complejos.

Astier *et al.* (2002) y Hünne Meyer *et al.* (1997) establecieron que los indicadores deben permitir:

- a) analizar la situación actual e identificar los puntos críticos con respecto al desarrollo sostenible.
- b) Analizar los posibles impactos antes de una intervención.
- c) Monitorear el impacto de las intervenciones antrópicas.
- d) Ayudar a determinar si el uso del recurso es sostenible.

Es preciso contar con indicadores de calidad del suelo, mismos que pueden ser propiedades físicas, químicas, biológicas y bioquímicas (Cuadro 1). El empleo de estos últimos es muy común para estimar la calidad de un suelo (Bautista *et al.*, 2004).

*Cuadro 1. Indicadores físicos, químicos y biológicos de calidad de suelo (Bautista, 2004).*

INDICADOR	RELACIÓN CON LAS FUNCIONES Y CONDICIONES DEL SUELO
<b>INDICADORES FÍSICOS</b>	
Textura	Retención y transporte de agua y minerales; erosión del suelo.
Profundidad	Estimación del potencial productivo y de erosión
Infiltración y DA densidad aparente	Potencial de lixiviación, productividad y erosión
Capacidad de retención de H <sub>2</sub> O	Relacionado al contenido de humedad, transporte y erosión
Estabilidad de agregados	Erosión potencial de un suelo, infiltración de H <sub>2</sub> O
<b>INDICADORES QUÍMICOS</b>	
MO (C/N) orgánico	Fertilidad de suelo, estabilidad y grado de erosión.
pH	Actividad química y biológica, límites para el crecimiento de plantas y actividad microbiana.
Conductividad Eléctrica	Actividad microbiológica y de las plantas límites para el crecimiento de plantas y actividad microbiana.
N, P y K	Disponibilidad de nutrientes para las plantas y pérdida potencial de N, indicadores de productividad y calidad ambiental.
CIC (capacidad de intercambio catiónico)	Fertilidad de suelo, potencial productivo
<b>INDICADORES BIOLÓGICOS</b>	
Biomasa Microbiana (C y N)	Potencial catalizador microbiano y reposición de C y N
N potencial mineralizable	Productividad del suelo y aporte potencial de N.
Respiración edáfica, contenido de agua, temperatura del suelo.	Medición de la actividad microbiana.
Rendimiento de cultivo	Producción potencial del cultivo, disponibilidad de nutrientes.

Por lo que, se deben medir todos los parámetros. Sin embargo, no todos los parámetros tienen la misma relevancia para todos los suelos o situaciones. Existen dos formas básicas para evaluar la calidad del suelo.

- ♣ Hacer mediciones periódicamente, a lo largo del tiempo, para monitorear cambios o tendencias en la calidad del suelo.
- ♣ Comparar valores medidos con los de una condición del suelo estándar o de referencia.

La evaluación o su interpretación, debe considerarse como un proceso a través del cual los recursos edáficos son evaluados sobre sus funciones y cambios que surjan en respuesta a un estrés natural o introducido, o de una práctica de manejo.

## 2.6. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DEL SUELO.

La determinación de los parámetros bioquímicos del suelo está adquiriendo cada vez más importancia debido a que son esenciales para el funcionamiento correcto del suelo (Burns, 1982; Dick y Tabatabai, 1993), su medida da una idea de la actividad metabólica del suelo y ayuda a entender la funcionalidad del mismo. En el suelo, la actividad metabólica es responsable de los procesos de mineralización y humificación de la materia orgánica, los cuales incidirán en otros procesos donde intervienen elementos fundamentales como C, N, P y S, además en todas las transformaciones en las que interviene la propia biomasa microbiana del suelo (García y Hernández, 2000).

### 2.6.1 Propiedades bioquímicas

Visser y Parkinson (1992) confirman que las propiedades bioquímicas del suelo pueden ser estudiadas a tres niveles diferentes. Un primer nivel considera las poblaciones microbianas. Un segundo nivel incluye a las comunidades bióticas y considera la dinámica de organismos específicos o bien de comunidades de organismos (indicadores biológicos). Por último, un tercer nivel se refiere a las propiedades implicadas en los ciclos de la materia orgánica y de los nutrientes. Entre los que se distinguen dos grupos: los parámetros generales, los cuales están referidos al número y actividad de los microorganismos del suelo, el contenido en C y N de la biomasa microbiana, la mineralización del N, el ATP, la respiración del suelo y la actividad de



enzimas como la deshidrogenasa o la catalasa y los llamados parámetros específicos, que corresponden a reacciones concretas y van a depender de sustratos específicos por ejemplo la mayoría de las actividades enzimáticas del tipo hidrolasas (ureasas, proteasas,  $\beta$ -galactosidasas, fosfatasas o **arilsulfatasas**, entre otras) (Nannipieri *et al.*, 2003).

Los parámetros biológicos y bioquímicos son mucho más sensibles a pequeñas modificaciones que puede experimentar un suelo en la presencia de cualquier agente degradante, por lo que son mucho más sensibles a cambios producidos por distintos manejos forestales, cosechas, adición de fertilizantes o condiciones medioambientales (Kandeler *et al.*, 1999). Visser y Parkinson (1992) han sugerido que estos últimos parámetros son los más útiles para detectar el deterioro de la calidad del suelo ya que están más estrechamente relacionados con el ciclo de nutrientes, incluyendo la respiración del suelo, biomasa microbiana, capacidad de mineralización del nitrógeno y la actividad de las enzimas del suelo. En particular, las actividades enzimáticas son especialmente significativas debido a su mayor contribución a la capacidad del suelo para degradar la materia orgánica (Steven, 2005).

Además muestran sensibilidad a diferentes prácticas agrícolas como son: barbecho (Bergstrom *et al.*, 1998), enmiendas orgánicas, rotación de cultivos y los efectos de distintos pesticidas. También se ha empleado para evaluar el efecto de metales pesados en suelos (Benitez *et al.*, 2004). Debido a la especificidad por el sustrato, parece difícil que una sola actividad pueda ser representativa del estado total de nutrientes en el suelo; sin embargo, la medida simultánea de varias actividades enzimáticas sí puede resultar útil como índice de la biodiversidad del suelo y por tanto, emplearse como marcadores de la fertilidad bioquímica del suelo (Gil-Sotres *et al.*, 1992). No obstante, la cuantificación de la degradación del suelo a través del estudio de la actividad enzimática debe ser suplementada con información de otros parámetros bioquímicos. Además, no existe un análisis enzimático universal que pueda ser

recomendado para todos los tipos de suelo bajo todas las condiciones (Hinojosa *et al.*, 2004).

## 2.7. ENZIMAS DEL SUELO.

Las enzimas del suelo están implicadas en la transferencia de energía, calidad medioambiental y en la productividad de cultivos y en el reciclado de nutrientes. (Dick, 1994; Tabatabai, 1994). Se pueden clasificar en tres grupos según su localización (Figura 3).

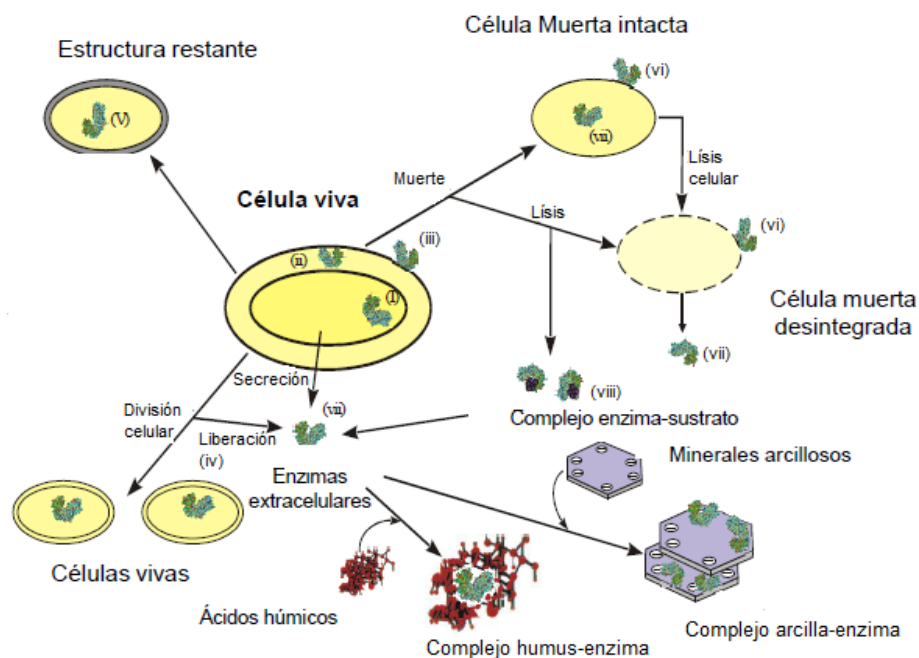


Figura 3. Localización de enzimas del suelo (Suastegui, 2009)

Un primer grupo estaría formado por las enzimas extracelulares, siendo liberadas durante el metabolismo y muerte celular aunque, por lo general, su vida media como enzimas libres es muy corto; otro conjunto son intracelulares, formando parte de la

biomasa microbiana. Por último, existen las enzimas inmovilizadas que son las que pueden mantener un nivel constante y estable de actividad enzimática en el suelo, independientemente de la proliferación microbiana y de las formas usuales de regulación de la síntesis y secreción de enzimas, estas últimas pueden unirse a coloides minerales como arcillas u orgánicos como las sustancias húmicas, siendo en ambos casos muy resistentes a la desnaturalización (Snajdr *et al.* 2008).

Las enzimas extracelulares llevan a cabo tres funciones fundamentales en el suelo: 1) buscan sustratos con poros de tamaño aproximadamente 100 veces más pequeños que las bacterias; 2) hidrolizan estos sustratos y los hacen solubles para que puedan ser absorbidos por los microorganismos y las raíces de las plantas; 3) transforman polímeros en monómeros u oligoelementos que pueden ser reconocidos e incorporados al sistema de transporte de membrana y pasar al metabolismo intracelular (Quiquampoix *et al.*, 2002, Citado en Salazar 2008). Estas enzimas catalizan distintos procesos de la descomposición de la materia orgánica y mineralización de nutrientes (Sinsabaugh, 1994).

Los microorganismos también son capaces de producir constitutivamente enzimas que les van a permitir detectar recursos complejos en el ambiente (Klonowska *et al.*, 2002). Cuando los sustratos complejos son abundantes, estas enzimas constitutivas generan bajas concentraciones de productos disponibles para los microorganismos que inducen síntesis adicional de enzimas. Una vez que la concentración de estos productos incrementa lo suficiente, la síntesis de enzimas se reprime y su producción vuelve a los niveles constitutivos.

Además de la disponibilidad de nutrientes, la síntesis enzimática se ve alterada por todos los factores que afectan a los microorganismos del suelo como son la humedad y temperatura. Una vez que las enzimas son liberadas, su actividad es principalmente regulada por factores químicos y físicos, como son la composición química de la

hojarasca, tipo de suelo, temperatura, humedad, distribución de la biomasa radical y disponibilidad de nutrientes (Sinsabaugh, 1994; Verchot y Borelli, 2005). Los cambios en parámetros químicos del suelo como el pH, disponibilidad de nutrientes, calidad de los restos vegetales y presencia de arcillas y sustancias húmicas pueden resultar en diferentes actividades enzimáticas en la descomposición de los restos vegetales, lo cual puede incrementar o disminuir la velocidad de descomposición (Carreiro *et al.*, 2000).

Otros factores como la estación del año o la localización geográfica influyen en la actividad enzimática. Además de factores naturales y antropogénicos pueden inducir cambios significativos en estas actividades microbianas. Algunas prácticas agrícolas (por ejemplo distintos manejos agrícolas o la aplicación de fertilizantes y pesticidas) afectan a la productividad del suelo y de manera positiva o negativamente a la actividad enzimática del suelo (Acosta- Martínez *et al.*, 2007).

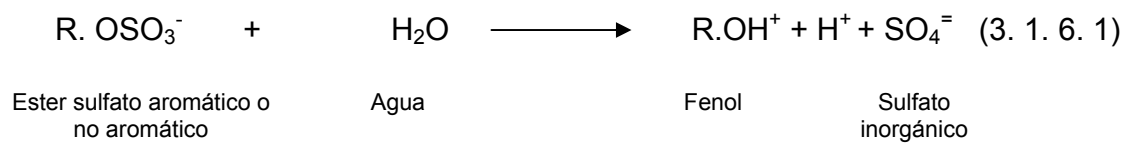
## 2.8. ARILSULFATASA

En la naturaleza encontramos varios tipos de sulfatasas las cuales se clasifican según el tipo de éster de sulfato que hidrolizan, los grupos reconocidos son: arilsulfatasas, alquilsulfatasas, esteroide – sulfatasa, glucosulfatasas y myrosulfatasa (Zwikel, 2007).

Las arilsulfatasas (E.C. 3.1.6.1) juegan un papel importante en el ciclo del azufre, catalizan la hidrólisis de ésteres aromáticos y no aromáticos de sulfato ( $R-O-SO_3^-$ ), liberando fenoles ( $R-OH$ ) y sulfato inorgánico ( $SO_4^{2-}$ ), mediante la hidrólisis del anión arilsulfato por fisión del enlace O – S (Tabatabai, 1994).

La reacción catalizada por la arilsulfatasa es irreversible:

### Arilsulfatasa



Esta enzima fue descubierta en 1911 en caracoles por Derrien y ha sido detectada en plantas, animales y microorganismos (Xiangzhen, 2003). Dichas enzimas se encuentran en el suelo y contribuyen al aporte de azufre a las plantas, ya que éstas sólo admiten la forma mineralizada (anión  $\text{SO}_4^{-2}$ ). Así, los ésteres de sulfato representan una fracción considerable (por encima del 70% en la mayoría de los suelos aeróbicos) del azufre total constituyendo la principal reserva de azufre en los suelos, pero sólo está disponible para las plantas después de la hidrólisis del sulfato inorgánico (Kertesz, 1999). Las bacterias y hongos del suelo forman estos ésteres de sulfato durante periodos donde haya altas concentraciones de  $\text{SO}_4^{-2}$  y sirven como una fuente de azufre fácilmente disponible para los microorganismos del suelo en épocas de déficit de azufre (McGill y Cole, 1981). Mientras que los hongos almacenan los ésteres de sulfatos sintetizados principalmente dentro de sus células, las bacterias los excretan a la solución del suelo (Dick, 1994; Curtin, 2007).

La actividad de las arilsulfatasas se ve influenciada por la concentración de sulfato inorgánico en el suelo, otros parámetros que influyen en la actividad de las arilsulfatasas son el pH, variaciones estacionales en el contenido de humedad del suelo o la presencia de metales pesados (Tabatabai y Bremner, 1970; Zwickel *et al.*, 2007).

## 2.9. AZUFRE

Un elemento de gran importancia en la nutrición vegetal es el azufre por que forma parte, entre otros compuestos, de los aminoácidos esenciales, cistina y metionina, de la coenzima A y de las vitaminas biotina y tiamina, glicósidos, etc. (Domínguez, 1989), por

lo que es esencial para la síntesis de proteínas. Además constituye distintas enzimas con el sulfuro como grupo activo, que actúan en el ciclo de los hidratos de carbono y en los lípidos. Interviene en los mecanismos de oxido-reducción de las células con el glutatión (López, 1990).

### 2.9.1. El azufre en el suelo

El azufre es un elemento que ocurre en la naturaleza en muchas formas diferentes debido a su rango de valencias (Cuadro 2). En el suelo esta en dos formas, inorgánicas y orgánicas, en algunos suelos húmedos se puede encontrar en formas de pirita ( $\text{FeS}_2$ ) y hornblenda ( $\text{ZnS}$ ), en la solución del suelo se encuentra como ion sulfato ( $\text{SO}_4^{-2}$ ). La variación total del azufre en el suelo está en un rango del 0.01 a 0.16% (Santana, 2002). Constituye el 0.06% en la corteza terrestre en forma de sulfatos, sulfuros y elemental.

*Cuadro 2. Estados de oxidación del azufre (Huxtable, 1986)*

EDO. DE OXIDACIÓN	EJEMPLO	FORMULA
+6	Sulfato	$\text{SO}_4^{-2}$
+5	Ditionato	$\text{S}_2\text{O}_5^{-2}$
+4	Sulfito	$\text{SO}_3^{-2}$
+4	Bisulfito	$\text{S}_2\text{O}_5^{-2}$
+3	Ditionito	$\text{S}_2\text{O}_4^{-2}$
+2	Tiosulfito	$\text{S}_2\text{O}_3^{-2}$
0	Azufre elemental	S
-2	Sulfuro	$\text{S}^{-2}$

### 2.9.2 Azufre en las plantas

Las plantas lo absorben en forma inorgánica; sin embargo, la disponibilidad depende de la mineralización de las formas orgánicas, la cual es catalizada por sulfatasas (Tabatabai y Bremner, 1970). Gran parte del azufre en la planta se reduce a las formas

de sulfhídrido (SH<sup>-</sup>) o disulfuro (-S-S-). Participa en un gran número de formas enzimáticas y metaproteínas y es de gran importancia en las llamadas sulfoproteínas (Santana, 2002).

### 2.9.3. Funciones de azufre en las plantas.

El azufre (S) dentro de las plantas superiores presenta las siguientes funciones:

- ✚ Forma parte de las proteínas, como constituyente de los aminoácidos azufrados.
- ✚ Constituye parte estructural de algunas enzimas.
- ✚ Actúa como catalizador en los procesos de síntesis de clorofila.
- ✚ Se asimila como ion  $\text{SO}_4^{=}$ .
- ✚ Ayuda a desarrollar enzimas y vitaminas.
- ✚ Promueve la nodulación en las leguminosas como la soya.
- ✚ Ayuda en la producción de semilla.
- ✚ Es necesario en la formación de clorofila a pesar de no ser un constituyente de este compuesto.
- ✚ Está presente en varios compuestos orgánicos que dan el olor característico a leguminosas.

### 2.9.4. Azufre en el sistema suelo - planta

Al igual que el N, la mayor parte del S en el sistema suelo – planta se encuentra en la fracción orgánica del suelo y su dinámica también es similar (Figura 4). Así, comprende los procesos de mineralización, inmovilización, oxidación de la forma reducida (S<sup>-2</sup>) a sulfato (S<sup>6+</sup>), desulfuración y absorción.

La fracción orgánica del suelo comprende aminoácidos, lípidos y otros compuestos, como el ion sulfato que se halla, bien disociado o formando diferentes sales (Cruz, 2006).





Las bacterias que intervienen en la oxidación del S inorgánico son tal vez las más importantes en los suelos forestales. El S existe como sulfuro en varios minerales primarios y se añade a los suelos forestales en forma de residuos vegetales y animales y como agua de lluvia. La mayor parte del S en el suelo forma compuestos orgánicos, y como el N, debe mineralizarse para ser utilizado por los árboles. El S es absorbido sobre todo por las raíces de los árboles en forma de sulfato (Pritchett, 1991).

La oxidación del S elemental puede dar por resultado la movilización de algunos minerales del suelo lentamente solubles, como consecuencia de la formación de ácido sulfúrico. La solubilidad de P, K, Ca y varios micronutrientes puede aumentarse como consecuencia de la acidificación (Tisdale y Nelson, 1988; Schnug, 1998).

### 3. NUTRICIÓN DE LAS PLANTAS

La nutrición vegetal es el proceso mediante el cual la planta absorbe del medio que le rodea las sustancias que le son necesarias para llevar a cabo su metabolismo y en consecuencia, desarrollarse y crecer. Las sustancias requeridas para su alimentación, son exclusivamente de tipo mineral o inorgánica (Taylor y Rendig, 1989).

#### 3.1. Elementos esenciales

De más de 90 elementos que pueden contener las plantas superiores, diversos análisis de materia seca de los vegetales muestran la presencia de 16 constituyentes indispensables que han sido reconocidos como esenciales para el crecimiento y reproducción de la planta. Estos elementos son: carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, calcio, magnesio, hierro, boro, manganeso, cobre, molibdeno, zinc y cloro ( Roy *et al.*, 1981; Cruz, 2006 ).

Las plantas absorben los nutrientes del suelo en forma de iones y los pueden obtener a través de las raíces u hojas. Los elementos nutritivos pueden clasificarse atendiendo a diferentes criterios. El más frecuente es aquel que responde a la cantidad utilizada por la planta, por lo que se clasifican en:

**MACRONUTRIMENTOS:** Son los elementos absorbidos por las plantas en mayores cantidades y comprenden al C, H, O, N, P, S, Ca, Mg y K.

- macronutrientes primarios: N, P y S
- macronutrientes secundarios: Ca, Mg y K

**MICRONUTRIMENTOS:** Son elementos que se absorben por la planta en cantidades mínimas, con las que quedan cubiertas sus necesidades y entre los que se encuentra Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, B y Cl. (Domínguez, 1989; Cruz, 2006).

Los elementos C, O, H, N y S son constituyentes de compuestos orgánicos básicos y participan activamente en las reacciones bioquímicas básicas del metabolismo de la planta. El carbono (C) y el oxígeno (O) forman parte del grupo carboxílico, el N en grupos amino y amidas principalmente y el S como grupo sulfhídrico. En todos ellos participa el H, el fósforo (P) participa en todas las reacciones de la planta en las que hay intercambio de energía, siendo el compuesto más importante el trifosfato de adenosina (ATP). Los cationes  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ , K y el anión  $\text{Cl}^-$ , regulan los potenciales osmóticos, la permeabilidad de la membrana y la conductividad. Además pueden enlazarse con enzimas, modificando su estructura. Los cationes Cu, Fe, Zn y Mn participan principalmente en reacciones de óxido reducción Cuadro 3 (Marschner, 1995; Domínguez, 1989).

*Cuadro 3. Clasificación de los nutrientes minerales en las plantas*

NUTRIENTE	DESCRIPCIÓN
FUNCIONES ESPECÍFICAS	
Nutrientes que son elementos integrantes de compuestos de carbono.	
N	Nitrógeno es constituyente de aminoácidos, amidas, proteínas, ácido nucleico, poliamidas y varios tipos de entidades metabólicas.
S	Azufre es constituyente de cisteína, metionina, proteínas, las coenzimas tiaminas, biotina, de coenzima A, y de entidades bioquímicas.
Un nutriente esencial en la adquisición y utilización de energía	
P	Fósforo es el elemento que desempeña un papel clave, se ocupa de la adquisición de energía, el almacenamiento y utilización de azúcar, ADP, ATP. Ácido fitico o sus sales de Calcio o magnesio como almacenamiento de compuestos de fosfatos.

---

*Cuadro 3 (Continuación)*

---

Nutrientes estructuralmente asociados con la pared de la célula

Ca *	Calcio que se une a polisacáridos en la pared de la célula, el calcio y el boro se unen a los polisacáridos de la pared celular.
Si	Sílice confiere fuerza y rigidez a la pared celular.

Nutrientes que son parte integral de enzimas y constituyente en el metabolismo.

Mg*	Magnesio constituyente esencial de la clorofila.
Fe*	Hierro como parte de hemoproteínas, ferredoxina y proteínas con el azufre.
Mn	Manganeso forma parte del complejo enzimático
Zn	Zinc es el metal de unas metaloenzimas.
Cu	Cobre es el metal que junto con otros elementos metálicos forma parte de las metaloenzimas.
Ni	Níquel es constituyente de la enzima ureasa.
Mo	Molibdeno es constituyente de la nitrogenasa y de nitrato reductasa

Nutrientes que sirven para activar o controlar la actividad enzimática.

K	Potasio activa numerosas enzimas
Na	Sodio como catalizador y activador de enzimas en la conversión de fosfofenol a piruvato en las plantas C4 y CAM. Puede ser sustituto en la activación de una serie de enzimas.
Cl	Cloro participa en la activación de enzimas, en el proceso de fotosíntesis.
Mg*	Magnesio activador de más enzimas, es especialmente importante en la activación de la enzima y transferencia del fosfato.

Cuadro 3 (Continuación)

Ca*	Calcio une a la calmodulina, es una pequeña proteína importante en la regulación de muchas enzimas.
Ca*, Fe, Zn, Cu	Calcio, hierro, cobre y zinc activan varias enzimas, pero no con un alto grado de especificidad.
FUNCIONES INESPECÍFICAS	
Iones que sirven para contrarrestar los iones positivos o negativos	
K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> , Ca <sup>+2</sup> , Mg <sup>+2</sup>	Estos iones sirven para contrarrestar iones de carga eléctrica opuesta, ligados en compuestos orgánicos.
Iones que sirven principalmente en la osmosis celular.	
K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup>	Todos los solutos intracelulares sirven en la osmosis. Los incluidos son los inorgánicos más importantes cuantitativamente.

*Elementos con un asterisco\* indica que aparecen en más de un grupo.*

### 3.1.1. Nutrientes en tejido foliar.

La concentración de nutrientes en las hojas de las plantas transmite información sobre varios aspectos como puede ser la proporción entre fotosíntesis y respiración (Reich *et al.*, 1998), capacidad de crecimiento y eficiencia en el uso de nutrientes. Además, la concentración de nutrientes en las hojas influye en procesos tales como la descomposición y la mineralización de la hojarasca (Cornelissen *et al.*, 1997).

La concentración foliar de nutrientes varía ampliamente entre especies. Así, las hojas de especies perennifolias tienden a tener concentraciones de nutrientes más bajas que las especies caducas y las especies herbáceas (Reich *et al.*, 1992; Aerts y Chapin, 2000). Las especies que viven en ambientes limitados en recursos presentan una serie de adaptaciones conocidas como síndrome de resistencia al estrés, y presentan bajas

tasas de crecimiento, fotosíntesis y absorción de nutrientes, alta longevidad de los tejidos y elevadas concentraciones de compuestos secundarios (Chapin *et al.*, 1993). En estos ambientes pobres en nutrientes, los rasgos que permiten a la planta tener una mayor retención de nutrientes, son más importantes.

### 3.1.2. Análisis foliar

El análisis foliar o de tejidos vegetales es una herramienta esencial para el diagnóstico nutricional. Es la técnica analítica mediante la cual se mide el contenido de nutrientes presentes en las hojas o parte de la planta, a través de procedimientos químicos específicos. Este análisis se considera actualmente como una referencia indispensable para determinar tanto las necesidades de fertilización como el estado de carencia de nutrimentos.

Es adecuado para comprobar el origen de anomalías causadas por deficiencias nutricionales o por exceso de fertilización o contaminación. Para saber si la planta ha recibido una nutrición adecuada, se comparan los niveles presentes en el tejido foliar, con los rangos de suficiencia publicados para esa especie.

La interpretación del análisis foliar se basa en el establecimiento de intervalos de suficiencia o deficiencia. La zona adecuada o rango normal es la concentración de nutrientes apropiada para el crecimiento, y por debajo del cual dicha concentración resulta inadecuada. El límite inferior se conoce como zona de deficiencia o rango crítico de deficiencia. El límite superior al rango adecuado es la zona de exceso o nivel de toxicidad, en el cual las plantas pueden disminuir su crecimiento por una concentración de toxicidad del elemento. El grado en el que un nutriente se encuentra por encima o por debajo del rango aceptable determina la severidad de los síntomas de deficiencia o toxicidad (Figura 5).

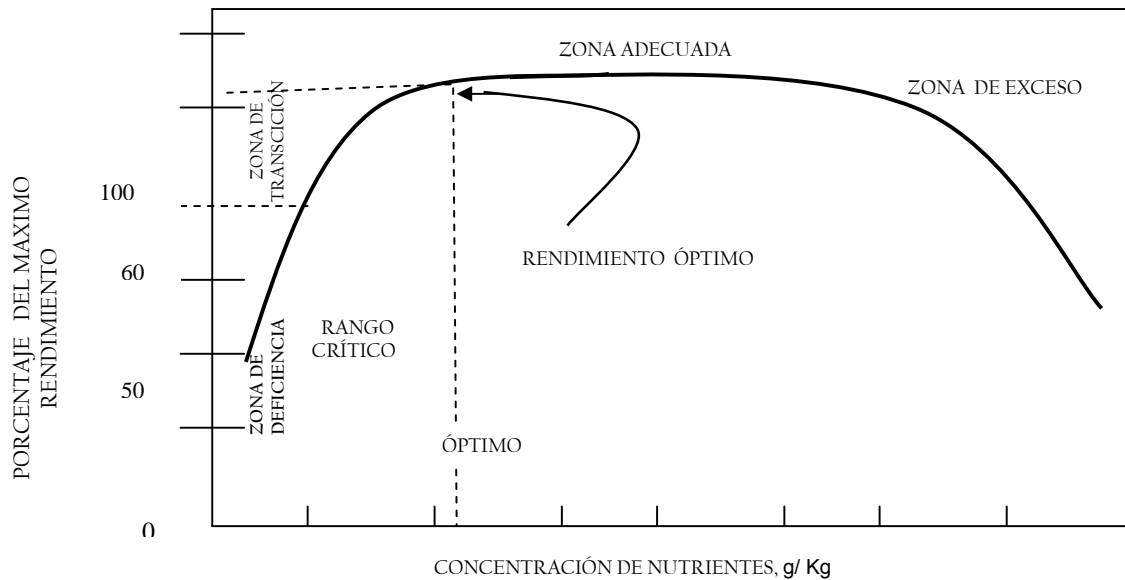


Figura 5. Interpretación del análisis foliar estableciendo intervalos de suficiencia o deficiencia (Molina 2000).

3.1.3. Usos del análisis foliar se utiliza, entre otros para los siguientes fines:

- ✓ La confirmación de síntomas visuales de malnutrición o toxicidad.
- ✓ Permite conocer el estado nutricional de las plantas.
- ✓ Complementa el análisis de suelo.
- ✓ Como guía de la fertilización.

3.1.4. Nutrientes acumulados en la hojarasca

La cantidad de hojarasca que retorna al suelo y la concentración de nutrientes acumulados en ella van a determinar la cantidad de cada uno de los elementos minerales que retornarán al suelo. Las hojas presentan una alta demanda de nutrientes frente al resto de órganos del árbol, entre el 30 y el 70% del total de los nutrientes almacenados anualmente se encuentran en las hojas (Piatek y Alen, 2000).

Además de las hojas, a través de la madera retorna una cantidad importante de nutrientes al suelo. Los troncos y ramas caídos se descomponen lentamente en los

bosques templados y para que se incorporen con el suelo del bosque se necesitan varios años (Hyvönen *et al.*, 2002).

### 3.1.5. Nitrógeno

El N es el elemento más crítico en el crecimiento de las plantas. Es un constituyente de las proteínas de las plantas, la clorofila (el pigmento verde importante para la fotosíntesis), los ácidos nucleicos (porciones regenerativas de la célula viva) y otras sustancias de la planta. El nitrógeno es diferente a los otros elementos esenciales, puede ser utilizado por las plantas en forma de catión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) o en forma de anión nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) solo una pequeña parte del nitrógeno del suelo está presente en estas formas. En forma de nitrato es lavado fácilmente y en ambas formas puede ser consumido por microorganismos y convertido en gas (Pritchett, 1991).

Una de las mayores fuentes de nitrógeno en el suelo es la fijación del mismo, una acción microbiana en la cual el nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) es tomado del aire del suelo y cambiado a las formas utilizables por las plantas. La fijación de nitrógeno por organismos es de dos tipos simbiótica y asimbiótica, en la primera la bacteria causa la formación de nódulos radiculares en ciertas plantas huésped. Mientras que la fijación asimbiótica es causada por microorganismos específicos que viven independientemente en el suelo y en el agua, convierten el ( $\text{N}_2$ ) en nitrógeno en forma de tejido para su cuerpo, dejándolo para que la planta lo use después de que muere y descompone (Pritchett, 1991).

La mayor fuente de nitrógeno en el suelo está en la materia orgánica, cuando se descompone, el nitrógeno es liberado como ion amonio utilizable, la conversión de nitrógeno orgánico en forma de amonio se denomina mineralización, esta liberación es la fuente más importante de nitrógeno utilizable en campos no fertilizados (Pritchett, 1991).



Eventualmente la mayoría de los iones de amonio son oxidados por bacterias selectivas a la forma de nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), esta oxidación de cationes de amonio a aniones de nitrato por las bacterias se denomina nitrificación (Pritchett, 1991).

### 3.1.7. Fósforo

Después del N el P es el segundo nutriente vegetal más crítico. El núcleo de cada célula de la planta contiene P, por lo que la división y crecimiento celular son dependientes de adecuadas cantidades de él. El P es concentrado en las células que se dividen rápidamente, en las que activan el crecimiento y en las partes de raíces y tallos (Roy *et al.*, 1981).

El P como nutriente es doblemente crítico por que el total suministro de P en la mayoría de los suelos es bajo y no está realmente disponible para las plantas. La fuente original de P en el suelo es la apatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ ) un fosfato cálcico de baja solubilidad. Los iones solubilizados,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , reaccionan rápidamente en el suelo para formar fosfatos insolubles, con iones de calcio o con hidróxidos de hierro y aluminio proceso llamado fijación de fosfatos, En suelos ácidos los fosfatos reaccionan con hierro y aluminio soluble o con sus formas sólidas para formar nuevos fosfatos aún menos solubles (Roy *et al.*, 1981).

#### 4. JUSTIFICACIÓN

Esta investigación pretende evaluar la calidad del recurso suelo y determinar su estado nutrimental en el PN Iztaccíhuatl-Popocatépetl en relación a la función que desempeña la actividad arilsulfatasa en la disponibilidad del S que es fundamental para el crecimiento de las especies forestales, a través del S-orgánico el cual es liberado por acción microbiana o por hidrólisis enzimática. Existen pocos trabajos a nivel nacional enfocados al estudio del azufre a pesar de la importancia que tienen estos estudios que contribuyen al buen funcionamiento y sobre todo a la conservación del recurso suelo.

El Parque Nacional Izta-Popo, sufre como todas las Áreas Naturales Protegidas de nuestro país, un proceso de deterioro causado por la presión que hacen las poblaciones aledañas para el aprovechamiento de los recursos. Uno de los problemas más serios que enfrenta el Parque Nacional es la disminución de la cobertura forestal como consecuencia de la tala inmoderada, el pastoreo extensivo e incendios forestales, lo que se ve reflejado en algunos casos en enfermedades cloróticas y baja tasa de supervivencia de la regeneración natural entre otros efectos acumulativos en los bosques.

Es por ello necesario contribuir al diagnóstico de la calidad edáfica mediante la evaluación de sus propiedades físicas, químicas y bioquímicas entre las que destaca la actividad enzimática por estar muy relacionada con las demás propiedades y por ser sensibles a los cambios generados en el uso del suelo, que define cómo y en qué intensidad se ve afectado el estado nutrimental del bosque.

## 5. OBJETIVO GENERAL:

- ✚ Evaluar la actividad arilsulfatasa (AAS) como índice de calidad edáfica y su relación con el azufre (S) del suelo y del tejido foliar en cuatro especies de coníferas del Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl en condiciones de conservación y con algún grado de alteración.

## OBJETIVOS PARTICULARES:

- ✚ Evaluar el efecto del pH (1:2), conductividad eléctrica, textura, porcentajes de MO y humedad del suelo sobre la actividad AAS.
- ✚ Determinar los niveles de S total en suelo y su efecto sobre la actividad AAS.
- ✚ Determinar el contenido de S en el tejido foliar en individuos de *Pinus pseudostrobus*, *P. hartweggi*, *P. teocote* y de *Abies religiosa*.
- ✚ Determinar la actividad AAS del suelo en diferentes condiciones de conservación y productividad.

## 6. HIPÓTESIS

- ✚ Las variaciones en los contenidos de S en el suelo son propiciadas por las diferentes condiciones de conservación y productividad de los bosques e influyen sobre la AAS y sobre el contenido de S en tejido foliar de las especies del género *Pinus* y de *Abies religiosa* del Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatépetl.

## 7. ÁREA DE ESTUDIO

### 7.1. Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl.

Se ubica en la parte centro-oriental del Eje Volcánico Transversal. Ocupa parte de la Sierra Nevada en su porción sur y de la Sierra de Río Frío en su porción norte se encuentra en las coordenadas  $18^{\circ}54.6'$ ,  $19^{\circ} 42' N$  y  $98^{\circ} 31.2'$ ,  $98^{\circ} 48' W$ , con una extensión de  $1320.16 \text{ Km}^2$ . Su topografía comprende los volcanes Popocatepetl  $5,452 \text{ m}$  y la Iztaccíhuatl  $5,280 \text{ m}$  que dan nombre al Parque Nacional. Sus geoformas son de origen volcánico, predominando rocas basálticas y andesíticas. Abarca una superficie de  $40,008$  hectáreas dividida entre los estados de México, Puebla y Morelos, en los municipios de Texcoco, Ixtapaluca, Chalco, Tlalmanalco, Amecameca, Atlautla y Ecatingo, en el Estado de México; Tlahuapan, San Salvador el Verde, Chautzingo, Huejotzingo, San Nicolás de los Ranchos y Tochimilco, en Puebla; y Tetela del Volcán, en Morelos Figura 6 (CONANP 2008).

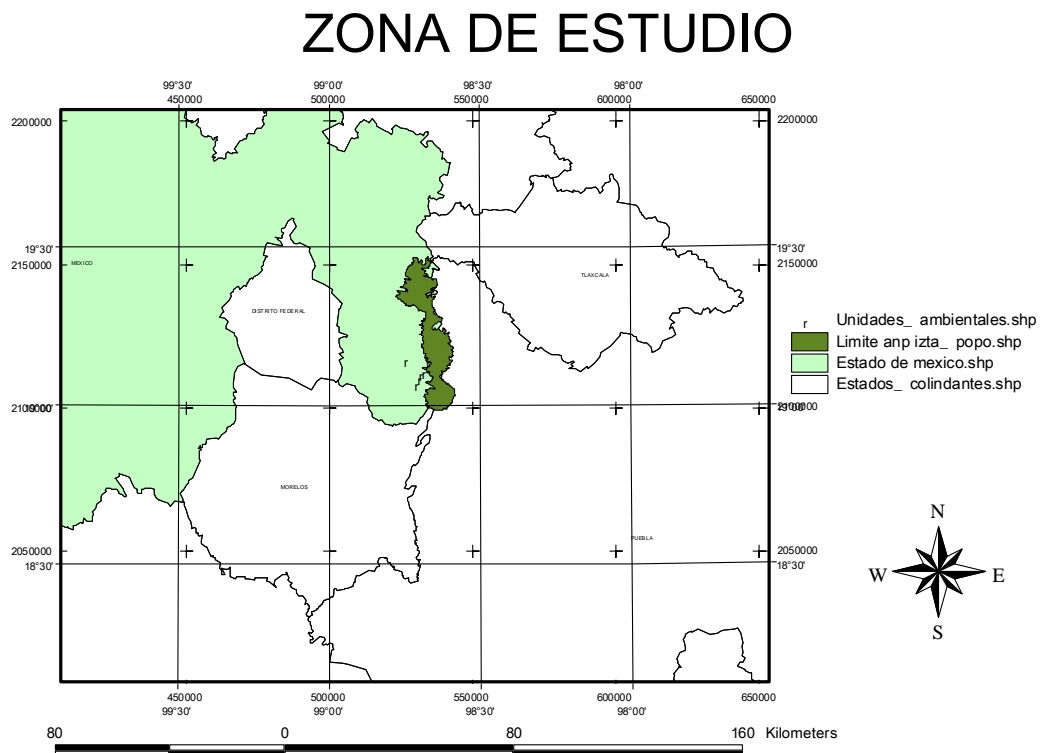


Figura 6. Ubicación del Parque Nacional Iztaccíhuatl –Popocatepetl

Dado el papel fundamental que cumplen estas montañas como verdaderas fábricas de agua debido a sus boscosas zonas que captan y filtran el agua que abastece a dos importantes cuencas hidrológicas: la del Valle de México y la del alto Balsas. Además captan dióxido de carbono, generan oxígeno, regulan el clima y ofrecen grandes atractivos turísticos. La Comisión Nacional Forestal (CONANP, 2008) las incluyó dentro del Programa Nacional las 60 montañas prioritarias de México.

Por otro lado, el sitio que ocupa el parque en el centro del Eje Volcánico Transversal, le confiere una serie de características propias de la confluencia de las regiones neártica y neotropical, como son la alta biodiversidad y la presencia de endemismos. Aunado a esto, su marcado gradiente altitudinal, que va de los 3,000 msnm a los 5,500 msnm, con la segunda y tercera cumbres más altas de México, desarrolló en poco espacio una gran diversidad de ecosistemas: bosques mixtos de pino, oyamel y encino, pradera de alta montaña (muy rara en un país intertropical) y glaciares.

#### 7.1.1. EDAFOLOGÍA

Las unidades de suelo presentes en el área del parque son:

**LITOSOLES:** Suelos someros, con menos de 0.1 m de espesor, formados sobre tepetates y que conservan las características del material parental. Aunque esos suelos pueden estar asociados con regosoles y andosoles en ciertas áreas muy restringidas, generalmente son poco desarrollados debido a la velocidad de percolación del agua que impide el establecimiento de algún tipo de vegetación, lo que aunado al clima presente a altitudes mayores de 4,000 msnm dificulta el desarrollo del suelo.

**REGOSOLES:** Son suelos formados a partir de material suelto como arena, grava o piedra; en el parque se localizan a altitudes por debajo de los 3,900 msnm y normalmente son pobres en contenido de materia orgánica y nutrientes.

ANDOSOLES: Se derivan de cenizas volcánicas recientes, por lo que son suelos ligeros con alta retención de humedad y buen contenido de nutrientes, así como con un alto contenido de materia orgánica; por su contenido de materia orgánica y la proporción de vidrios volcánicos presentes, pueden formar andosoles húmicos que se presentan en áreas forestales poco alteradas; también pueden formar andosoles vítricos en zonas con vegetación de coníferas cuando presentan más del 60% de vidrios, ceniza volcánica y texturas gruesas, se distribuyen altitudinalmente de los 3000 a 3500 m.

CAMBISOLES: Son suelos mejor desarrollados, con horizontes A y B bien definidos, pero pobres en contenido de nutrientes; presentan potencial para el desarrollo forestal con adecuadas prácticas de manejo para la conservación de suelo y captación de humedad. El intervalo altitudinal en el que se distribuyen a los 3000 y 3500m.

FLUVISOLES: Son suelos formados en cañadas, escurrimientos y zonas de depósitos de material reciente; de textura gruesa, su fertilidad es baja debido al escaso contenido de nutrientes. Por lo anterior, se comprende que los suelos presentes en todo el parque estarán siempre asociados con su origen volcánico, sin importar la zona donde uno se encuentre, solo variando el grado de desarrollo.

### 7.1.2. VEGETACIÓN

El Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl es el remanente más importante de bosques de coníferas y praderas de alta montaña en el centro del país. La distribución de la vegetación en esta zona atiende a la altitud. Se distinguen tres pisos fundamentales de vegetación. Los bosques de coníferas son la vegetación dominante, seguidas por la pradera de alta montaña o pastizal alpino, vegetación herbácea de no más de 50 cm de altura que colinda con las nieves perpetuas. Entre estas dos zonas existe un ecotono de aproximadamente 100 metros (50 hacia el bosque y 50 hacia el zacatonal) cuya principal característica es ser zona de transición entre las dos zonas de

vegetación descritas. Las principales especies de este ecotono son la jarilla, *digitalis*, cardo santo, *lupinus* y gordolobo (CONANP, 2008).

### 7.1.3. Bosques

Hasta los 3,100 m se encuentran asociaciones dominadas por *P. montezumae*. Forman un dosel de 20 a 30 m sobre el nivel del suelo frecuentemente asociado con especies de los géneros *Quercus*, *Abies*, *Arbutus*, *Alnus*, *Salix* y *Buddleia*.

Se establecen asociaciones vegetales de transición entre *Pinus* y *Abies*, lo que implica que son zonas de amplia diversidad florística y ecológica conformando rodales mixtos de *Pinus ayacahuite* con *Abies religiosa*. En esta zona de ecotono también es frecuente la asociación de *Pinus montezumae* con *Pinus hartwegii*.

En estos bosques el dosel no es muy cerrado, lo que permite el establecimiento y desarrollo de diversas especies arbóreas, arbustivas y herbáceas. Entre los géneros mejor representados pueden citarse: *Pinus*, *Senecio*, *Ribes*, *Muhlenbergia*, *Agrostis*, *Lupinus* y *Festuca*.

En las partes más elevadas y abruptas hacia los 3,600 msnm se establece el bosque de *P. hartwegii* tolerante a las temperaturas bajas, frecuentes nevadas y probablemente uno de los pinos más adaptados a los incendios superficiales. En las partes bajas de su área de distribución forma rodales abiertos con árboles de entre 15 y 20 m de altura, asociados con zacatonal denso y leguminosas como *Lupinus* spp., pero hacia las partes más elevadas (4,000 msnm), con frecuencia constituye un bosque achaparrado (de 5 a 8 m de alto) y más bien abierto, aunque algunos individuos aislados pueden encontrarse en los 4,200 msnm, que es el límite altitudinal arbóreo en México.

La especie dominante de los bosques de oyamel es la conífera *Abies religiosa*. Tiene un rango altitudinal entre 2,400 a 3,500 msnm. El dosel suele estar entre los 20 y 40 m



sobre el nivel del suelo. Los suelos son típicamente profundos, bien drenados pero húmedos todo el año. En muchos sitios se hallan limitados a cañadas o barrancas más o menos profundas que ofrecen un microclima especial. No se desarrollan sobre terrenos planos o poco inclinados, pero tal hecho quizá está en función de la escasez de estos terrenos en la zona montañosa y en parte a la influencia humana.

Las asociaciones de bosques de encino son todavía más complejas que las del pino y se entremezclan con otros tipos de vegetación. De 2,400 a 3,100 msnm se encuentra la asociación de *Q. laurina* con *Q. crassifolia*, *Q. rugosa*, *Abies*, *Arbutus*, *Juniperus* y *Pinus*.

#### 7.1.4. Zacatonal y pastizales alpino y subalpino

Los zacates del parque se consideran en buen estado; hay una combinación de zacatonales primigenios y zacatonales secundarios como consecuencia de la introducción de zacatales destinados a la ganadería, los cuales han resultado buenos para la engorda del ganado a los 4,000 msnm.

El pastizal alpino se establece entre los 4,000 y los 4,500 msnm. Bajo este rubro se consideran las asociaciones de vegetación en que dominan las gramíneas amacolladas. Así, se distinguen al menos dos grandes comunidades vegetales: el zacatonal, que se desarrolla en los llanos sobre sitios bajos y mal drenados, dedicados históricamente al pastoreo de ganado, donde predominan gramíneas que rara vez exceden los 30 cm de alto o estoloníferas de los géneros: *Agrostis*, *Bromas*, *Calamagrostis*, *Festuca*, *Muhlenbergia* y *Poa* y ciperáceas como *Carex peucophila*. El pastizal subalpino y alpino se distribuye por arriba del límite arbóreo y constituye vegetación clímax.

Los pastizales subalpinos se caracterizan por la presencia de gramíneas amacolladas que oscilan entre 60 y 120 cm de altura y se localizan en altitudes de 2,700 a 4,300 metros (CONANP, 2008).

## 8. MATERIAL Y MÉTODOS

### 8.1. Zona de estudio

La investigación se realizó en toposecuencias dirigidas desde las poblaciones de Amecameca y San Pedro Nexapa hacia la zona del Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl entre 2,600 y 3,800 m, en los meses de febrero a junio del año 2008. Se seleccionaron seis Unidades Ambientales (UA) con apoyo cartográfico y con base en un gradiente altitudinal, bajo la condición de que cada UA tuviera como vegetación dominante a los géneros *Pinus* y *Abies* (Figura 7).

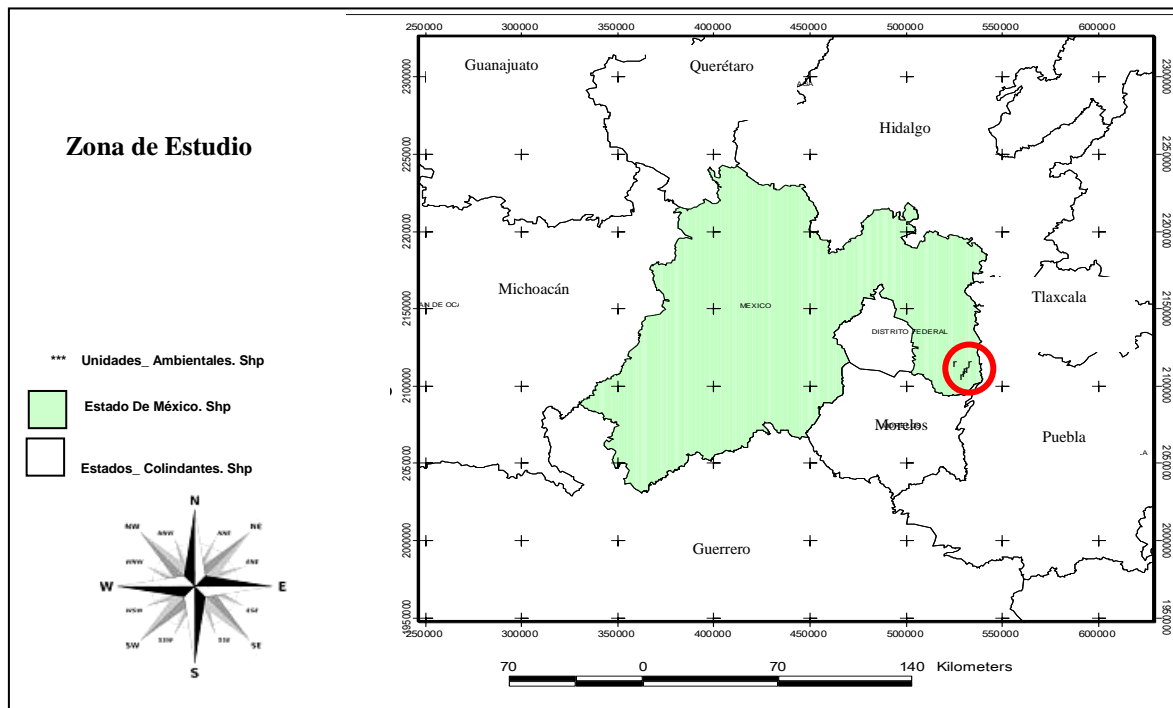


Figura 7. Unidades ambientales

En cada sitio se trazaron cuadrantes de 50 x 20 m que corresponden a 0.1 ha, tomando en cuenta que en cada cuadrante los árboles estuvieran vigorosos y sanos y que en él existieran individuos juveniles y adultos. Se registró el grado de conservación indicada con presencia o ausencia de regeneración. Se determinó la ubicación geográfica mediante el registro de coordenadas y altitud con un GPS marca Garmin. En cada UA se registró la densidad del arbolado adulto y juvenil.

### 8.1.1. Toma de muestras

### 8.1.2. Muestras de suelo.

Para el análisis físico y químico del suelo, en cada UA se tomaron con una pala, cuatro submuestras de suelo entre 0-20 cm de profundidad, de aproximadamente 1 kg de peso (Figura 8), las cuales fueron mezcladas homogéneamente obteniendo así, una muestra compuesta la cual se colocó en bolsas plásticas.



*Figura 8. Toma de muestra de suelo de 0 a 20 cm de profundidad*

El suelo se etiquetó y se trasladó al laboratorio para posteriormente realizar el análisis, las muestras se secaron a temperatura ambiente. Después se tamizó con malla del N° 20 y se guardaron hasta el momento de su utilización en botes de plástico etiquetados (Figura 9) con los siguientes datos: Fecha, número de muestra, altitud, pendiente, lugar, exposición y especie.



*Figura 9. Almacenamiento de muestra de suelo colectadas entre 0 y 20 cm de profundidad*

Para determinar la actividad enzimática en el suelo, se tomaron cuatro submuestras de suelo de 0- 5 cm y 6-10 cm de profundidad. Se mezclaron para formar una muestra

compuesta de cada profundidad, la cual se traslado en bolsas de plástico con cierre hermético debidamente etiquetados (Figura 10).



Figura 10. Muestras de 0 a 5 y 6 a 10 cm de profundidad para el análisis bioquímico

#### 8.1.3. Pretratamiento de las muestras de suelo

En el caso de los parámetros bioquímicos las muestras de suelo se mantuvieron en refrigeración a 4°C, con el fin de mantener en condiciones óptimas a las enzimas y reducir al máximo el metabolismo microbiano en la muestra. Para la determinación de actividad enzimática, se tamizó con una malla N° 20 las muestras compuestas a las dos profundidades, a fin de eliminar restos de materia orgánica o raíces y fragmentos minerales gruesos.

#### 8.1.4. Muestras foliares

La selección de la zona de muestreo se hizo con base en la distribución altitudinal donde se localiza *A. religiosa* y *Pinus sp.* Que está entre los 2100 y 3600msnm. Los puntos de muestreo se realizaron en diferentes gradientes altitudinales dentro del rango de distribución de los géneros *A. religiosa* y *Pinus* en el Parque Nacional. Los gradientes corresponden a la parte baja, media y alta dentro de los 2200 y 3800msnm; en donde en cada UA se trazaron dos cuadrantes de 50 x 20m con diferente grado de conservación indicada por presencia o ausencia de regeneración.

### 8.1.5. Recolecta de muestras foliares

En cada UA se seleccionaron entre seis y ocho ejemplares de *Abies religiosa* y *Pinus*, de edad adulta y juvenil, los cuales presentaron un buen estado físico; y donde estuvieran libres de incendios severos, ocoteo y plagas.

De estos ejemplares se colectaron muestras foliares correspondientes a las partes meristemáticas de las ramas orientadas hacia los cuatro puntos cardinales, con las que se formaron muestras compuestas de cada individuo, las cuales fueron transportadas en bolsas de papel estraza etiquetadas para su posterior análisis en el laboratorio (Figura 11).



Figura 11. Colecta y guardado de la muestra foliar; a) selección del árbol, b) parte meristemática colectada, c) guardado de la muestra.

En laboratorio las muestras foliares se lavaron con agua corriente, para quitarles el polvo que pudieran tener, posteriormente las muestras foliares se secaron a una temperatura aproximada de 65-70°C, en una estufa marca FELISA modelo FE131, hasta obtener peso constante. Ya seca la muestra, se pasó por un molino Thomas Scientific, se tamizó en una malla del número 20 y se almacenaron en frascos de polietileno (Figura 12).



Figura 12. Tratamiento de la muestra foliar a) lavado, b) secado c) pesado de la muestra.

#### 8.1.6. Determinaciones en laboratorio.

#### 8.1.7. Análisis físicos y químicos en suelo.

La determinación de los parámetros del suelo se hizo con los siguientes métodos:

- pH activo relación suelo:agua 1:2 por el método potenciométrico (Jackson, 1964).
- pH potencial en solución salina de KCl 1N en relación 1:2, por el mismo método que el activo.
- Conductividad eléctrica relación 1:5, con un conductímetro (Richards, 1990).
- Textura por el método de Bouyoucos (Boyouscos, 1963, citado por Palmer y Truoch, 1989).
- Densidad aparente por la técnica del cilindro (Figura 13) y de la probeta (Domínguez y Aguilera, 1982).



Figura 13. Toma de muestra de suelo con cilindro.

- Materia orgánica por el método de Walkley y Black (Walkley y Black, 1934, citados en Jackson, 1982).

- Sulfatos extractables con  $\text{HCl}$  0.025N- $\text{NH}_4\text{F}$  0.03N (Bray y Kurtz, 1945),  $\text{NaHCO}_3$  0.5M pH 8.5, y solubles en  $\text{H}_2\text{O}$ . Determinados con referencia a una curva de calibración.

#### 8.1.8. Análisis bioquímico del suelo

- Actividad de la enzima Arilsulfatasa por el método del p-Nitrofenil sulfato (Tabatabai, 1994).

La determinación de la actividad Arilsulfatasa se realizó según el método descrito por Tabatabai y Bremner 1970, utilizando buffer de acetato 0.5 M pH 5.8 y 1 mL de p-nitrofenil sulfato como sustrato. Luego de incubar a 37°C durante una hora, se efectuó la cuantificación colorimétrica del p-nitrofenol liberado por la actividad enzimática, que desarrolla un color amarillo.

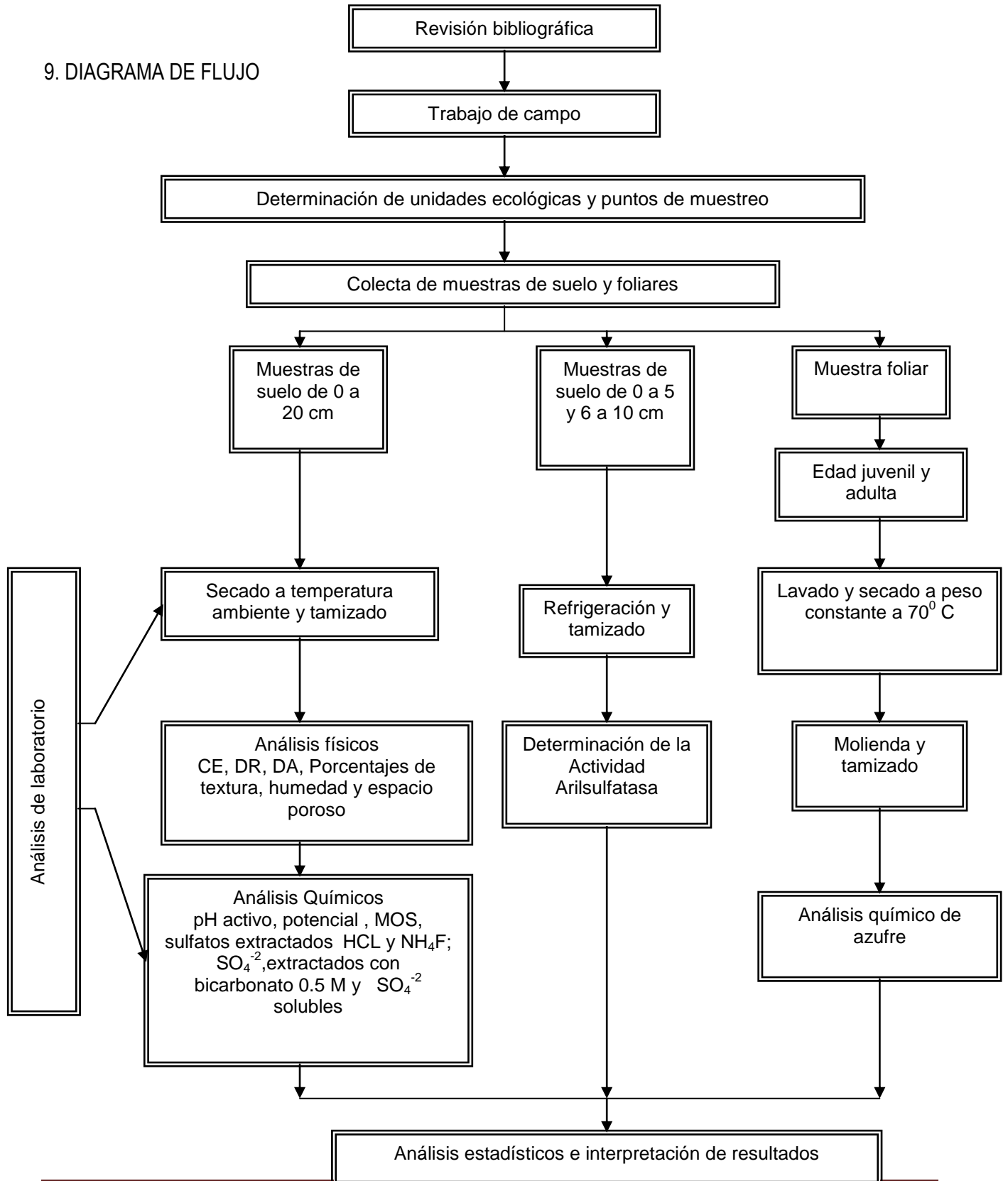
#### 8.1.9. Análisis en tejido vegetal

- Azufre por digestión ácida del tejido vegetal y cuantificación turbidimétrica.

#### 8.2. Análisis estadístico de las variables

- Consistió en un análisis de varianza realizado con el programa SAS (System for Windows 9.0) para conocer los efectos significativos ( $p \leq 0.05$ ) entre variables y se realizó también la prueba de comparación de medias de Tukey.

9. DIAGRAMA DE FLUJO





## 10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 10.1. Descripción del sitio de estudio.

En el estudio realizado se encontraron seis Unidades Ambientales<sup>1</sup> (UA) en toposecuencias dirigidas desde las poblaciones de Amecameca y San Pedro Nexapa hacia la zona del Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl entre 2,600 y 3,800 m s, con vegetación arbórea representada por diferentes especies del género *Pinus* y *Abies religiosa*. Después de la selección de los sitios dentro de la UA se evaluó la pendiente del terreno, encontrando valores entre 10 y 40% que, según la clasificación de Valencia y Hernández (2002), se denominan pendientes de inclinada a extremadamente inclinada.

La distribución de la vegetación en ésta como en otras zonas, es función de la altitud pues como fue descrito por Little (1967), citado por Niembro (1986), las especies del género *Pinus* se presentan en una distribución altitudinal muy amplia lo que se confirmó en este trabajo donde se encontró a lo largo de todo el gradiente altitudinal que se estudió. En cuanto a la especie *Abies religiosa* se localizó predominantemente entre 3000 y 3500 m (CONANP, 2008) lo que corresponde con lo citado por García (2003), quien reporta que a los 3200 m se tiene la altitud óptima para el desarrollo de *Abies religiosa*.

Otros estudios que se realizaron en el Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl indican que los suelos sobre los que se desarrollan las especies de *Pinus pseudostrobus*, *P. teocote* y *P. hartweggi*, están formados sobre material ígneo dominando los Regosoles, Litosoles y Andosoles principalmente, los cuales presentan pH de acidez moderada a fuerte. Granados (2003) reportó que hay afinidad de los pinares por suelos derivados de rocas ígneas antiguas o recientes (Cuadro 4).

<sup>1</sup> Una Unidad Ambiental se caracteriza por poseer una composición florística y tipo de vegetación uniforme, una morfología (Exposición, pendiente, altitud) constante y en general el mismo tipo de suelo y de material geológico.

Cuadro 4. Ubicación geográfica y descripción de las Unidades Ambientales estudiadas en el Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl.

LOCALIDAD Y SITIO	COORDENADAS UTM NAD 27		ALTITUD __ m __	PENDIENTE __ % __	SUELO	VEGETACIÓN
	__ X __	__ Y __				
Coapexco 8	528892	2116544	2679	40	Andosol húmico	<i>Pinus pseudostrobus, Abies religiosa</i>
Coapexco 9	528892	2116544	2679	30	Andosol húmico	<i>P. pseudostrobus, Abies religiosa</i>
Palomas 10	532338	2108091	2949	10	Andosol ocrico	<i>A. religiosa, Cupressus sp.</i>
Palomas 11	532338	2108091	2949	10	Andosol ocrico	<i>A. religiosa, Cupressus sp.</i>
O y F 1	533634	2110361	3284	20		<i>P. teocote, Abies religiosa</i>
Potrero 2	533992	2111957	3353	35		<i>A. religiosa</i>
C. Amalacaxco 5	535271	2112631	3659	15	Regosol eútrico + Litosol	<i>P. hartweggi</i>
C. Amalacaxco 6	535271	2112631	3659	10	Regosol eútrico + Litosol	<i>P. hartweggi</i>
C. Amalacaxco 7	535271	2112631	3659	10	Regosol eútrico + Litosol	<i>P. hartweggi</i>
Joya 3	536608	2116380	3870	15	Andosol acuico	<i>P. hartweggi</i>
Joya 4	536608	2116380	3870	25	Andosol acuico	<i>P. hartweggi</i>

Sitios ordenados en forma creciente a la altitud

## 11. PROPIEDADES FÍSICAS DEL SUELO.

La textura dentro de las propiedades físicas del suelo utilizadas como indicadores de calidad se relaciona con el arreglo de las partículas, poros y estabilidad de agregados, refleja la manera en que el suelo acepta, retiene y transporta agua a las plantas. La clase textural encontrada en los suelos de las Unidades Ambientales estudiadas es franco-arenosa, es decir, texturas gruesas. León (2007) reporto para suelos forestales con vegetación de Pino y Oyamel, texturas gruesas, con alto porcentaje de arena, y por la tanto una gran porosidad que favorece la aireación, facilita la circulación del agua y aire tan importantes para la vida de las plantas (Gavande, 1982). En este trabajo el porcentaje promedio de las partículas fue 66.9 de arena, 24.06 limo y 8.65 de arcilla.

Otra propiedad dependiente de la textura, es la porosidad que cuando es favorable para la vegetación facilita el arraigamiento, asegura la conservación del agua y favorece los cambios entre vegetación y suelo, permitiendo la difusión del agua y del aire. El mayor valor encontrado en EP se registro en La Joya a 3,800 m con un porcentaje de 77.5 y con un 19.8 porciento de humedad este último debido a que a mayor altitud hay menor temperatura lo que impide la evaporación de esta humedad.

Los suelos de las UA estudiadas presentaron conductividades eléctricas con valores entre 0.01 en Palomas y 0.5 dS m<sup>-1</sup> en Potrero el valor promedio encontrado es de 0.13 dS m<sup>-1</sup>.

Con base en la comparación con los intervalos de salinidad reportados en la NOM-021 RECNAT-2000, los valores de Conductividad eléctrica (CE) encontrados en los suelos forestales que se estudiaron indican que existen efectos despreciables de salinidad (Cuadro 5).

*Cuadro 5. Propiedades físicas del Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl*

Localidad y altitud	C.E.	D.R	D.A	EP	HUM	ARC	LIM	ARE	Clase Textural
msnm	_ dS m <sup>-1</sup> _	_ g cm <sup>-3</sup> _				_____ % _____			_____ USDA _____
Coapexco 2679	0.15	2.6	0.73	71.9	9.51	14.3	28	57.6	FRANCO ARENOSA
Palomas 2983	0.01	2.6	0.81	68.7	13.03	8.32	24	67.68	FRANCO ARENOSA
O y F 3125	0.21	2.6	0.88	66.1	10.02	6.32	20	71.68	FRANCO ARENOSA
Potrero 3399	0.50	2.6	1.08	58.3	2.09	6.32	26	67.68	FRANCO ARENOSA
C. Amalacaxco 3661	0.07	2.6	0.69	73.6	16.83	8.32	23.33	68.35	FRANCO ARENOSA
La Joya 3858	0.1	2.6	0.58	77.5	19.8	8.32	23	68.68	FRANCO ARENOSA
Intervalo	0.01-0.5	2.6	0.58-1.08	58.3-77.5	2.0-19.8	6.3-14.3	20-28	57.6-71.6	
Promedio	0.17	2.6	1.09	69.3	14.16	8.65	24.06	66.95	

Sitios ordenados en forma creciente a la altitud

Muestras de 0-20 cm de profundidad. CE conductividad eléctrica, DA densidad aparente, DR densidad real, Hum humedad, EP espacio poroso, ARC arcilla, ARE arena y LIM limo.

La CE tuvo una correlación significativa ( $p \leq 0.05$ ) con las siguientes variables: porcentaje de potasio foliar ( $r=0.96$ ), densidad aparente DA ( $r=0.42$ ), porcentaje de espacio poroso EP ( $r=-0.45$ ), sulfatos extractados con bicarbonato de sodio 0.5N pH 8.5 ( $r=-0.44$ ) y con la altitud.

En la determinación de la DA, se encontró el valor mínimo de  $0.58 \text{ g cm}^{-3}$  para la Joya a una altitud de 3,870 y el valor máximo ( $1.08 \text{ g cm}^{-3}$ ) para Potrero a 3,353 msnm. Pritchett (1991) indicó que las DA de los suelos forestales varían desde 0.2 hasta  $1.9 \text{ g cm}^{-3}$  por lo que los valores encontrados en los suelos del Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl, corresponden a densidades aparentes características de los suelos forestales.

El estudio de las correlaciones estadísticas mostró que la DA del suelo presentó relación significativa ( $p \leq 0.05$ ) con el tipo de género que se desarrollo sobre él, con valores mayores de DA en suelos bajo el dosel de *Abies religiosa* ( $r=0.51$ ). También hay correlación significativa con la especie ( $r=0.58$ ); con los porcentajes de fósforo ( $r=0.38$ ) y nitrógeno foliar ( $r=-0.48$ ); EP ( $r=-0.37$ ) y con la CE ( $r=0.42$ ). El comportamiento de la DA a lo largo del gradiente altitudinal mostró que en Potrero fue de  $1.08 \text{ g cm}^{-3}$  y a mayores altitudes en la UA Amalacaxco a 3,600 y en la Joya a 3,800 m se registraron los valores más bajos de DA encontrando valores de  $0.69$  y  $0.58 \text{ g cm}^{-3}$  respectivamente. Los valores de DA encontrados en está investigación corresponde con lo reportado por Granados (2003), quien encontró para el Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl densidades aparentes entre  $0.86$  y  $1.33 \text{ g cm}^{-3}$ . La Figura 14 muestra la variación de la CE y la DA en función de la altitud de los sitios. La CE más baja se registró a los 2,900 en Palomas con un valor de  $0.01 \text{ dS m}^{-1}$  y el más alto a los 3,300 en Potrero con un valor de  $0.50 \text{ dS m}^{-1}$ .

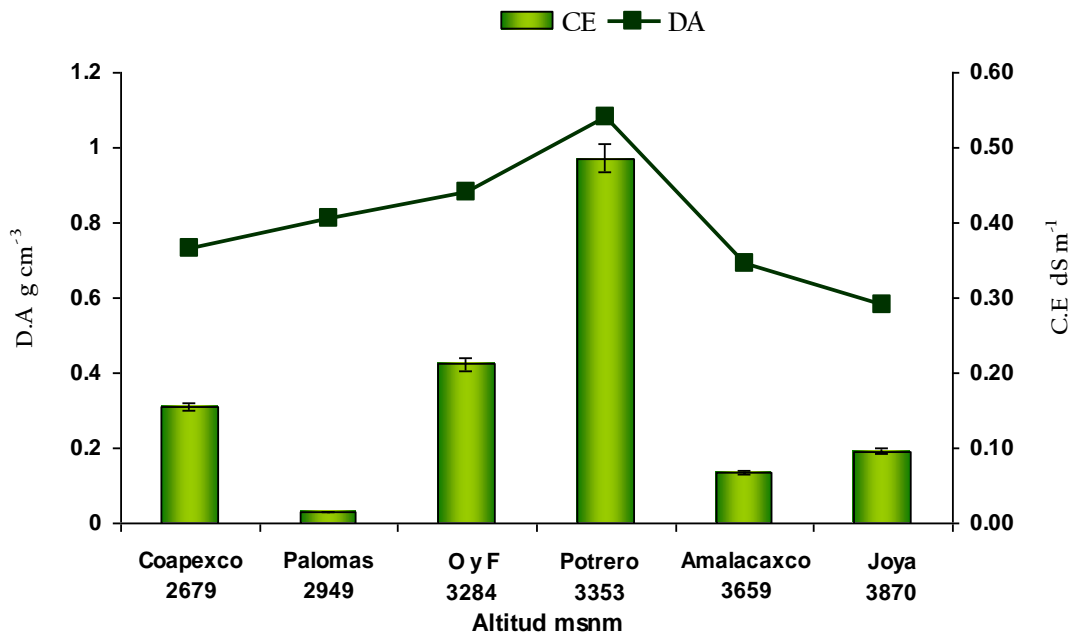


Figura 14. Variación de DA y CE de suelos forestales en función de la altitud

El espacio poroso (EP) encontrado en esta investigación es el adecuado para una correcta aireación del suelo y una buena retención de agua, como se había mencionado la textura es Franco-arenosa lo cual es favorable a la vegetación.

Los valores de (EP) se situaron entre 58% y 77.5%, con un valor mínimo de 58.3% en la Unidad Ambiental llamada Potrero a una altitud de 3,399 m y un máximo de 77.5% para la Joya a 3,858 m, lo cual es ligeramente mayor a lo que reporta Pritchett (1991) quien señala que la porosidad de la mayor parte de los suelos forestales varía de 35 a 65% y los suelos que sostienen bosques mixtos pueden tener mayor volumen poroso que aquellos que sostienen bosques de una sola especie dominante.

La relación entre porcentaje de humedad y espacio poroso, tuvo correlación significativa ( $r= 0.59$ ) es decir conforme aumenta el porcentaje de humedad aumenta el EP sin embargo a los 3,300 presentó una ligera disminución ambas propiedades, el máximo

porcentaje de humedad se registró a 3,870 msnm en la localidad llamada La Joya con un valor de 19.8% y un mínimo 2.09% en Potrero a una altitud de 3,300 m (Figura 15). Estadísticamente la humedad tuvo correlación negativa pero significativa con el género ( $r=-0.45$ ) lo que señala que bajo el dosel de *Abies religiosa* los suelos tienen mayor % de humedad que bajo *Pinus*.

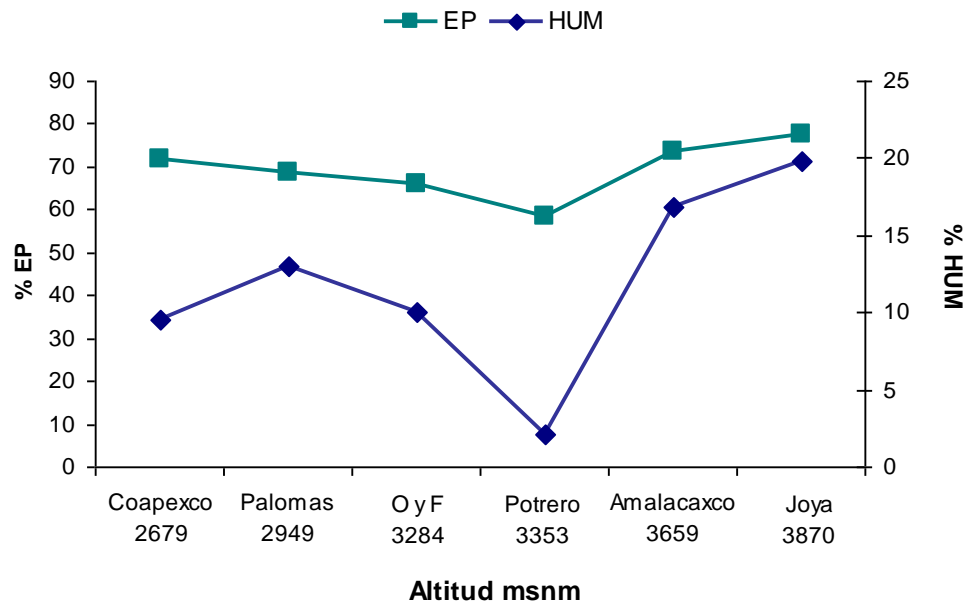


Figura 15. Porcentaje de espacio poroso en relación al contenido de humedad y a la altitud.

## 12. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO.

En relación al análisis de los parámetros químicos el contenido de MOS es mayor (9.3%) en la Joya a una altitud de 3,800 m, donde la temperatura y actividad microbiana a esta altitud es menor y la tasa de degradación de materia orgánica es baja, lo que provoca una acumulación de MOS, el tipo de vegetación que predomina en esta UA es *Pinus hartweggi*, En cambio los sitios donde predomina *Abies religiosa* y *Pinus teocote* que se encuentran en altitudes inferiores a 3300 m el porcentaje de MOS fue de 3.5 en Palomas y 5.8 en la localidad nombrada O y F. De acuerdo a lo que establece la NOM-021-RECNAT-2000, en cuanto los valores de referencia para clasificar la concentración de materia orgánica en suelos volcánicos, los valores aquí obtenidos se ubicaron entre muy bajo y medio. (Granados, 2003) reporto que para el Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl el porcentaje de MOS incrementa conforme aumenta la altitud, lo que coincide con esta investigación.

En relación con el pH, es de los factores esenciales en la distribución de las diferentes especies vegetales, pues cada una tiene preferencias determinadas en cuanto al valor de pH del suelo sobre el que habitan.

Los valores encontrados de pH más bajo corresponde con el porcentaje más alto de MOS, a una altitud de 3,600 el pH fue de 4.0 y a 3,800 m de 4.4 encontrando que a esta altitud *Pinus hartweggi* se desarrolla sobre suelos más ácidos en comparación con *Abies religiosa* con un valor de 5.2 a 6.1. La mayor parte de los suelos forestales van de moderada a extremadamente ácidos (3.5 a 6.5) como resultado de la liberación de ácidos orgánicos durante la descomposición de la hojarasca y la lixiviación de las bases del suelo mineral superficial. Con algunas excepciones las especies forestales están bien adaptadas a las condiciones de suelos ácidos, de hecho crecen mejor en un medio moderadamente ácido (Pritchett, 1991).



Cuadro 6. Propiedades químicas de los suelos estudiados en el Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl

LOCALIDAD msnm	pH H <sub>2</sub> O	pH KCl	MOS	N t	P Olsen	P Bray 1	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> †	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> ‡	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> ◆	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>
	___ 1:2 ___		___% ___		___mg kg <sup>-1</sup> ___		___mg kg <sup>-1</sup> ___			___cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> suelo ___			
Coapexco 2679	5.8	5.2	7.3	0.31	15.1	24.22	0.13	0.25	0.32	0.18	7.15	0.24	0.05
Palomas 2949	6.3	6.1	3.5	0.10	19.2	22.84	0.14	0.29	0.27	0.44	19.14	0.51	0.08
O y F 3284	6.3	5.0	5.8	0.23	10.6	13.75	0.15	0.30	0.1	0.45	18.51	3.88	2.70
Potrero 3353	6.9	5.3	6.2	0.14	11.8	39.73	0.18	0.14	0.08	0.22	6.38	1.29	2.54
Amalacaxco 3659	5.0	4.0	7.1	0.23	11.7	15.89	0.20	0.30	0.14	0.43	26.23	1.34	0.64
La Joya 3870	5.3	4.4	9.2	0.30	12.8	17.11	0.27	0.32	0.1	0.31	21.26	0.90	0.48
<b>Intervalo</b>	<b>5.0-6.9</b>	<b>4.0-6.1</b>	<b>3.5-9.2</b>	<b>0.10-0.31</b>	<b>10.6-19.2</b>	<b>13.7-39.7</b>	<b>0.13-0.27</b>	<b>0.14-0.32</b>	<b>0.08-0.32</b>				
<b>Promedio</b>	<b>5.8</b>	<b>4.9</b>	<b>6.7</b>	<b>0.3</b>	<b>13.5</b>	<b>22.25</b>	<b>0.211</b>	<b>0.287</b>	<b>0.184</b>				

SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>† sulfatos extractados con HCl 0.025 N y NH<sub>4</sub>F 0.003 N; SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>‡ extractados NaHCO<sub>3</sub> 0.5N a pH 8.5 y SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>◆ solubles

Así mismo, el pH activo presentó el valor mínimo de 5.0 para la Cañada Amalacaxco y el máximo de 6.9 para Potrero, encontrándose pH moderadamente ácidos. Respecto a los valores de pH potencial estos fluctuaron entre 4.0 para Cañada Amalacaxco y 6.1 para la UA denominada las Palomas, respectivamente. Lo anterior concuerda con lo descrito por García (2003), quien reportó para suelos forestales de *Abies religiosa* del Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatépetl un intervalo de pH activo entre 5.3 a 6.79 y potencial de 4.03 a 5.77. Con respecto a la altitud, los valores promedio de pH activo aumentaron de 2,600 a 3,300 m y disminuyeron de los 3,600 a 3,800 m, mientras que para el pH potencial su valor máximo se presentó en el intervalo de 2600 a 2900 msnm y el valor mínimo de los 3600 a 3800 msnm.

En la Figura (16) se muestra la relación entre el pH activo y la Materia orgánica del suelo (MOS) a altitudes mayores de 3,300 a 3,800 m el pH disminuye mientras que el porcentaje de MOS aumenta de los 2900 a 3800 m. El tipo de vegetación determina en gran medida el grado de acidez del suelo y ésta, a su vez está determinada por gradientes altitudinales (Valderrábano, 2005).

Con respecto a la MOS, se encontró un valor mínimo de 3.5% en la Unidad las Palomas. Cabe mencionar que en esta zona existe actividad antropogénica de tipo turística e introducción de ganado principalmente, el valor máximo fue de 9.2% de MOS en la Unidad Ambiental La Joya, que se encuentra a mayor altitud donde, por las bajas temperaturas predominan a lo largo del año, provocando una menor actividad microbiana; y por lo tanto la degradación de esta materia es más lenta. También se observó una tendencia positiva entre la altitud y el contenido de MOS, mientras que el pH activo y potencial, disminuyeron ligeramente a mayor altitud de 3,600 a 3,800 m.

Estadísticamente se encontró que la MOS se correlaciona de manera positiva con la altitud ( $r=0.33$ ); negativa con el grado de conservación ( $r=-0.47$ ) encontrando que hay mayor contenido de MOS en un lugar conservado que en aquellos con algún grado de

perturbación. También hay relación significativa de la MOS con los porcentaje de fósforo ( $r=-0.49$ ), azufre foliar ( $r=-0.43$ ) y con pH activo ( $r=-0.36$ ). La correlación negativa que se encontró indica que el aumento de MOS no implica necesariamente un incremento de P y S en tejido foliar, aunque la MOS es la mayor fuente de estos importantes elementos minerales y esencialmente la única fuente de nitrógeno (Buckman y Brady 1977).

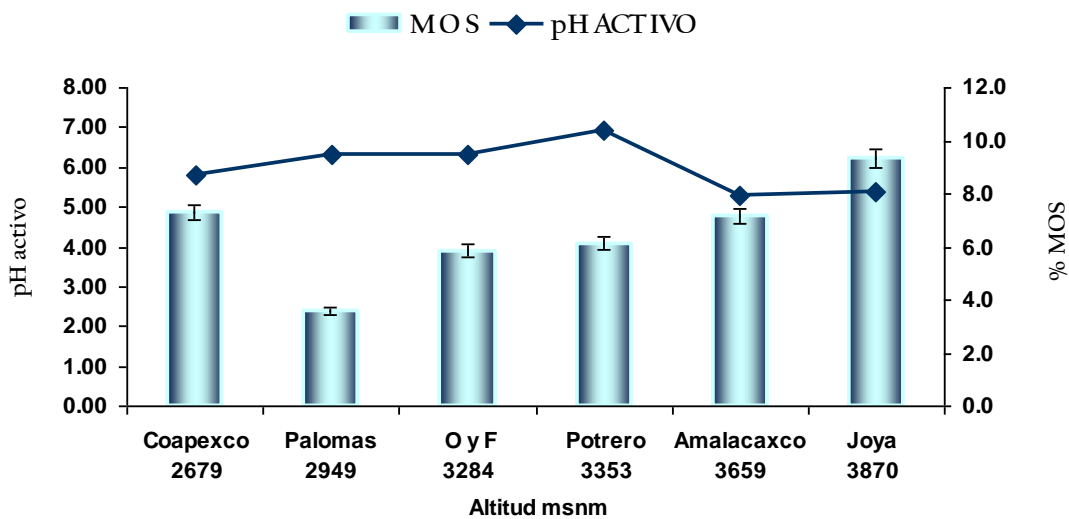


Figura 16. Valor promedio por localidad de materia orgánica y pH activo

Aunque la determinación del nitrógeno inorgánico extraíble se utiliza como índice de disponibilidad de nitrógeno en el suelo, generalmente es el % de nitrógeno total (Nt) del suelo el que se evalúa para hacer recomendaciones de fertilización (NOM-021 REC/NAT-2000). Este nutrimento fue encontrado con un valor mínimo de 0.10% en Las Palomas y un valor máximo de 0.31% en Coapexco. La relación Materia orgánica y Nitrógeno total es directamente proporcional a la altitud al incrementar el contenido de materia orgánica aumenta el contenido de nitrógeno con una ligera disminución a los 3,353 m (Figura 17). El Nt presentó correlación negativa con el grado de conservación ( $r=-0.43$ ) y

positiva con los porcentajes de nitrógeno foliar ( $r=0.56$ ), MOS ( $r=0.70$ ), humedad ( $r=0.45$ ), actividad arilsulfatasa ( $r=0.62$ ) y con la cantidad de sulfatos solubles ( $r= 0.49$ ). Debido a que el nitrógeno se acumula en los suelos en forma de residuos vegetales y animales, el Nt en los suelos forestales que se acumula se encuentra en la capa de humus de la cubierta forestal la cual se ve favorecida por la altitud (Pritchett, 1991).

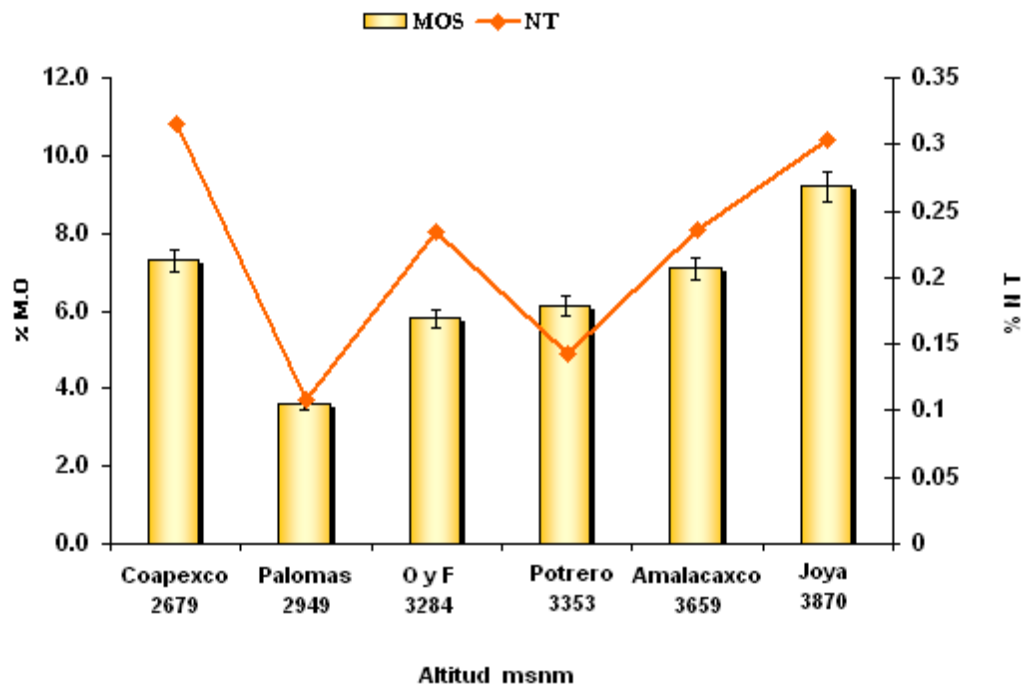


Figura 17. Relación entre MOS y porcentaje de Nitrógeno foliar

### 13. PROPIEDADES BIOQUÍMICAS DEL SUELO.

#### 13.1. Actividad arilsulfatasa (AAS)

En las diferentes unidades ambientales a lo largo de una toposecuencia de 2600 a los 3800 msnm, se determinó la actividad Arilsulfatasa (AAS) a dos profundidades de 0 a 5 cm y de 6 a 10 cm.

Los resultados obtenidos al estimar la actividad enzimática de la Arilsulfatasa, en cada unidad ambiental, se encontró que la actividad fue ligeramente mayor a una profundidad de 0 a 5 cm en comparación con la de 6 a 10 cm (Cuadro 7), lo cual se atribuye a que en el suelo superficial hay mayor contenido de materia orgánica que está constituida entre otros compuestos de proteínas que tienen, no sólo C, H y O sino además N, S, Fe y P que están tanto en constante degradación microbiana como enzimática.

*Cuadro 7. Valores mínimo, máximo y promedio de la actividad Arilsulfatasa a dos profundidades*

ACTIVIDAD ARILSULFATASA		
	0 – 5 cm	6 – 10 cm
	_____ $\mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ _____	
<b>Mínimo</b>	$1 \times 10^{-4}$	$5 \times 10^{-6}$
<b>Máximo</b>	$9.4 \times 10^{-3}$	$7.9 \times 10^{-3}$
<b>Promedio</b>	$2.3 \times 10^{-3}$	$2.2 \times 10^{-3}$

$\mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$

*producido por la actividad AAS*

La actividad AAS promedio a la profundidad de 0 a 5 cm fue de  $0.00276 \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , encontrándose un valor máximo de  $0.0045 \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en la UA llamada Coapexco y un valor mínimo de  $0.0009 \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en la denominada O y F la cual es una zona muy alterada por actividad antropogénica principalmente tala y es la zona que con el

sitio denominado Las palomas tuvieron la menor cantidad de MOS, lo que implica una pérdida del sustrato natural de esta enzima que son los sulfatos ligados a dicha materia orgánica. Por otra parte, el valor promedio de AAS a la profundidad de 6 a 10 cm fue de 0.0022. La localidad con mayor actividad Arilsulfatasa a esta profundidad fue Coapexco con  $0.0037 \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  y la de menor actividad fue la nombrada entre O y F con  $0.0014 \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  (Figura 18). Con análisis de correlación se encontró que esta enzima muestra una relación positiva con MOS ( $r=0.38$ ); pH potencial ( $r=0.43$ ); porcentaje de nitrógeno foliar ( $r=0.40$ ) y una correlación negativa con la Altitud ( $r=-0.36$ ) y con azufre foliar ( $r=-0.41$ ).

La actividad enzimática del suelo, generalmente aumenta cuando hay bajas concentraciones de nutrientes en tejido vegetal. En el estudio de fósforo se ha reportado (Marschner, 1995; Cruz *et al.*, 2005) que el estrés por carencia de fósforo, aumenta la actividad enzimática de las fosfatasas y en esta investigación, se encontraron resultados similares entre la actividad arilsulfatasa del suelo y el contenido de azufre en tejido foliar del género *Pinus* y *Abies religiosa*.

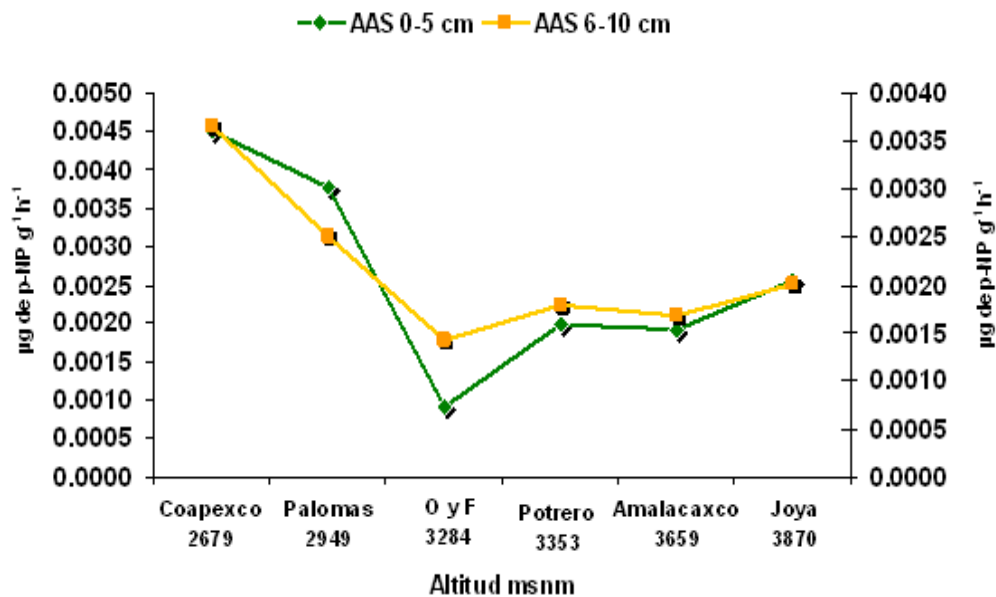


Figura 18. Actividad arilsulfatasa del suelo (AAS) a dos profundidades y su relación a la altitud

Se observa en general el porcentaje de AAS a lo largo del gradiente altitudinal en cada una de las UA, la AAS a las dos profundidades estudiadas fue mayor del 50% de 0 a 5 cm con excepción de la unidad ambiental llamada O y F que como ya se mencionó muestra alto grado de perturbación por pérdida de suelo superficial, una zona muy alterada por actividad antropogénica turismo, pastoreo y tala excesiva, mientras que a la profundidad de 6 a 10 cm el porcentaje vario entre 30 y 40% con excepción a los 3,200 m que se registro un 60% (Figura 19).

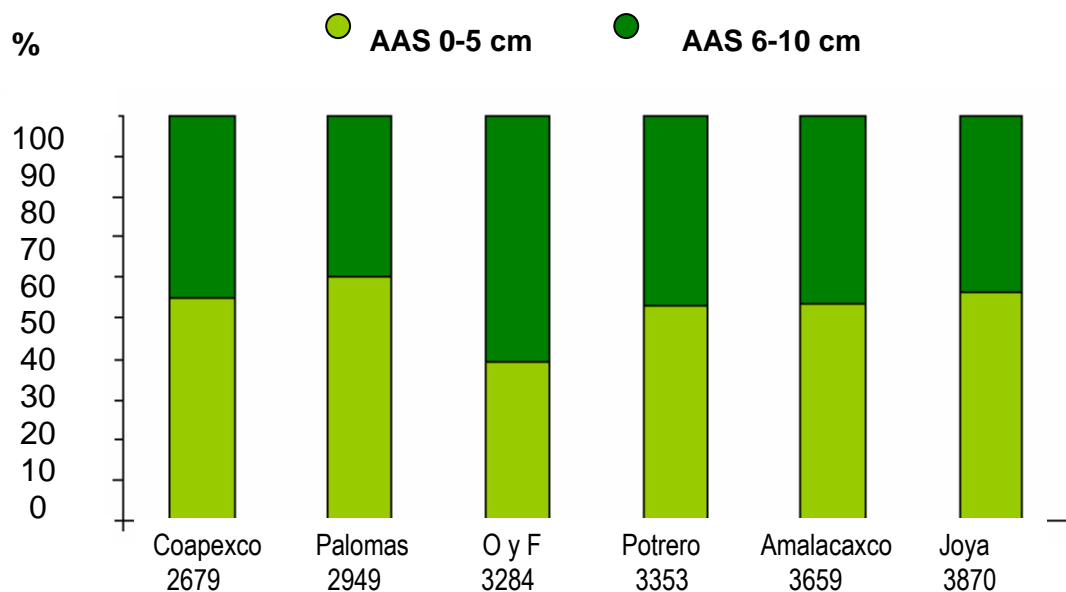


Figura 19. Porcentaje de AAS a dos profundidades del suelo por unidad ambiental.

La relación entre MOS y AAS a lo largo del gradiente altitudinal, indicó una relación inversamente proporcional a 2,600 m altitud la actividad enzimática fue mayor con un valor de  $0.0048 \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  mientras que el contenido de MOS aumento de los 3,200 a 3, 800m la altitud. La mayor actividad de la enzima se tuvo en Coapexco, uno de los sitios con 7.3% en contenido de MOS y a una altitud menor (Figura 20), a mayor altitud la actividad de la enzima fue menor debido a que la temperatura del suelo afecta a la actividad de las enzimas que influyen indirectamente a través de la proliferación microbiana y también directamente mediante la modificación de la cinética de la enzima.

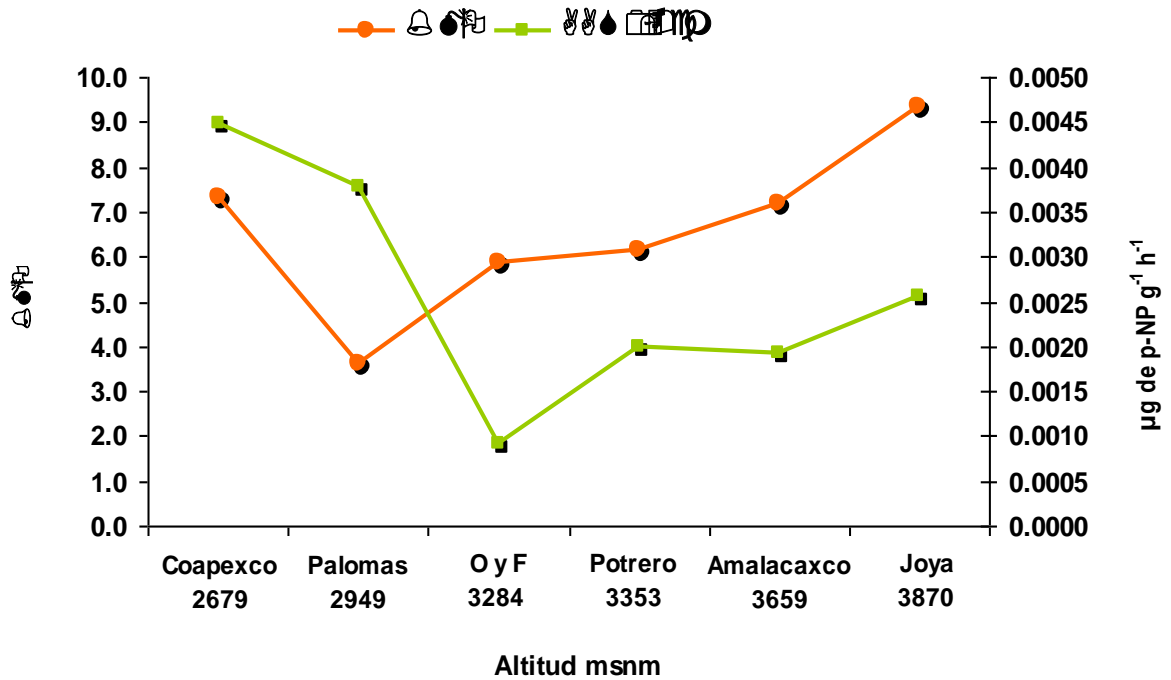


Figura 20. Contenido de MOS en relación con la AAS 0 a 5 cm y altitud  
( $r= 0.88$   $p\leq 0.05$ )

La AAS a una profundidad de 0 a 5 cm, mostró un ligero aumento en la UA O y F sitio que como ya se menciona presenta algún grado de perturbación el valor promedio encontrado es de  $0.002826 \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  mientras que en un sitio conservado se registró un valor de  $0.002729 \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ .

Con respecto a la altitud y al estado de conservación, se encontró que a mayor altitud los sitios estuvieron mejor conservados ( $r=-0.36$ ,  $p \leq 0.05$ ) situación que se debe a que en estas zonas la actividad antropogénica es menor (Figura 21).



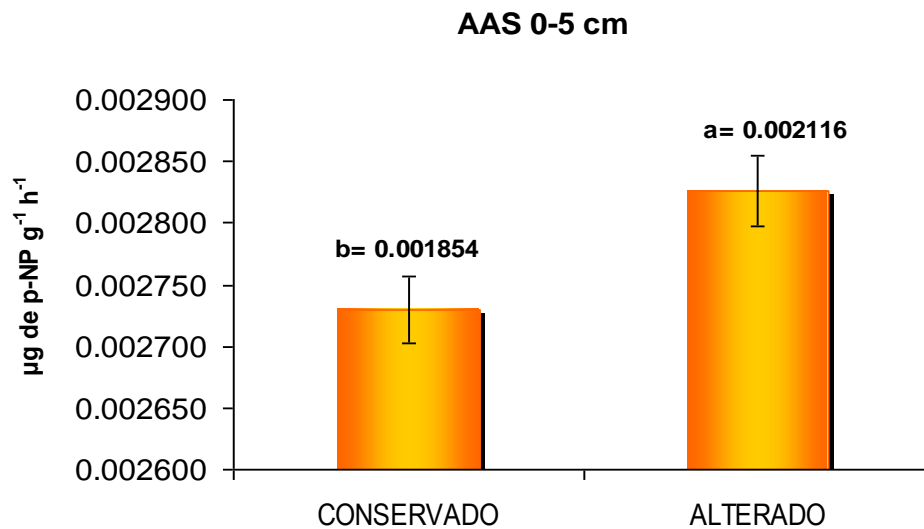


Figura 21. Promedio de la AAS a una profundidad de 0 a 5 cm en relación al grado de conservación. Letra diferente representa diferencia significativa (Tukey,  $p \leq 0.05$ )

En comparación con la AAS de 6 a 10 cm y el grado de conservación se presentó un comportamiento inverso presentando un valor promedio ligeramente mayor de 0.00225  $\mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  en un sitio conservado y un promedio de 0.0021  $\mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  en un sitio alterado (Figura 22).

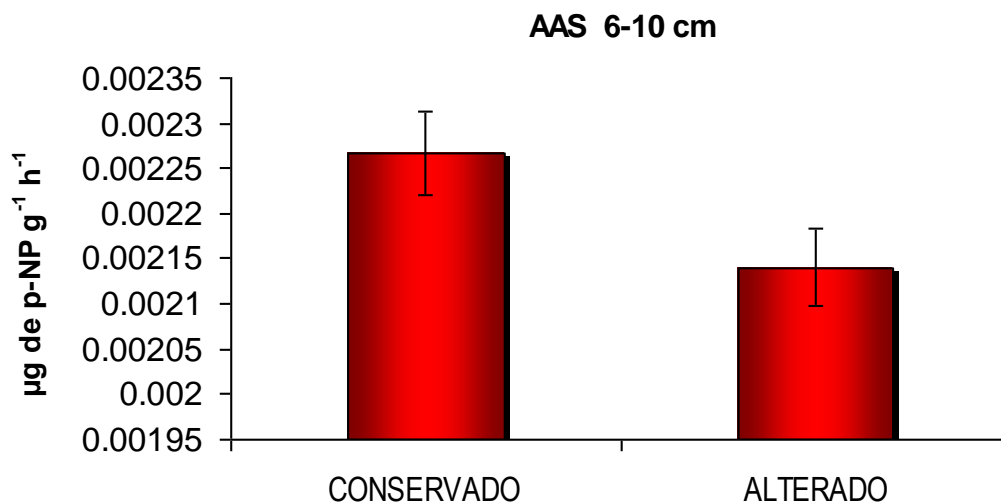


Figura 22. Promedio de AAS a una profundidad de 6 a 10 cm en relación al grado de conservación.

Al relacionar AAS con sulfatos del suelo, se encontró que a profundidad de 0 a 5cm, la actividad arilsulfatasa, se vio influenciada por la concentración de sulfato inorgánico en el suelo, y la baja concentración de este ión extractado con HCl 0.025N-NH<sub>4</sub>F 0.03N a menor altitud (2679 m), se asocia con la alta actividad enzimática (Figura 23). Se puede observar el efecto directo que tienen los sulfatos sobre la arilsulfatasa pues, al aumentar la altitud de los 3,200 a 3,800 m la AAS disminuye y aumenta la concentración de sulfatos. De este modo se puede establecer que bajas concentraciones de este ión a los 2,600 en Coapexco se asocian con una baja disponibilidad de azufre, por lo que plantas y microorganismos estimulan la producción, secreción y actividad de las arilsulfatasas (Curtín, 2007).

El valor mínimo de sulfatos extractados fue de 0.13mg kg<sup>-1</sup> de suelo a los 2,600 m en Coapexco, mientras que el valor máximo fue de 0.27 mg de SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> kg<sup>-1</sup> en la Joya. Del análisis de correlación se encontró que esta enzima a una profundidad de 6 a 10 cm se correlaciona de manera negativa con los sulfatos extractados con HCl 0.025N-NH<sub>4</sub>F 0.03N ( $r = -0.3199$ ,  $p \leq 0.05$ ).

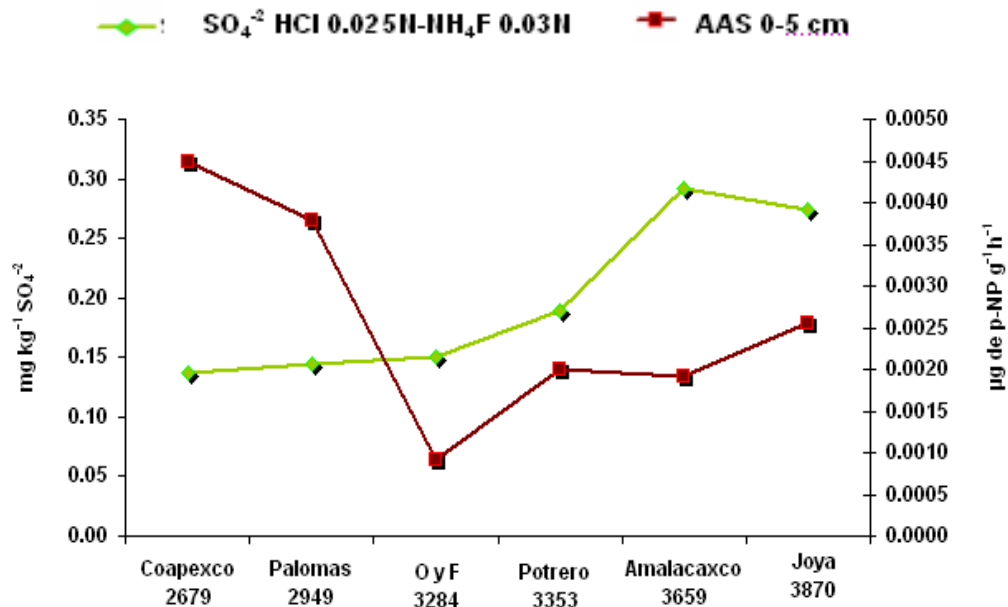


Figura 23. Actividad Arilsulfatasa de 0 a 5 cm en relación a los SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> extractables en HCl y NH<sub>4</sub>F

Los sulfatos que se extractaron con  $\text{NaHCO}_3$  0.5M pH 8.5 al relacionarse con la AAS a las dos profundidades presentaron un comportamiento similar con los  $\text{SO}_4^{-2}$  extractados con  $\text{HCl}$  0.025N- $\text{NH}_4\text{F}$  0.03 N, sin embargo se extrajo mayor cantidad de  $\text{SO}_4^{-2}$  con esta solución presentando un valor mínimo de  $0.14 \text{ mg de SO}_4^{-2} \text{ kg}^{-1}$  y un máximo de  $0.32 \text{ mg de SO}_4^{-2} \text{ kg}^{-1}$ . Bajas concentraciones de este ión se asociaron con una baja disponibilidad de azufre, por lo que plantas y microorganismos estimulan la producción de la arilsulfatasa (Speir *et al.*, 1980). La actividad enzimática fue mayor en Coapexco con un valor de  $0.0048 \text{ } \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  mientras la concentración de sulfatos aumento de los 2,600 a 3,200mla tendencia que se observa a lo largo del gradiente altitudinal es directamente proporcional al aumentar una variable disminuye la otra (Figura 24).

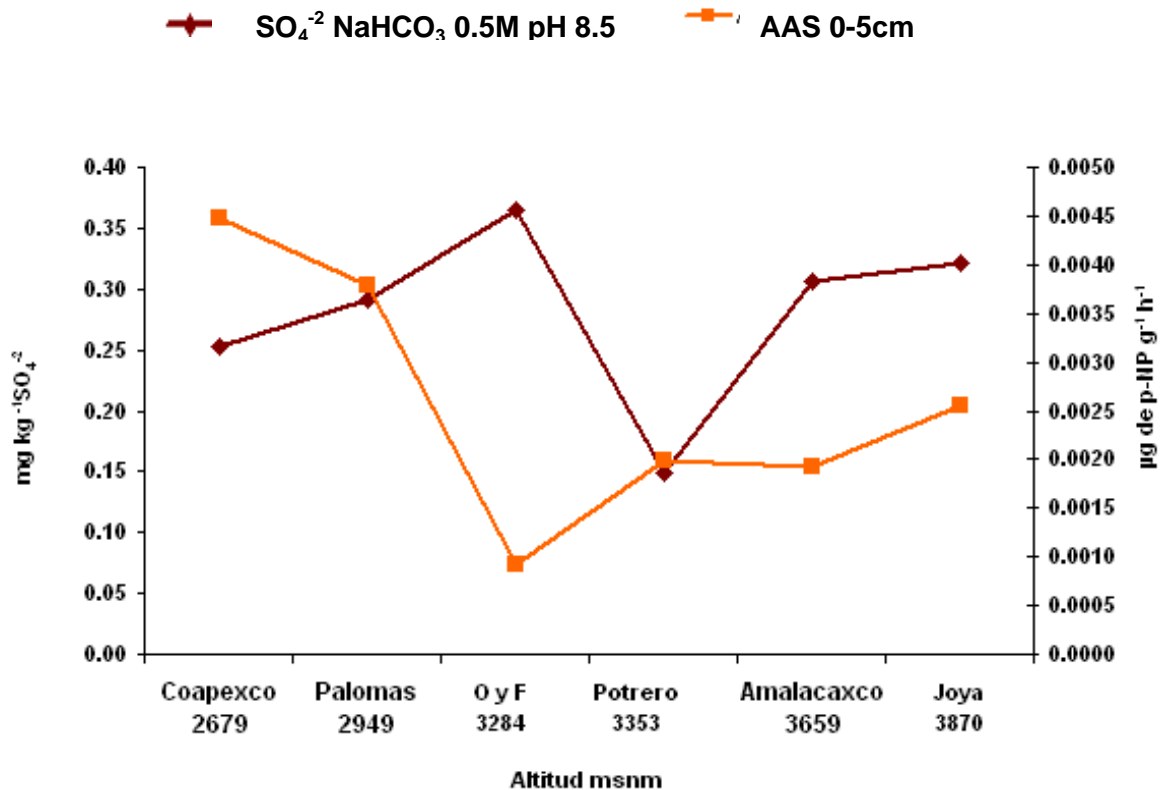


Figura 24. Relación entre Actividad Arilsulfatasa de 0 a 5 cm con los  $\text{SO}_4^{-2}$  extractables con Bicarbonato 0.5M pH 8.5

La concentración de sulfatos inorgánicos en el suelo solubles en agua y disponibles para las plantas en comparación con los que son extractados con  $\text{NaHCO}_3$  0.5M pH 8.5 y  $\text{HCl}$  0.025N- $\text{NH}_4\text{F}$  0.03N presentó un valor mínimo de  $0.08 \text{ mg kg}^{-1}$  de  $\text{SO}_4^{-2}$  en Potrero y un valor máximo de  $0.32 \text{ mg kg}^{-1}$  de  $\text{SO}_4^{-2}$  en Coapexco. Se observa que a lo largo del gradiente altitudinal presenta un comportamiento similar en tendencia, tanto la actividad de la enzima como la concentración de sulfatos la menor concentración de  $\text{SO}_4^{-2}$  y AAS se registró a los 3,200 m mientras que en Potrero la actividad enzimática aumento con un valor de  $0.0020 \text{ } \mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  y la concentración de  $\text{SO}_4^{-2}$  disminuyó encontrando una concentración de  $0.08 \text{ mg kg}^{-1}$ . Este mismo comportamiento se da a una profundidad de 6 a 10cm de profundidad (Figura 25).

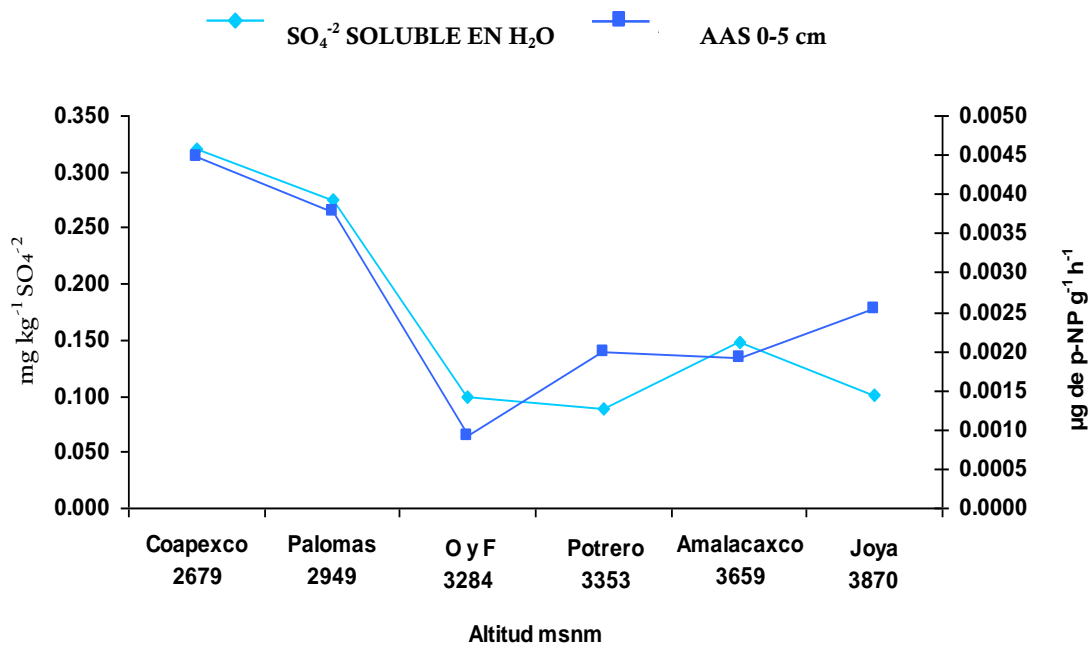


Figura 25. Relación entre Actividad Arilsulfatasa de 0 a 5 cm con  $\text{SO}_4^{-2}$  extractables en  $\text{H}_2\text{O}$ .

En la Figura 26, se muestra el comportamiento de los sulfatos del suelo con las diferentes soluciones extractantes a lo largo de todo el gradiente altitudinal en este estudio. Como se observa, de 3,200 a 3,800 msnm, la extracción de  $\text{SO}_4^{-2}$  solubles en

H<sub>2</sub>O fue menor con un comportamiento inverso a los SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> extraídos en HCl 0.025N-NH<sub>4</sub>F0.03N, y por encima de los 3,300 hasta los 3,800m se extrajo mayor cantidad de SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>. Al comparar la concentración de este ión, se encontró que los SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> extraídos con NaHCO<sub>3</sub> 0.5M pH 8.5 fueron casi el doble de los que se extrajeron con HCl 0.025N-NH<sub>4</sub>F0.03N, debido a que aquella solución salina cambia el pH del suelo por lo que arrastra más SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>.

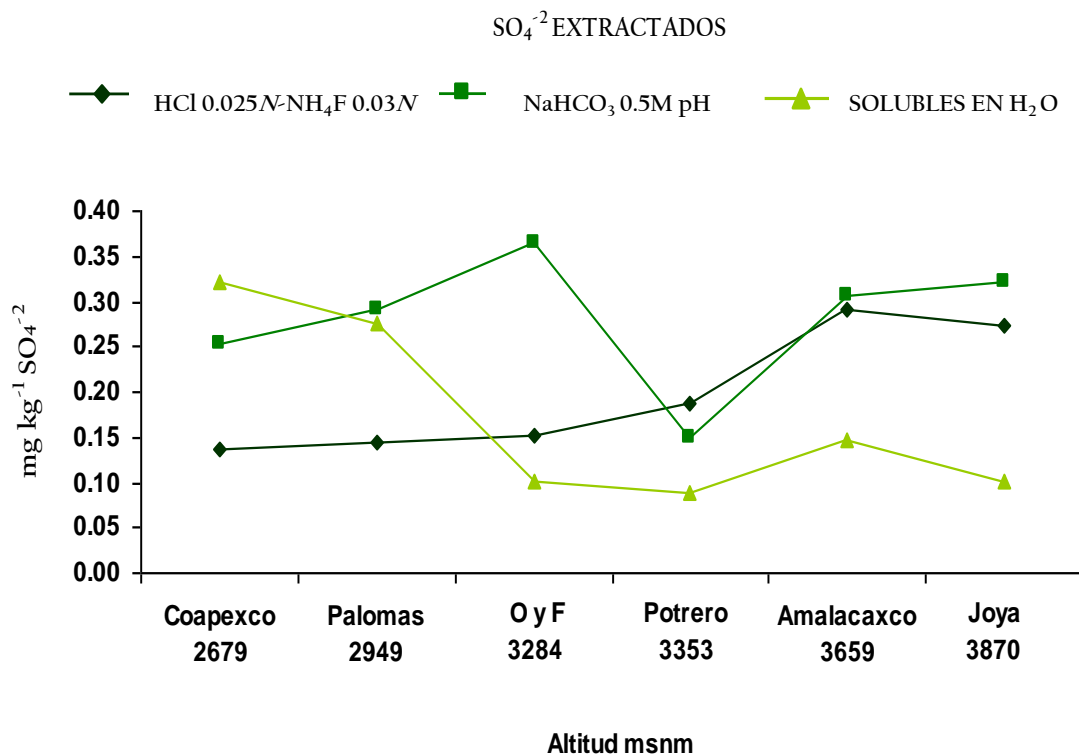


Figura 26. Comportamiento de SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> extraídos con tres diferentes soluciones a lo largo de un gradiente altitudinal.

En relación al azufre (S) foliar se encontró en un intervalo de 0.025 a 0.071 con un valor promedio de 0.044% un valor que puede considerarse bajo si se toma en cuenta que (Marschner, 1995) considera en particular que la concentración de S en las plantas varía entre 0.1 y 0.5% con base en peso seco, sin embargo para esta investigación no se tiene referencia de cuanto varía la concentración de este elemento en coníferas de México.

Mediante el análisis químico foliar en *Abies religiosa* y las especies del género *Pinus* se determinó el porcentaje de azufre presente en el tejido vegetal. El comportamiento del azufre a lo largo de todo el gradiente altitudinal fue inversamente proporcional, se registró a menor altitud (2600m) en Coapexco que las especies presentaron 0.076% de azufre foliar, lo cual indica que la concentración de este elemento es mayor que en las demás UA, este porcentaje puede ser el adecuado ya que las especies *P. pseudostrobus* y *Abies religiosa* aquí encontradas no presentan algún tipo de clorosis, sin embargo, en el intervalo de 3200 a 3300m disminuyó de 0.027% a 0.025%, con un ligero aumento a los 3800m de altitud en esta UA llamada la Joya se registró un 0.045% de azufre foliar, en esta zona la vegetación que predomina es *P. hartweggi* lo cual indica que aunque los árboles son mas bajos no necesariamente presentan déficit de este elemento. Sin embargo puede deberse a que, la vegetación a esta altitud se adapta a estas condiciones (Figura 27). Del análisis de correlación se encontró que el azufre foliar esta positivamente correlacionado ( $p \leq 0.05$ ) con los porcentajes de nitrógeno foliar ( $r = 0.26$ ); de arcilla ( $r = 0.58$ ); y negativamente con la altitud ( $r = -0.22$ ); con los porcentajes de materia orgánica ( $r = -0.44$ ); de arena ( $r = -0.57$ ) y también con la AAS a las dos profundidades de 0 a 5 cm ( $r = -0.41$ ); y de 6 a 10 cm ( $r = -0.37$ ).

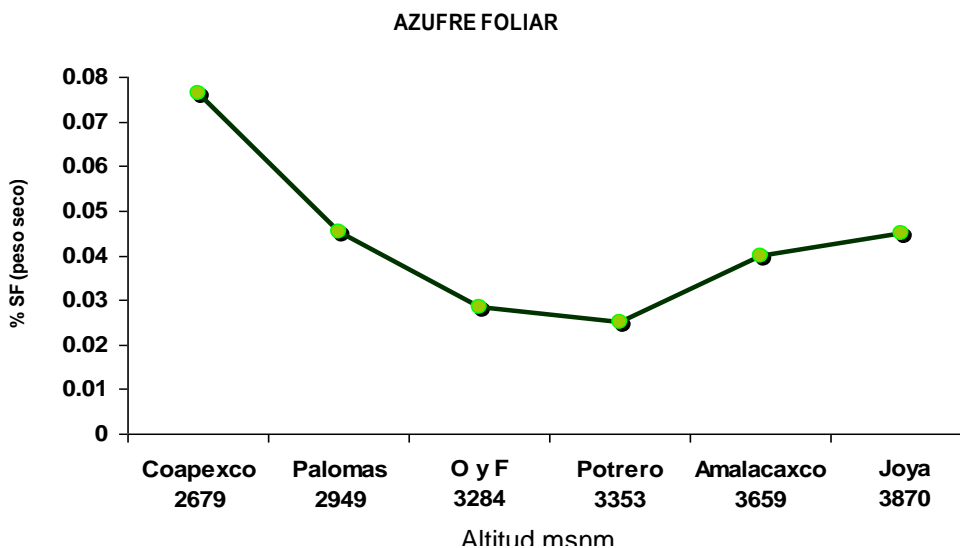


Figura 27. Porcentaje de azufre foliar en relación a la altitud.

En los géneros estudiados se encontró que el género *Pinus* en promedio presentó un porcentaje menor de 0.03 % mientras que el valor promedio para *Abies religiosa* fue dos veces mayor presentando un valor de 0.07% (Figura 28). Del análisis de correlación se encontró que el género esta positivamente correlacionado ( $p \leq 0.05$ ) con la especie ( $r = 0.95$ ); con el grado de conservación ( $r = 0.41$ ); con el % de fósforo foliar ( $r = 0.43$ ) y negativamente con la altitud ( $r = -0.57$ ) y con el porcentaje de nitrógeno foliar ( $r = -0.42$ ).

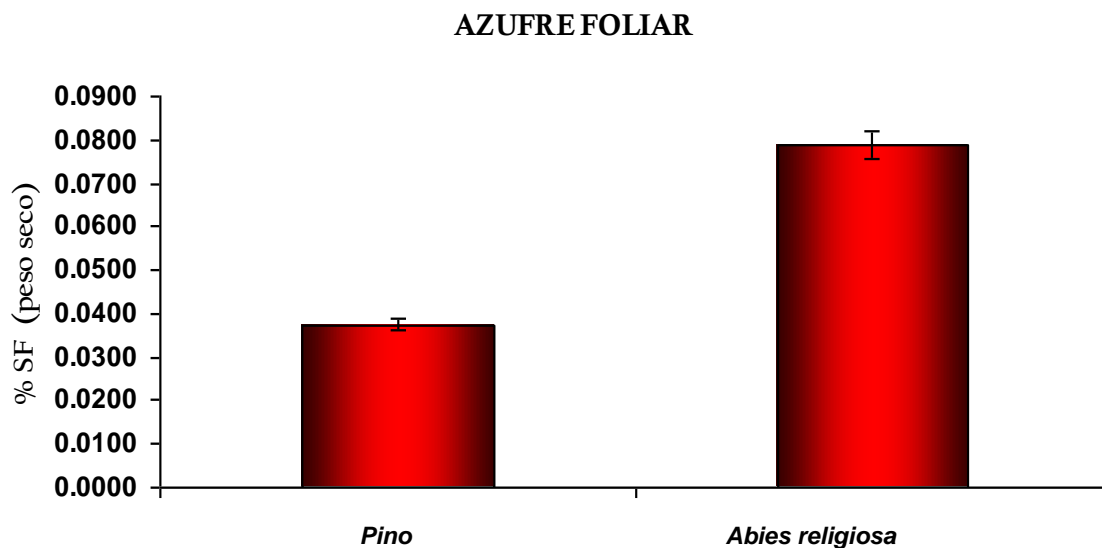


Figura 28. Porcentaje de azufre foliar en relación al género *Pinus* y *Abies religiosa*.

La Figura 29 muestra los porcentajes de azufre evaluado, en *Abies religiosa*, *P. pseudostrobus*, *P. teocote* y *P. hartweggi*, en la comparación entre especies se encontró que, *Pinus pseudostrobus* presentó el mayor porcentaje de S foliar con un valor de 0.18 %. Para las especies de *Pinus teocote* y *Pinus hartweggi*, los porcentajes obtenidos fueron de 0.046 y 0.049 respectivamente; mientras que el menor porcentaje se encontró en *Abies religiosa* con un valor de 0.036%. El análisis de correlación se encontró que el factor especie está positivamente correlacionado ( $p \leq 0.05$ ) con el grado de conservación del sitio ( $r = 0.31$ ); con el % de fósforo foliar ( $r = 0.0.37$ ) y negativamente con la altitud ( $r = -0.66$ ); así como con el porcentaje de nitrógeno foliar ( $r = -0.42$ ).

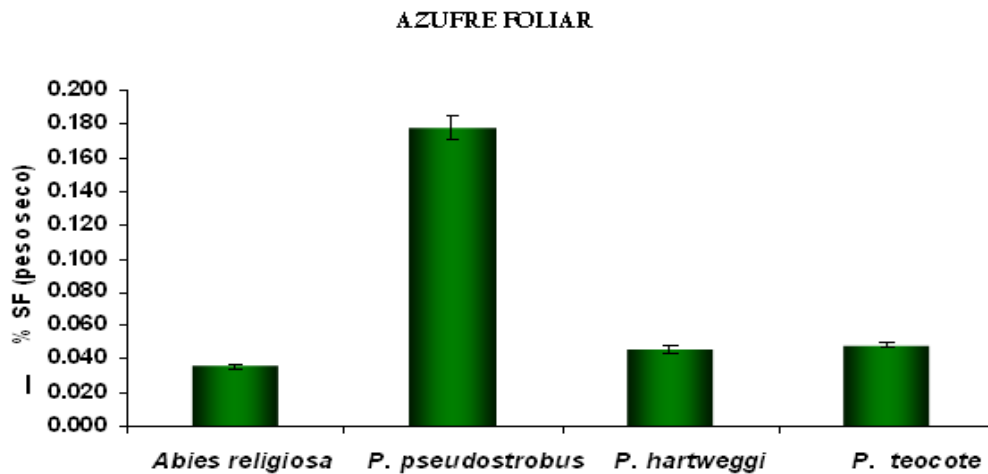


Figura 29. Porcentaje de azufre foliar en relación a las especies de Pino y *Abies religiosa*

Con respecto a la edad de las especies estudiadas se determinó la concentración de azufre en edad juvenil y adulta, tanto para *Abies* como para las diferentes especies de Pino. Encontrando que en individuos juveniles de *Abies religiosa* en promedio el porcentaje de azufre fue mayor con un valor de 0.047%, que en edad adulta (0.039%). Por el contrario la concentración de azufre en tejido foliar de Pino en edad juvenil fue de 0.048% y ligeramente mayor en edad adulta encontrando un porcentaje de 0.053 (Figura 30).

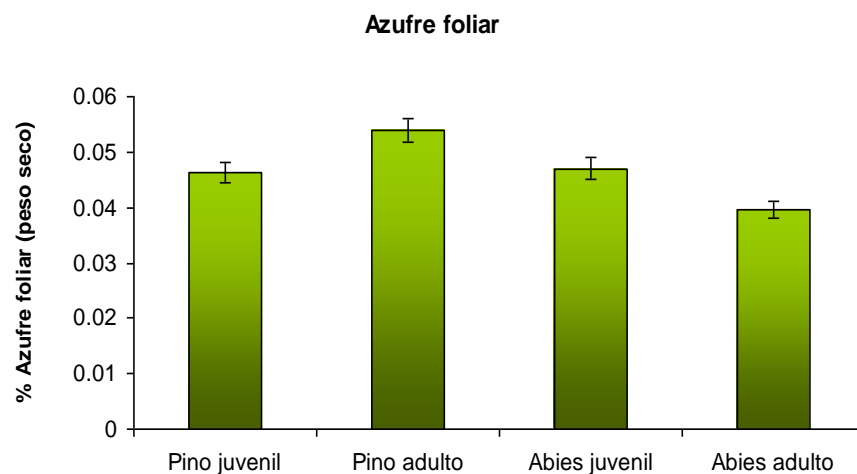


Figura 30. Comparación del porcentaje de azufre foliar en individuos de edad juvenil y adultos



#### 14. CONCLUSIONES

- 1) La actividad enzimática de la Arilsulfatasa fue ligeramente mayor a una profundidad de 0 a 5 cm que de 6 a 10 cm y a las dos profundidades fue mayor en la Unidad llamada Coapexco y menor en la nombrada O y F.
- 2) La AAS fue ligeramente mayor en un sitio alterado que en un sitio conservado, a una profundidad de 0 a 5 cm, la AAS de 6 a 10 cm es mayor en un sitio conservado que en un alterado.
- 3) La relación entre MOS y AAS fue inversamente proporcional a lo largo del gradiente altitudinal.
- 4) Al relacionar AAS con sulfatos del suelo es inversamente proporcional. En relación a los sulfatos solubles en agua y la actividad AAS, presentaron una tendencia directamente proporcional.
- 5) La tendencia de los  $\text{SO}_4^{-2}$  extractados en la solución de HCl-NH<sub>4</sub>F y los extractados en NaHCO<sub>3</sub> presentaron una relación directamente proporcional, los  $\text{SO}_4^{-2}$  solubles se comportaron inversamente proporcional a las otras soluciones.
- 6) A menor altitud las especies presentaron mayor concentración de azufre, las especies aquí encontradas *P. pseudostrobus* y *Abies religiosa* y a mayor altitud menor concentración de azufre encontrando aquí *P. hartwegii*. De las especies estudiadas *Pinus pseudostrobus* presentó mayor concentración de S.
- 7) El género *Pinus* en promedio presentó menor concentración de azufre, mientras que en *Abies religiosa* la concentración fue dos veces mayor.
- 8) En individuos juveniles de *Abies religiosa* la concentración de S es mayor, que en edad adulta. Por el contrario la concentración en Pino juvenil es menor y mayor en edad adulta.

## SUGERENCIA

Considero que es importante continuar con esta investigación para conocer la dinámica de la actividad en las diferentes estaciones del año y sobre todo realizar más investigación sobre el requerimiento nutrimental de azufre para las especies del Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl ya que no existe en México información que establezca rangos de suficiencia o deficiencia para este elemento, no sabemos si nuestras especies tienen la concentración adecuada, si algunas especies se han adaptado a este déficit o están en concentraciones adecuadas sugiero se puedan resolver estas dudas.

15. LITERATURA CITADA.

- Acosta-Martínez, V. Cruz, L., Sotomayor-Ramírez, D., Pérez-Alegría, L. 2007. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in tropical watershed. *Applied Soil Ecology*, 35: 35-45.
- Adriaanse, A. 1993. Soil organic matter stratification ratio as an indicator of soil quality. *Soil & Tillage Research* 66: 95-106.
- Aerts, R., Chapin, F.S. III. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research*, 30: 1-67.
- Aerts, R. 1999. Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-off and plant-soil feedback. *Journal of Experimental Botany* 50: 29-37.
- Astier, C.M., Mass M. M. y Etchevers, B.J. 2002. Derivación de indicadores de calidad de suelo en el contexto de la agricultura sustentable. *Agrociencias*, 36: 605-620.
- Bartolini R. M., 1991. La fertilidad de los suelos. Ed. Mundi – Prensa, Madrid, 2a. ed. España, 93p.
- Bautista, C.A., Etchevers, B. J., Castillo, F.R., Gutiérrez C. 2004. La calidad del suelo y sus indicadores. *Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente* vol. XIII, 002: 1-8.
- Benitez, E., Melgar, R., Nogales, R. 2004. Estimating soil resilience to a toxic organic waste by measuring enzyme activities. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: 1615-1623.
- Berg B. G. 2000. Litter decomposition and organic matter turnover in northern forest soils. *Forest Ecology and Management*, 133: 13-22.
- Bergstrom, D.W., Monreal, C.M., King, D.J. 1998. Sensitivity of soil enzyme activity to conservation practices. *Soil Science*, 62: 1286-1295.
- Bockheim, J. G. 1991. Suelos forestales. pp. 119-139. In: Young R. A. (eds.). Noriega Editores. México
- Buchanan-Wollaston, V. 1997. The molecular biology of leaf senescence. *Journal of Experimental Botany* 48: 181-199.
- Burns R.G. 1982. Enzyme Activity in Soil: Location and a Possible Role in Microbial Ecology. *Soil Biology and Biochemistry*, 14: 423-427.
- Buckman, H. O. y Brady, N. C. 1991. *Naturaleza y propiedades de los suelos* . Limusa, México, 590 p.
- Bray, R. & L. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available phosphorus in soil. *Soil Science*. 59:39-45.
- Carreiro, M., Sinsabaugh, R., Repert, D., Parkhurst, D. 2000. Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. *Ecology* 81: 2359-2365.
- Chapin, F.S., Autum, K., Pugnaire, F. 1993. Evolution of suites of traits in response to environmental stress. *The American Naturalist* 142: S78-S92.

- Chen C. R., Condrón L. M., Davis M. R., Sherlock R. R. 2001. "Effects of Landuse Change from Grassland to Forest on soil Sulfur and Arylsulphatase Activity. *Soil Biology & Biochemistry*. 39:749-757
- CONANP, 2008, en <http://iztapopo.conanp.gob.mx/clima.php>. Consultado el 25 de mayo del 2008.
- CONANP, 2008, en <http://iztapopo.conanp.gob.mx/vegetacion.php> Consultado el 25 de mayo del 2008.
- Contreras S.S. 2001. Ordenamiento ecológico regional en la zona de influencia de los volcanes Popocatepetl e Iztaccihuatl, México.
- Cornelissen, J.H. Werger, M.J.A., Castro Diez, P., Van Rheenen, J.W.A.; Rowland, A.P. 1997. Foliar nutrients in relation to growth, allocation and leaf traits in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia*, 111: 460-469.
- Coté, B. Fyles, W., Djali Ivan D, H. 2002. Increasing and P resorption efficiency and proficiency in northern deciduous hardwoods with decreasing foliar N and P concentrations. *Annals of Forest Science* 59: 275-281.
- Curtin, M.H., Beare, F.M. McCallum. 2007. Sulphur in soil and light fraction organic matter as influenced by long-term application of superphosphate *Soil Biology & Biochemistry*, 39:2547-2554
- Cruz F.G, Flores R.D., Gonzalez A.G., Santos T.A., 2005. Fosfatasa ácida, Nitrato reductasa, Glutamina sintetasa y eficiencia de uso de fósforo y nitrógeno en cereales. *Terra Latinoamericana* b23:457-468.
- Cruz, F. G, 2006. Ecología del suelo un enfoque hacia la nutrición mineral de plantas superiores. FES Zaragoza UNAM 97pp.
- Dick A., M.A. Tabatabai. 1994. Significance and Potential Use of Soil Enzymes. En Meeting, FJB (Ed.). *Soil Microbial Ecology: Applications in Agriculture and Environmental Management*. Marcel Dekker, NY, USA, 95-127.
- Domínguez, V. A., 1989. Tratado de fertilización. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España 130p.
- Domínguez, R. I. y N. Aguilera H. 1982. Metodología de análisis físicos y químicos de suelos. UNAM. Facultad de Ciencias-Biología 34 p.
- Doran J.W. 2002. Soil Health and Global Sustainability Translating Science into Practice. *Agriculture Ecosystems Environment*, 88: 119-127.
- Duchaufour, P. y B. Souchier. 1984. Edafología, 1. Edafogénesis y Clasificación. Masson, S.A. Barcelona España.
- Etchevers, B. J., M. A. Bautista y M. A. Vergara. 2000. Calidad del suelo, indicadores de calidad y captura de carbono. *La Edafología y sus perspectivas al siglo XXI*. Tomo II Colegio de Postgraduados, Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Ewald S., 1998. Nutrients in ecosystems sulphur in agroecosystems. Kluwer Academic Publishers institute of plant Nutrition and soil science, 66p.
- Filip, P Z. 2002. International approach to assessing soil quality by ecological-related biological parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 88: 169-174.

- Frelich, L.E. 2002. Forest dynamics and disturbance regimes. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 201-211p.
- García C. y Hernández M. T. 2000 "Investigación y Perspectivas de la Enzimología
- García, H. M. 2003. Indicadores de calidad del suelo y estado nutrimental de *Abies religiosa*(H.B.K.) *Schl. et Cham.*, en la exposición occidental de los volcanes Iztaccíhuatl y Popocatepetl. Tesis de licenciatura. UNAM.
- Gavande, S. A. 1982. Física de suelos, principios y aplicaciones. Limusa. México D. F.
- Gil-Sotres, F. Trasar C.C., Ciardi, C., Ceccanti, B. 1992. Biochemical characterization of soil biological activity in very young mine soils. *Biology and Fertility of Soils*, 13: 25-30.
- Granados, D. M. 2003. Calidad del suelo y estado nutrimental del género *Pinus* en la vertiente occidental del Iztaccíhuatl y Popocatepetl. Tesis de licenciatura. UNAM.
- Gregorich, E.G.; Carter, M.R.; Ahgers, D.A.; Monreal, C. Ellert, B.H. 1994. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Canadian Journal of Soil Science* 74: 367-385.
- Hinojosa, M. B.; Carreira, J.A., García R; Dick, R.P. 2004. Soil moisture pre-treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal-contaminated and reclaimed soils. *Soil Biology & Biochemistry* 36: 1559-1568.
- Hünemeyer, J.A., De Camino, R. y Müller, S. 1997. Análisis del desarrollo sostenible en Centroamérica: indicadores para la agricultura y los recursos naturales Costa Rica. 12-16p.
- Huxtable, R. J. 1986. Biochemistry of Sulphur and effects of sulfur deficiency plants. *Plant Soil*, 44:423-437.
- Hyvönen, R., Berg, M.P., Agren, G.I. 2002. Modelling carbon dynamics in coniferous forest soils in a temperature gradient. *Plant and Soil*, 242: 33-39.
- Jackson, M. L. 1964. Análisis químico de suelos. Traducción al español de J. Beltrán. Omega. Barcelona, España.
- Kandeler, E., Tschirko, D., Spiegel, H. 1999. Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralization and enzyme activities of a chernozem under different tillage management. *Biology and Fertility of Soils* 28: 343-351.
- Karlen D.L., Mausbach M.J., Doran J.W., Cline, R.G.; Harris R.F.; Schuman G.E. 1997. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. *Soil Science Society of America Journal* 61: 4-10.
- Kertest, M.A. 1999. Riding the sulphur cycle – metabolism of sulfonates and sulphate esters in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 24: 135-175.
- Klonowska, A., Gaugin, C., Fournel, A., Lepetit, J.; Giorgi, M.; Tron, T. 2002. Characterization of a low redox potential laccase from the basidiomycete C30. *European Journal of Biochemistry* 269: 6119-6125.
- Lebret M. N., Forgeard F. D. 2001. Litter production in an Atlantic beech (*Fagus sylvatica* L.) time sequence. *Annals of Forest Science*, 58: 755-768.
- López R.L. 1990. El diagnóstico de suelos y plantas. Ed. Mundi-prensa, 4a ed. México, D.F. p.p. 250-252.

- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. Londres, 229p.
- Martín A. N., Gallardo J.F., REGINA I. S. 1996. Aboveground litter production and bioelement potential return in an evergreen oak (*Quercus rotundifolia*). *Annals Science Forest*. 53: 811-818.
- McGill, W.R., Cole, C.V. 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma* 26: 267-286.
- Maurilio, L. M. 2007. Estimación del contenido de Carbono en suelos de bosques templados y su relación con la calidad del suelo. Tesis de licenciatura. UNAM.
- Nannipiere P., Badalucco, L. Benbi, D.K., Nieder, R 2003. Biological processes. Handbook of Processes and Modeling in the Soil-Plant System. Harworth Press, Binghamton, NY, pp. 57-82.
- Niembro R. A., 1986. Mecanismos de reproducción sexual en *Pinus*. Limusa, México, D.F. 131p.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.
- Palmer, G. R. y Truoch F. R. 1989. Introducción a la ciencia del suelo. Manual de laboratorio AGT Eds. México.
- Piatek, K.B., Alen, H.L. 2000. Site preparation effects on foliar N and P use, retranslocation, and transfer to litter in 15-years old *Pinus taeda*. *Forest Ecology and Management* 129: 143-152.
- Pritchett W. L. 1991 Suelos forestales, conservación y mejoramiento, Noriega (eds.) Limusa. México 255-260p.
- Reich, P.B., Kloeppel, B.D., Ellsworth, D.S., Walters, M. B. 1998. Different photosynthesis-nitrogen relations in deciduous hardwood and evergreen coniferous species. *Oecologia* 104: 24 -30.
- Reich, P.B., Walters, M.B., Ellsworth, D.S. 1992. Leaf lifespan in relation to leaf, plant and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs*, 62: 356-392.
- Richards, L. A. 1990. Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. 6a. ed., Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América. Limusa, México.
- Roy L. D., Millar R.W., Shickluna J.C. 1981 Introducción a los suelos y al crecimiento de las plantas. Prentice Hall. Colombia
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa, Noriega Editores. México D.F.
- Salazar I. S., 2008 Estudio de procesos ecológicos para el desarrollo sostenible del castaño (*Castanea sativa* Mill.) de la sierra de Francia.
- Santana, M. Juan de Jesús 2002 Nutrición vegetal. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP); / Lab. Ecofisiología de Cultivos /Línea de Producción Vegetal. Mérida Venezuela.
- Schlesinger W. H. 2000. Bioquímica. Un análisis del cambio global. Ciencia. Barcelona, España.
- Sinsabaugh, R.L. 1994. Enzymic analysis of microbial pattern and process. *Biology and Fertility of Soils*. 17: 69-74.

- Snajdr, J.S., Vendula, V, V., Merhautova J. H. 2008 Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 2068–2075.
- Speir, T.W., Lee, R., Pansier, E.A., Cairns, A. 1980. A comparison of sulphatase, urease and protease activities in planted and fallow soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 12: 281-291
- Sojka, R. E. y D. R. Upchurch, 1999. Reservations regarding the soil quality concept. *Soil Sci.Soc. Am. J.* 63: 1039-1054.
- Steven, D. A., Peter M. V. 2005 Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 937–944
- Suastegui, M. E. 2009. Contribución de la actividad ureasa a la liberación de nitrógeno en suelos de uso agrícola y forestal. Tesis de licenciatura. UNAM
- Tabatabai, M. 1994. Soil enzymes. In: Weavwe R. W., J. S. Angle and P. S. Bottomley, D. Besdizek, S. Smith, A. Tabatabai, A. Wollum (ed). pp 775-834. *Methods of soil analysis. Part 2. Microbial and biochemical properties.* Soil Sci of Am. USA
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M. 1970. Factors affecting soil arylsulfatase activity. *Soil Science Society of America. Proceedings* 34: 225- 229.
- Tisdale, S.L. y W. Nelson. 1988. Fertilidad de los suelos y fertilizantes. UTEHA. México.
- Valderrábano, G. J. M. 2005. Calidad del Suelo y Estado Nutricional de la Vegetación Forestal en el Parque Nacional Zoquiapan y Anexas. Tesis de licenciatura. UNAM.
- Valencia. I. C., Hernández. B. A. 2002 Muestreo de suelos, preparación de muestras y guía de campo. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, 131p.
- Verchot, L.V., Borelli, T. 2005. Application of *para*-nitrophenol (*p*NP) enzyme assays in degraded tropical soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 37: 625-633.
- Visser S., Parkinson, D. 1992. Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganisms. *American Journal of Alternative Agriculture*, 7: 33–37.
- Xiangzhen L.B., Pariente S. 2003. Arylsulfatase activity of soil microbial biomass along a Mediterranean-arid transect. *Soil Biology & Biochemistry* 35:925–934
- Zwikel, S. Hanoch L., Pariente S. G 2007 Temporal dynamics in arylsulfatase enzyme activity in various microenvironments along a climatic transect in Israel *Soil Biology & Biochemistry*, 140: 30–41

## 16. ANEXO 1: METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

### ACTIVIDAD ARILSULFATASA.

El método usado para el análisis de la actividad arilsulfatasa está basado en la estimación colorimétrica del p-Nitrofenol liberado por la actividad sulfatasa cuando el suelo es incubado con p-Nitrofenil Sulfato (Tabatabai y Bremner, 1970). Se pesó 1 g de suelo húmedo y tamizado (< 2 mm), se añadieron 4 ml de Buffer de acetato pH 5.8, 0.25mL de tolueno y 1 ml de solución p-Nitrofenil sulfato. Se agitó y se incubó a 37 °C durante una hora. A continuación se añadió 1 ml de CaCl<sub>2</sub> 0.5 M y 4 ml de NaOH 0.5 M. Se agitó, se filtró y se midió la intensidad del color a 420 nm en un espectrofotómetro. Se calculó el p-nitrofenol contenido en los filtrados por referencia a la gráfica de calibración que contiene patrones de 0, 10, 20, 30, 40 y 50 µg de p-nitrofenol. Para preparar esta recta de calibrado se pipeteó 1 ml de la solución standard de p-nitrofenol Disolver 1.0g de p- nitrofenol en 70 mL de agua y aforar a 1 L. De aquí se pipetearon 0, 1, 2, 3, 4 y 5 ml, se ajustó el volumen a 5 ml añadiendo agua destilada, se añadió 1 ml de CaCl<sub>2</sub> 0.5 M y 4 ml de NaOH 0.5 M, se agitó, se filtró y se midió la intensidad del color a 420 nm en el espectrofotómetro. Si la muestra excedía la absorbancia del patrón de 50 µg, se diluía una alícuota con agua destilada hasta alcanzar valores de absorbancia dentro de la recta de calibrado.

### REACTIVOS

Tolueno 0.25 mL

Buffer de acetato 0.5 M pH 5.8: Disolver 68g de acetato de sodio trihidratado en 700 mL de agua, adicionar 1.70 mL de ácido acético glacial 99% aforar a 1L con agua.

Solución sulfato p- nitrofenil 0.05M: disolver 0.614g de potasio p- nitrofenil sulfato en 40 mL de buffer de acetato y diluir la solución con 50mL con buffer reservar en refrigeración.

CaCl<sub>2</sub> 0.5M: Disolver 73.5 g de CaCl<sub>2</sub> .2H<sub>2</sub>O en 70 mL de agua y aforar a 1L.

NaOH 0.5 M: Disolver 20g de NaOH en 70 mL de agua y aforar a 1L.

Solución estándar p- nitrofenol: Disolver 1.0g de p- nitrofenol en 70 mL de agua y aforar a 1 L.



DETERMINACIÓN DE  $\text{SO}_4^{2-}$ : Método turbidimétrico del sulfato de bario.

Método de  $\text{NaHCO}_3$  0.5 M. pH 8.5

Solución extractante, disolver 84 g  $\text{NaHCO}_3$  de en 500 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 1.0 L y aforar, ajustar el pH a 8.5.

Solución extractante HCL 0.025N – $\text{NH}_4\text{F}$  0.03N. Disolver 1.11g de  $\text{NH}_4\text{F}$  en 900 mL agua destilada y agregar 2 mL de HCL concentrado. Diluya a 1 L en un matraz volumétrico.

REACTIVOS

Ácido clorhídrico (HCL) 6N.

Cloruro de bario ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )

Sulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ )

Goma de acacia: disolver 0.5g de goma en polvo en 100 mL de ácido acético glacial 1:1. Conservar la solución en refrigerados.

Ácido acético glacial.

PROCEDIMIENTO.

Se pesa 1 g de suelo y se coloca en un tubo de 50 mL, se le adicionan 15 mL de la solución extractante (se cubren los tubos con plástico y se tapan). Se agita por 5 minutos en agitador de acción recíproca a 180 opm. El extracto se filtra, simultáneamente se corren blancos de reactivos. Se colocan 5 mL del extracto de suelo en un tubo erlenmeyer; agregar 0.5 mL de la solución de goma de acacia y 1 mL de HCL 6 N; agitar el contenido y agregar 0.25 g de cristales de  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , se deja reposar 1 minuto; luego se agita el contenido del tubo hasta que se disuelvan los cristales; se lee la transmitancia a 420 nm; encontrar la concentración de los sulfatos usando una curva patrón.

Curva patrón:

Disolver 0.54g de en agua o en solución extractora y aforar a un litro. La solución resultante contiene 100 ppm de azufre. Se preparan concentraciones de 0, 4, 8, 12, 16

y 20 ppm de azufre, llevando a cabo las disoluciones correspondientes; colocar 5 ml de cada una de las concentraciones en un tubo, se agrega 0.5mL de goma de acacia y 1 mL de HCL 6 N y proceder como en los problemas; leer la transmitancia a 420 nm.

#### DETERMINACIÓN DE AZUFRE EN TEJIDO VEGETAL POR DIGESTIÓN CON HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>

##### Digestión húmeda

Se pesa 0.5g de material vegetal y se coloca en matraces microkjeldahl. Se adiciona 6 mL de la mezcla digestora. Se deja en predigestión, se colocan en la unidad digestora y se calienta a 150° C hasta que desaparezcan los humos pardos de los óxidos de nitrógeno. Proceso que toma entre 30 y 45 minutos. Una vez concluida la etapa anterior se eleva la temperatura del aparato digestor a 210°C para llevar a ebullición a la mezcla azeotrópica de HClO<sub>4</sub> (203 °C). El ataque del HClO<sub>4</sub> a la matriz orgánica residual se nota inicialmente por la aparición de vapores pardos leves y luego por una reacción con formación de espuma.

El final de la reacción está marcado por la aparición de vapores blancos densos característicos del HClO<sub>4</sub>. Esta etapa dura aproximadamente una hora. Después de la aparición de vapores pesados, dejar las muestras enfriar. Se transfiere cuantitativamente el digestado a un matraz aforado de 10 mL y se afora con agua desionizada

##### Cuantificación

En un tubo de ensayo de 50 mL se coloca 1 mL de la alícuota diluir a 20 mL con H<sub>2</sub>O destilada, adicionar 1 mL de solución acondicionadora para sulfatos y una pizca de Cloruro de Bario tapar los tubos rápidamente y poner las muestras en agitación por 1 minuto Leer en el espectrofotómetro a 420 nm y cuantificar la turbidez.

##### Curva patrón

Preparar una serie de patrones de 0 a 25 ppm del ión SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> a intervalos de 5 ppm 0, 5, 10, 15, 20 y 25 Transferir alícuotas de 1, 2, 3, 4 y 5 mL de una solución de 1000 ppm de SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> Finalmente son llevados a un volumen de 20 mL. Correr un blanco de reactivos y seguir con el procedimiento ya descrito para las muestras

### Reactivos

Solución acondicionadora para sulfatos: mezclar 50mL de glicerina con una solución que contenga 30mL de HCl concentrado 300 mL de H<sub>2</sub>O, 100 mL de alcohol etílico o isopropílico al 95% y 75g de cloruro de sodio.

Cloruro de bario: en cristales de 20 – 30 mallas.

Solución patrón de sulfatos: se prepara una solución patrón de ácido sulfúrico, tal que 1.0 mL = 0.1 mg de SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> (100ppm). Se puede obtener esta solución a partir de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.05N considerar la normalidad real y calcular el volumen adecuado para obtener la concentración de sulfatos deseados

17. ANEXO 2

Sistema SAS 12:00 Saturday, February 13, 2009 91

Procedimiento CORR

Coeficientes de correlación Pearson  
Prob > |r| suponiendo H0: Rho=0  
Número de observaciones

	S	GEN	ESP	E	MUE	REP	ALT
GEN	-0.26539 0.0003 183	1.00000 183	0.95089 <.0001 183	-0.10955 0.1466 177	0.06582 0.3760 183	0.00000 1.0000 183	<b>-0.56896</b> <.0001 183
ESP	-0.23099 0.0017 183	<b>0.95089</b> <.0001 183	1.00000 183	-0.11460 0.1288 177	-0.04649 0.5320 183	0.00000 1.0000 183	<b>-0.65762</b> <.0001 183
E	0.12842 0.0885 177	-0.10955 0.1466 177	-0.11460 0.1288 177	1.00000 177	-0.20785 0.0055 177	0.00000 1.0000 177	<b>0.21848</b> 0.0035 177
ALT	0.10410 0.1608 183	<b>-0.56896</b> <.0001 183	<b>-0.65762</b> <.0001 183	<b>0.21848</b> 0.0035 177	0.06449 0.3858 183	0.00000 1.0000 183	1.00000 183
GC	0.19177 0.0093 183	<b>0.41227</b> <.0001 183	<b>0.31462</b> <.0001 183	-0.08264 0.2742 177	0.32837 <.0001 183	0.00000 1.0000 183	<b>-0.37558</b> <.0001 183
	GC	PPF	PKF	PNF	PSF	MOS	pHa
GEN	0.41227 <.0001 183	<b>0.43078</b> <.0001 174	. . 43	<b>-0.41798</b> <.0001 129	-0.10841 0.1441 183	-0.02191 0.9037 33	<b>0.55006</b> 0.0009 33
ESP	<b>0.31462</b> <.0001 183	<b>0.36634</b> <.0001 174	. . 43	<b>-0.41798</b> <.0001 129	-0.02037 0.7843 183	-0.14926 0.4071 33	<b>0.56813</b> 0.0006 33
ALT	<b>-0.37558</b> <.0001 183	<b>-0.45887</b> <.0001 174	-0.22647 0.1442 43	-0.01412 0.8738 129	<b>-0.22353</b> 0.0024 183	<b>0.33231</b> 0.0588 33	<b>-0.51773</b> 0.0020 33
GC	1.00000 183	<b>0.63498</b> <.0001 174	-0.01110 0.9437 43	0.11414 0.1977 129	-0.06694 0.3680 183	<b>-0.46807</b> 0.0060 33	<b>0.53351</b> 0.0014 33
	pHp	CE	DP	DA	EP	HUM	ARC
GEN	<b>0.48118</b> 0.0046 33	0.24740 0.1651 33	0.12884 0.4749 33	<b>0.51483</b> 0.0022 33	-0.31392 0.0752 33	<b>-0.45615</b> 0.0076 33	-0.28062 0.1137 33
ESP	<b>0.53419</b> 0.0014 33	0.24544 0.1686 33	0.17385 0.3332 33	<b>0.58578</b> 0.0003 33	<b>-0.36254</b> 0.0381 33	<b>-0.55719</b> 0.0008 33	-0.08752 0.6282 33

E	0.18248 0.3345 33	0.16043 0.3970 33	-0.03511 0.8539 33	0.30144 0.1055 33	-0.21416 0.2558 33	-0.30440 0.1019 33	<b>-0.57346</b> 0.0009 33
ALT	<b>-0.76773</b> <.0001 33	-0.06365 0.7249 33	<b>-0.35288</b> 0.0440 33	-0.25864 0.1461 33	0.17098 0.3414 33	0.22616 0.2057 33	<b>-0.52870</b> 0.0016 33
GC	<b>0.55206</b> 0.0009 33	-0.23378 0.1904 33	<b>0.57159</b> 0.0005 33	0.23816 0.1820 33	-0.05712 0.7522 33	-0.20354 0.2559 33	-0.28868 0.1033 33
	<b>LIM</b>	<b>ARE</b>	<b>ASO</b>	<b>AS6</b>	<b>SO4B</b>	<b>SO4O</b>	<b>SO4S</b>
GEN	0.05903 0.7442 33	0.15602 0.3859 33	0.17486 0.3304 33	0.19632 0.2735 33	<b>-0.47975</b> 0.0047 33	<b>-0.52289</b> 0.0018 33	<b>0.34832</b> 0.0470 33
ESP	0.23357 0.1908 33	-0.08515 0.6375 33	0.07470 0.6795 33	0.10109 0.5757 33	<b>-0.58842</b> 0.0003 33	<b>-0.52549</b> 0.0017 33	0.32604 0.0641 33
E	-0.21129 0.2624 30	<b>0.54044</b> 0.0020 30	0.09589 0.6142 30	0.12017 0.5270 30	-0.19038 0.3136 30	<b>-0.48111</b> 0.0071 30	0.03625 0.8492 30
ALT	<b>-0.49783</b> 0.0032 33	<b>0.67272</b> <.0001 33	<b>-0.36127</b> 0.0389 33	-0.30590 0.0834 33	<b>0.77576</b> <.0001 33	0.18381 0.3059 33	<b>-0.58349</b> 0.0004 33
GC	-0.22315 0.2119 33	0.33705 0.0551 33	0.01849 0.9186 33	-0.02896 0.8729 33	<b>-0.49015</b> 0.0038 33	0.16446 0.3604 33	0.14875 0.4087 33
	<b>S</b>	<b>GEN</b>	<b>ESP</b>	<b>E</b>	<b>MUE</b>	<b>REP</b>	<b>ALT</b>
PSF	0.16040 0.0301 183	-0.10841 0.1441 183	-0.02037 0.7843 183	-0.00223 0.9765 177	-0.13536 0.0677 183	-0.01621 0.8276 183	<b>-0.22353</b> 0.0024 183
MOS	0.10173 0.5732 33	-0.02191 0.9037 33	-0.14926 0.4071 33	0.34384 0.0628 30	-0.01301 0.9427 33	0.07505 0.6781 33	<b>0.33231</b> 0.0588 33
pHa	-0.30426 0.0852 33	<b>0.55006</b> 0.0009 33	<b>0.56813</b> 0.0006 33	0.30985 0.0957 30	-0.07432 0.6811 33	-0.00066 0.9971 33	<b>-0.51773</b> 0.0020 33
pHp	-0.05790 0.7489 33	<b>0.48118</b> 0.0046 33	<b>0.53419</b> 0.0014 33	0.18248 0.3345 30	-0.12969 0.4719 33	-0.00188 0.9917 33	<b>-0.76773</b> <.0001 33
DA	-0.38486 0.0270 33	<b>0.51483</b> 0.0022 33	<b>0.58578</b> 0.0003 33	0.30144 0.1055 30	0.04996 0.7825 33	-0.18974 0.2902 33	-0.25864 0.1461 33
EP	0.29161 0.0996 33	-0.31392 0.0752 33	<b>-0.36254</b> 0.0381 33	-0.21416 0.2558 30	-0.26320 0.1389 33	0.12630 0.4837 33	0.17098 0.3414 33
HUM	0.31017 0.0790 33	<b>-0.45615</b> 0.0076 33	<b>-0.55719</b> 0.0008 33	-0.30440 0.1019 30	0.02004 0.9119 33	0.14625 0.4167 33	0.22616 0.2057 33
ARC	0.14636 0.4164 33	-0.28062 0.1137 33	-0.08752 0.6282 33	<b>-0.57346</b> 0.0009 30	-0.46381 0.0066 33	0.00000 1.0000 33	<b>-0.52870</b> 0.0016 33

LIM	-0.05195 0.7740 33	0.05903 0.7442 33	0.23357 0.1908 33	-0.21129 0.2624 30	-0.07749 0.6682 33	0.00000 1.0000 33	<b>-0.49783</b> 0.0032 33
	<b>GC</b>	<b>PPF</b>	<b>PKF</b>	<b>PNF</b>	<b>PSF</b>	<b>MOS</b>	<b>pHa</b>
PSF	-0.06694 0.3680 183	0.02869 0.7071 174	0.06438 0.6817 43	<b>0.26128</b> 0.0028 129	1.00000 0.0109 183	<b>-0.43738</b> 0.0109 33	-0.03586 0.8430 33
MOS	<b>-0.46807</b> 0.0060 33	<b>-0.49741</b> 0.0060 29	-0.28069 0.4031 11	0.31659 0.1151 26	<b>-0.43738</b> 0.0109 33	1.00000 33	<b>-0.36191</b> 0.0385 33
pHa	<b>0.53351</b> 0.0014 33	<b>0.53100</b> 0.0030 29	<b>0.88450</b> 0.0003 11	-0.18785 0.3581 26	-0.03586 0.8430 33	<b>-0.36191</b> 0.0385 33	1.00000 33
pHp	<b>0.55206</b> 0.0009 33	<b>0.46755</b> 0.0105 29	<b>0.78894</b> 0.0039 11	0.02089 0.9193 26	0.08845 0.6245 33	-0.31829 0.0710 33	<b>0.82542</b> <.0001 33
CE	-0.23378 0.1904 33	-0.10866 0.5748 29	<b>0.96228</b> <.0001 11	-0.30621 0.1282 26	-0.14817 0.4106 33	0.15685 0.3834 33	<b>0.59495</b> 0.0003 33
DA	0.23816 0.1820 33	<b>0.38831</b> 0.0374 29	0.46335 0.1512 11	<b>-0.48154</b> 0.0127 26	0.02511 0.8897 33	-0.21476 0.2301 33	<b>0.55479</b> 0.0008 33
EP	-0.05712 0.7522 33	-0.19585 0.3086 29	<b>-0.59820</b> 0.0519 11	0.16237 0.4281 26	0.02612 0.8853 33	-0.23578 0.1865 33	<b>-0.34029</b> 0.0527 33
HUM	-0.20354 0.2559 33	<b>-0.37947</b> 0.0423 29	-0.25266 0.4535 11	<b>0.45835</b> 0.0185 26	-0.11980 0.5066 33	0.15808 0.3796 33	<b>-0.41174</b> 0.0173 33
ARC	-0.28868 0.1033 33	-0.31941 0.0912 29	-0.55200 0.0783 11	0.14635 0.4756 26	<b>0.58032</b> 0.0004 33	-0.14004 0.4370 33	-0.17971 0.3170 33
	<b>pHp</b>	<b>CE</b>	<b>DP</b>	<b>DA</b>	<b>EP</b>	<b>HUM</b>	<b>ARC</b>
PSF	0.08845 0.6245 33	-0.14817 0.4106 33	0.24635 0.1670 33	0.02511 0.8897 33	0.02612 0.8853 33	-0.11980 0.5066 33	<b>0.58032</b> 0.0004 33
MOS	-0.31829 0.0710 33	0.15685 0.3834 33	<b>-0.78904</b> <.0001 33	-0.21476 0.2301 33	-0.23578 0.1865 33	0.15808 0.3796 33	-0.14004 0.4370 33
pHa	<b>0.82542</b> <.0001 33	<b>0.59495</b> 0.0003 33	<b>0.55822</b> 0.0007 33	<b>0.55479</b> 0.0008 33	<b>-0.34029</b> 0.0527 33	<b>-0.41174</b> 0.0173 33	-0.17971 0.3170 33
pHp	1.00000 33	0.24956 0.1613 33	<b>0.56412</b> 0.0006 33	0.32256 0.0671 33	-0.18361 0.3064 33	-0.19167 0.2853 33	0.14158 0.4319 33
CE	0.24956 0.1613 33	1.00000 33	-0.10116 0.5754 33	<b>0.42111</b> 0.0147 33	<b>-0.45832</b> 0.0073 33	-0.31793 0.0714 33	-0.22357 0.2110 33
DA	0.32256 0.0671	<b>0.42111</b> 0.0147	0.12611 0.4844	1.00000	<b>-0.73958</b> <.0001	<b>-0.83881</b> <.0001	-0.14838 0.4099

	33	33	33	33	33	33	33
EP	-0.18361 0.3064 33	<b>-0.45832</b> 0.0073 33	0.25580 0.1508 33	<b>-0.73958</b> <.0001 33	1.00000 33	<b>0.59143</b> 0.0003 33	0.24646 0.1668 33
HUM	-0.19167 0.2853 33	-0.31793 0.0714 33	-0.07252 0.6884 33	<b>-0.83881</b> <.0001 33	<b>0.59143</b> 0.0003 33	1.00000 33	0.06452 0.7213 33
	<b>LIM</b>	<b>ARE</b>	<b>AS0</b>	<b>AS6</b>	<b>SO4B</b>	<b>SO4O</b>	<b>SO4S</b>
PSF	0.27864 0.1164 33	<b>-0.57186</b> 0.0005 33	<b>-0.41018</b> 0.0177 33	<b>-0.37208</b> 0.0330 33	-0.18913 0.2918 33	0.14534 0.4197 33	-0.20145 0.2609 33
MOS	0.13115 0.4669 33	0.01461 0.9357 33	<b>0.38120</b> 0.0286 33	<b>0.39292</b> 0.0237 33	0.17524 0.3293 33	-0.15522 0.3884 33	0.20327 0.2566 33
pHa	0.11174 0.5359 33	0.05394 0.7656 33	0.14919 0.4073 33	0.15868 0.3778 33	<b>-0.65837</b> <.0001 33	<b>-0.35292</b> 0.0440 33	0.20702 0.2477 33
pHp	0.21474 0.2301 33	-0.23079 0.1963 33	<b>0.43029</b> 0.0124 33	<b>0.37325</b> 0.0324 33	<b>-0.81276</b> <.0001 33	-0.31580 0.0734 33	<b>0.62870</b> <.0001 33
CE	0.26468 0.1366 33	-0.01106 0.9513 33	0.01070 0.9529 33	0.09858 0.5852 33	-0.22829 0.2013 33	<b>-0.44250</b> 0.0099 33	-0.09080 0.6153 33
DP	-0.22764 0.2026 33	0.09638 0.5936 33	-0.04995 0.7825 33	-0.14080 0.4345 33	-0.25504 0.1520 33	0.08354 0.6439 33	0.04086 0.8214 33
EP	<b>-0.44033</b> 0.0103 33	0.10458 0.5624 33	0.14197 0.4306 33	0.15837 0.3787 33	0.25220 0.1568 33	0.31993 0.0695 33	0.02260 0.9007 33
ARC	0.16565 0.3569 33	<b>-0.78982</b> <.0001 33	0.26396 0.1377 33	0.28629 0.1063 33	-0.17093 0.3416 33	0.03573 0.8435 33	<b>0.33204</b> 0.0590 33
LIM	1.00000 33	<b>-0.73569</b> <.0001 33	-0.01907 0.9161 33	-0.11427 0.5266 33	<b>-0.41143</b> 0.0174 33	<b>-0.37171</b> 0.0332 33	0.16663 0.3540 33
	<b>S</b>	<b>GEN</b>	<b>ESP</b>	<b>E</b>	<b>MUE</b>	<b>REP</b>	<b>ALT</b>
ARE	-0.06821 0.7061 33	0.15602 0.3859 33	-0.08515 0.6375 33	<b>0.54044</b> 0.0020 30	0.36674 0.0358 33	0.00000 1.0000 33	<b>0.67272</b> <.0001 33
AS0	0.13358 0.4586 33	0.17486 0.3304 33	0.07470 0.6795 33	0.09589 0.6142 30	-0.44010 0.0104 33	0.00630 0.9722 33	<b>-0.36127</b> 0.0389 33
SO4B	0.07406 0.6821 33	<b>-0.47975</b> 0.0047 33	<b>-0.58842</b> 0.0003 33	-0.19038 0.3136 30	-0.00123 0.9946 33	-0.06156 0.7336 33	<b>0.77576</b> <.0001 33

SO4O	0.18594 0.3002 33	<b>-0.52289</b> 0.0018 33	<b>-0.52549</b> 0.0017 33	<b>-0.48111</b> 0.0071 30	0.00158 0.9930 33	0.12105 0.5022 33	0.18381 0.3059 33
SO4S	0.02368 0.8959 33	<b>0.34832</b> 0.0470 33	0.32604 0.0641 33	0.03625 0.8492 30	-0.15693 0.3831 33	-0.04465 0.8051 33	<b>-0.58349</b> 0.0004 33
	<b>GC</b>	<b>PPF</b>	<b>PKF</b>	<b>PNF</b>	<b>PSF</b>	<b>MOS</b>	<b>pHa</b>
AS0	0.01849 0.9186 33	-0.03614 0.8523 29	0.34331 0.3013 11	<b>0.40112</b> 0.0423 26	<b>-0.41018</b> 0.0177 33	<b>0.38120</b> 0.0286 33	0.14919 0.4073 33
AS6	-0.02896 0.8729 33	-0.10105 0.6020 29	0.20052 0.5544 11	0.32866 0.1011 26	<b>-0.37208</b> 0.0330 33	<b>0.39292</b> 0.0237 33	0.15868 0.3778 33
SO4B	<b>-0.49015</b> 0.0038 33	<b>-0.52364</b> 0.0036 29	-0.44004 0.1756 11	-0.04646 0.8217 26	-0.18913 0.2918 33	0.17524 0.3293 33	<b>-0.65837</b> <.0001 33
SO4O	0.16446 0.3604 33	0.00468 0.9808 29	-0.50053 0.1169 11	<b>0.43858</b> 0.0250 26	0.14534 0.4197 33	-0.15522 0.3884 33	<b>-0.35292</b> 0.0440 33
	<b>pHp</b>	<b>CE</b>	<b>DP</b>	<b>DA</b>	<b>EP</b>	<b>HUM</b>	<b>ARC</b>
ARE	-0.23079 0.1963 33	-0.01106 0.9513 33	0.09638 0.5936 33	-0.04305 0.8120 33	0.10458 0.5624 33	0.12035 0.5047 33	<b>-0.78982</b> <.0001 33
AS0	<b>0.43029</b> 0.0124 33	0.01070 0.9529 33	-0.04995 0.7825 33	-0.22739 0.2031 33	0.14197 0.4306 33	0.28969 0.1020 33	0.26396 0.1377 33
AS6	<b>0.37325</b> 0.0324 33	0.09858 0.5852 33	-0.14080 0.4345 33	-0.22850 0.2009 33	0.15837 0.3787 33	0.28869 0.1032 33	0.28629 0.1063 33
SO4B	<b>-0.81276</b> <.0001 33	-0.22829 0.2013 33	-0.25504 0.1520 33	-0.27930 0.1155 33	0.25220 0.1568 33	0.26254 0.1399 33	-0.17093 0.3416 33
SO4O	-0.31580 0.0734 33	<b>-0.44250</b> 0.0099 33	0.08354 0.6439 33	-0.33014 0.0606 33	0.31993 0.0695 33	0.15348 0.3938 33	0.03573 0.8435 33
SO4S	<b>0.62870</b> <.0001 33	-0.09080 0.6153 33	0.04086 0.8214 33	-0.09084 0.6151 33	0.02260 0.9007 33	0.16517 0.3583 33	<b>0.33204</b> 0.0590 33
	<b>LIM</b>	<b>ARE</b>	<b>AS0</b>	<b>AS6</b>	<b>SO4B</b>	<b>SO4O</b>	<b>SO4S</b>
ARE	<b>-0.73569</b> <.0001 33	1.00000 33	-0.16943 0.3459 33	-0.12556 0.4863 33	<b>0.37327</b> 0.0324 33	0.20664 0.2486 33	<b>-0.33168</b> 0.0593 33
AS0	-0.01907 0.9161 33	-0.16943 0.3459 33	1.00000 33	<b>0.89822</b> <.0001 33	-0.25321 0.1551 33	-0.09489 0.5994 33	<b>0.84502</b> <.0001 33
AS6	-0.11427 0.5266 33	-0.12556 0.4863 33	<b>0.89822</b> <.0001 33	1.00000 33	-0.31994 0.0695 33	-0.08869 0.6235 33	<b>0.76272</b> <.0001 33



---

S04B	<b>-0.41143</b> 0.0174 33	<b>0.37327</b> 0.0324 33	-0.25321 0.1551 33	-0.31994 0.0695 33	1.00000 33	0.28570 0.1070 33	<b>-0.49858</b> 0.0031 33
S04O	<b>-0.37171</b> 0.0332 33	0.20664 0.2486 33	-0.09489 0.5994 33	-0.08869 0.6235 33	0.28570 0.1070 33	1.00000 33	-0.18842 0.2937 33
S04S	0.16663 0.3540 33	<b>-0.33168</b> 0.0593 33	<b>0.84502</b> <.0001 33	<b>0.76272</b> <.0001 33	<b>-0.49858</b> 0.0031 33	-0.18842 0.2937 33	1.00000 33