

00524
75



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**"DETERMINACION BIOQUIMICA DE LOS
COMPONENTES LIXIVIADOS (PROTEINAS Y
CARBOHIDRATOS) Y MINERALIZABLES (LIGNINA
Y CELULOSA) EN UN ECOSISTEMA TROPICAL
ESTACIONAL MEXICANO"**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

PRESENTA

Myrna Adriana Hernández Anica

ASESOR:

Q. PEDRO VILLANUEVA GONZALEZ



MEXICO, D. F.



2003

**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

A



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.

Jurado Asignado

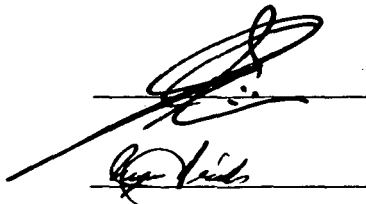
Presidente: Pedro Villanueva González
Vocal: María Paz Adellina Pases González
Secretario: José Alejandro Baza Reyes
1er. Suplente: Alma Rosa Griselda Zetina Reyes
2do. Suplente: Rebecca E. Franco y Bourland

Facultad de Química, UNAM, CIUDAD UNIVERSITARIA.

Laboratorio 3D ,Edificio A

Q. Pedro Villanueva González
Asesor del Tema

Myrna Adriana Hernández Anica
Sustentante



Two handwritten signatures are present, each written over a horizontal line. The top signature is a large, stylized cursive signature, likely belonging to Pedro Villanueva González. The bottom signature is a smaller, more compact cursive signature, likely belonging to Myrna Adriana Hernández Anica.

Agradecimientos:

Dios, Señor:

Te agradezco el poder llegar a este momento....., por todo lo que en mi vida has obrado ; por lo bueno y por lo malo que he pasado....., por lo que me has enseñado y por mantener conmigo a mi madre en todo momento, pero sobre todo... por la vida. Porque has puesto en mi camino justamente a las personas que necesito en el momento adecuado, para recordarme que Tú estás ahí conmigo, y que hoy , al igual que a Ti, entrego este esfuerzo, mi trabajo.

A mi madre:

A mi Rosita, a mi viejita....este trabajo es tuyo; por tu esfuerzo y dedicación para conmigo, por tus desvelos, por tu confianza, por la paciencia, por tus sonrisas cuando más las necesitaba, por tus consejos sabios que a veces me cuesta tanto entender, por las enseñanzas de madurez que me has dado, por la entereza que demuestras día a día, por enseñarme a ver la vida de color "verde"....

A mi padre, a Raúl:

En donde tú estés papá, gracias por enseñarme a diferenciar, y a no dejarme sola aunque tú estés muy lejos.....ojalá te sientas orgulloso de mí.

A mis hermanos:

Raúl, Fernando.....gracias por el apoyo y por los momentos felices.

A mis hermanas:

Miriam, Cora, Ceci, Paty....de ustedes también es este esfuerzo, porque de ustedes aprendí a ser fuerte, porque cada una me dió su fuerza y su confianza, por el cariño y la complicidad,

por los desvelos de todas ustedes, por enseñarme a ser valiente, ya lo ven... a final de cuentas, lo logramos juntas, este momento también es suyo.

A mis sobrinos:

A Aldo y Alan . mis dos "hijitos".

Cristi, Ivonne, Fernando, Daniel, Normita, Pablo, Mili , Lolis, Monse, Pepi, Alejandro; porque han sido como mis hermanitos pequeños , por ser mis confidentes , por todo el cariño, por aguantarme en los malos momentos y en los buenos también, por enseñarme que yo también puedo escucharlos ...

A mis cuñados: Miguel Angel, Lalo, Elvira y Marcela, porque son más que ese lazo familiar, por ser como mis hermanos y por el cariño a mi madre y a mí.

A Pedro Villanueva:

¿Qué te puedo decir que no te haya dicho y que tú sepas.....? Por ser amigo y guía, por ser profesionalista y ejemplo...por la confianza que depositaste en mí y en mis proyectos, por la mano que ha estado siempre cuando la necesito, por el consejo sabio y por tantas risas, este trabajo es tuyo.....

A Rafael Darío Vilchis:

Por ser amigo, compañero, cómplice y ejemplo...por enseñarme a tener calma y creer en mí, gracias Rafita por tantas cosas y tantas risas, por enseñarme a madurar.

Al Dr. Alejandro Baeza Reyes :

Por el orgullo de haber sido mi maestro, por los consejos sabios para el mejoramiento de esta tesis , y por dejarme conocer al gran ser humano.

A la Profra. Alma Rosa Zetina, por ese amor y entrega al trabajo, por ese profesionalismo y por dejarme conocer al profesionalista , a la amiga y a la mujer. Este esfuerzo es para usted.

A mis amigos:

A cada uno de ustedes; a todos los muchachos del laboratorio 3D porque hicieron de este lugar mi segunda casa, por enseñarme el significado de la amistad y que ésta es un privilegio.

Para Judith, Claudia, Fabi, Brenda, las Gabys, Martha, Edith por su amistad, por el espacio que ocupan en mi vida...

Para Pepe, Germancito, Larry, Mario, Mario Islas, Christopher, Fernando, Jorge Quelox, por tanto cariño y comprensión.

A la Dra. Ma. Teresa Desatnik, por la amistad y confianza, por creer en mí, por enseñarme a vivir sin miedo.

Al Biól. Isaias Vega, por el ejemplo y la amistad que nos une.

A mi escuela, la más bonita, la Facultad de Química, a todo su personal, por acogerme durante todo este tiempo y por el orgullo de ser parte de la MÁXIMA CASA DE ESTUDIOS.

E

ÍNDICE

TEMA	Página
Introducción	1
Generalidades	3
Física del suelo	4
Química del suelo	6
pH del suelo	8
Componentes orgánicos del suelo	9
Parte experimental	29
Sitio de estudio	29
Determinación de lignina y celulosa	31
Determinación del pH	37
Determinación de carbohidratos totales	38
Determinación de proteínas totales	39
Resultados	43
Análisis de resultados	70
Conclusión	78
Bibliografía	80

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas son unidades fundamentales de organización biológica, los cuales se caracterizan por ser sistemas abiertos y presentar una estructura jerárquica, compuesta por sistemas bióticos y abióticos, los cuales interactúan entre si.

El sistema tropical estacional ocupa en nuestro territorio una amplia superficie localizándose en las Costas del Pacífico, la Península de Yucatán, la Cuenca del Balsas, el sur de la Península de Baja California y una parte del estado de Tamaulipas.

En la región de Chamela, Jalisco, se encuentra ese tipo de ecosistema por lo que se tomó como referencia para la realización de este trabajo de tesis.

En el estudio del ecosistema tropical estacional, se utilizaron métodos y técnicas bioquímicas y analíticas, básicamente para el estudio de la influencia de factores como la estacionalidad (periodo de lluvias y secas), cambios en el uso del suelo, presencia de cierto tipo de microorganismos en el suelo y agotamiento de los nutrimentos del suelo.

El estudio mantiene un enfoque bioquímico en el balance de bancos, flujos internos y externos de agua, energía y nutrimentos, de aquí que se plantean los siguientes objetivos al desarrollar esta tesis:

- Conocer la dinámica del suelo en un ecosistema tropical estacional y sus implicaciones biológicas.
- Determinar el efecto de la estacionalidad del ecosistema en los componentes lixiviados (proteínas y carbohidratos) y mineralizables (lignina y celulosa) en el material vegetal y del ecosistema en estudio.

De la misma forma se hace el planteamiento de las siguientes hipótesis:

- La influencia de la estacionalidad se ve reflejada en la relación lignina y celulosa, efectuándose una reducción de ésta en el periodo de secas, debido a las condiciones desfavorables de degradación de la materia orgánica.
- La presencia de los agregados en el suelo es de vital importancia, porque regulan la caída drástica del pH al cambiar las condiciones de humedad
- Durante el tiempo de lixiviación del suelo, el contenido de los nutrimentos se ve disminuido, esto es debido a la acción de lavado por el agua de lluvia y el efecto de escorrentía.
- El pH del suelo es determinante para mantener las concentraciones adecuadas de nutrimentos en el mismo.

La metodología empleada en la presente tesis, forma parte de la formación profesional del Químico Farmacéutico Biólogo y demuestra la interrelación que existe de éste con un equipo de trabajo multidisciplinario, adentrándose en un campo que aún no ha sido completamente estudiado por los Químicos, la Ecología, ya que esta disciplina puede representar un amplio campo de trabajo para el Químico Farmacéutico Biólogo en donde puede implementar mejoras al rubro agroquímico y al deterioro que se ha causado al medio ambiente.

GENERALIDADES

Conceptos generales del suelo.

El suelo constituye la base sólida (viva y mineral), para que los vegetales puedan fijarse y servir de reservorio de agua y nutrimentos necesarios para las plantas, representa el almacén más importante dentro del ciclo de algunos elementos de los ecosistemas, en general. ^(1,3,5)

Podemos definir la mayor parte de las reacciones bioquímicas involucradas en la descomposición de la materia orgánica, el intemperismo de las rocas y la nutrición de las plantas. En el suelo están inmersas sustancias orgánicas que sirven de precursores de los elementos esenciales para el crecimiento de las plantas, además de una variedad de microorganismos (hongos, bacterias, protozoarios, actinomicetos, levaduras), encargados de la descomposición de la materia orgánica.

El suelo está formado por cinco componentes principales: minerales, agua, aire, materia orgánica y organismos vivos. La proporción de estos componentes varía con la localidad, el aire y el agua representan aproximadamente la mitad de volumen del suelo y ocupan el espacio poroso, la parte mineral proviene de la desintegración e intemperismo de las rocas, por lo tanto esta fracción puede modificar su volumen con el tiempo. ^(1,2,4)

La materia orgánica constituye en general entre el 3 y 6% del total, la porción "viviente". constituye cerca del 1%, sin embargo, esta porción representa la parte esencial de la fertilidad del suelo.

Cada uno de los componentes interactúan entre si, por ejemplo, la porción mineral tiene un efecto directo sobre los microorganismos debido a su influencia en la biodisponibilidad de nutrimentos y agua ^(6,7)

Física del suelo

La parte mineral del suelo está formada por partículas de diferente tamaño debido al grado de intemperismo en que se encuentra este. Los tamaños más importantes son : arenas (0.05-2.0 mm), limos (0.002-0.03 mm) y arcillas (<0.002 mm).

A las proporciones de cada una de estas fracciones combinadas y a su arreglo se le denomina textura del suelo:

- Gruesa: formada por arenas y gravas
- Intermedia: formada por arenas y limos
- Fina: formada por arcillas

En la figura No.1 se presentan los tipos de textura del suelo. ⁽⁶⁾

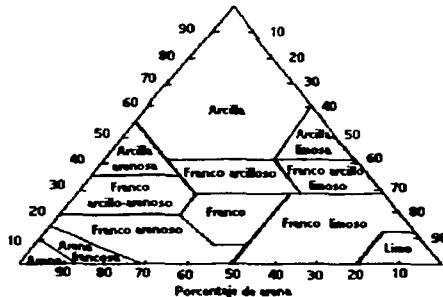


Figura No. 1 .Triángulo de texturas a partir del cual se obtienen los nombres de las clases de textura del suelo.

Los agregados son unidades estructurales , compuestos de partículas de limo y arcilla. A diferencia de la arcilla, el limo y la arena, los agregados son estructuras transitorias cuya estabilidad varia con el suelo, condiciones meteorológicas, actividad microbiana y otros factores.

Su tamaño varia desde cuerpos grandes que se rompen fácilmente hasta pequeños gránulos de consistencia firme. Su interés radica en el carácter microbiológico debido a que el material celular y microbiano son factores que afectan la formación y estabilidad de los agregados.

Existen 2 factores primordiales en la formación de agregados del suelo: los responsables de la formación de éstos y los que les dan estabilidad.

Ambos factores se relacionan y aunque no hay seguridad en el exacto mecanismo sobre la formación de los agregados, se conocen los factores específicos que influyen en su génesis. Los más importantes son:

- El humedecimiento y el secado
- Las heladas y el deshielo
- La actividad física de raíces y animales en el suelo
- La influencia de la degradación de la materia orgánica y de las excreciones de microorganismos y otras formas de vida
- Los efector modificadores de los cationes adsorbidos
- El laboreo del suelo
- La presencia de materia orgánica en el suelo.

La influencia de la estructura en el comportamiento del suelo es apreciable en los espacios llamados poros , los cuales son los espacios formados entre las partículas, el tamaño, forma y la cantidad de estos, en el suelo, son importantes . (7,8,9,12,13)

El agua representa la fase líquida del suelo y es el disolvente donde ocurren las diferentes reacciones químicas , provee nutrimentos para las plantas y los microorganismos. El agua que se mueve por la fuerza de gravedad se denomina agua libre

o gravitacional, se encuentra en los poros más grandes del suelo, parte del agua se retiene contra la fuerza gravitacional como resultado de la atracción entre el agua y los otros constituyentes del suelo, sin embargo, no toda esta agua es aprovechable biológicamente y sólo una parte de ésta puede ser utilizada por los sistemas vivientes.

La disolución del suelo contiene un determinado número de sales inorgánicas, las cuales son los nutrimentos de las plantas, el movimiento descendente del agua aleja a los nutrimentos de la zona de acceso para los microorganismos llevándose a cabo la lixiviación.

La fase gaseosa (el aire del suelo), es el canal para el movimiento (difusión) del oxígeno y otros gases representando la conexión del suelo con la atmósfera terrestre. ⁽⁹⁾ La difusión de gases equilibra el gradiente de concentración O_2 / CO_2 y como regla general, al aumentar la profundidad disminuye el contenido de O_2 mientras que aumenta el contenido de CO_2 , cuando el suministro de O_2 es inadecuado, se reduce la velocidad de las transformaciones microbianas.

Química del suelo

Las características químicas del suelo dependen de los minerales que contengan las rocas, a partir de los cuales se ha formado el suelo (material parental) , de la entrada de compuestos por precipitación de líquidos (lluvia) o sólidos (polvos) , o de la entrada de compuestos de origen orgánico, así como de las reacciones químicas que se presentan dentro del suelo. Los nutrientes en el suelo se pueden presentar en las siguientes formas: ^(1,3,5,7)

- Nutrimentos potenciales, conferidos en los minerales que aún no han sido intemperizados
- Nutrimentos en la solución del suelo, que son altamente disponibles y que dependen de las condiciones fisicoquímicas de la disolución del suelo.
- Nutrimentos en la superficie de intercambio catiónico o aniónico, como son las arcillas y humus del suelo

- Nutrientos de la materia orgánica del suelo
- Nutrientos producto del intemperismo, que son compuestos muy estables y no son disponibles para las plantas y microorganismos.

La proporción de cada una de estas cinco formas de nutrientes va a definir la fertilidad del suelo, sin embargo, la proporción relativa entre ellos depende del equilibrio químico en la disolución del suelo. Los electrolitos y no electrolitos, contenidos en la disolución del suelo son las fuentes inmediatas de los nutrientes que necesitan las plantas, muchos de los mecanismos de interacción de iones y suelo pueden eliminar y reemplazar tales iones en la disolución del suelo.

Los mecanismos que permiten la entrada de iones a la disolución del suelo se resumen en : ⁽¹¹⁾

- Intemperismo mineral
- Descomposición de la materia orgánica
- Lluvia
- Liberación de iones retenidos por la fracción coloidal o arcillosa del suelo

Los iones retenidos por el suelo son generalmente la fracción más grande de nutrientes disponibles para las plantas.

La velocidad de intemperización de los minerales son lentas, comparadas con las necesidades de las plantas. Cuando se descompone la materia orgánica libera iones más rápidamente que el proceso de intemperismo, pero la mayoría de estos iones reaccionan con la fase sólida del suelo antes que las plantas o microorganismos los puedan absorber. ^(9,10)

En la retención de iones, los suelos conservan el equilibrio para evitar las pérdidas por lixiviación y mantener cierta disponibilidad de nutrientes para las plantas. Los iones

que retiene los suelos, no evitan completamente las pérdidas por lixiviación por que la retención es tan fuerte que muchas veces los iones se reciclan varias veces a través de los suelos, vegetales y animales, antes de perderse finalmente en las aguas subterráneas, ríos y mares.

Los suelos retienen iones y moléculas mediante fenómenos diversos como el intercambio iónico, atracción electrostática débil, formación de complejos con la materia orgánica e inmovilización, dentro de las células microbianas.

pH del suelo

Una de las variables fisicoquímicas más importantes que controlan el equilibrio químico de la disolución del suelo, es el pH . El grado de acidez de un suelo se refleja en las concentraciones de iones hidrógeno existentes en las suspensiones acuosas del mismo. Los iones H^+ tienen su origen en la disociación electrolítica del ácido diluido en una disolución acuosa. Los ácidos fuertes, como el sulfúrico y el clorhídrico presentes en disoluciones diluidas del suelo se encuentran completamente disociados mientras que los ácidos débiles como el carbónico y acético, sólo lo están ligeramente . (10,11)

El pH del suelo depende de diversos factores . la estacionalidad, las prácticas de cultivo, el horizonte muestreado, el contenido de agua en el momento de muestreo y los factores que intervienen en la formación del suelo.

Los procesos de lavado (lixiviación) eliminan bases del suelo y por lo tanto, tienden a provocar con el tiempo un descenso en el pH, este proceso es importante en los suelos jóvenes reduciéndose en suelos más desarrollados, donde los procesos meteorizantes han eliminado la mayor parte de las arcillas. (1,5,9,11,22)

En la tabla No.1 se muestra una evaluación del pH en términos descriptivos ⁽¹²⁾.

Acidez o alcalinidad del suelo	pH del suelo
Excesivamente ácido	< 4.0
Fuertemente ácido	4.0-5.0
Moderadamente ácido	5.0-6.0
Ligeramente ácido	6.0-6.5
Neutro	6.5-7.5
Ligeramente alcalino	8.0-9.0
Fuertemente alcalino	9.0-10.0
Excesivamente alcalino	> 10.0

Tabla No.1. Intervalos de pH del suelo para describir sus características.

En la mayor parte de los suelos, el valor de pH oscila entre 5 y 8 así todos los suelos con pH superior a 8 poseen un exceso de sales o un elevado porcentaje de sodio en sitios de intercambio catiónico, los suelos con pH inferior a 4 generalmente contienen ácido sulfúrico. La vegetación ejerce una compleja influencia sobre el pH del suelo, al producir ácidos orgánicos.

Componentes orgánicos del suelo

La materia orgánica del suelo se define como la fracción de éste que incluye vegetales y animales en diferentes estados de descomposición, tejidos y células de organismos que viven en el suelo y sustancias producidas por los habitantes del mismo.

La fracción más estable de esta materia orgánica se llama humus y se obtiene mediante la descomposición de la mayor parte de las sustancias vegetales o animales

añadidas al suelo. El humus es de naturaleza más compleja que la materia orgánica que contiene principalmente ácido húmico.^(1,11,12,17,23)

Fuentes de la materia orgánica del suelo

La fuente de la materia orgánica del suelo es el tejido vegetal, las plantas aéreas y raíces de los árboles, arbustos, hierbas, las cuales los organismos del suelo son los encargados de descomponer llegando a constituir una parte más importante del humus por infiltración o por incorporación física.

Por otra parte, los suelos contienen materiales orgánicos vivos o muertos, de origen vegetal o animal de diferentes tamaños y su composición puede clasificarse de maneras distintas, de acuerdo al origen o naturaleza química de sus materiales, siendo los grupos más representativos los siguientes:

- ❖ Microorganismos vivos y raíces
- ❖ Insectos
- ❖ Lombrices de tierra
- ❖ Nematodos
- ❖ Crustáceos
- ❖ Caracoles, babosas
- ❖ Roedores, culebras, etc.
- ❖ Restos de macroorganismos muertos pero identificables
- ❖ Microorganismos vivos (**Bacterias**)
- ❖ Hongos, actinomicetos, protozoos, algas
- ❖ Materiales orgánicos muertos y finamente divididos.

La materia orgánica en el suelo

Almacenes de la materia orgánica en el suelo

La materia orgánica ejerce una directa influencia sobre las propiedades físicas y químicas del suelo. El material vegetal representa una fuente de nutrimentos y energía para los seres vivos del suelo (microorganismos). Las formas de la materia orgánica en el suelo son en extremo heterogéneas, variando en su naturaleza y variedad de sus componentes.

La materia orgánica del suelo se puede dividir en dos principales almacenes basados en la relativa susceptibilidad de descomposición biológica: el almacén de descomposición rápida y el almacén relativamente resistente a la degradación.

Ambos almacenes tienen un papel primordial en la estabilidad de los ecosistemas y en el ciclaje de nutrimentos que origina el material orgánico del suelo. (1,3,3,9)

En el almacén lábil agrupamos al mantillo, la fracción ligera, la biomasa microbiana y las sustancias no húmicas no enlazadas a constituyentes minerales, ésta fracción representa una fuente rápida de nutrimentos en el suelo a largo plazo.

El tamaño del almacén activo depende de la descomposición de materia orgánica y de la actividad microbiana.

En la figura No. 2.3 se presenta una breve descripción de los flujos, almacenes y su composición.

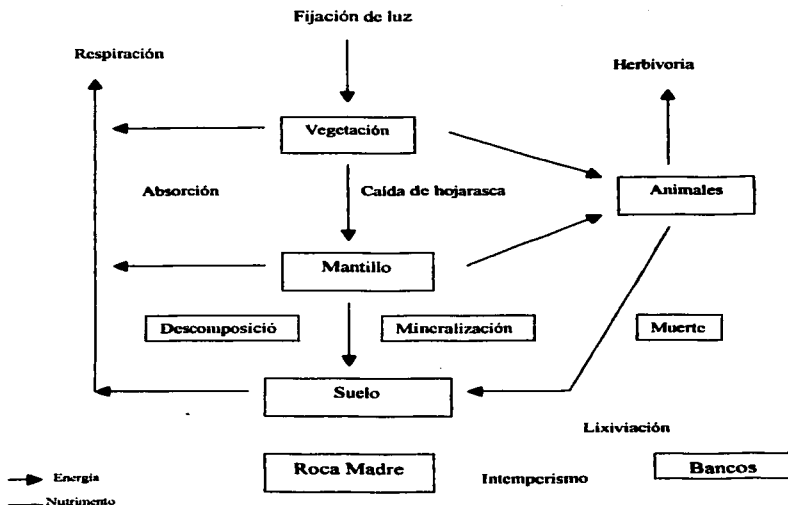


Figura No. 2. EL SUELO. SUS ALMACÉNES Y SUS RESPECTIVOS FLUJOS

El mantillo es la capa de las hojas localizada en la superficie de los suelos formada por gran variedad de residuos vegetales y animales. El mantillo alberga una enorme variedad de organismos (microflora, microfauna, mesofauna y macrofauna del suelo) que llevan a cabo alteraciones físicas y químicas de los residuos orgánicos, modificando así su calidad y abundancia (1,3,14,15,17,18,19,22,25,26)

El mantillo es, en otras palabras, materia orgánica en diferentes estados de descomposición y este grado de descomposición aumenta con la profundidad del mantillo, y sus variaciones temporales están relacionadas con la estacionalidad de la caída de hojarasca y de su descomposición, ambas afectadas por la estacionalidad de la

temperatura y precipitación. En un clima estacional (como el del ecosistema en estudio), durante el periodo de sequía, la tasa de caída de hojarasca aumenta y las tasas de descomposición disminuyen, en oposición a lo que ocurre durante la época de lluvias, esto trae consigo que el espesor del mantillo varí cíclicamente. En cambio, cuando la lluvia está distribuida regularmente durante el año, las tasas de descomposición son menos variables y las fluctuaciones del mantillo son menos marcadas.

La descomposición del mantillo consiste en una cadena de procesos sucesivos, en los cuales una gran variedad de organismos toman parte. La descomposición se refiere a los procesos físicos y químicos que involucran una reducción en la materia orgánica muerta y a sus constituyentes químicos elementales en un intervalo de tiempo. Esta reducción se atribuyen al efecto de los procesos de fragmentación, lixiviación y catabolismo. (12,16,17,21,22,23,26)

La fragmentación, es la formación de partículas pequeñas a partir del material vegetal original, se le considera como un proceso físico que ocurre por la actividad alimenticia de los organismos degradadores y por el efecto de factores abióticos como insolación, alternancia de desecación y humedecimiento, o bien por el arrastre de la hojarasca ocasionado por el viento y agua.

La ingestión y digestión del material por los degradadores afecta además su composición química por medio de reacciones catabólicas, este cambio en la composición química, modifica a su vez, la tasa a la cual se descompone el material vegetal.

La lixiviación, es un proceso abiótico por medio del cual los nutrientes son removidos del material vegetal por la acción del agua, provocando una pérdida de peso y un cambio en la composición química del mantillo.

El catabolismo, es un término bioquímico que describe la liberación de energía de una reacción enzimática o cadena de reacciones que generalmente involucran la transformación de compuestos orgánicos complejos a moléculas más pequeñas y más simples. La composición química del mantillo cambia como resultado de la producción de

compuestos intermedios que pueden ser fácilmente lixiviados, utilizados por los organismos degradadores ó incorporados como parte del humus.

Estos tres procesos interactúan entre si sobre el mantillo y resulta difícil estudiarlos por separado, por ejemplo, la fragmentación puede facilitar la actividad de enzimas catabólicas o incrementar la cantidad de compuestos que pueden ser lixiviados.

La descomposición del manillo está regulada por la naturaleza de la comunidad degradadora, características intrínsecas de los componentes del mantillo y los factores físicos del medio.

La fracción ligera, consiste del material vegetal en varios estados de descomposición, que existe en la matriz del suelo. Este tipo de fracción tiene un amplio recambio de nutrimentos y constituye aproximadamente el 30% de la materia orgánica del suelo. La cantidad de material en esta fracción está dada por el efecto estacional y por la incorporación de residuos orgánicos después de la tala que a su vez , es afectada por el pH , la temperatura y la humedad.

La biomasa microbiana está constituida por los organismos que integran la microflora del suelo y son las bacterias, los hongos y la macrofauna que incluye principalmente invertebrados.

Generalmente se encuentran cerca de 50 nemátodos por gramo de suelo seco, los protozoos son probablemente las formas más sencillas de vida animal y los más numerosos en el suelo, y las cantidades de ellos están sujetas a una gran fluctuación , aún en condiciones aparentemente desfavorables. La aireación y la provisión de nutrimentos son factores determinantes para ello.

En la transformación de los constituyentes del suelo los hongos juegan un importante papel. Alrededor de 200 especies de hongos agrupados en 42 géneros, han sido identificados y dependen de la materia orgánica del suelo para obtener energía y fuentes de carbono. (1,3,5,9)

Los actinomicetos y las bacterias se desarrollan mejor en suelos húmedos y aireados y son sensibles a los cambios en la acidez del suelo, estando prácticamente inhibido su crecimiento en suelos, en los rangos de pH que oscilen entre 5.0-6.0

La cantidad de bacterias presentes en el suelo es variable, pues muchas condiciones afectan a su desarrollo, su población radica en los horizontes superficiales según las condiciones de temperatura, humedad, aereación y disponibilidad de nutrimentos.

En el suelo, las bacterias aparecen como esteras, masas amorfas o filamentosas, llamadas colonias, sobre o alrededor de las partículas del suelo. Algunos microorganismos del suelo pueden producir esporas o cuerpos resistentes parecidos, representando así un estadio vegetativo latente, esta capacidad es importante porque permite que los organismos sobrevivan bajo condiciones desfavorables .^(6,7)

El humus se define como el material orgánico que los microorganismos del suelo han transformado en una forma estable. Esta fracción es un complejo o mezcla de sustancias de color café casi negro, amorfas y coloidales, modificada a partir de tejidos originales de las plantas o sintetizadas nuevamente por los organismos del suelo. Su estructura química es compleja y no se conoce completamente, probablemente consista en polímeros unidos por enlaces -O-, -NH-, -N-, y -S- y con enlaces articulados como la quinona (O-C₆H₄-O) y grupos OH libres. El contenido de carbono y oxígeno, la acidez y el grado de polimerización cambian sistemáticamente con el peso molecular del humus.

El humus precipita con ácidos y cationes polivalentes, lo que facilita su separación de la materia orgánica .^(1,3,7,22,24,25,26)

Composición de la materia orgánica del suelo

La materia orgánica del suelo es una sustancia compleja de naturaleza variable y de origen diverso, contiene un sinnúmero de materiales cuyo porcentaje varía de acuerdo con la clase de residuos (plantas o animales) y de su estado de descomposición, dichos materiales son los siguientes:

- **Carbohidratos:** Incluyen azúcares, almidones, celulosas., contribuyen del 1-28% de la materia orgánica.
- **Proteínas, aminoácidos y otros derivados nitrogenados.**
- **Grasas, aceites y ceras.**
- **Alcoholes, aldehídos y otros derivados oxidados inestables.**
- **Ácidos orgánicos. Ácido acético que puede alcanzar 1 meq/100 g de suelo.**
- **Minerales. calcio, fósforo, azufre, hierro , magnesio y potasio**
- **Productos diversos de gran actividad biológica.**

En el suelo existen gran variedad de sustancias orgánicas y debido a las propiedades análogas que éstas presentan, los compuestos químicos pueden ser clasificados de la siguiente forma:

1. Hidratos de Carbono. Los hidratos de carbono o carbohidratos forman la mayor parte del esqueleto de las plantas y constituyen el soporte y la reserva sobre el cual tiene lugar la vida y el crecimiento. El suelo depositan a partir de los residuos de las plantas superiores, de tejidos animales y microorganismos, pero la mayoría de los hidratos de carbono llegan al suelo como parte de los residuos vegetales . Su componente principal es la celulosa, que constituye más de la mitad del peso seco de las plantas especialmente de los tejidos vivos.

Celulosa. Es el componente básico de los vegetales cuyo rendimiento supera al de los demás productos naturales. Los restos vegetales presentes en el suelo están formados por un 40-70 % de celulosa. Este elevado contenido de celulosa, subraya la importancia de los degradadores de celulosa en la mineralización y en el ciclo del carbono. La celulosa es degradada por microorganismos como hongos, mixobacterias, eubacterias; mientras que en condiciones anaeróbicas lo es por clostridios.

Xilano. Después de la celulosa, el xilano es el carbohidrato más extendido en la naturaleza., este pertenece a los hidratos de carbono denominados hemicelulosas, pero no se halla emparentado ni por su estructura ni por su composición con la celulosa, a pesar de ser parcialmente soluble en agua y álcalis .Estos compuestos son sustancias de reserva o de

sostén en la planta. El xilano se degrada con mayor rapidez y es atacado por un número superior de microorganismos. El tipo de organismos que atacan a los xilanos en el suelo, dependen de los ciertos factores ambientales. En suelos ácidos dominan los hongos, en los neutros y alcalinos los bacilos y otras bacterias.

Almidón. Constituye el producto de reserva predominante en las plantas, se presenta en forma de gránulos que pueden ser tanto esféricos como lenticulares u ovoides con una marcada estructura en capas. El almidón vegetal está formado por dos glucanos, amilosa (15-27 %) y amilopectna. El almidón es degradado en condiciones anaeróbicas por clostridios sacarolíticos.

Otros glucanos. Las bacterias y hongos contienen múltiples glucanos, alguno de los cuales realizan la función de sostén y otros la de reserva. Entre los glucanos más conocidos se encuentran el dextrano, producido por *Leuconostoc mesenteroides*.

- Fructanos. En algunas familias de vegetales se acumulan fructanos, sustituyendo o acompañando al almidón, llegando a constituir del 12-15% de materia seca.
- Manano. Algunas coníferas lo tienen hasta en un 20% . En las células de levaduras se presenta como polisacárido y puede extraerse de las suspensiones de levadura por tratamiento con álcalis hidratados o al poner dichas suspensiones en el autoclave.

Pectinas. Se presentan en forma de compuestos intracelulares en los tejidos de las plantas jóvenes. Su importancia radica más en su relación con la estabilidad de las plantas que en su cantidad. Forman parte de la lámina media que se deposita entre las paredes celulares de dos células vegetales vecinas. La capacidad para degradar la pectina es característica de muchos hongos y bacterias como *Erwinia carotovora*, en el suelo, el número de degradadores de pectina es elevado.

Quitina. Es un compuesto de sostén muy extendido, tanto en el reino animal como en el vegetal, constituye el exoesqueleto de muchos invertebrados, es un componente de la

pared celular de muchos hongos en especial de los basidomicetos, por ello es habitual encontrarla en el suelo.

Lignina. Constituye después de la celulosa y de las hemicelulosas el componente más importante de las plantas, el contenido de lignina del tejido leñoso varía entre el 18 -- 30%. La lignina se halla incrustada en el tejido vegetal, encontrándose en las láminas secundarias de la pared celular. La lignina es el producto vegetal masivo que se degrada biológicamente con mayor lentitud. Constituye la fuente principal de materia orgánica del suelo y en especial de los ácidos húmicos, que se degradan con gran lentitud. Compuestos intermediarios de la síntesis de lignina pueden aislarse de una serie de dímeros y oligómeros del coniferol 2. La lignina de las plantas constituye un producto final inerte del metabolismo, el cual no vuelve a ser introducido en éste, y sólo ejerce una función mecánica, admitiendo únicamente la degradación microbiana. Si comparamos la lignina con la celulosa o con las hemicelulosas, encontraremos que ésta es degradada con una lentitud extraordinaria, tanto por los hongos destructores de la madera como por las bacterias y hongos del suelo.

Proteínas. EL nitrógeno orgánico se presenta en forma de proteínas, las cuales al igual que otros compuestos de alto peso molecular, son convertidos, primeramente en fragmentos permeables en el exterior de la célula (reacción que catalizan las exoenzimas). Las enzimas proteolíticas hidrolizan algunos enlaces peptídicos de la molécula proteica. Los fragmentos de polipéptidos y oligopéptidos pasan al interior de la célula y son degradados hasta convertirse en aminoácidos. La degradación de las proteínas en el suelo acompaña a la formación de amoniaco, se habla entonces de una mineralización del nitrógeno o una amonificación. Aquí participan bacterias y hongos como *Bacillus cereus*, *Pseudomonas*, *Proteus vulgaris*, entre otros. En la degradación proteínica, la primera reacción que se presenta en un aminoácido puede ser una descarboxilación o una desaminación, las descarboxilasas se forman, en un ámbito de pH ácido, los productos de descarboxilación de los aminoácidos son el anhídrido carbónico y las aminas primarias, se puede citar como ejemplo la descarboxilación de la lisina (presente en algunas gramíneas y sustancias de origen animal) dando como resultado CO₂ y cadaverina (amina presente en residuos animales).

Se denomina desaminación la eliminación del amoníaco de un aminoácido y según sea el destino del esqueleto carbonado, puede diferenciarse en oxidativa , desaturativa e hidrolítica.

- **Desaminación oxidativa.** Constituye el tipo más extendido de degradación de aminoácidos.
- **Desaminación desaturativa.** Generalmente es producida por bacterias anaeróbicas, las cuales actúan sobre un aminoácido (ácido aspártico) produciendo ácido fumárico.

Descomposición de la Materia Orgánica

Los compuestos orgánicos tienen diferente susceptibilidad a la descomposición , a continuación se ordenan algunos compuestos orgánicos de mayor a menor grado de susceptibilidad a la descomposición : ⁽⁵⁾

- **Azúcares, almidón y proteínas simples**
- **Proteína cruda**
- **Hemicelulosas**
- **Celulosas**
- **Grasas, ceras**
- **Lignina**

Todos los compuestos orgánicos, dependiendo de su estructura química, se descomponen mediante las siguientes tres rutas:

- **pueden ser totalmente mineralizados**
- **pueden ser inmovilizados por la biomasa microbiana**
- **la materia orgánica puede ser incorporada, intercambiarse o modificarse parcialmente en una forma más estable en la fracción humificada del suelo.**

La descomposición de la materia orgánica implica la oxidación del carbono por organismos heterótrofos que emplean la energía de la oxidación en su metabolismo de acuerdo a la siguiente reacción:



Las proteínas que se encuentran en estos residuos, además de contener carbono, nitrógeno, hidrógeno, oxígeno, incluyen en su estructura azufre, hierro, manganeso y cobre, de acuerdo a la disposición de los elementos. Las proteínas, de estructura simple, son más susceptibles a la ruptura de la misma o a su descomposición.

El proceso de descomposición podemos dividirlo en un ataque microbiano o fase inicial y en una descomposición microbiana o fase secundaria, teniendo intermediarios que no se oxidan completamente.

Los azúcares, almidón proteínas simples y crudas, celulosa, lignina, grasas y ceras son algunos de los componentes orgánicos que en un grado determinado son susceptibles de ésta descomposición microbiana.

Los compuestos más complejos (lignina y celulosa) serán los más difíciles de descomponer, en cambio los compuestos solubles (proteínas y carbohidratos sencillos) serán los primeros liberados por el material vegetal en descomposición.

La composición química de la hojarasca es otro mecanismo que controla el flujo de carbono. Las plantas son la principal fuente de carbono orgánico en el suelo y los microorganismos los responsables de la degradación de polímeros estructurales.

La actividad microbiana trae como resultado la transformación de carbono, originándose:

- El reingreso del CO_2 a la atmósfera
- La formación de compuestos orgánicos sencillos aprovechables por los microorganismos del suelo

- Formación del humus
- Producción de biomasa y enzimas

Los microorganismos tienen un papel importante en el flujo de Carbón de la vegetación al suelo, no todos tienen la capacidad de descomponer las biomoléculas del suelo, dado que existe una especialización a nivel de especie. Podemos destacar la importante actividad de los hongos y las bacterias en el ecosistema, en la descomposición de las biomoléculas, por ejemplo la celulosa es descompuesta por hongos de los géneros Aspergillus, Fusarium, Poma entre otros y bacterias como Cytophaga, Cellulomonas y Nocardia. La degradación de la lignina se lleva a cabo por hongos Basidomicetos y bacterias como Artrobacter, Pseudomonas, Nocardia ⁽⁶⁾.

La capacidad de estabilización de carbono en el suelo depende directamente de la estructura física de éste y de la presencia de agregados en él, éstos están formados por la unión de arcillas, compuestos orgánicos y metales polivalentes. ^(12,13)

Su presencia, reduce la fase de descomposición de las formas lábiles y protegen a las poblaciones microbianas de ser consumidos por depredadores, reducen además la posibilidad de que los compuestos no húmicos sean lixiviados por el agua y el suelo.

Los macroagregados (mayores a 250 micrómetros) presentan mayor cantidad de carbono, biomasa microbiana, nitrógeno y fósforo que los microagregados (menores a 250 micrómetros). De aquí que la composición, susceptibilidad de ataque de la materia orgánica asociada con los micro y macroagregados es diferente. El carbono asociado con los macroagregados es menos humificado.

Proceso de descomposición

La descomposición de la materia orgánica implica la oxidación del carbono por organismos heterótrofos que emplean la energía de la oxidación en su metabolismo. La dispersión inicial de los troncos de los árboles y objetos grandes la llevan a cabo los mamíferos, las termitas y las lombrices de tierra. A medida que la materia orgánica se convierte en partículas finamente divididas, también decrece el tamaño de los organismos

que propician su descomposición. La descomposición continúa mientras el oxígeno, el agua y la temperatura y los niveles de nutrientes sean los indicados para los organismos degradadores.

La materia orgánica no húmica incluye tejido y componentes originales y sólo material parcialmente descompuesto. Las sustancias no húmicas incluyen carbohidratos y compuestos relacionados, proteínas y sus derivados, grasas, ligninas, taninos y varios productos de descomposición parcial al igual que raíces y copas de las plantas.

Los materiales no húmicos son una fuente excelente de alimentos para los microorganismos del suelo. Algunas partes de las plantas y algunos productos químicos orgánicos sintéticos sólo se descomponen lentamente y sólo unos microorganismos en particular, lo pueden hacer. Inmediatamente después de que el material orgánico nuevo entra en contacto con el suelo, los microorganismos empiezan a descomponer los residuos como fuente de nutrientes y energía como se aprecia en el siguiente esquema:

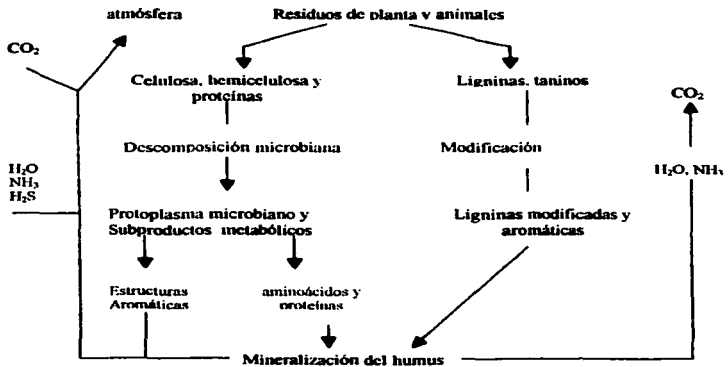


Figura No. 3 Descomposición de la materia orgánica y formación de sustancias húmicas

La fase inicial del ataque microbiano lo constituye la pérdida rápida de sustancias susceptibles a descomposición acelerada. Los mohos y las bacterias formadoras de esporas son especialmente activos en el consumo de proteínas, almidones y celulosa. Sus principales productos son CO_2 y H_2O . Algunos productos secundarios incluyendo cantidades pequeñas de NH_3 , H_2S , SO_2 , ácidos orgánicos y otras sustancias que no se oxidan completamente. En las fases posteriores de la descomposición, una amplia variedad de microorganismos ataca a estos productos intermedios y tejidos microbianos recientemente formados, con la consecuente producción de biomasa y pérdida adicional de carbono como CO_2 .

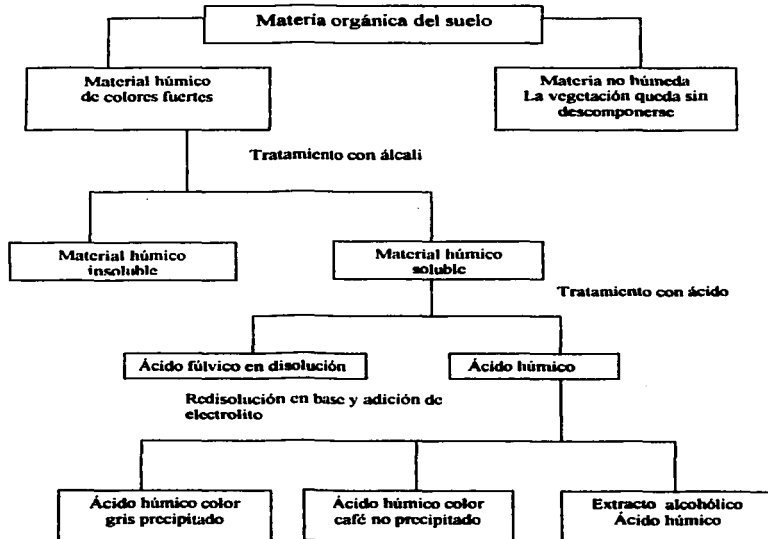
Las fases de descomposición pueden definirse en función de los residuos. Al principio éstos son atacados rápidamente, después de algunos meses, disminuye la velocidad de descomposición, en esta etapa, permanece en el suelo una considerable cantidad de carbono, aunque una parte se presenta como productos microbianos y otra como vegetación que han resistido la descomposición. La lentitud en la descomposición al transcurrir el tiempo se debe a que los diversos componentes de las plantas se descomponen a diferentes tiempos (la lignina, por ejemplo, se ataca sólo lentamente), y a la nueva síntesis de los constituyentes de más fácil descomposición (azúcares, celulosa, proteínas) en componentes más resistentes a la acción microbiana. El material resistente puede recubrir al material inicial y protegerlo contra la descomposición adicional.

Conforme el tiempo transcurre el carbono del suelo opone una considerable resistencia a la descomposición. Esto condujo a algunos investigadores a la conclusión de que el componente orgánico existe en tres fracciones principales cuando se consideran de manera dinámica: residuos de descomposición de vegetación y la correspondiente biomasa que se renuevan al menos en algunos años; metabolitos microbianos y constituyentes de la pared celular que llegan a estabilizarse en el suelo y tienen una vida media de 5 a 25 años y fracciones resistentes que fluctúan en edad desde 250 a 2500 años o más.

Extracción, fraccionamiento y composición química de la materia orgánica.

Las propiedades químicas y coloidales de la materia orgánica del suelo se estudian mejor cuando el material se ha liberado de componentes inorgánicos del suelo. Aunque separar la materia orgánica de la matriz inorgánica de arena, limo y arcilla no es difícil físicamente, el agente extractor (generalmente NaOH de 0.1 a 0.5 M) por sí mismo, altera la materia orgánica por la hidrólisis y la autooxidación. Los componentes en tales extractos se pueden fraccionar parcialmente mediante la precipitación con ácidos o sales metálicas o aprovechando las diferencias en solubilidad con varios disolventes orgánicos. ⁽¹²⁾

El fraccionamiento clásico para la materia orgánica extraída, se detalla a continuación:



Humus

Los productos de la degradación de materiales tanto vegetal como animal, sufren reacciones enzimáticas y químicas para formar nuevos polímeros coloidales llamados humus. El humus es el componente orgánico de los suelos que contiene principalmente ácido húmico, es una mezcla compleja de sustancias de color café o casi negra, de aspecto amorfo y coloidal, resistente a los microorganismos, modificada a partir de tejidos originales de las plantas o sintetizadas nuevamente por los organismos del suelo. La estructura y composición del humus del suelo es compleja y no se conoce completamente. Varios investigadores están de acuerdo en un "tipo" de estructura para el ácido húmico:

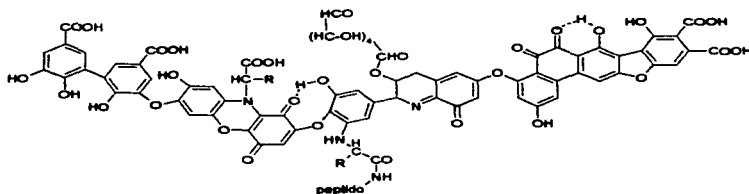


Figura No. 4 Estructura hipotética del ácido húmico

De tipos de polímeros, el ácido húmico (50-80% en masa) y los polisacáridos (10-30% en masa) pueden constituir hasta el 90% o más del humus total en los suelos. Una molécula típica de ácido húmico probablemente consista en polímeros de estructura de anillo aromática y básica de fenoles di o trihidroxilos unidos por enlaces -O-, -NH-, -N- y -S- y que contienen enlaces articulados de quinona ($O=C_6H_4=O$) y grupos de OH libres. Esta estructura "tipo" conduce a la creación de una alta densidad poco común de grupos funcionales reactivos.

El humus contiene principalmente carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo, azufre y cantidades más pequeñas de otros elementos. Sólo una pequeña pero importante porción es soluble en agua y el resto en bases fuertes.

Importancia de la Materia Orgánica del Suelo

La materia orgánica del suelo tiene un papel fundamental porque regula los procesos químicos que aquí se efectúan, influyendo en las características físicas, químicas y biológicas del suelo. Entre los procesos químicos de mayor importancia se encuentran:

- **El suministro de elementos nutritivos por la mineralización, la liberación del nitrógeno, fósforo, azufre y micronutrientes disponibles para las plantas.**
- **La materia orgánica ayuda a compensar a los suelos con los cambios químicos bruscos en el pH, causados por la adición de fertilizantes y/o enmiendas.**
- **La materia orgánica sirve como depósito de elementos químicos esenciales para el desarrollo de las plantas. Al descomponerse, proporcionan los nutrimentos para las plantas en desarrollo, así como hormonas y antibióticos. Estos se liberan cuando las condiciones ambientales son propicias y de acuerdo a las necesidades de las plantas.**
- **La materia orgánica es importante porque actúa directamente sobre los fenómenos de adsorción de nutrimentos.**
- **La materia orgánica interviene de manera directa en la regulación de niveles de disponibilidad de nutrimentos principales y de elementos menores, compuestos solubles, no iónicos, con cationes de estado de oxidación variable.**
- **Mejora la infiltración del agua y reduce su pérdida por evaporación.**
- **Al oscurecer el suelo en los climas templados fomenta su calentamiento y por ende, promueve una mejor germinación y el fácil aprovechamiento del agua.**

Consideramos que la dinámica del carbono en el suelo, es fuertemente afectada por la composición química de las plantas (lignina y celulosa) y por la concentración de proteínas y carbohidratos lixiviados en el suelo. Evaluamos la química del suelo (lignina, celulosa, proteínas y carbohidratos) de mantillo y hojarasca en periodos de secas y lluvias en un ecosistema determinado como el ecosistema tropical estacional.

Los cambios en la composición química del mantillo, se discutirán según las observaciones en el proceso de descomposición de los componentes mineralizables del suelo y los componentes lixiviados se estudiarán mediante experimentos de incubación de muestras en periodos de secas como de lluvias y se evaluará la presencia de estructuras del suelo, básicamente la influencia de agregados.

En la estación de Biología Chamela de la UNAM, y en el Centro de Ecología UNAM, existe un proyecto a largo plazo sobre la estructura y funcionamiento del Ecosistema Tropical Estacional.

El objetivo de este proyecto es conocer los principales flujos y almacenes de materia orgánica en este ecosistema. Éste inició en 1982 y tiene datos continuos desde 1983 de los principales parámetros biogeoquímicos, hidrológicos y energéticos, que se estudian con la finalidad de realizar experimentos controlados como alternativa de manejo para la optimización del uso de este ecosistema, colectando información sobre los ciclos de agua, nutrientes y energía de éste.

El proyecto está estructurado en tres partes principales:

- En la primera es la descripción de la distribución del carbono, en las diferentes fracciones del suelo y la influencia de la estacionalidad y factores edáficos del mismo - en el contexto de este proyecto, se desarrolla esta tesis, cuyo objetivo principal es conocer el flujo de materia orgánica en el suelo desde un enfoque bioquímico-.

- En la segunda parte se pretende conocer la importancia de los principales flujos de materia orgánica en el suelo y la capacidad de éste para estabilizar la materia orgánica .
- En la tercera parte se determinará la influencia de la estructura del suelo en la dinámica del carbono.

Las dependencias involucradas en esta investigación cuentan con una serie de facilidades de instalaciones y equipos que pueden ser usados para este trabajo.

La Facultad de Química cuenta con el siguiente equipo para poder llevar a cabo el presente proyecto: campana de flujo laminar, autoclaves, potenciómetros, incubadora, espectrofotómetros, mufas , agitadores magnéticos, entre otros.

La Estación de Biología Chamela, cuenta con las instalaciones adecuadas para dar apoyo logístico y administrativo del trabajo de campo. El Centro de Ecología tiene vehículos para el trabajo de campo , que se realizó en la región de Chamela, y cuenta con un laboratorio de análisis químicos para muestras ambientales, que apoyará el análisis químico relacionado con el proyecto, y el apoyo técnico para el mismo.

PARTE EXPERIMENTAL

Sitio de Estudio

El estudio se llevó a cabo en la estación de Biología Chamela, Jalisco, México, que se encuentra en la costa del estado de Jalisco, entre los 19° 32' de latitud norte y los 105° 06' de longitud oeste, donde dominan los lomeríos y valles sobre granitos y riolitas del periodo cuaternario.

La altitud máxima de los lomeríos es 220 m y las pendientes dominantes oscilan entre los 15 y los 60 ° (10).

Los suelos existentes son someros con estructura arenosa y se han clasificado como entisoles⁽¹¹⁾.

La vegetación circundante está conformada por selva baja y mediana caducifolia y subcaducifolia. La bahía está constituida por rocas metamórficas e ígneas. El clima cálido subhúmedo con lluvias en verano. El mes más seco es marzo y el más frío enero.

El clima predominante es tropical estacional con una temperatura media anual de 24 °C presentando una precipitación media anual de 700 mm, concentrada en el verano con un patrón de lluvia unimodal en septiembre, con bajo nivel de predictibilidad y eventos erráticos debidos a la influencia de ciclones tropicales⁽¹²⁾.

En este ecosistema podemos observar 5 meses típicamente húmedos (junio-octubre). Los meses con mayor probabilidad de lluvias son agosto y septiembre y los meses con menor probabilidad son junio y octubre.

Predominan las especies arbóreas de la familia de las leguminosas, entre las que podemos mencionar : Guapira macrocarpa, Celaendolendron mexicanum, Plumeria

rubra, Lonchocarpus eriocarinalis, Piptadenia consricta, Thouidium decodendrum, Bursera instabilis, Lonchocarpus consrictus, Tabebuia impetiginosa, Caesalpinia Eriostachys.

La fenología de la vegetación se rige por la disponibilidad de agua. Este ecosistema se ve alterado por el proceso de tala acelerada para la introducción de pastos para la ganadería extensiva, lo que acelera la erosión y el desequilibrio de las relaciones bioquímicas de la materia orgánica.



Figura No.5 Localización Geográfica del Sitio de Estudio

Determinación de Lignina y Celulosa en Hojarasca y Mantillo

Muestreo

En el sitio de estudio se establecieron cinco cuadros de colecta cuya distancia promedio entre ellos fue de 500 m y que tuvieran condiciones parecidas de relieve y suelo. Estos sitios están ubicados en la parte alta de la cuenca 1 con suelos Entisoles ⁽¹⁾.

Hojarasca

En cada uno de los cuadros se colocó una trampa de nylon de 0.5 m de diámetro, teniendo un área de captación de 0.1963 m² con 50 cm de profundidad y a un metro de altura del suelo. ⁽²⁰⁾

Las muestras se colocaron en bolsas de papel y se sacaron a 80°C a peso constante, posteriormente se pesaron y se molieron para los análisis químicos.

Mantillo

En los mismos sitios de recolección de hojarasca, se colectó el mantillo en trampa de 30x30 (área de 0.09 m²). El mantillo se levantó cuidadosamente sin partículas de suelo en las fechas: enero, junio octubre, noviembre de 1996. Las muestras fueron preparadas para posteriores análisis químicos de la misma manera que la hojarasca.

Determinación química de Lignina y Celulosa

Para llevar a cabo la determinación química de lignina y celulosa, se utilizó el método de Klasson ⁽⁵⁾, basado en la remoción de la fracción celulosa con H₂SO₄ al 72%

Los lípidos que existen en la muestra a analizar se removieron con alcohol y / o éter, los carbohidratos solubles en el agua, el almidón con ácido diluido y las proteínas mediante enzimas que requieren previa hidrólisis. Este método es reconocido como

procedimiento estándar y se apoya en la obtención de fibra cruda ácido resistente dándonos una visión del material orgánico del suelo en "crudo".

El contenido de fibra puede fraccionarse en lignina, celulosa y cenizas. Para el desarrollo de esta metodología empleamos una serie de pasos que pueden provocar problemas con la reproducibilidad., no obstante, existe una ventaja, éste método es aplicable a casi todo tipo de muestra de tejido vegetal.

La preparación de la muestra implica el calentamiento del tejido vegetal con una mezcla de $H_2SO_4/CTBA$ (cetil-trimetil-bromuro de amonio) bajo condiciones de trabajo controladas. El CTAB reduce los compuestos nitrogenados e induce el uso de hidrólisis ácida del almidón para que, como resultado de estas reacciones , obtengamos lignina y celulosa. La lignina es removida por oxidación con una disolución de permanganato a pH controlado y la celulosa se determina gravimétricamente , por pérdida mediante calcinación de la muestra en una mufla a $550^{\circ}C$, hasta peso constante.

Procedimiento para la Obtención de Fibra Cruda.

Reactivos

Acetona Q.P. C_3H_6O

Tween 80 (Octan-2-ol) $CH_3(CH_2)_7CH(OH)CH_3$

Disolución $H_2SO_4/CTBA$

(Disolver 100g de CTBA en 5 L de H_2SO_4 0.5 M . Filtrar si es necesario).

Obtención de fibra cruda

Se pesa con exactitud y aproximación de $\pm 0.001g$, 1 g de material vegetal al cual denominaremos M_1 , se transvasa a un matraz bola de fondo plano de 250 mL con entrada esmerilada 14/23 , se adicionan 100 mL de la mezcla $H_2SO_4/CTAB$ y dos gotas de Tween 80 como agente tensoactivo. El matraz se conecta a un dispositivo de reflujo y se refluja durante 1 h. Al término de este tiempo , se suspende el flujo y se filtra la disolución bajo succión y en caliente a través de un crisol gooch preparado con fibra de vidrio y a peso

constante, este peso se registrará como M_2 . El residuo se lava con 3 porciones de 50 mL de agua hirviendo, y con acetona hasta que el color sea eliminado y se deja secar bajo succión.

Las muestras sólidas destinadas al análisis una vez secas y pulverizadas finamente, se colocaron en un pesafiltros y se introdujeron en una estufa a 105°C hasta peso constante y se guardó dentro de un desecador, cuyo agente desecante fue el sulfato de magnesio anhidro (MgSO_4). Este último se eligió entre otros agentes desecantes debido a que se utiliza comúnmente en análisis inorgánicos, es barato y presenta gran capacidad de secado.

De esta forma se obtuvieron las muestras secas, cuyo peso osciló entre 5 y 10 g, se etiquetaron perfectamente y se almacenaron para su posterior análisis.

La muestra obtenida, se pesó para obtener lo que se conoce como fibra ácido detergente y su peso se registró como M_3 .

Cálculos

$$\% \text{ fibra cruda (ADF)} = \frac{M_3 - M_2}{M_1} \cdot 100$$

Obtención de lignina y celulosa

Reactivos

Ácido acético glacial CH_3COOH

Etanol al 80% (Diluir 1690 mL de etanol al 95% y diluir a 2000 mL con agua destilada) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$

Nitrato férrico nonahidratado $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$

Ácido clorhídrico HCl

Tween 80 (2-octan-ol) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$

Ácido oxálico dihidratado $C_2H_2O_4 \cdot 2 H_2O$

Permanganato de potasio $KMnO_4$

Nitrato de Plata $AgNO_3$

Sulfato de Plata Ag_2SO_4

Solución saturada de permanganato de potasio

Disolver 50 g de $KMnO_4$ y 0.05 g de Ag_2SO_4 en agua y diluir a 1000 mL con agua, almacenar en frasco ámbar.

Disolución amortiguadora de lignina.

Disolver 6g de $Fe(NO_3)_3 \cdot 9 H_2O$ y 0.15 g de $AgNO_3$ en agua . Añadir 500 mL de ácido acético glacial, 5 g de acetato de potasio, 400 mL de Tween 80 y diluir a 100 mL con agua. Almacenar en frasco ámbar.

Disolución reguladora combinada de permanganato.

Mezclar la disolución saturada de permanganato y la disolución amortiguadora de lignina en relación 2:1 v/v . Ésta disolución es estable una semana si se almacena en la oscuridad a 4°C. La disolución es óptima si conserva el color púrpura y está libre de precipitado.

Disolución desmineralizante.

Disolver 100 g de ácido oxálico en 1400 mL de etanol al 95% . Añadir 100 mL de HCl concentrado y diluir a 2000 mL en agua.

Procedimiento

El crisol que contiene la fibra ácido detergente seca, se coloca en un recipiente que contenga agua fría y a una altura de 1cm cuidando que la fibra no se moje.

Al crisol se le adicionan 25 ml de disolución de permanganato en disolución reguladora de pH 4.7 y se ajusta el nivel del agua a 2-3 cm en el recipiente para reducir el flujo de solución hacia fuera de los crisoles.

Con ayuda de una varilla de vidrio se rompen los conglomerados para permitir que toda la fibra se encuentra húmeda. Esta solución se deja reposar por espacio de 90 minutos a temperatura ambiente y se añade más disolución de permanganato en disolución reguladora de tal modo que se mantenga el color púrpura de la disolución de permanganato en exceso. Al término de este tiempo de reposo, se filtra bajo succión, para después colocar el crisol en un recipiente limpio y se añade un volumen de agua igual al obtenido de disolución desmineralizante.

Se deja reposar nuevamente por espacio de 15 minutos y nuevamente se filtra bajo succión. Esta nueva muestra se lava con solución desmineralizante hasta que adquiera coloración blanca.

Se filtra y se lava abundantemente con etanol al 80%. Esta acción se repite 2 veces más. De manera similar se lava 2 veces más con acetona.

Los crisoles se secan por espacio de 2h en una estufa a una temperatura de 105°C, después de este tiempo, se colocan en un desecador, permitiendo que se enfrien y por último, se pesan registrándose su masa como M_4 .

El contenido del crisol se lleva a cenizas utilizando una mufla a una temperatura de 550°C por espacio de 1 h. Los crisoles se enfrian dentro del desecador y se pesan, registrando la masa de éstos como M_5 .

Cálculos

$$\% \text{ de Lignina} = \frac{M_1 - M_4}{M_1} \cdot 100$$

$$\% \text{ de Celulosa} = \frac{M_4 - M_5}{M_1} \cdot 100$$

Determinación de componentes lixiviados

Muestreo en campo:

Las muestras de suelo y mantillo se tomaron en 5 cuadros de colecta en dos fechas: enero y octubre de 1996, correspondientes a secas y lluvias respectivamente. El mantillo se tomó en una superficie de 0.04 m^2 , las muestras se trasladaron al laboratorio y se pesaron en húmedo, registrándose las masas de éstos. Las muestras de suelo se tomaron de los primeros 5 cm con muestreador tipo nucleador.

Diseño y preparación de muestras:

Para cada una de las muestras recolectadas en cada uno de los cinco cuadros, se diseñó un experimento y cinco réplicas para cada una. Los tratamientos fueron los siguientes:

- ASM Suelo con macroagregados sin mantillo
- AM Suelo con macroagregados con mantillo
- SASM Suelo sin macroagregados y sin mantillo
- SAM Suelo sin macroagregados con mantillo
- M Mantillo sin suelo

Para ello se pesaron 100 g de muestra de suelo con una variación de $\pm 0.001 \text{ g}$ y se colocaron en tubos de cloruro de polivinilo (PVC) que contenían una malla de nylon con una abertura menor a 1mm para que permitiera pasar agua, pero no las partículas del suelo. Los tratamientos con mantillo (AM, SAM, M) tuvieron la cantidad de mantillo que se encontraba en el campo, correspondiente al área calculada con la densidad aparente del suelo y los 100 g que se agregaron de los primeros 5cm. Esta área calculada fue de 18.18 cm^2 . De esta manera se simuló la cantidad de mantillo encontrada en campo, para mantener las condiciones de cantidad de mantillo en cada uno de los cuadros y las fechas. El mantillo se incorporó a los tubos PVC sin ser molido o secado para no cambiar las condiciones

microbiológicas del mismo. En los tratamientos sin macroagregados del suelo (SAMS, SAM) los 100g de suelo fueron pesados, después se rompieron todos los macroagregados (<250 μm) en seco y se puso el suelo (100g) en los tubos PVC.

Experimento de Incubación.

Los tubos fueron colocados arriba de un recipiente que colectó los lixiviados que pasaron por el suelo y el mantillo. Antes de iniciar la incubación , a las muestras se les agregó 50 ml de agua desionizada, la cual fue colectada por los análisis químicos. Cuando se terminó de percolar el agua, los tubos con muestras fueron colocados en frascos de 1 L de capacidad y se pusieron a incubar durante 21 días a 26°C. De acuerdo a la actividad microbiana, los tubos fueron regados periódicamente para mantener las condiciones hídricas de las muestras y en cada una de las fechas se regaron con 30 mL de agua desionizada. En estas fechas se colectaron los lixiviados para el análisis químico. Se determinaron carbohidratos totales, proteínas totales y pH para cada uno de los lixiviados (300 muestras).

Determinación del pH

La determinación del pH de las 300 muestras de lixiviados , se realizaron utilizando un pHmetro Jenway modelo 3020 utilizando electrodos de calomel y de vidrio como electrodos de referencia y de medición respectivamente, utilizando disoluciones reguladoras de pH 4 y 7 para estandarizar el pHmetro y lograr la eficiencia del electrodo , tomando en cuenta que el electrodo de vidrio es el electrodo indicador selectivo para el ion hidrógeno con una exactitud de 0.01 unidades de pH. ⁽⁶⁾

Carbohidratos totales

Los carbohidratos se definen como polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas y sus derivados que poseen la fórmula estructural $(CH_2O)_n$ que sobreescribiendo el nombre de hidratos de carbono. Los monosacáridos o azúcares sencillos están constituidos por una sola unidad de polihidroxialdehído y el más abundante es la D-glucosa que es el combustible principal para la mayoría de los polisacáridos, almidón y celulosa.

Reactivos

Molibdato de amonio tetrahidratado $(NH_4)_6MO_7O_2 \cdot 4 H_2O$

Agua destilada

Ácido sulfúrico H_2SO_4 al 97.8% de pureza

Ortoarseniato de sodio Na_3AsO_4

Pesar 600 mg de ortoarseniato de sodio y llevar al aforo a 5 mL, se obtendrá una disolución al 12%. Ésta, se añade al molibdato de amonio y se lleva al aforo a 100 mL.

Procedimiento

Se realizó un gráfico estándar para la determinación de reductores totales (carbohidratos), empleando una disolución estándar de glucosa, y los reactivos del método Nelson-Somogy para reductores totales (reactivo cúprico alcalino, arsenomolibdato de amonio) según la siguiente tabla:

Para la preparación de la disolución estándar de glucosa, se pesaron 0.400 g de glucosa y se disolvieron en 100 mL de agua destilada.

tubo	Disolución estándar de glucosa	mL. de agua	mL. de reactivo de cobre		Arsenomolibdato de amonio	mL. de agua	
1	0.00	1.00	1.00	*	1.00	2.00	**
2	0.25	0.75	1.00	*	1.00	2.00	**
3	0.50	0.50	1.00	*	1.00	2.00	**
4	0.75	0.25	1.00	*	1.00	2.00	**
5	1.00	0.00	1.00	*	1.00	2.00	**
6	Problema ***	0.90	1.00	*	1.00	2.00	**

Tabla No.2 Preparación de la serie estándar para la determinación de reductores totales (Método Nelson-Somogy)

- * Tapar los tubos con canicas y colocarlos en baño de agua hirviendo durante 20 min., enfriar en baño de hielo.
- ** Determinar Absorbancia a longitud de onda de 520 nm con celda de vidrio de 1 cm de diámetro en espectrofotómetro Coleman Jr II
- *** La solución de glucosa se reemplazó por 0.1 mL de liciviado problema.

En el siguiente cuadro se tienen las lecturas de la absorbancia para trazar la gráfica de calibración

μg de Glucosa	Absorbancia
0	0.000
40	0.116
80	0.226
120	0.316
160	0.410
200	0.516

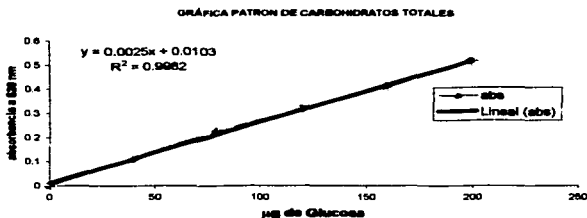


Figura No. 6 Gráfico de calibración para la determinación de carbohidratos totales

Determinación De proteínas

Para la determinación de proteínas en los lixiviados a analizar se utilizó el método de Bradford. Este método utiliza Coomassie brilliant Blue G-250. La unión de este colorante a la proteína causa un cambio en el máximo de absorción del mismo desde una longitud de onda de 465 nm hasta 595 nm.

El colorante se prepara como solución estándar de ácido fosfórico o perclórico, siendo éste último el más estable (el complejo proteína –colorante tiende a unirse ala superficie de vidrio). Este método tiene una alta sensibilidad ya que detecta cantidades de 0.2 –1.4 mg de proteína por mililitro.

Depende básicamente de la composición de aminoácidos de la proteína, lo cual se debe a que la unión del colorante es primordialmente aminoácidos básicos y aromáticos.

Aunque existen algunas sustancias que interfieren con el método (SDS, Tritón X-100) no son tantas comparativamente con el método de Lowry, de aquí que se prefirió la utilización de este método sobre el de Lowry además de su alta sensibilidad.

De igual forma que en los carbohidratos totales se utilizó una curva patrón para la determinación de proteínas totales, de acuerdo a la siguiente tabla:

Tubo	Estándar de albúmina (mg)	Solución estándar de albúmina (μg)	H ₂ O (μL)
1	5	5	795
2	10	10	790
3	15	15	785
4	20	20	780
5	25	25	775
6	0	0	800

Tabla No. 3 Preparación de la serie estándar para la determinación de proteínas totales

Concentración de albúmina ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorbancia
0	0.000
5	0.310
10	0.418
15	0.567
20	0.680
25	0.807

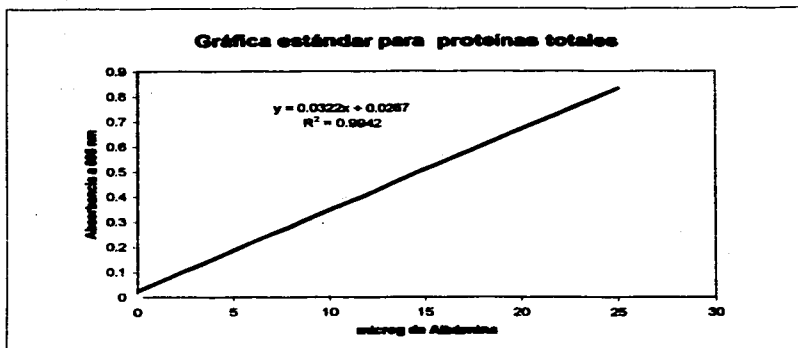


Figura No.7 Gráfico de calibración para la determinación de proteínas totales.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de cada uno de los procedimientos descritos anteriormente para pH, carbohidratos, proteínas, lignina y celulosa se muestran en las siguientes gráficas.

Cabe mencionar que para la estimación de lignina y celulosa se analizaron los datos estadísticamente mediante el uso de un análisis de varianza (ANOVA) utilizando métodos computarizados del programa Excel para WINDOWS ver. 7.0 y del programa de computación Stat-Ease.

La ANOVA fue el método estadístico de análisis seleccionado porque estamos interesados en conocer el efecto de la estacionalidad sobre diferentes parámetros bioquímicos tales como pH, componentes mineralizables y lixivados del ecosistema tropical estacional. Se utilizó una ANOVA de 1 vía y los resultados se muestran a continuación para cada uno de los tratamientos:

➔ ASM	Agregados Sin Mantillo
➔ AM	Agregados con Mantillo
➔ SASM	Sin Agregados Sin Mantillo
➔ SAM	Sin Agregados con Mantillo
➔ M	Mantillo

MARCHA DE pH DURANTE EL MES DE ENERO

DIA	ASM	AM	SASM	SAM	M
pH	pH	pH	pH	pH	pH
0	6.3	6.7	7.0	6.6	6.0
1	6.1	7.2	7.4	7.2	6.9
3	7.0	7.5	7.9	7.6	6.5
5	6.9	7.0	7.8	7.0	6.3
8	7.0	7.4	7.4	7.6	6.4
11	7.4	7.4	7.6	6.9	6.6
15	7.0	7.1	7.8	6.8	6.6
18	6.8	7.6	7.2	7.0	7.2
22	6.8	6.8	7.2	6.8	7.2

MARCHA DE pH DURANTE EL MES DE OCTUBRE

DIA	ASM	AM	SASM	SAM	M
pH	pH	pH	pH	pH	pH
0	6.7	6.7	7.2	7.0	6.7
1	6.8	6.8	7.7	8.0	6.6
3	6.8	7.1	7.2	7.4	6.3
5	7.4	7.3	7.6	7.6	6.6
8	7.2	7.2	7.9	7.8	6.5
11	7.2	7.5	7.8	7.7	6.3
15	7.4	7.4	7.7	7.7	6.7
18	7.2	7.2	7.5	7.7	6.8
22	7.2	7.3	7.8	7.7	6.6

MARCHA DE CARBOHIDRATOS DURANTE EL MES DE ENERO

	ASM	AM	SASM	SAM	M
DIA	mg / mL	mg / mL	mg / mL	mg / mL	mg / mL
0	65	55	65	65	60
1	60	60	55	63	50
3	80	75	80	70	62
5	65	65	65	70	65
8	45	55	60	60	60
11	60	60	55	65	60
15	60	70	60	60	67
18	55	70	60	58	65
22	58	68	55	60	70

MARCHA DE CARBOHIDRATOS DURANTE EL MES DE OCTUBRE

	ASM	AM	SASM	SAM	M
DIA	mg / mL	mg / mL	mg / mL	mg / mL	mg / mL
0	5	15	5	3	10
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0
22	5	0	0	0	0

MARCHA DE PROTEINAS DURANTE EL MES DE ENERO

DIA	ASM $\mu\text{g/g/dL}$	AM $\mu\text{g/g/dL}$	SASM $\mu\text{g/g/dL}$	SAM $\mu\text{g/g/dL}$
1	1250	1800	1300	1600
3	1600	2200	1150	750
5	2400	2800	850	1500
8	1250	1850	850	750
11	1150	1750	700	700
15	750	1500	500	600
18	670	1250	500	500
22	550	1350	500	500

MARCHA DE PROTEINAS DURANTE EL MES DE OCTUBRE

DIA	ASM $\mu\text{g/g/dL}$	AM $\mu\text{g/g/dL}$	SASM $\mu\text{g/g/dL}$	SAM $\mu\text{g/g/dL}$
1	1250	2250	750	1800
3	1250	3000	900	2250
5	500	1750	350	1500
8	750	1850	500	1250
11	500	1600	350	1100
15	600	1500	350	1100
18	500	1450	350	1000
22	480	1500	350	1100

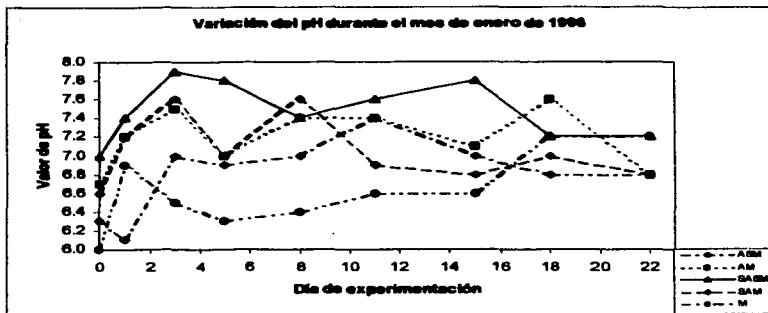


Figura No. 8 Variación de pH en lixiviados de la región de Chamela, Jalisco durante el mes de enero de 1996.

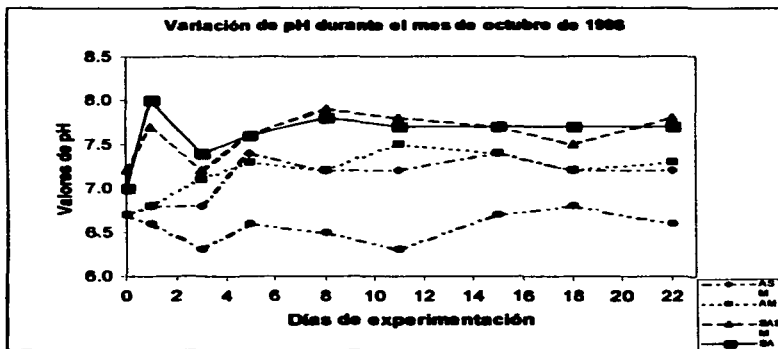


Figura No. 9 Variación de pH en lixiviados de la región de Chamela, Jalisco durante el mes de octubre de 1996.

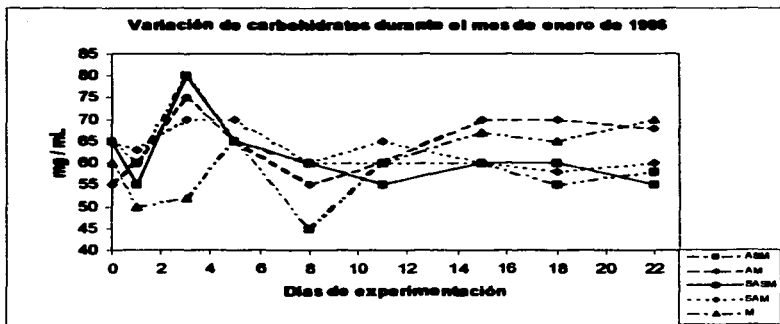


Figura No. 10 Variación de Carbohidratos Totales en lixiviados de la región de Chamela, Jalisco durante el mes de enero de 1996.

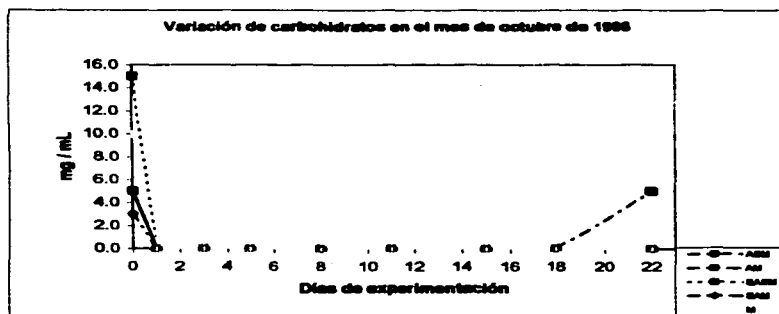


Figura No. 11 Variación de Carbohidratos Totales en lixiviados de la región de Chamela, Jalisco durante el mes de octubre de 1996.

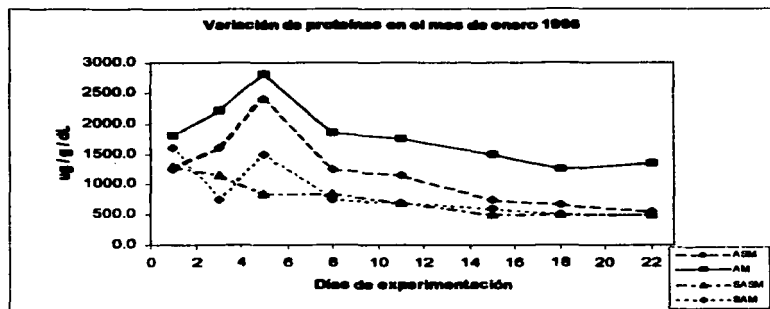


Figura No. 12 Variación de Proteínas Totales en lixiviados de la región de Chamela, Jalisco durante el mes de enero de 1996.

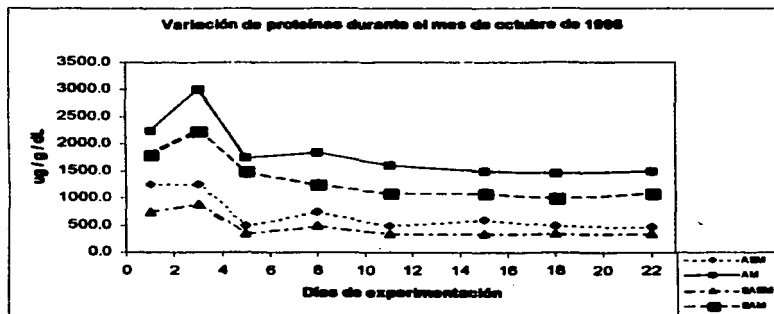


Figura No. 13 Variación de Proteínas Totales en lixiviados de la región de Chamela, Jalisco durante el mes de octubre de 1996.

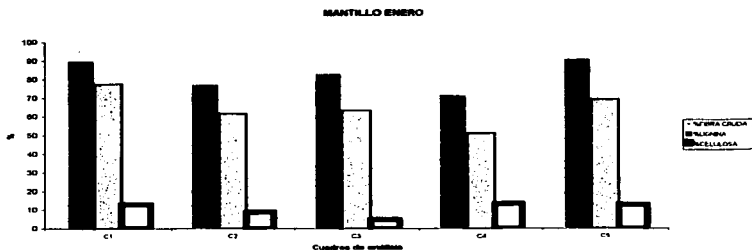


Figura 14 Comparación Lignina- Celulosa en la región de Chamela, Jalisco, durante el mes de enero en mantillo en 1996.

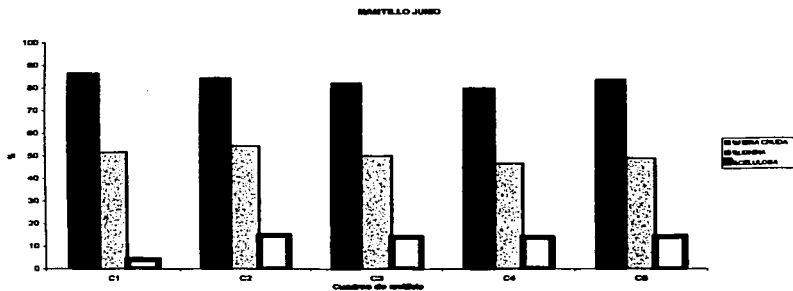


Figura 15 Comparación Lignina- Celulosa en la región de Chamela, Jalisco, durante el mes de junio en mantillo en 1996.

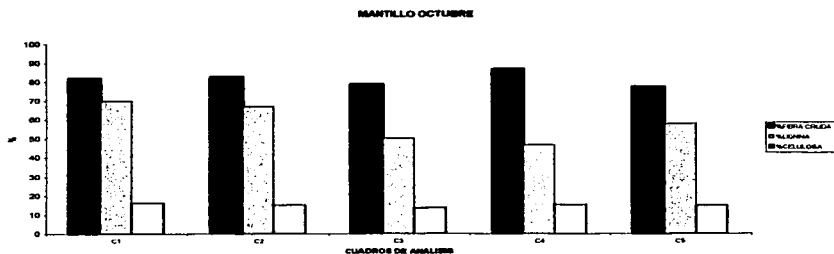


Figura 16 Comparación Lignina- Celulosa en la región de Chamela, Jalisco, durante el mes de octubre en mantillo en 1996.

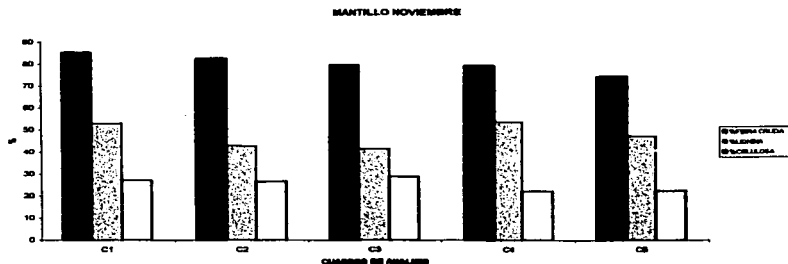


Figura 17 Comparación Lignina- Celulosa en la región de Chamela, Jalisco, durante el mes de noviembre en mantillo en 1996.

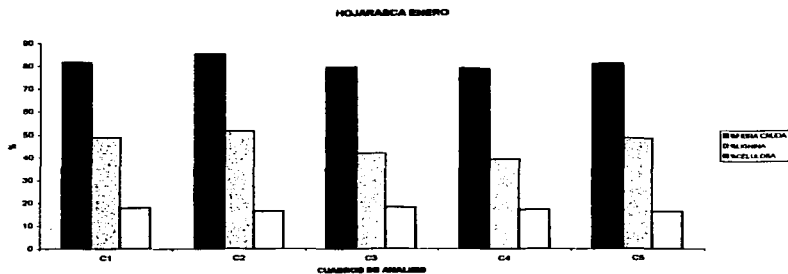


Figura 18 Comparación Lignina- Celulosa en la región de Chamela, Jalisco, durante el mes de enero en hojarasca en 1996.

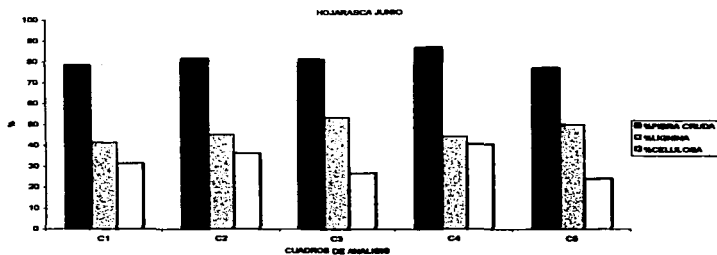


Figura 19 Comparación Lignina- Celulosa en la región de Chamela, Jalisco, durante el mes de junio en hojarasca en 1996.

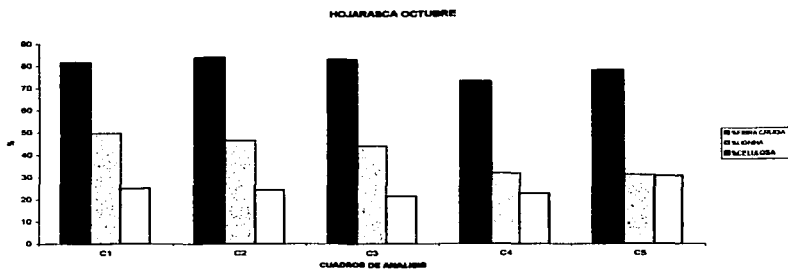


Figura 20 Comparación Lignina- Celulosa en la región de Chamela, Jalisco, durante el mes de octubre en hojarasca en 1996.

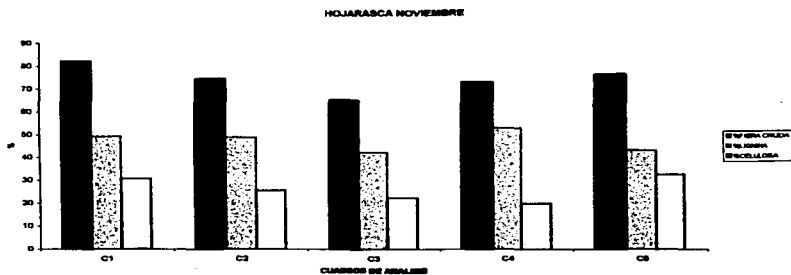


Figura 21 Comparación Lignina- Celulosa en la región de Chamela, Jalisco, durante el mes de noviembre en hojarasca en 1996.

DISEÑO DE EXPERIMENTO.

Datos estadísticos para carbohidratos. Programa Stat-Ease

SUMARIO

Estudio Tipo: Factorial Experimentos: 72 Bloques: 2
 Diseño inicial: Factorial 2 niveles
 Nombre: Carbohidratos
 Factor Codificado:
 A Modo de Agregación
 B Mantillo
 Tipo Numérico

Tabla de ANOVA para el modelo factorial seleccionado.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABLAS	
Grupos	68388.35	68388.35	0.47	0.7026	No significativo
Modelo	43.49	14.50	1.09	0.3010	
A	33.35	33.35	0.13	0.7187	
B	4.01	4.01	0.20	0.6565	
AB	6.13	6.13			
Residual	2056.15	30.69			
Error de ajuste	30.37	10.12	0.32	0.8110	No significativo
Error puro	2025.78	31.65			

El valor de F de 0.47 implica que el modelo no es significativo para los factores involucrados A, B, AB, hay un 70.26% de probabilidad de que el modelo propuesto sea válido.

Valores de Probabilidad de F menores a 0.0500 indican que los términos del modelo son significativos. Valores de Probabilidad de F mayores a 0.1000 indican que los términos del modelo no son significativos.

Desviación estándar	5.54	R ²	0.0207
Media	31.74	Ajuste de R ²	-0.0231
C.V.	17.46		

Datos estadísticos para pH. Programa Stat-Ease

SUMARIO

Estudio Tipo: Factorial
 Diseño inicial: Factorial 2 niveles
 Nombre: pH
 Factor Codificado:
 A Modo de Agregación
 B Mantillo
 Tipo Numérico

Experimentos: 72 Bloques: 2

Tabla de ANOVA para el modelo factorial seleccionado.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABLAS	
Grupos	1.03	1.03			
Modelo	2.50	1.25	10.97	<0.0001	Significativo
A	2.49	2.49	0.02021.92	<0.0001	
B	2.222E-003	2.222E-003	0.020	0.8893	
Residual	7.74	0.11			
Error de ajuste	1.67	0.42	4.39	0.0034	Significativo
Error puro	6.07	0.095			

El valor de F de 10.97 implica que el modelo es significativo para los factores involucrados A, B, AB, hay un 0.01% de probabilidad de que el modelo propuesto no sea válido. Valores de Probabilidad de F menores a 0.0500 indican que los términos del modelo son significativos. Valores de Probabilidad de F mayores a 0.1000 indican que los términos del modelo no son significativos.

Desviación estándar	0.34	R^2	0.2439
Media	7.25	Ajuste de R^2	0.2217
C.V.	4.65		

Datos estadísticos para proteínas . Programa Stat-Ease

SUMARIO

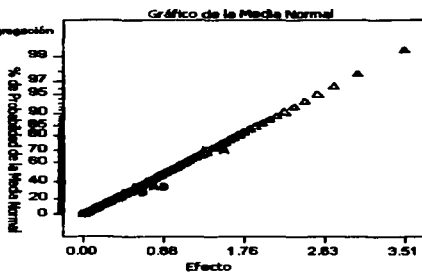
Estudio Tipo: Factorial Experimentos: 64 Bloques: 2
 Diseño inicial: Factorial 2 niveles
 Nombre: Proteínas
 Factor Codificado:
 A Modo de Agregación
 B Mantillo
 Tipo Numérico
 Tabla de ANOVA para el modelo factorial seleccionado.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABLAS	
Grupos	42025.00	42025.00			
Modelo	1.226E+007	34.088E+006	18.52	<0.0001	Significativo
A	7.358E+006	17.358E+006	33.34	<0.0001	
B	4.306E+006	14.306E+006	19.51	<0.0001	
AB	6.006E+005	16.006E+005	2.72	0.1043	
Residual	1.302E+007	592.207E+005			
Error de ajuste	2.343E+006	561.907E+005	4.10	0.0107	Significativo
Error puro	1.068E+007	63.000			

El valor de F de 18.52 implica que el modelo es significativo para los factores involucrados A, B , AB, hay un 0.01% de probabilidad de que el modelo propuesto no sea válido. Valores de Probabilidad de F menores a 0.0500 indican que los términos del modelo son significativos. Valores de Probabilidad de F mayores a 0.1000 indican que los términos del modelo no son significativos.

Desviación estándar	469.80	R ²	0.4850
Media	1142.19	Ajuste de R ²	0.4588
C.V.	41.13		

Carbohidratos

A: Mide de Agregación
B: Miretilo

Carbohidratos

Gráfico de distribución Normal Residuos

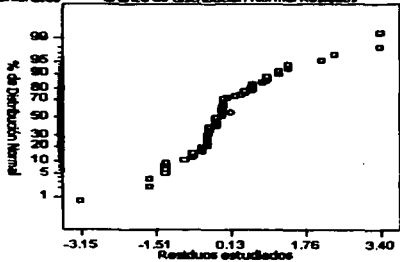
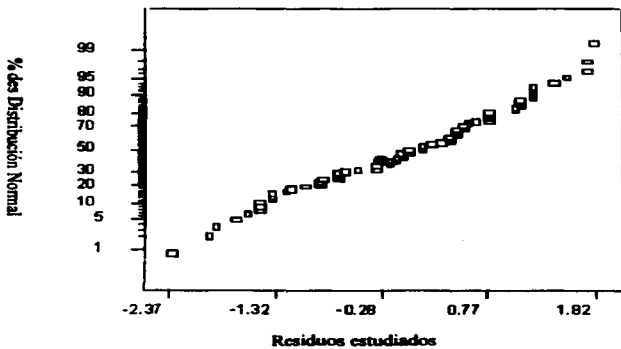
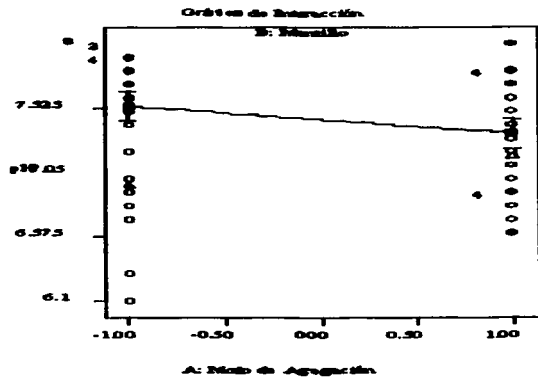


Gráfico de Distribución Normal



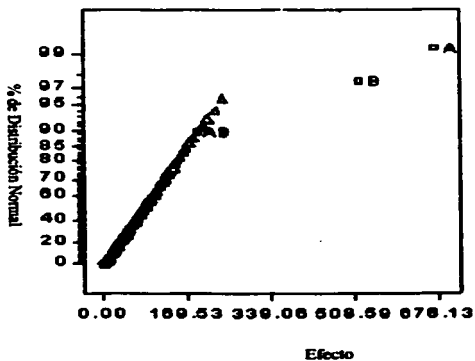


Gráfica de Distribución Normal

Pruebas:

A: Método de Agregación

B: Método

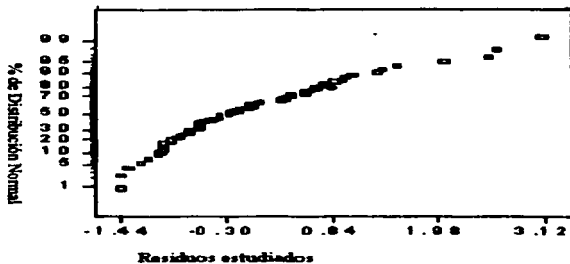


Proteínas

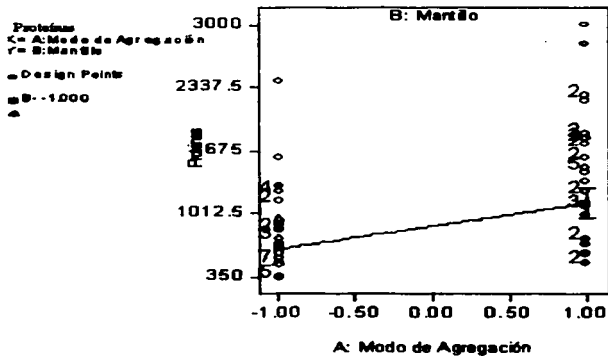
A: Modo de Agregación

B: Mantillo

Gráfica de Distribución Normal



Gráfica de Interacción



Datos obtenidos para el procesamiento de mantillo y hojarasca. Para el procesamiento de estos datos se utilizó una prueba estadística F , de donde se obtuvo:

%FIBRA CRUDA

MANTILLO

ENERO	JUNIO	OCTUBRE	NOVIEMBRE
90.3	86.34	81.6	85.1
77.4	84.04	82.1	82.3
83.4	82.01	78.2	79.3
71.6	79.63	86.3	78.9
90.9	83.24	76.8	73.9

Análisis de Varianza de un factor

$H_0 \mu_0 =$ No existe diferencia entre los tratamientos y $H_1 \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$ Existe diferencia significativa entre los tratamientos

RESUMEN

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
Enero	5	413.600	82.720	69.197
Junio	5	415.260	83.052	6.155
Octubre	5	405.000	81.000	13.785
Noviembre	5	399.500	79.900	17.540

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados
Entre grupos	32.971	3	10.990
Dentro de los grupos	426.706	16	26.670
Total	459.677	19	

Probabilidad
0.4121

3.239

Valor crítico para F

Por lo tanto, H_0 se acepta.

% LIGNINA

MANTILLO

ENERO	JUNIO	OCTUBRE	NOVIEMBRE
77.9	51.5	69.8	52.9
61.6	54.2	66.7	42.7
63.4	49.7	49.9	41.23
51.0	46.2	46.4	53.4
68.9	48.6	57.5	46.9

Análisis de Varianza de un factor

H_0 $\mu_0 =$ No existe diferencia entre los tratamientos y H_1 $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$

Existe diferencia significativa entre los tratamientos

RESUMEN

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
Enero	5	322.5	64.50	95.71
Junio	5	250.2	50.04	9.09
Octubre	5	290.3	58.06	103.83
Noviembre	5	247.1	49.42	79.15

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados
Entre grupos	771.657	3	257.219
Dentro de los grupos	1151.172	16	71.948
Total	1922.829	19	

Probabilidad	Valor crítico para F	F
0.03761	3.23886	3.5750

Por lo tanto, H_0 se rechaza

**% CELULOSA
MANTILLO**

ENERO	JUNIO	OCTUBRE	NOVIEMBRE
12.9	4.0	16.2	27.15
8.9	14.7	15.0	26.6
4.9	13.9	13.6	28.7
13.3	13.6	15.3	21.9
12.7	14.1	14.7	22.2

Análisis de Varianza de un factor

$H_0 \mu_0 =$ No existe diferencia entre los tratamientos y $H_1 \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$

Existe diferencia significativa entre los tratamientos

RESUMEN

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
Enero	5	59.0	11.8	28.46
Junio	5	60.3	12.06	20.46
Octubre	5	74.8	14.96	0.89
Noviembre	5	126.55	25.31	9.46

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados
Entre grupos	604.585	3	201.528
Dentro de los grupos	237.106	16	14.819
Total	841.691	19	

Probabilidad	Valor crítico para F	F
0.000114	3.2389	13.599

Por lo tanto, H_0 se rechaza

% FIBRA CRUDA
HOJARASCA

ENERO	JUNIO	OCTUBRE	NOVIEMBRE
81.3	78.3	81.5	82.0
85.1	81.6	83.7	74.4
79.3	80.9	82.6	64.9
78.6	86.8	72.9	72.7
80.7	76.9	77.9	76.1

Análisis de Varianza de un factor

$H_0 \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$ y $H_1 \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$

Existe diferencia significativa entre los tratamientos

RESUMEN

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
Enero	5	405.0	81.0	6.41
Junio	5	404.4	80.9	14.51
Octubre	5	398.6	79.72	19.28
Noviembre	5	370.1	74.02	38.26

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados
Entre grupos	164.482	3	54.827
Dentro de los grupos	313.896	16	19.618
Total	478.378	19	

Probabilidad	Valor crítico para F	F
0.0738538	3.2388	2.7946

Por lo tanto, H_0 se rechaza

**% LIGNINA
HOJARASCA**

ENERO	JUNIO	OCTÚBRE	NOVIEMBRE
48.8	41.1	49.5	49.3
51.3	44.9	46.1	48.8
41.9	53.3	43.7	42.3
39.2	44.1	31.9	52.8
48.4	49.7	31.0	43.1

Análisis de Varianza de un factor

$H_0 \mu_0 =$ No existe diferencia entre los tratamientos y $H_1 \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$

Existe diferencia significativa entre los tratamientos

RESUMEN

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
Enero	5	229.6	45.92	26.177
Junio	5	233.1	46.62	23.472
Octubre	5	202.2	40.44	71.698
Noviembre	5	236.3	47.26	19.783

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados
Entre grupos	146.788	3	48.929
Dentro de los grupos	564.520	16	35.282
Total	711.308	19	

Probabilidad	Valor crítico para F	F
0.28289	3.2388	1.3867

Por lo tanto, H_0 se rechaza

ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Basándose en las gráficas mostradas en los resultados obtenidos en este trabajo, podemos analizarlas como sigue:

En las Gráficas No.8 y No 9 correspondiente a la marcha de pH en los lixiviados analizados, estos presentaron las siguientes características:

- a) ASM..... AGREGADOS SIN MANTILLO
- b) AM..... AGREGADOS CON MANTILLO
- c) SASM..... SIN AGREGADOS Y SIN MANTILLO
- d) SAM..... SIN AGREGADOS CON MANTILLO
- e) M..... MANTILLO

Se analizaron los meses críticos que marcan la época de sequía y lluvias correspondiente a los meses de enero y octubre respectivamente. con la finalidad de evaluar la estacionalidad sobre el material lixiviado durante el transcurso del experimento, se analizaron un total de 300 lixiviados en el transcurso de un mes aproximadamente.

Para el mes de enero:

- El pH global de todos los tratamientos presenta una variación que cae entre 6.0-8.0 de la escala de pH , es decir, el suelo del ecosistema en estudio se encuentra en los límites entre ligeramente ácido y ligeramente alcalino.

- Los lixiviados que contienen mantillo solo (M), siguen un patrón de oscilación significativamente distinto al de las fracciones restantes, se aprecia en la gráfica un efecto brusco en estas muestras ya que al inicio del experimento se observa un pH de 6.0 los primeros días alcanza un pH cercano a 6.8 y a partir del cuarto día hasta el día 10 aproximadamente se ve una caída en el pH, mismo que se eleva a partir del día 12 continuando su elevación hasta el día 18 que alcanza su máxima elevación.
- La fracción que no presenta ni agregados ni mantillo (SASM) observó un pH dentro del intervalo de 7.0-8.0 , es decir, muestra una tendencia a la alcalinidad durante todo el experimento . Es preciso destacar que esta fracción sin agregados ni mantillo presenta mayor variación de pH frente a las demás fracciones.
- La fracción de suelo agregados con mantillo (AM) presenta durante la incubación de lixiviados una variación de pH entre 6.5-7.5, incrementándose de ligeramente ácido al neutro dentro de la escala de pH
- El suelo que tiene agregados sin mantillo (ASM) presenta un patrón de variación distinto a los casos anteriores, ya que al inicio del experimento parte de un pH ligeramente ácido aumentando hasta equilibrarse cerca del octavo día, manteniéndose así entre los días 3 y 8 para posteriormente alcanzar su valor máximo entre 6.1 y 7.4 en la escala de pH .
- La fracción de suelo sin agregados con mantillo (SAM) presenta variaciones de pH entre 6.7 y 7.7 (cambio de ligeramente ácido a neutro) durante los primeros días de incubación.

Para el análisis del mes de octubre durante el periodo de lluvias :

- El pH global de los 5 tratamientos (M, SAM, SASM, AM, ASM) fluctúan entre 6.3 y 8.0.

- La fracción mantillo sin suelo (M) presenta un patrón de variación de pH contrario al de enero permaneciendo en los límites de la acidez.
- El tratamiento SAM presenta una variación de pH entre 7.0 y 8.0 aumentando si se compara con el del mes de enero.
- El tratamiento SASM varía entre 7.2 y 8.0 de la escala de pH quedando estable respecto a su comportamiento en periodo de secas
- La fracción AM oscila entre el 6.7 y 7.6 de pH.
- La fracción de suelo ASM presenta el siguiente patrón de variación: en los 3 primeros días de incubación el aumento de pH se da de manera paulatina y se incrementa en los siguientes 2 días para permanecer constante, esto es cerca de los días 8 y 15 del experimento.

Analizando comparativamente los datos podemos decir:

1. De manera general las fracciones coexisten dentro de niveles bajos de pH, es decir los patrones seguidos de pH, tienden a conservarse dentro de niveles ácidos o muy cercanos a la neutralidad, salvo algunas excepciones.
2. De modo particular, los patrones de oscilación seguidos por cada uno de los tratamientos, son la consecuencia de los distintos niveles de degradación que la Materia Orgánica ha sufrido durante la lixiviación.
3. Las fracciones que tienden a una baja alcalinidad son los lixiviados con los
4. tratamientos SAM y SASM en el mes de octubre
5. Los tratamientos sin agregados mantienen un pH por arriba de 7.0 inclusive

6. hasta un pH de 8.0 lo que sugiere que la presencia de los agregados juega un papel muy importante en la conservación de las propiedades fisicoquímicas del suelo.

Para las gráficas No.10 y 11 que corresponden a la marcha de carbohidratos solubles en los lixiviados en las muestras de las fechas correspondientes al periodo de secas y de lluvias en el ETE , se observa que para el mes de enero:

- o El intervalo global de carbohidratos solubles de las fracciones implicadas se conserva dentro de los niveles que van de 4.5- 8.0 mg/mL
- o Para el tratamiento de mantillo solo (M) su variación oscila entre los 5.0 y 7.0 mg/mL.
- o En el caso de suelo cuyo tratamiento incluye SAM su variación de carbohidratos es de 60-70 mg/mL.
- o Para SASM el patrón es de 55-80 mg/mL.
- o Para el tratamiento de AM los carbohidratos oscilan entre 60-75 mg/mL.
- o En el tratamiento ASM se encuentran los carbohidratos solubles entre 45-80 mg/mL.

De manera análoga, en comparación con el comportamiento de pH, se repiten los patrones de variación, esto es, durante los primeros días de incubación de los lixiviados los carbohidratos tienden a incrementarse para disminuir lentamente en los siguientes días.

Para el mes de octubre:

- o Los niveles de carbohidratos solubles presentan una ligera variación entre los 0 y 20 mg/mL.

- o El tratamiento M varia entre 0 y 10 mg/mL.
- o Para SASM prácticamente se mantiene en 0 mg/mL.
- o Para SAM inicia en 5 y decae a 0 mg/mL.
- o En el tratamiento AM inicia en 20 mg/mL y decae al final del experimento en 5 mg/mL.
- o Para el suelo cuyo tratamiento incluye ASM oscila entre los 5 y los 10 mg/mL.

A nivel general, se observa que en enero (periodo de secas) la disponibilidad y el aporte de carbohidratos solubles son abundantes en comparación con los de octubre (periodo de lluvias) donde el aporte y la disponibilidad resultan mínimos tendiendo a desaparecer.

Dado que la concentración de carbohidratos fue significativamente menor en el periodo de lluvias que en secas, podemos manejar 2 explicaciones respecto a esta observación:

1. el suelo ha sufrido continuos procesos de lixiviación durante las lluvias (junio-octubre) y las muestras analizadas están agotadas en carbohidratos.
2. el carbono disponible en el suelo es mínimo y las formas disueltas de éste se inmovilizan rápidamente por la biomasa microbiana para mantenerse viable y esto disminuye la cantidad de carbohidratos solubles en el suelo.

En enero, la mayor concentración de carbohidratos se aprecia en el segundo día de incubación, por lo que podemos decir que esta elevación debe a la actividad microbiana

del suelo, posteriormente se observa una reducción de carbohidratos, lo que se asocia con la inmovilización de las formas solubles de carbono por los microorganismos, sin embargo, no hay diferencia apreciable durante el experimento lo que no refleja una relación directa o efecto de la presencia de los agregados en el suelo y la concentración de carbohidratos solubles en él.

Para las gráficas No. 12 y 13 que muestran el patrón exhibido de proteínas disueltas en los lixiviados tanto en secas como en lluvias se incluyen los tratamientos para el suelo mencionados anteriormente tanto en pH como en carbohidratos solubles exceptuando el tratamiento con mantillo solo (M). La razón por la cual se excluyó este tipo de tratamiento en este experimento se fundamenta en que por definición, el mantillo es por si mismo una poza de proteínas ya que está constituido por residuos de vegetales y animales.

De este patrón observado, podemos decir que para el mes de enero:

- o El nivel total de las 4 fracciones oscila entre los 375-300 microgramos.
- o Para SAM se mantiene se mantiene ente los 300 y 1600 microgramos
- o En el tratamiento SASM el rango de variación oscila entre los 300 y 1300 microgramos.
- o Para el suelo cuyo tratamiento incluye ASM el rango de variación oscila entre los 500 y 2600 microgramos.

Nuevamente observamos un patrón de cambio brusco (incremento-decremento) sobre todo en las fracciones SASM y SAM , en tanto, que el tratamiento SASM desciende paulatinamente.

Para el mes de octubre:

- o Los niveles totales de proteínas solubles están aproximadamente entre los 300 y 2800 microgramos.
- o El tratamiento SAM presenta una fluctuación entre 1000 y 2300 microgramos.
- o El tratamiento se SASM varía entre los 100 y 300 microgramos.
- o AM presenta una variación entre los 1500 y 2800 microgramos.
- o Para el tratamiento ASM se ve una oscilación de 800- 1300 microgramos.

Comparando los resultados del período de secas y de lluvias, en octubre el comportamiento descrito está muy bien definido en comparación con enero.

El tratamiento de AM en los 2 meses analizados ocupa el primer lugar en aporte proteínico en el suelo, tanto en enero como en octubre, acentuándose en enero (período de secas). En el tratamiento SAM el patrón de aporte es contrario al exhibido por AM.

De manera general en octubre, los niveles de proteínas solubles disponibles son ligeramente menores que en enero, lo mismo sucede con los carbohidratos solubles sólo que en el análisis de proteínas este patrón es más apreciable, más drástico.

La concentración de proteínas se mantuvo sin diferencias significativas durante la incubación de los lixiviados y sin notar un claro efecto sobre los tratamientos y su relación con la concentración de los mismos.

De las gráficas No.14 a No.20, se aprecia el análisis de las fracciones mantillo y hojarasca para el periodo de secas y lluvias para la estimación de fibra curda, lignina y celulosa.

Se debe considerar que la fibra cruda en su conjunto constituye a todos los componentes de difícil degradación entre los que se encuentra la lignina y la celulosa.

Este análisis cabe mencionar, se realizó mediante la aplicación de la prueba estadística ANOVA de una vía, a los resultados obtenidos de lignina y celulosa.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los datos obtenidos y que han sido presentados , hemos concluido que el suelo juega un papel muy importante en el ciclaje y almacén de carbono en los ecosistemas naturales y transformados por el hombre.

Las principales rutas de liberación y disponibilidad de nutrientes para las plantas son los procesos microbianos de el suelo. Estos procesos requieren de un sustrato adecuado que permita el desarrollo de la actividad microbiana. Los principales sustratos para la mineralización microbiana son hojarasca , mantillo y materia orgánica.

Las características principales que determinan la descomposición de la materia orgánica en el suelo son: la complejidad de las moléculas orgánicas que forman el material vegetal, la forma de las uniones bioquímicas que tienen estas moléculas y el contenido de nutrientes en el suelo. Los compuestos más complejos, como la lignina, tiene menor tasa de descomposición comparada con las moléculas más sencillas como la celulosa. Los compuestos solubles como proteínas y carbohidratos, van a ser los primeros en ser liberados del material vegetal, seguidos de los compuestos más complejos (lignina). Por lo tanto, las relaciones celulosa:lignina son buenos índices para conocer la susceptibilidad del material para ser descompuesto. Los polímeros reciclados básicamente mediante la degradación microbiana son celulosa y lignina.

La degradación de la materia orgánica en el suelo está relacionada con factores como pH del mismo, estacionalidad, temperatura, presencia de agregados , condiciones de anaerobiosis y aerobiosis así como de la flora microbiana existente en el suelo.

Las tasas de reciclaje de materia orgánica depende de la velocidad con que es utilizada por los microorganismos, la degradación de materia orgánica depende de la calidad del sustrato y su accesibilidad (principalmente debido al tamaño de los agregados del suelo).

Debido a lo anterior, la materia orgánica es un componente clave en la dinámica de la disponibilidad de nutrientes en el suelo, y de sus mecanismos de reserva en él.

Hemos comparado nuestros objetivos planteados al inicio de esta tesis, con los resultados obtenidos, cumpliendo de manera satisfactoria la evaluación de la estacionalidad en un ETE, conociendo la implicación de un QFB en este rubro ecológico y la capacidad de la preparación profesional adquirida para integrar un equipo de trabajo multidisciplinario.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

BIBLIOGRAFIA

1. Aber J.D. and Melillo J., 1991. *Terrestrial ecosystem*. Saunder College Pub. San Francisco, USA. pp 429
2. Allen J.C. 1985., *Soil response to forest clearing in the United States and the tropics: geological and biological factors*. *Biotropica* 7: pp 15-27.
3. Anderson, D.W. , Saggarr, J.R. Bettany and Steuart J.W.B., 1981. Particle size fraction and their use in studies of soil organic matter. The nature and distribution of forms of carbon, nitrogen and sulfur., *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 45,;pp 767-772.
4. Braunack, M.V. , Hewitt, J.S. and Dexter, A.R., Brittle., 1979, *Fracture of soil aggregates and the compaction of aggregates beds*. *J. Soil Sci.* 30,;pp 653-667.
5. Browning , B.L. ,1967. *Methods of wood Chemistry*. Vol. 2. John Wiley and Sons. N.Y. pp 427
6. Borja Arco J., Baeza Reyes A., 2002. *Determinación del pH, en Acetonitrilo con microelectrodos miniaturizados a base de polímero conductor*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM , México, D.F. pp 80
7. Bullock S.H. 1986., *Climate of Chamela, Jalisco and trends in the south coastal region of Mexico*. *Arch. Met. Geoph. Biocl.* 36, pp 297-316.
8. Bullock S.H. and J.A. Solís-Magallanes., 1990. *Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in Mexico*. *Biotropica*. 22, pp 22-35.
9. Cambardella, C.A., Sand E.T. Elliot. 1992., *Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence*. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, pp 777-783.

10. Houghton R.A., Lefkowitz D.S., Skole D.L. 1991, Changes in the landscape of Latin America between 1850 and 1985 I. Progressive loss of forest. *Forest Ecology and Management* **38**, pp 143-172.
11. Houghton R.A. , J.D. Unruh and P.A. Lefebvre 1993. , Current land cover in the tropics and its potential for sequestering carbon . *Global Biochemical Cycles*. **7**, pp 305-320.
12. Jenkinson, D.S. and Powlson, D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V., A method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry* **8**, pp 209-213.
13. Lal, R. *Tropical Ecology and Physical Edaphology*. John and Wiley Sons. 1987.
14. Kononova , M.M., *Microorganism and Organic Matter of Soils*. Clearinghouse Fed. Scientific and Tech . Info., Springfield , Virginia. 1970, pp 355
15. Lott , E. J. , S. H. Bullock, and A. Solis-Magallanes , 1987. Floristic diversity and structure of upland and arroyo forest of coastal Jalisco. *Biotropica* **19**, pp 228-235.
16. Maas , J.M . J. J., And. J., Sarukhan 1988., Soil erosion and nutrient losses in seasonal tropical agroecosystems under various management techniques. *Journal of Applied Ecology* **25**, pp 595-607.
17. Martinez-Yrizar A., and J. Sarukhan, J., 1990. Litterfall patterns in a tropical deciduous forest in Mexico over a five-year period. *J. of Tropical Ecology*., **6**, pp433-444.
18. Oades, J.M. 1993. The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure. *Geoderma*., **56**, pp 377-400.

19. Patiño ,C. 1990. Variación espacial y temporal de la capa de hojarasca (mantillo) en una selva baja caducifolia en Chamela, Jal. México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F., pp 78
20. Sarukhan J. y Maas J.M., 1990. Bases ecológicas para el manejo sostenido de los ecosistemas: el caso de cuencas hidrológicas. Medio ambiente y desarrollo en México. Vol. I, UNAM-Porrúa. pp 81-114.
21. Schlesinger W.H. 1990 Evidences from chronosequence studies for low carbon-storage potential of soils. *Nature*, **348**, pp 232-234.
22. Solís E.,1993. Características fisicoquímicas de un suelo en un ecosistema tropical estacional. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México D.F., pp 91
23. Stevenson, F.J. 1994. Humus Chemistry. Genesis, composition and reactions. Second edition. John Wiley and Sons., New York., pp 496.
24. Stickland, T.C. and Sollins P., 1987. Improved method for separating light and heavy-fraction organic material from soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **51**, pp 1390-1393
25. Tisdall , J.M., and Oades J., 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil Sci* **33**, pp 141-163.
26. Tisdall , J.M., and Oades J., 1982. Organic matter and water-stable aggregates in a red-brow earth. *Aust. J. Soil Res.* **18**, pp 423-433