





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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**LA EVOLUCIÓN DEL HUMUS Y LAS ENZIMAS DEL  
CARBONO EN CHINAMPAS CON DIFERENTES USOS  
DE TRES SITIOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO,  
MÉXICO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
BIÓLOGA**

**P R E S E N T A :**

**MARIANA ROMERO HERNÁNDEZ**



**DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. AMADA LAURA REYES ORTIGOZA**

**Ciudad Universitaria, CD. MX., 2022**

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A mi asesora**

Doctora Amada: gracias por acercarme al estudio de los suelos, por permitirme ser su tesista, por orientarme en la elección de tema, por brindarme un lugar y guiarme para desarrollar mi escrito de la mejor forma, gracias por su tiempo, su paciencia, su disposición y no menos importante, gracias por su empatía.

A las dos profesoras que me acercaron al estudio de los suelos: Dra. Amada Laura Reyes Ortigoza y Dra. Rosalía Ramos Bello, ambas admirables por su compromiso con la enseñanza de la ciencia del suelo.

### **A mi apreciable jurado**

Dr. Pedro Eloy Mendoza Hernández, M. en C. Ofelia Ivette Beltrán Paz, M. en C. Enrique Solís Villalpando, Dra. Rosalía Ramos Bello, gracias por aceptar revisar este escrito, sus observaciones fueron muy importantes, me permitieron plasmar y desarrollar de manera clara el contenido. Aprecio su valioso tiempo y les agradezco por compartirme de su experiencia como investigadores.

Al laboratorio de Edafología de la Facultad de Ciencias, sin el material, el apoyo de los académicos, técnicos, compañeros, compañeras y el espacio ésta tesis no sería posible.

A mi compañera y amiga Dulce Méndez Pérez por su invaluable amistad, por los conocimientos compartidos, apoyo, por recordarme que la amistad y el aprendizaje se llevan perfectos.

A la máxima casa de estudios, la UNAM, a la Facultad de Ciencias, a mis profesores, todo en conjunto le dio un significado distinto a mi vida, a mi manera de pensar, para mi crecimiento profesional y personal. Me siento muy orgullosa por haber estado en sus aulas, pretendo seguir construyendo mi vida con todo lo que han sumado para mi andar como bióloga.

## **CON MUCHO AMOR PARA MIFAMILIA:**

Mis padres, Alejandrina y Gabino

Mis hermosas abuelitas, Martha<sup>†</sup> y Genoveva<sup>†</sup>

Mis hermanos, Araceli, Gustavo, Esmeralda y Gabino

Mis sobrinos, Brenda, Noelia, Brandon, Sofía, Isabela y Lía

*“El amor en su forma más pura, consiste en compartir alegría”* (lo leí por ahí)

Gracias familia por su alegría, son la motivación más grande en mi vida, estoy inmensamente agradecida por tenerlos.

Gracias a ustedes no olvido que soy una persona capaz de cumplir metas, a veces ando por el camino de la desesperanza, pero recuerdo que los tengo y vuelvo a valorar lo bueno, lo malo, aprendo y sigo andando. Son la mejor cura y el mejor regalo.

La alegría que me comparten la llevaré conmigo en todo momento para no olvidar que sí puedo.

¡Gracias por tanto amor!

## RESUMEN

Las chinampas son agroecosistemas sostenibles, consideradas Patrimonio Mundial de la Humanidad. Debido a su formación, el agua y el suelo son esenciales para su funcionamiento y productividad. Los suelos han sido severamente afectados por diversos problemas como la descarga de aguas negras y manejos inadecuados, por ello y dada su importancia agrícola, natural y cultural, resulta relevante generar información acerca de como las diferentes prácticas de manejo modifican sus propiedades químicas, físicas y biológicas, para evitar su degradación. Bajo este contexto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar las actividades potenciales de las enzimas:  $\beta$ -glucosidasa, invertasa, celulasa,  $\beta$ -galactosidasa (asociadas al ciclo del carbono) y las características de complejidad del humus, parámetros que se emplean como indicadores de actividad bioquímica y calidad del suelo. Se trabajó con suelos de chinampa de las localidades: Xochimilco, San Gregorio Atlapulco (SGA) y Tláhuac, con diferentes usos: suelos de cultivo, con pastizal y abandonados. Para evaluar la transformación o evolución del humus se extrajeron con soluciones alcalinas las fracciones húmicas (ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) y huminas) y se cuantificaron los contenidos de carbono. Con los concentrados de AH extraídos se realizaron lecturas de absorción óptica a diferentes longitudes de onda y con ello se calculó el índice  $E_4/E_6$ , también se realizaron diluciones de AH y se evaluó la floculación de humato sódico. Se cuantificó la actividad de las enzimas:  $\beta$ -glucosidasa, invertasa, celulasa,  $\beta$ -galactosidasa, por métodos de extracción y colorimetría. Los resultados mostraron que la mayor complejidad del humus no se asoció a la localidad, ni al uso de suelo, aunque se observaron diferencias significativas en el porcentaje de C (% de C) de los AF que fue mayor en Tláhuac (Tukey  $P < 0.05$ ). Por otro lado, las medias indicaron mayor porcentaje de C en AH en los diferentes usos de suelo, y en SGA; el % de C en huminas predominó en Xochimilco. Las actividades de las enzimas  $\beta$ -galactosidasa, celulasa e invertasa no mostraron efecto significativo (Tukey  $P < 0.05$ ) por uso de suelo ni ubicación geográfica. La única enzima que tuvo diferencias estadísticas (Tukey  $P < 0.05$ ) fue  $\beta$ -glucosidasa, que mostró una actividad promedio más alta en la zona de SGA y fue de mayores proporciones que las otras enzimas evaluadas. Se concluyó que las chinampas con mejor disponibilidad de nutrientes, por lo tanto, menor degradación química y

mayor complejidad en la estructura de las sustancias húmicas (mayor evolución) fueron las chinampas cultivadas, con pastizal y de SGA.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	V
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
3. JUSTIFICACIÓN.....	5
4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	6
4.1 Objetivo general.....	6
4.1.1 Objetivos particulares.....	6
4.2 Hipótesis.....	6
5. CONCEPTOS TEÓRICOS.....	7
5.1 ¿Qué son las chinampas?.....	7
5.2 Materia orgánica.....	9
5.2.1 Fracciones de la materia orgánica.....	9
5.2.2 Descomposición de la MO.....	10
5.2.3 Humus: propiedades y características.....	11
5.2.4 Sustancias húmicas, características y propiedades.....	11
5.2.5 Extracción de las fracciones húmicas del suelo y relación E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub> .....	14
5.3 Actividad enzimática del suelo.....	15
5.3.1 Enzimas implicadas en el Ciclo del Carbono.....	16
6. METODOLOGÍA.....	18
6.1 Zonas de estudio.....	18
6.1.1 Xochimilco y San Gregorio Atlapulco.....	18

6.1.2	Tláhuac .....	21
6.2	Muestreo .....	23
6.3	Trabajo en laboratorio .....	25
6.3.1	Extracción de las fracciones húmicas del suelo y evolución de humus .....	25
6.3.2	Actividad enzimática .....	25
6.4	Análisis estadístico .....	27
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
7.1	Humus.....	28
7.1.1	Porcentaje de MO y porcentaje de Carbono en las sustancias húmicas .....	28
7.1.2	Coeficiente $E_4/E_6$ (465 /665 nm).....	31
7.1.3	Floculación de humato sódico .....	34
7.2	Actividad enzimática .....	36
8.	CONCLUSIONES .....	45
9.	ANEXO 1: Métodos .....	47
10.	ANEXO 2: Reactivos químicos.....	59
11.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFIAS .....	62

## 1. INTRODUCCIÓN

El humus representa la fracción más o menos estable de la materia orgánica (MO) del suelo, se obtiene después de que se ha degradado la mayor parte de los restos vegetales o animales, estos restos son constantemente sometidos a procesos de descomposición, transformación, síntesis y son difícilmente mineralizables (*Soil Science Society of America*; McLaren y Peterson, 1974, citados por Fassbender, 1987). Se conforma de sustancias no húmicas y sustancias húmicas (SH), las SH se fraccionan en ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) y huminas; son acumuladas en el suelo como consecuencia de su resistencia a la transformación microbiana (Bendeck, 1996; Jaramillo, 2002), se reconocen como el máximo constituyente de los componentes muertos del suelo y a su vez como la fracción más estable de carbono, siendo la mayor reserva de este elemento la que forma parte de las SH (Paz, 2006).

El contenido de carbono en el suelo obedece a sus características y al equilibrio entre las tasas de entrada de origen vegetal, animal y las de salida, resultantes del metabolismo microbiano que genera CO<sub>2</sub>, asimismo sus balances se ven influenciados por las prácticas de manejo (Burbano-Orjuela, 2018). Es relevante comprender cual es el efecto de las diferentes prácticas de manejo del suelo que modifican las reservas de carbono orgánico, a través del conocimiento de la MO, que suele ser el parámetro utilizado con más frecuencia para evaluarla calidad del suelo (Galantini y Suñer, 2008). El concepto de calidad se relaciona a la capacidad del suelo para funcionar, incluye atributos como fertilidad, productividad potencial, sostenibilidad y calidad ambiental. Simultáneamente, es un instrumento que sirve para entender la salud y utilidad de este recurso (Bautista-Cruz *et al.*, 2004).

Como la MO, otro indicador importante de la calidad del suelo es la actividad enzimática (AE). Las enzimas determinan gran parte de las transformaciones químicas que se producen en el suelo catalizando las reacciones bioquímicas que son parte integral de los ciclos de nutrientes (Stryer, 1995, citado por Albiach *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2010). Medir la AE potencial del suelo puede reflejar el efecto de las prácticas agrícolas, los diferentes usos o manejos, la degradación de contaminantes, la conservación de ecosistemas, entre otras condiciones (Doran, 2002, Gianfreda y Ruggiero, 2006, citados por Montejó *et al.*, 2012; De la Rosa, 2008; Ma *et al.*, 2010).

En este trabajo se considera como unidad de estudio a los suelos de chinampa de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco como humedales que se ubican dentro del sitio RAMSAR

1363, además abarca áreas frágiles e importantes de Tláhuac. Las chinampas son consideradas como agroecosistemas con producción agrícola sostenible, forman parte del Patrimonio Mundial de la Humanidad. Debido a su formación, el agua y el suelo son esenciales para su funcionamiento y productividad, sin embargo en la actualidad el manejo inadecuado pone en riesgo la sostenibilidad del sistema.

Los suelos se han ido deteriorando debido a prácticas productivas inadecuadas como el uso de maquinaria, agroquímicos, la acumulación de desechos sólidos y la falta de rotación de cultivos, que han dado como resultado, fertilizantes químicos y aguas tratadas que ocasionan un aumento de salinización y eutrofización tanto en el suelo como en el agua (Proyecto UNESCO-Xochimilco, s.f.; Zambrano *et al.*, 2019); de acuerdo con Arroyo (2013) la salinidad se relaciona con el manejo antrópico de estos suelos, por la incorporación de altos porcentajes de carbono en residuos orgánicos como estiércol y composta. Reyes-Ortigoza y García-Calderón (2014) señalan que la continua agregación de materiales orgánicos y la variabilidad en el grado de salinidad modifican constantemente su dinámica bioquímica.

Otro problema es la deforestación, que conduce a mayor erosión del suelo, también las plagas de muérdago que han disminuido la densidad del ahuejote, especie utilizada para mantener firmes los bordes de las chinampas; la expansión de la mancha urbana con asentamientos irregulares causa más efectos como erosión, contaminación, entrada de aguas negras residuales, construcción de infraestructuras de vialidad y de transporte, que finalmente invaden las zonas de chinampa (González-Pozo, 2008, González-Pozo *et al.*, 2016, Bojórquez *et al.*, 2017, Zambrano *et al.*, 2019). Estos problemas no sólo afectan la productividad agrícola del suelo, sino también las especies endémicas y biodiversidad a nivel continental (González-Pozo, 2008, González-Pozo *et al.*, 2016), por ello, evaluar la calidad del suelo de las chinampas, por ejemplo, a través de indicadores como la transformación del humus y la AE potencial (Reyes-Ortigoza, 2019; Reyes-Ortigoza *et al.*, 2015) resulta fundamental para seguir proporcionando información que pueda sumarse para priorizar su conservación y con ello conservar el patrimonio agrícola, natural y cultural que será heredado a las generaciones futuras.

## 2. ANTECEDENTES

Entre las investigaciones que correlacionan la AE, las fracciones húmicas y las características físicas del suelo chinampero, se pueden citar los trabajos de Reyes-Ortigoza y García-Calderón (2004), Nambo (2016), Reyes-Ortigoza (2019), Reyes-Ortigoza *et al.*, (2015), Arroyo (2013), Aguilar *et al.*, (2012) y Arreguin (2013).

Reyes-Ortigoza y García-Calderón (2004) evaluaron la distribución de carbono y el contenido total de metales pesados (Al, Co, Fe, Cr, Cd, Ni, Zn, Cu) de tres horizontes: superficial, álbico, y el profundo, en suelos de chinampas de San Gregorio Atlapulco, San Luis Tlaxiátemalco, y Tláhuac, encontrando que la evolución del humus depende más de las características antrópicas (manejo agrícola como laboreo y adición de materiales orgánicos como mejoradores orgánicos o residuos de cosecha) y edáficas (contenido de carbono, metales totales y arcilla) que de las condiciones ambientales (nivel freático-humedad) y contenido de sales, resultados similares señaló Nambo (2016) en muestras del sitio RAMSAR 1363 “Sistema Lacustre Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco” caracterizando las fracciones de las sustancias húmicas; sus resultados indicaron mineralización lenta (macromoléculas del humus más o menos policondensadas a formas más simples como nitratos, fosfatos, sulfatos) debida a condiciones anaeróbicas y a la presencia de material orgánico que se adiciona constantemente. La relación  $E_4/E_6$  señaló que los suelos con vegetación de pastizal tuvieron mayor grado de humificación y son de origen más antiguo, mientras que los suelos sin trabajar y agrícolas sugirieron que la MO tiene poca evolución debido a procesos edáficos y al tipo de agricultura que se practica, resultando moléculas de baja complejidad durante el proceso de humificación.

Reyes-Ortigoza (2019), analizó la actividad enzimática (glucosidasa, fosfatasa, ureasa, sulfatasa, catalasa y deshidrogenasa), salinidad, pH, conductividad eléctrica y carbono en sustancias húmicas en muestras de suelo de Xochimilco, San Gregorio Atlapulco y Tláhuac con diferentes usos (pastizal, con cultivos agrícolas y abandonados), concluyó que la complejidad de las sustancias húmicas y la actividad enzimática en las chinampas cambió con los diferentes usos de suelo y sitios geográficos, sin embargo, no por la salinidad como observaron Reyes-Ortigoza y García-Calderón (2004). Reyes-Ortigoza *et al.*, (2015), estudiaron la relación de las sustancias húmicas, actividad enzimática (glucosidasa, fosfatasa, ureasa, sulfatasa, catalasa y deshidrogenasa), contenidos de micronutrientes y salinidad, en humedales de San Gregorio

Atlapulco, Xochimilco y Tláhuac, concluyeron que la evolución de las sustancias húmicas no se correlacionó con los contenidos de micronutrientes, ni con la salinidad, sólo con la actividad de la enzima deshidrogenasa. La actividad enzimática fue mayor en suelos con altos contenidos de carbono, nitrógeno y relación C/N, señalaron que en algunos suelos con mayores contenidos de micronutrientes (Fe, Zn, Cu y Mn) hubo mayor actividad enzimática.

Otros resultados importantes son los de Arroyo (2013), estudió la actividad enzimática (fosfatasas, ureasas, deshidrogenasas, catalasas, y  $\beta$ -glucosidasa), y el grado de contaminación salina en los humedales de San Gregorio Atlapulco. Encontró que la salinidad expresada a través de la conductividad eléctrica y valores altos de iones salinos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ), aparentemente no afectó la actividad enzimática, no obstante, sí se relaciona con el manejo antrópico de estos suelos, por la incorporación de altos porcentajes de carbono en residuos orgánicos como estiércol y composta.

Arreguin (2013), evaluó la conductividad eléctrica, actividad enzimática (fosfatasa ácida y alcalina y ureasa), sales solubles y pH, en suelos de Tláhuac y Xochimilco, encontrando correlaciones negativas entre la conductividad eléctrica, las enzimas fosfatasa ácida y alcalina y la ureasa; señalando que a mayor concentración de sales disminuía la actividad enzimática. Concluyendo que en Tláhuac el contenido de sales solubles y la conductividad eléctrica (CE) fueron mayores, la cual provocó menor AE.

También respecto a la AE, Aguilar *et al.*, (2012), reportaron que en las chinampas de Xochimilco con cultivos de maíz, amaranto o sin cultivo, no hubieron diferencias significativas entre la actividad de las enzimas: arilsulfatasa, fosfatasa ácida y alcalina,  $\beta$ -D-glucopiranosidasa,  $\beta$ -D-glucosamidasa, lo atribuyeron a las condiciones de cultivo (incorporación de MO a través de la técnica de chapín que consiste en elaborar semilleros de lodo extraído del fondo de los canales).

Estas contribuciones hacen hincapié en la importancia de continuar con la caracterización de los suelos de las chinampas, implementando indicadores ligados a la calidad del suelo como la actividad enzimática y la transformación del humus, para entender como afecta el manejo de suelo en las zonas geográficas consideradas en este estudio y enfatizar la importancia de un buen manejo para su conservación.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Las chinampas resguardan tradiciones, un gran valor cultural, ambiental, además representan un sistema de agricultura sostenible con trascendencia. El presente trabajo considera a las chinampas de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco como humedales que se ubican dentro del sitio RAMSAR 1363, además abarca áreas frágiles e importantes de Tláhuac. Actualmente éste sistema ha sido destituido de su gran valor por el incremento de la mancha urbana que ha ocasionado problemas ambientales, pérdida de tradición y va en aumento el número de chinampas que no se encuentran activas, lo que sugiere que las características del suelo se han ido y se irán modificando negativamente sino se interviene en un manejo adecuado. Por lo anterior, es prioritario realizar investigaciones que permitan evaluar periódicamente su estado de conservación o degradación química, física y biológica.

La importancia de esta investigación se asocia al desconocimiento de la calidad del humus en suelos lacustres de humedal cuando existen problemas de contaminación edáfica salina y diferentes manejos de suelo, por lo cual se estudiarán las asociaciones entre las características de las sustancias húmicas y la actividad de enzimas implicadas en el ciclo biogeoquímico del carbono, porque el carbono orgánico en el suelo, la composición de la MO y la AE son parámetros relacionados a las prácticas de manejo, se han empleado como indicadores de calidad del suelo, lo que permitirá constituir una directriz para generar información básica sobre el suelo y su calidad.

Éste estudio considera a los suelos de las zonas chinamperas de Xochimilco, San Gregorio Atlapulco y Tláhuac, puesto que no se conocen relaciones claras entre estas zonas, y las variables antes mencionadas. El investigar sobre este tema tan importan puede promover el mejor manejo apegado a un aprovechamiento sostenible del suelo y su conservación. Se pretende contribuir con recomendaciones acerca del manejo y se darán sugerencias para investigaciones futuras en donde se puedan utilizar las metodologías descritas.

## **4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

### **4.1 Objetivo general**

Evaluar las actividades enzimáticas asociadas al ciclo del carbono ( $\beta$ -glucosidasa, invertasa, celulasa,  $\beta$ -galactosidasa) y la evolución del humus, en suelos de chinampa cultivados, de pastizal y abandonados de las localidades: Xochimilco, San Gregorio Atlapulco y Tláhuac.

#### **4.1.1 Objetivos particulares**

Extraer y caracterizar las fracciones húmicas con base en el porcentaje de carbono, floculación de humato sódico, índice  $E_4/E_6$  para definir la evolución o complejidad del humus.

Evaluar la actividad potencial de las enzimas,  $\beta$ -glucosidasa, invertasa, celulasa y  $\beta$ -galactosidasa.

Analizar las condiciones de degradación química bajo los diferentes usos de suelo y localidades, con base en los resultados de la evolución del humus y de la AE.

Proponer recomendaciones para disminuir la degradación química, consideraciones para investigaciones futuras y para promover la conservación del suelo.

### **4.2 Hipótesis**

Se encontrará mayor evolución de humus en suelos cultivados y de pastizal, debido al manejo que implica incorporación de restos orgánicos inmaduros, lo que no sucede en suelos abandonados.

La actividad enzimática (AE) incrementa proporcionalmente en suelos con mayor contenido de materia orgánica, por lo tanto habrá más AE y mineralización en suelos cultivados y de pastizal, que en suelos abandonados.

## 5. CONCEPTOS TEÓRICOS

### 5.1 ¿Qué son las chinampas?

La chinampa “es un sistema integral de producción agropecuaria y forestal en el que se incluye la pesca en los canales, la siembra de árboles en las orillas de las parcelas, la ganadería, así como la presencia de malezas y restos de cultivos” (Gómez-Pompa, 1978; citado por Jiménez-Osornio y Gómez-Pompa, 1987). Son espacios con arquitectura e ingeniería tradicional, trascienden desde la época prehispánica, en ellas es posible el reciclaje de materiales, que incrementa la eficiencia y energía del sistema (Jiménez-Osornio y Gómez-Pompa, 1987), “han servido durante largo tiempo como base agroproductiva para el sostenimiento alimentario de la población de la Ciudad de México y que ha sido conducida a través de muchas generaciones por los diversos pueblos originarios que aún subsisten” (González-Pozo *et al.*, 2016). En la actualidad la Ciudad de México cuenta con un sistema de humedales de más de 3 mil hectáreas, ubicados en las alcaldías de Xochimilco, Tláhuac y Milpa Alta, considerando el sitio RAMSAR 1363 de Xochimilco y Tláhuac-Xico, asimismo, el ANP que reúne el sistema lacustre Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco representa parte de este conjunto (SEDEMA, 2021). Por su importancia ambiental, al permitir la continuidad de la biodiversidad, recargar los mantos acuíferos y amortiguar impactos ambientales como las inundaciones, así como por su valor cultural (agricultura ancestral), la zona fue declarada como Patrimonio Mundial de la Humanidad por la UNESCO desde 1987, la región “Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco” como Área Natural Protegida (zona prioritaria para la conservación a partir de 1992) y Sitio RAMSAR 1363 (Humedal de Importancia Internacional) a partir del 2004 (PAOT, 2008), y en 2017 por la FAO: “Sistemas Importantes del Patrimonio Agrícola Mundial (SIPAM)” con el reconocimiento “Agricultura de chinampa en la zona patrimonio mundial natural y cultural de Xochimilco, Tláhuac y Milpa Alta” (González-Pozo *et al.*, 2016, Mora-Izquierdo *et al.*, 2018).

Estos sistemas se construyeron en zonas inundables mediante la transferencia y elevación del suelo sobre el nivel del agua (Figura 1), los suelos son producto de la combinación de sedimentos lacustres, materiales piroclásticos, materia orgánica, lodo extraído de los canales, plantas acuáticas, estiércol, composta o cualquier material que permitiera consolidarlos (Ramos *et al.*, 2011; Novelo y Gallegos, 1988). Su construcción es artificial, por lo que se les clasifica como Antrosoles térricos (Krasilnikov *et al.*, 2011), se caracterizan por tener agregados con estructuras

débiles, colores negros y grises oscuros relativamente uniformes, así como altos porcentajes de carbono con distribución irregular a lo largo del perfil, además de presencia de arcilla (Ramos *et al.*, 2011).



**Figura 1.** Sistema lacustre de Tláhuac.  
Tomada de: Binnqüist-Cervantes, 2021

Se tiene registro de un aproximado de 17336 potenciales en Xochimilco, San Gregorio Atlapulco y Tláhuac (Cuadro 1), a las cuales se les debe prestar atención por su capacidad para ser rehabilitadas (González-Pozo *et al.*, 2016).

Zona	Superficie (ha)	Activas	Potenciales	Totales
Xochimilco	1162	1294	15170	16464
San Gregorio Atlapulco	484	1530	530	2060
Tláhuac	569	762	1636	2398
total	2215	3586	17336	20922

**Cuadro 1.** Estado actual de las chinampas de acuerdo a su productividad

**Fuente:** González-Pozo *et al.*, 2016

## 5.2 Materia orgánica

La materia orgánica (MO) es un importante constituyente del suelo conformada en su totalidad de sustancias de tipo orgánico (carbohidratos, ácidos orgánicos, pigmentos, proteínas, polisacáridos, aminoácidos, lípidos y monosacáridos), incluyendo restos de tejidos vegetales, animales inalterados y residuos microbianos en diferentes estados de descomposición (Stevenson, 1994; Gaucher, 1971). Dichas sustancias están constituidas por la combinación de tres o cuatro átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, así como fósforo y azufre (Camargo y Cruz, 1999).

Desde el punto de vista químico, es un material ácido con alta capacidad de intercambio catiónico (CIC); alta capacidad buffer y alta acción quelante, que le permite formar complejos estables con los elementos metálicos presentes en el suelo (complejos órgano-minerales), de diferente grado de estabilidad; los materiales involucrados en los complejos tienen una menor tasa de alteración que aquella que tendrían, si estuvieran independientes en el suelo. Por ser un material coloidal, presenta una alta superficie específica, es amorfo, tiene colores oscuros, presenta baja adhesividad y plasticidad y tiene una alta capacidad de retención de humedad; su densidad aparente es baja (Jaramillo, 2002).

En cuestión de fertilidad, la MO favorece la actividad biológica y el crecimiento de plantas, proporcionando diversidad de nutrientes; regula el pH (los grupos funcionales actúan como buffer neutralizante); controla significativamente el intercambio catiónico. Forma complejos estables por la constitución e interacción entre polímeros orgánicos (azúcares, polisacáridos) y minerales que contribuyen a la formación y estabilización de la estructura del suelo, lo cual reduce la erosión. Su coloración oscura, permite capturar mejor el calor (Stevenson, 1982; Aguilera, 1989).

### 5.2.1 Fracciones de la materia orgánica

**Restos vegetales y animales (1-10%):** En fase de descomposición microbiana, se encuentran en forma libre o débilmente asociadas a la fracción mineral, Celulosa (15-60%), Hemicelulosa (10-30%), Lignina (5-30%) (Sales, 2006).

**Sustancias no húmicas (10-40%):** Incluye compuestos orgánicos clasificables como polisacáridos, ligninas, lípidos, proteínas, péptidos, resinas, pigmentos, carbohidratos, aminoácidos, etc. Son en su mayoría de origen vegetal, y menor cantidad de productos microbianos (Sales, 2006; David, 2008).

**Sustancias húmicas (40-60%):** Incluyen el resto del material orgánico. Son sustancias de alto peso molecular formadas por procesos bioquímicos a partir de residuos de origen animal o vegetal, bastante resistentes a la degradación microbiológica o química (Sales, 2006). Constituyen el principal reservorio de carbono en los suelos (David, 2008).

**Moléculas lábiles (hidratos de carbono, ligninas, proteínas, taninos, ácidos grasos):** Fracción separada, físicamente compuesta por una mezcla de residuos de plantas y animales en diferentes etapas de su transformación. Incluye microorganismos, esporas, polen, semillas, fitolitos, residuos carbonizados, manteniendo las características químicas de su material de origen.

**Parte viva (composición biológica 5-10%):** Microbiota, Macrobiota.

## 5.2.2 Descomposición de la MO

La descomposición de la MO se da mediante procesos bioquímicos, bajo la acción de los microorganismos del suelo y enzimas (Serrano, 2000). Gaucher, 1971 (citado por Serrano, 2000) divide la degradación de la MO del suelo en dos procesos diferentes, de los cuales la mayor actividad se centra en la flora edáfica.

**Humificación:** En este proceso (polimerización) se unen moléculas complejas como ligninas, celulosas, fenoles, quinonas, azúcares que producen polímeros nuevos constituidos por compuestos orgánicos que conforman el humus (AH, AF y huminas).

**Mineralización:** Consiste en la liberación en forma disponible molecular o iónica de sustancias inorgánicas ( $H_2O$ ,  $CO_2$ ,  $NH_4$ ,  $NO_3^+$ ,  $PO_4^{+3}$ ,  $SO_4^{+2}$ ) de los elementos que inicialmente forman parte de la materia orgánica. Esto ocurre a través de procesos de despolimerización donde se rompen las estructuras químicas de difícil degradación en estructuras más simples, por ejemplo, de celulosas o ligninas a carbohidratos, azúcares, aminoácidos, etc.

### 5.2.3 Humus: propiedades y características

El humus, es la materia orgánica (MO) que ha sido utilizada y transformada por los organismos del suelo, mediante un proceso que se conoce como humificación (Agrotecnia, s.f.). Se ha dividido en sustancias no húmicas y sustancias húmicas (SH). Las sustancias no húmicas pueden representar hasta el 40% del humus y están constituidas por compuestos orgánicos químicamente definidos como son: carbohidratos, lípidos, ácidos orgánicos, pigmentos, proteínas y en general materia orgánica soluble en agua. Por su parte las SH, presentan una elevada resistencia a la transformación microbiana. Se reconocen como el máximo constituyente de los componentes muertos del suelo (Bendeck, 1996).

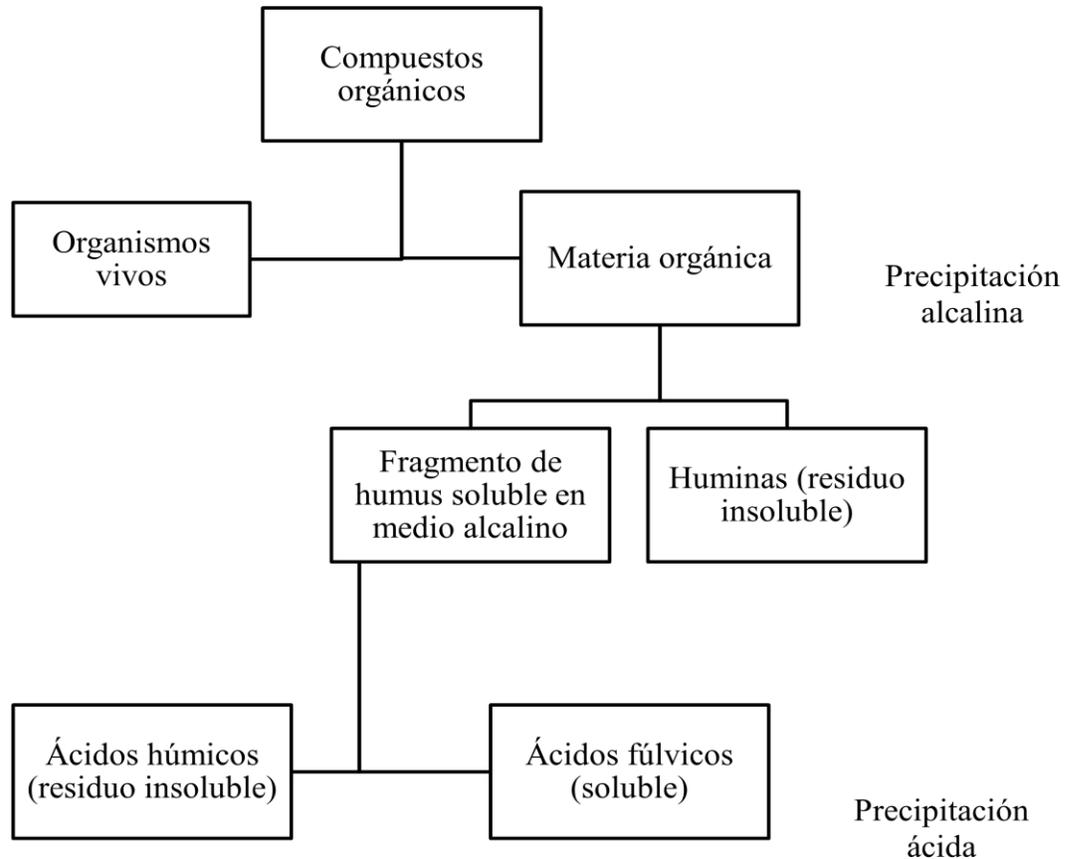
### 5.2.4 Sustancias húmicas, características y propiedades

Las SH, están constituidas de compuestos orgánicos amorfos de naturaleza coloidal, poliméricos, de alto peso molecular, con propiedades ácidas, que presentan un color que va del amarillo hasta gris oscuro o casi negro. Se encuentran asociadas con uniones débiles (puentes de hidrógeno, fuerzas de Vander Waals) y químicamente se conforman por agregados moleculares que consisten en azúcar, carbohidratos, ácidos grasos, polipéptidos, cadenas alifáticas y anillos aromáticos (Stevenson, 1994; Kang *et al.*, 2003; Simpson, 2002; Jaramillo, 2011).

La clasificación de las tres fracciones no representa tres tipos distintos de moléculas orgánicas (Hayes *et al.*, 1989), ya que las sustancias húmicas contienen diversos grupos funcionales que donan electrones, en particular:  $-\text{COOH}$  y  $-\text{OH}$  fenólicos, también  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $=\text{N}$ ,  $-\text{SH}$  y  $\text{C}=\text{O}$  (Stevenson, 1982). Se diferencian y agrupan de acuerdo con su solubilidad (a pH ácido y alcalino), peso molecular y grado de polimerización en: ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) y huminas (H) (Figura 2) según varios autores citados por Burbano, 1989 (Jaramillo, 2002).

La naturaleza de estas sustancias varía con los suelos, el clima, la cubierta vegetal, las prácticas agrícolas (Frioni, 2006). Las teorías más modernas consideran que los AH, AF y las huminas son polímeros condensados a partir de compuestos aromáticos y alifáticos producidos por la transformación de la lignina de las plantas, de los polifenoles de las células y de síntesis

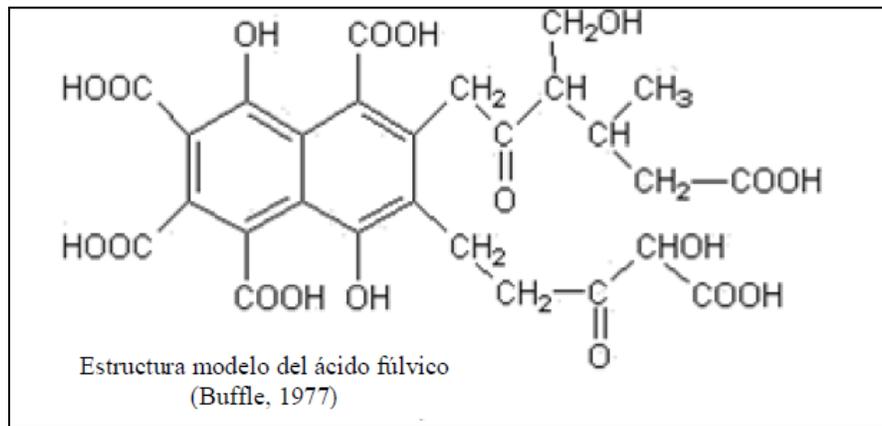
microbiana, así como de otros productos de la descomposición de residuos orgánicos (Bendeck, 1996).



**Figura 2.** Fracciones húmicas de acuerdo con su solubilidad (Peña-Méndez, 2005).  
Modificada de: Avendaño, 2016.

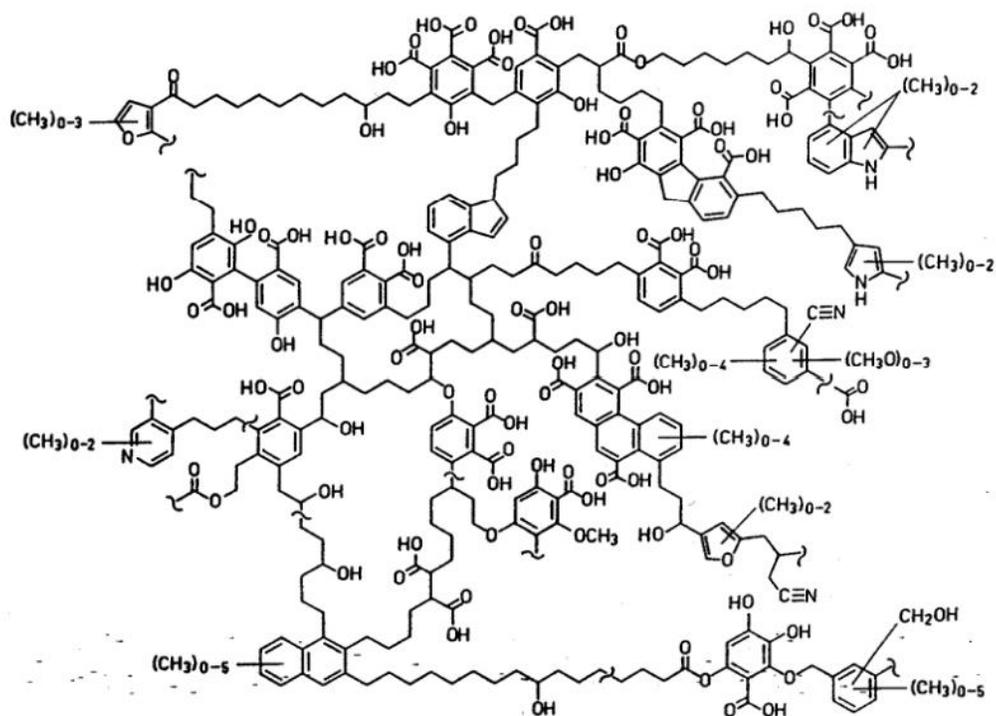
**Ácidos fúlvicos:** Son compuestos de bajo peso molecular, con elevada acidez (entre 900 y 1400meq/100g) esto debido a que el 50% de los grupos carboxílicos se disocian a un pH 3.5. Presentan bajo grado de polimerización, son solubles en sustancias alcalinas y en ácido. Contienen estructuras aromáticas y alifáticas extensivamente sustituidas con oxígeno (Figura 3), contienen cerca de 43-53% de carbono (Stevenson, 1982). Los ácidos fúlvicos pueden ser considerados como asociaciones de pequeñas moléculas hidrofílicas en los que hay grupos

funcionales ácidos, suficientes para mantener los grupos fúlvicos dispersos en la solución a cualquier pH (López-Salazar *et al.*, 2014).



**Figura 3.** Estructura de los ácidos fúlvicos  
Tomada de: David, 2008

**Ácidos húmicos:** Son compuestos de alto peso molecular, baja acidez (entre 500 y 870meq/100g), alto grado de polimerización, solubles en sustancias alcalinas, pero precipitan en medio ácido. Tienen estructura polimérica, aparentemente en forma de anillos y cadenas, están constituidos principalmente por macromoléculas aromáticas (con rango de tamaño de 60-500 Å) con aminoácidos, carbohidratos, péptidos y compuestos alifáticos que se quelatan con los grupos aromáticos (Figura 4). Contienen alrededor de 50-62% de carbono (Stevenson, 1982). Los ácidos húmicos son hechos por las asociaciones de compuestos predominantemente hidrofóbicos (cadenas polimetilénicas, ácidos grasos, compuestos esteroides), que se estabilizan a un pH neutro por fuerzas hidrofóbicas de dispersión. Sus conformaciones crecen progresivamente cuando sus vínculos intermoleculares de hidrógeno se forman en valores de pH más bajos, hasta flocular (López-Salazar *et al.*, 2014).



**Figura 4.** Modelo de la estructura química de los AH (Schulten *et al.* 1991; Schulten y Schnitzer, 1993; Schulten y Sorge, 1995)  
Tomada de: Sales, 2006

**Huminas:** Fracción del humus más resistente a la descomposición que no es soluble, ni en ácido, ni en sustancias alcalinas, debido a que contiene polímeros con anillos quinónicos y fenólicos (Stevenson, 1982; Jaramillo, 2002).

### 5.2.5 Extracción de las fracciones húmicas del suelo y relación E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>

Para extraer las fracciones húmicas se emplean sales neutras y bases como tetraborato, pirofosfato e hidróxido de sodio; de esta forma se minimizan las posibles transformaciones en la estructura de las sustancias húmicas por polimerización y la presencia de sustancias no húmicas (Kononova, 1982; Stevenson, 1982; citados por Zamboni *et al.*, 2006):

**Tetraborato de sodio:** Permite diferenciar enlaces electrostáticos, que son defácil rompimiento por simple intercambio iónico de las sustancias órgano-minerales móviles; las sustancias extraídas constituyen una fracción de peso molecular relativamente bajo.

**Pirofosfato de sodio:** Rompe los enlaces que establecen la unión materia orgánica-arcillas.

**Hidróxido de sodio:** Rompe casi todos los enlaces órgano-minerales.

Un parámetro frecuentemente empleado en la caracterización de las sustancias húmicas es la relación entre las absorbancias a 465 y 665nm, conocida como relación  $E_4/E_6$ . El procedimiento para su determinación fue descrito por Chen *et al.* (1977) (citado por Izquierdo, 2004). Esta relación suele tener un valor menor de cinco en los AH (3,0-5,0) y mayor de cinco en los AF (6.0-8.5). Puede establecerse una relación inversa entre la relación  $E_4/E_6$  y el tiempo medio de residencia del material húmico (Stevenson, 1994).

Según Kononova (1996)(citada por Izquierdo, 2004) existe una relación inversa entre la relación  $E_4/E_6$  y el grado de condensación aromática en las SH, por lo que se puede emplear como un índice de humificación:

**$E_4/E_6$  bajo:** Señala un alto grado de condensación (mayor complejidad, mayor evolución de humus), se indica la presencia de proporciones relativamente altas de estructuras aromáticas.

**$E_4/E_6$  alto:** Señala un menor tiempo de residencia (menor complejidad, menor evolución de humus), indicando que las sustancias contienen mayor número de cadenas alifáticas, con mayor contenido de grupos funcionales.

### 5.3 Actividad enzimática del suelo

La salud del suelo se basa en la eficiencia de los procesos fisiológicos de los microorganismos, cuando un sustrato complejo llega a un ambiente particular, aguas, suelos, aire, comienza a degradarse, por ello es frecuente realizar estudios con base en los ciclos biogeoquímicos de los distintos elementos, como en las transformaciones microbianas de la

materia orgánica y mineral donde se identifican procesos simultáneos (Frioni, 2006), la actividad de diferentes enzimas se ha utilizado como indicador de estos procesos (Henríquez *et al.*, 2014).

Las enzimas son moléculas de naturaleza proteínica producidas por los seres vivos, se encargan de acelerar y hacer posibles las reacciones bioquímicas (Montejo *et al.*, 2012). La mayoría de las enzimas del suelo son de origen microbiano, aunque pueden proceder de raíces vegetales, muchas mantienen su efecto catalítico aún después de muertas las células (De la Rosa, 2008; García *et al.*, 2003). No se pueden extraer fácilmente, pocas veces son aisladas en forma pura, ya que se encuentran inmovilizadas con arcillas y el humus.

La AE fluctúa como las poblaciones microbianas bajo condiciones bióticas y abióticas, es particularmente alta en suelos productivos con abundante MO, además factores como la humedad, temperatura, aireación, cambios estacionales, prácticas de manejo, etc., fomentan su presencia y abundancia. Para analizar su actividad, generalmente agregando un antiséptico, como el tolueno, se logra en parte detener la proliferación microbiana durante el período de incubación y pueden evaluarse las enzimas liberadas por los microorganismos, plantas y animales, realmente son actividades potenciales evaluadas en el laboratorio, bajo condiciones controladas (Frioni, 2006).

### **5.3.1 Enzimas implicadas en el Ciclo del Carbono**

El carbono es uno de los elementos fundamentales para la vida en la Tierra, se encuentra presente en la atmósfera, plantas, animales, combustibles fósiles, rocas, disuelto en los océanos y en el humus (Frioni, 2006). El ciclo de este elemento se puede entender con base en los procesos que implican la transformación del dióxido de carbono en materia orgánica y el retorno de este carbono fijado a través de la fotosíntesis a su forma mineral. Los residuos orgánicos son descompuestos por microorganismos y enzimas del suelo, parte del carbono regresa a la atmósfera como CO<sub>2</sub> (Paz, 2006).

Las enzimas del suelo más importantes involucradas en el ciclo del carbono son la celulasa, la β-glucosidasa, la invertasa, la lacasa, la peroxidasa, (Piotrowska-Dlugosz, 2020), así como la galactosidasa (Adetunji *et al.*, 2017), la importancia en el suelo de las enzimas consideradas en este estudio se puede ver en el Cuadro 2.

Enzima	Sustrato	Producto transformado	Importancia en el suelo
$\beta$ -glucosidasa	Celobiosa	glucosa y fructosa	Reacción que cataliza: Glucósido + H <sub>2</sub> O ROH + glucosa. Proceso final de degradación de celulosa, los productos de su actividad hidrolítica representan un aporte de energía importante para los microorganismos del suelo. Su actividad está correlacionada con el contenido de carbono orgánico del suelo. Indicador de calidad.
Invertasa	Sacarosa	glucosa y fructosa	Descomposición de hojarasca, generalmente proviene de los microorganismos y de los exudados radiculares. Hidroliza los fructofuranósidos, dando lugar a una molécula de $\beta$ -D-fructofuranosa (fructosa) y una de (+) glucosa, siendo la (-) fructosa uno de los compuestos orgánicos más abundante en los suelos y en la naturaleza
Celulasa	Celobiosa	Glucosa	Hidrólisis de enlaces glucosídicos $\beta$ 1-4, Estabiliza la matriz del suelo, descomposición de hojarasca.
$\beta$ -galactosidasa	Lactosa	galactosa	Reacción que cataliza: Galactósido + H <sub>2</sub> O ROH + galactosa. Estabiliza azúcares de bajo peso molecular. Puede establecerse como un parámetro del efecto contaminante sobre la microflora y del suelo en general.

**Cuadro 2.** Enzimas implicadas en el ciclo del carbono consideradas en este estudio y su importancia en el suelo.

Fuente: Paz (2006), García *et al.*, (2003), Adetunji *et al.*, (2017)

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Zonas de estudio

#### 6.1.1 Xochimilco y San Gregorio Atlapulco

El Área Natural Protegida (ANP) Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco se localiza en el centro sureste de la Ciudad de México (Coordenadas geográficas extremas: 19° 15' 11" y 19° 19' 15" LN y 99° 00' 58" y 99°07' 08" LW. Coordenada Central aproximada: 19°17' LN 99°04' LW), concentra una superficie de 2657ha. San Gregorio Atlapulco es un pueblo ubicado en la Ciudad de México y pertenece a la alcaldía Xochimilco, aún conserva espacios dedicados a la producción de hortalizas en las chinampas, pero también cuenta con parcelas agrícolas en el cerro y en el ejido para la siembra. Al Norte y Este colindan con las alcaldías Iztapalapa y Tláhuac y al Noroeste con las de Coyoacán y Tlalpan (FIR, 2004).

**Vegetación:** En el ANP se encuentran 3 tipos de vegetación: acuática y subacuática, halófila y terrestre. La vegetación acuática y subacuática (Cuadro 3) se encuentra en cuerpos de agua permanentes de canales, en los bordes de los canales, lagos, así como en superficies cubiertas de Ciénegas, zanjas y apantles (SEDEMA, s.f.), principalmente se constituye de hidrófitas libremente flotadoras, relevantes por su utilización para la construcción y acondicionamiento de las chinampas por su eficiente crecimiento vegetativo, rizomas, estolones y excelente fijación de sedimento (Novelo y Gallegos, 1988). La vegetación halófila, se compone de un pastizal bajo y denso que se distribuye en terrenos propensos a inundaciones someras, en suelos salinos, alcalinos y mal drenados, así como sitios donde se han desarrollado actividades agrícolas (SEDEMA, s.f.), dominan gramíneas que se reproducen vegetativamente por rizomas y estolones (Rzedowski, 2001). Finalmente la vegetación terrestre (Cuadro 3), se representa de especies leñosas ubicadas a la orilla de los canales (SEDEMA, s.f.).

Tipo de vegetación	Especie (nombre común)
Acuática y subacuática	<i>Scirpus americanus</i> (zacatule), <i>Eleocharis macrostachya</i> (junco, jaboncillo), <i>Eichhornia crassipes</i> (huachinango), <i>Berula erecta</i> (berro), <i>Cuphea angustifolia</i> (atlanchán); <i>Lythrum vulneraria</i> (hierba del cáncer); <i>Phragmites australis</i> (carrizo), <i>Pistia stratiotes</i> (lechuga de agua), <i>Bidens laevis</i> (altamisa), <i>Sagittaria macrophylla</i> (papa de agua), <i>Nyphaea mexicana</i> (ninfa), <i>Ranunculus cymbalaria</i> (oreja de ratón), <i>Thypha domingensis</i> (tule), <i>T. latifolia</i> (tule), <i>Bidens aurea</i> (té de milpa amarillo), <i>Jaegeria bellidiflora</i> (cerbatana), <i>Polygonum amphibium</i> (achilillo), <i>P. lapathifolium</i> (chilillo), <i>P. punctatum</i> (lengua de vaca), <i>Lilaeopsis schaffneriana</i> (cebollin), <i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (paragüitas), <i>H. verticillata</i> (malacate)
Halófito	<i>Distichlis spicata</i> (zacate salado) y <i>Eragrostis obtusiflora</i> (zacahuixtle), <i>Atriplex linifolia</i> (chamizo), <i>A. muricata</i> (chamizo), <i>Sporobolus pyramidatus</i> (pasto niño) y <i>Suaeda mexicana</i> (romerito).
Terrestre	<i>Salix bonplandiana</i> (ahuejote), <i>Taxodium mucronatum</i> (ahuehuete), <i>Salix babylonica</i> (sauce llorón), <i>Cassuarina equisetifolia</i> (casuarina), <i>Eucaliptus</i> spp. (eucalipto) y <i>Fraxinus udhei</i> (fresno), <i>Erythrina americana</i> (colorín), <i>Casuarina equisetifolia</i> (causarina), <i>Araucaria heterophylla</i> (araucaria), <i>Dodonaea viscosa</i> (chapulixtle).

**Cuadro 3.** Especies descritas de vegetación acuática, subacuática y terrestre  
Elaboración propia con información de Novelo y Gallegos (1988), Rzedowski (2001), y FIR (2004).

**Geología y geomorfología:** El sistema lacustre del ANP se ubica fisiográficamente en la provincia del Eje Neovolcánico, Subprovincia de Lagos y Volcanes de Anáhuac, en el extremo sur de la Cuenca de México. Donde se han depositado materiales volcánicos, aluviales y orgánicos, estos últimos dominan en el área, y son origen de la planicie de la cuenca y la llanura lacustre. Dentro del área montañosa se encuentran los cerros Xochitepec y Cantil, así como los volcanes Teoca, Zompole y Teutli (FIR, 2004).

**Hidrología:** Se estima una longitud aproximada de 203 km de canales conectados entre sí; entre los más importantes se encuentran Cuemanco, Nacional, Chalco, Del Bordo, Apatlaco, San Sebastián, Ampampilco, Texhuilo, Zacapa, Caltongo, Santa Cruz y Japón. Las lagunas principales son Caltongo, Del Toro y el lago de Conservación de Flora, Fauna y Acuacultura de San Gregorio Atlapulco. Actualmente los canales y lagunas son alimentados artificialmente con agua tratada de las plantas del Cerro de la Estrella, cuyo aporte es de 1 m<sup>3</sup>/s; San Luis Tlaxialtemalco aporta 0.225 m<sup>3</sup>/s; además de la planta de San Lorenzo Tezonco (FIR, 2004). En la parte más al sur se encuentra la sierra del Chichinautzin, donde se forman los ríos San Lucas, Santiago, San Gregorio, San Buenaventura y Ameca, los cuales drenan agua residual y pluvial hacia el norte. Los dos primeros alimentan a la presa San Lucas Xochimaca, mientras que los tres restantes al lago de Xochimilco (zona urbana) (Navarrete *et al.*, 2013).

**Suelos:** En general presentan un alto contenido de materia orgánica, son de colores oscuros, influenciados por la presencia de un manto freático cercano; son suelos profundos, y discontinuos, debido a que se construyeron como pequeños islotes rodeados de agua; algunos autores clasifican a estos suelos como Antrosoles por el proceso de formación de las chinampas y la influencia humana (FIR, 2004), actualmente se reconocen como Antrosoles Terrícos (Krasilnikov *et al.*, 2011). Asimismo, se encuentran suelos de tipo Andosol y Solonchak. El suelo tipo Andosol es de origen volcánico, constituido principalmente de ceniza con alto contenido de alófono, que le confiere ligereza y untuosidad. Tiene un color oscuro y alta capacidad de retención de humedad, se ubican en la zona lacustre, en donde predominan sedimentos arcillosos con arenas de grano fino, con alrededor del 50 % de cenizas volcánicas, con texturas que van de arenosas hasta limo-arcillosas. Los suelos tipo Solonchak se caracterizan por un alto contenido de sales. En las proximidades de la zona chinampera, llamada zona de transición, los suelos son de tipo aluvial, a lo largo de una franja que corre de Este a Oeste sobre el límite sur del Sistema, se componen de grava y arenas gruesas intercaladas con arcillas y pequeñas coladas de basalto (derrames líquidos producidos por erupciones volcánicas), localizados sobre todo al sur del poblado de Santa Cruz Acalpixca (FIR, 2004).

**Uso de suelo:** Los andosoles, generalmente son de bajo rendimiento agrícola, debido a que retienen fósforo y éste no puede ser absorbido por las plantas, además de ser muy susceptible a la erosión eólica. Para los suelos Solonchak, el uso es principalmente pecuario especialmente ovino, dependiendo del tipo de pastizal, usualmente tiene bajo rendimiento, su empleo agrícola se

halla limitado a cultivos resistentes a sales o donde se ha disminuido la concentración de salitre por medio del lavado del suelo (PDDS, 2007). El uso de suelo de conservación se incluyen Áreas Naturales Protegidas (2657.08 ha), Preservación Ecológica (2631.33 ha), poblados rurales (980.82 ha), equipamiento (180.18 ha), población rural agroindustrial (2337.83ha), asentamientos humanos (914.94 ha) y zonas arqueológicas (310.62 ha). El 13.93 % se utiliza para la agricultura de riego eventual, 53.76 % para la agricultura de riego temporal, 2.11 % corresponde a bosques de pino y 0.22 % a pastizal inducido (INEGI, 2010, citado en Atlas de peligros y riesgos de la CDMX, 2014).

### 6.1.2 Tláhuac

La alcaldía Tláhuac se localiza al suroeste de la Ciudad de México, colinda al norte y noreste con la alcaldía Iztapalapa, al oriente con el municipio Valle de Chalco Estado de México, al poniente con la alcaldía de Xochimilco y al sur con la alcaldía Milpa Alta, geográficamente está situada entre los paralelos 19°20' y 19°12' LN, y los meridianos 98°56' y 99°04' LW. La zona de los Humedales en Tláhuac (reserva ecológica), cuenta con alrededor de 800 hectáreas; se ubica en la carretera Tláhuac-Chalco. Forma parte de los pocos restos de hábitat húmedo dentro del Valle de México; refugio de aves migratorias provenientes de Norteamérica, así como de especies nativas de estas zonas (Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México Distrito Federal, s.f.). En la parte poniente comparte con Xochimilco el Área Natural Protegida (ANP) "Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco", está integrada por un polígono con una superficie de 2555 ha de la zona lacustre y chinampera, de las cuales 35 ha pertenecen a la alcaldía Tláhuac (PDDU, 2008)

**Vegetación:** Entre la flora acuática se puede encontrar *Eichhornia crassipes* (lirio acuático), *Lemna valdiviana* (chichicastle) y *Nymphaea mexicana* (ninfa) (PDDU, 2008), tulares y juncos (*Thypha latifolia* y *Scirpus americanus*) (Binnquist-Cervantes, 2021). En el lago de los Reyes, se pueden encontrar de manera más abundante durante todo el año: *Lemna gibba* (aclasole), *Ceratophyllum demersum* (achorizo), *Berula erecta* (berro), *Hydrocotyle ranunculoides* (tepalacate) *Polygonum punctatum* (chilillo), (Rzedowski y Rzedowski, 1990, Bonilla y Novelo, 1995; citados por Miranda-Arce *et al.*, 2018). En los márgenes del humedal se

ubican las “tablas” franjas de tierra cultivada de 1,000 metros de largo por 500 de ancho) en las cuales se produce el romerito, brócoli, avena y maíz (Binnqüist-Cervantes, 2021).

**Geología y geomorfología:** Se localiza en la Cuenca del Valle de México, la región fisiográfica de la Altiplanicie Mexicana, dentro del eje Neovolcánico Transmexicano. Hacia el norte se encuentra la Sierra de Santa Catarina, la cual está constituida por un grupo de conos cineríticos, las rocas que predominan son basaltos y andesitas. Hacia el sur se encuentra el volcán Teuhtli con altura de 2,700 msnm (PDDU, 2008).

**Hidrología:** Tláhuac pertenece a la Región Hidrológica del Pánuco, a la cuenca del río Moctezuma y a la subcuenca del lago de Texcoco-Zumpango. En el extremo sureste de la alcaldía se encuentra una zona de inundación permanente llamada Ciénega de Tláhuac-Xico, que representa una importante reserva ecológica, en colindancia con la colonia La Habana y San Miguel Xico, correspondiente al Municipio Valle de Chalco, Estado de México. Dentro del territorio de la alcaldía fluyen cuatro canales: Chalco, Guadalupano, Atenayuca y Amecameca, siendo los dos primeros de gran importancia para la zona chinampera (PDDU, 2008). En el barrio de los Reyes, se encuentra El Lago de los Reyes, inmerso en una zona lacustre que constituye un cuerpo de agua de aproximadamente 1.9 hectáreas; el más extenso del sistema de canales y chinampas de Tláhuac (Miranda-Arce *et al.*, 2018), importante por ser el último vestigio de lo que fue el Valle de México en tiempos de los mexicas.

**Suelos:** Solonchack mólico: presenta una capa oscura en la superficie rica en materia orgánica con manchones de sal en la superficie, textura de migajón arenosa, alta porosidad, reacción alcalina. Principalmente se encuentran en terrenos ejidales de Santa Catarina y San Francisco Tlaltenco. Solonchack gleyico: tiene un alto contenido de sales en todo el perfil y permanece en condiciones anaeróbicas. Principalmente se encuentran en terrenos ejidales de San Pedro Tláhuac y San Francisco Tlaltenco. Feozem háplico: presenta una capa superficial oscura, suave, rica en materia orgánica, es común encontrarlo en donde se desarrolla cualquier tipo de vegetación, en general se presenta en el área cubierta por pastizales en zonas urbanas en las Colonias Arboledas, Zapotitlán, Del Mar, Los Olivos, La Nopalera, Zapotitla, La Estación, Villa Centroamericana, y en los pueblos Tlaltenco, Tláhuac, San Juan Ixtayopan y Tetelco (PDDU, 2008).

**Uso de suelo:** El suelo de conservación está representando por 66.49 % del total de la superficie, en tanto que el suelo urbano ocupa el 33.50% (PDDU, 2008). Dentro del suelo de

conservación el 61.32% es de uso agropecuario; el 4.55% es de pastizal y tan solo un 0.62% de bosque (Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México Distrito Federal, s.f.). Sus suelos agrícolas de carácter salino son un almacén natural para el almacenamiento de carbono para mitigar los efectos de gases de invernadero del oriente de la Ciudad de México (Binnqüist-Cervantes, 2021).

## **6.2 Muestreo**

Se trabajó con 17 muestras de suelo superficiales (0-40 cm), colectadas en las áreas chinamperas de Tláhuac, San Gregorio Atlapulco (SGA) y Xochimilco que formaron parte del proyecto PAPIIT IN218512-3- *Índices de calidad en suelos de humedal de Tláhuac, Xochimilco y San Gregorio Atlapulco* (Arreguin, 2013; Arroyo, 2013).

El muestreo fue sistemático a distancias equidistantes de 500 m, con base en los programas QGis y Google Earth, donde se utilizaron mapas y cuadrículas vectoriales para obtener la ubicación geográfica del sitio y las coordenadas de cada punto de muestreo, con esto se delimitó el área de estudio y aseguró el reparto homogéneo de las muestras. En cada zona se seleccionaron dos sitios con uso agrícola, dos con uso de pastizal y dos abandonados (Figura 5, Cuadro 4), se tomaron 5 muestras en cada chinampa, una en cada esquina del terreno y una en el centro, dentro de un rango de 80 a 100 m de longitud.



**Figura 5.** Ubicación del muestreo de suelo analizado. Xochimilco (rojo), San Gregorio Atlapulco (verde), Tláhuac (amarillo).

Clave de lamuestra	Localidad	Uso	Latitud N	Longitud O
F14	San Gregorio	Pastizal ( <i>Cynodon dactylon</i> )	19° 16' 37.90"	99° 3' 42.70"
E16	San Gregorio	Pastizal ( <i>Cynodon dactylon</i> )	19° 16' 21.64"	99° 3' 8.43"
E10	Xochimilco	Pastizal ( <i>Cynodon dactylon</i> )	19° 16' 21.61"	99° 4' 51.21"
C11	Xochimilco	Pastizal ( <i>Cynodon dactylon</i> )	19° 15' 49.08"	99° 4' 34.07"
E25	Tláhuac	Pastizal ( <i>Cynodon dactylon</i> )	19° 16' 21.67"	99° 0' 34.26"
F15	San Gregorio	Abandonado	19° 16' 37.90"	99° 3' 25.56"
F13	San Gregorio	Abandonado	19° 16' 37.89"	99° 3' 59.83"
F9	Xochimilco	Abandonado	19° 16' 37.86"	99° 5' 8.35"
G9	Xochimilco	Abandonado	19° 16' 54.13"	99° 5' 8.36"
E23	Tláhuac	Abandonado	19° 16' 21.67"	99° 1' 8.52"
F23	Tláhuac	Abandonado	19° 16' 37.93"	99° 1' 8.52"
B17	San Gregorio	Cultivado (verdolaga y anís)	19° 15' 32.85"	99° 2' 51.20"
C16	San Gregorio	Cultivado (tular: <i>Typha latifolia</i> y <i>Scirpus americanus</i> )	19° 15' 49.11"	99° 3' 8.42"

C9	Xochimilco	Cultivado (lechuga)	19° 15' 49.06"	99° 5' 8.33"
G7	Xochimilco	Cultivado (lechuga)	19° 16' 54.11"	99° 5' 42.62"
E22	Tláhuac	Cultivado(verdolaga)	19° 16' 21.66"	99° 1' 25.65"
E24	Tláhuac	Cultivado (verdolaga)	19° 16' 21.67"	99° 0' 51.39"

**Cuadro 4.** Ubicación geográfica de las muestras.

### 6.3 Trabajo en laboratorio

#### 6.3.1 Extracción de las fracciones húmicas del suelo y evolución de humus

Para procesar las muestras se tamizó el suelo empleando una malla de 2 mm de diámetro. Posteriormente para la extracción y análisis de las sustancias húmicas (SH) se pesaron 5 g de suelo y se utilizó el método de Kononova & Bel'chikova, que consistió en agregar 250 ml de solución Kononova (4g de NaOH + 44.6 g de Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>). El carbono de cada fracción se cuantificó por el método de Walkley y Black (ver anexo 1).

Dentro del método de Kononova se cuantificó el Coeficiente E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> que define la complejidad de los AH, el cual se calcula con el cociente de las absorbancias obtenidas a 465 y 665 nm, las lecturas de absorbancia se hicieron en tubos con AH a una concentración de 0.136 g/l de carbono y CaCl<sub>2</sub> como floculante (ver anexo 1). Con el mismo extracto se hicieron lecturas de absorbancia a varias longitudes de onda desde el rango de 450 a 726 nm, los datos se utilizaron para construir el espectro visible donde una inclinación mayor de la pendiente en la línea obtenida define mayor complejidad de las moléculas. Esto se basa en Kononova (1966) y Schnitzer & Khan (1972) (citados por Theng, 1979), quienes señalaron que la absorción de luz de los AH aumenta al incrementar el contenido de carbono y el peso molecular.

#### 6.3.2 Actividad enzimática

Para evaluar la actividad de las enzimas β-glucosidasa, β-galactosidasa, celulasa e invertasa el suelo se tamizó empleando una malla de 2 mm de diámetro; cada enzima se

cuantificó por triplicado y se comparó con un blanco, mediante métodos de incubación con sustratos y tiempos específicos dependientes del tipo de enzima. Los métodos usados se basan en leer la absorbancia de las muestras y comparar con curvas patrón (García *et al.*, 2003).

En el Cuadro 5 se encuentran indicados los métodos utilizados, así como las condiciones importantes durante la cuantificación e incubación, mientras que en el Anexo 1 se pueden consultar los métodos desarrollados con base en García *et al.*, (2003) y el Laboratorio de Bioquímica del Instituto de la Ciencia del Suelo y Nutrición de la Planta Florencia, Italia ( $\beta$ -glucosidasa), métodos que han sido modificados de otros autores.

Enzima	Sustrato	Amortiguador Extractante	Temperatura (°C)	Tiempo (horas)	Producto	Referencia
Glucosidasa	p-nitrofenil, $\beta$ -D-glucosidasa (PNG)	MUB pH 6	37	1	p-nitrofenol Glucosa	Modificado de Eivazi y Tabatabai, 1982; Tabatabai, 1988.
Invertasa	Glucosa en disolución	Tampón ácido-acético fosfato pH 5.5	37	3	Glucosa y fructosa	Hoffmann y Pallauf, 1965, modificado por García-Álvarez e Ibáñez, 1994
Celulasa	CMC	Tampón fosfato pH 5.5	37	20	p-nitrofenol	Pancholy y Rice, 1973, modificado por García-Álvarez e Ibáñez, 1994
Galactosidasa	p-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido	MUB pH 6	37	1	p-nitrofenol	Eivazi y Tabatabai, 1988

**Cuadro 5.** Métodos utilizados para cuantificar la actividad enzimática en suelos con diferentes usos de SGA, Xochimilco y Tláhuac.

**MUB** (por sus siglas en inglés): Buffer Universal Modificado, **CMC**: carboximetilcelulosa

## 6.4 Análisis estadístico

Las variables utilizadas fueron la evolución o transformación del humus (con base en el porcentaje de carbono en las SH, índice  $E_4/E_6$ , floculación de humato sódico) y la actividad enzimática (medida con base en colorimetría). Con el Software Estadístico InfoStat versión 2020 (estudiantil) se realizó una prueba de ANOVA que previamente cumplió con los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilks) y homocedasticidad de varianzas (prueba de Levene), se realizaron transformaciones logarítmicas cuando estos supuestos no se cumplieron. Se corroboró que las varianzas son homogéneas, los errores fueron independientes y están distribuidos normalmente.

Adicionalmente para la comparación de medias se utilizó una prueba de Tukey para definir si existieron diferencias estadísticas significativas en el proceso de evolución de humus y la AE con respecto al uso de suelo y la ubicación geográfica. El nivel de confianza utilizado fue del 95% ( $\alpha = 0.05$ ).

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Humus

#### 7.1.1 Porcentaje de MO y porcentaje de Carbono en las sustancias húmicas

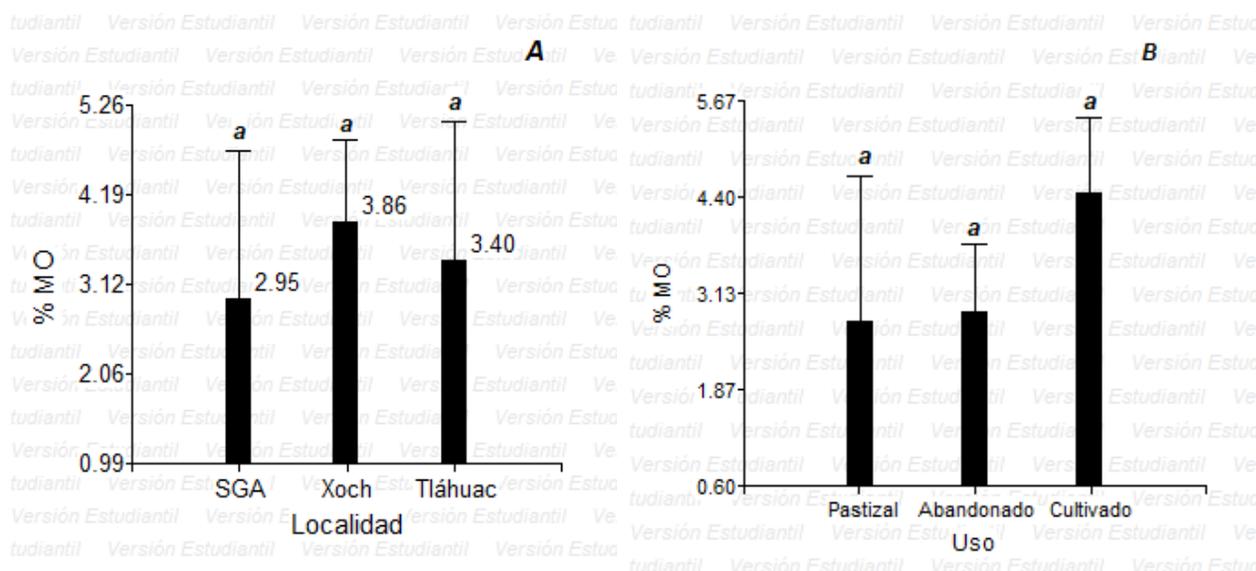
El porcentaje de MO (Cuadro 6) varió de contenidos medios a altos de acuerdo con la (NOM-021 SEMARNAT-2000), estos valores son característicos de suelos de chinampa, derivado del manejo, por la incorporación de abonos orgánicos, propiciando una buena fertilidad (Reyes-Ortigoza *et al.*, 2015). Comparando las medias de uso de suelo y localidad no se encontraron diferencias significativas (Tukey  $P < 0.05$ ), sin embargo, se puede observar que los suelos cultivados tienen mayor porcentaje de MO, y de acuerdo a la ubicación geográfica los suelos de Xochimilco (Figura 6).

Los promedios del porcentaje de Carbono (% C) de la fracción de los AF con respecto a la ubicación geográfica mostraron diferencias significativas (Tukey  $P < 0.05$ ; Figura 7A), Tláhuac fue la localidad con mayor % de C en AF, aunque presentó una proporción similar de huminas. Para el caso de AH y huminas no hubo diferencias significativas (Cuadro 6, Figura 7). De acuerdo con los promedios obtenidos, en las chinampas de SGA predominaron los AH y proporciones similares de las otras fracciones húmicas (AF y huminas), en Tláhuac fueron mayores los contenidos de AF y huminas, mientras que en Xochimilco hubo mayor % de C en huminas. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en el % de C en las fracciones húmicas asociado al uso de suelo, como puede observarse en la Figura 7 las proporciones de C de las SH son similares, no obstante, hubo proporciones importantes de C en AH; Reyes-Ortigoza (2019) plantea que los altos contenidos de carbono se atribuyen a la incorporación de estiércoles y compost, como sucede en la construcción tradicional de las chinampas.

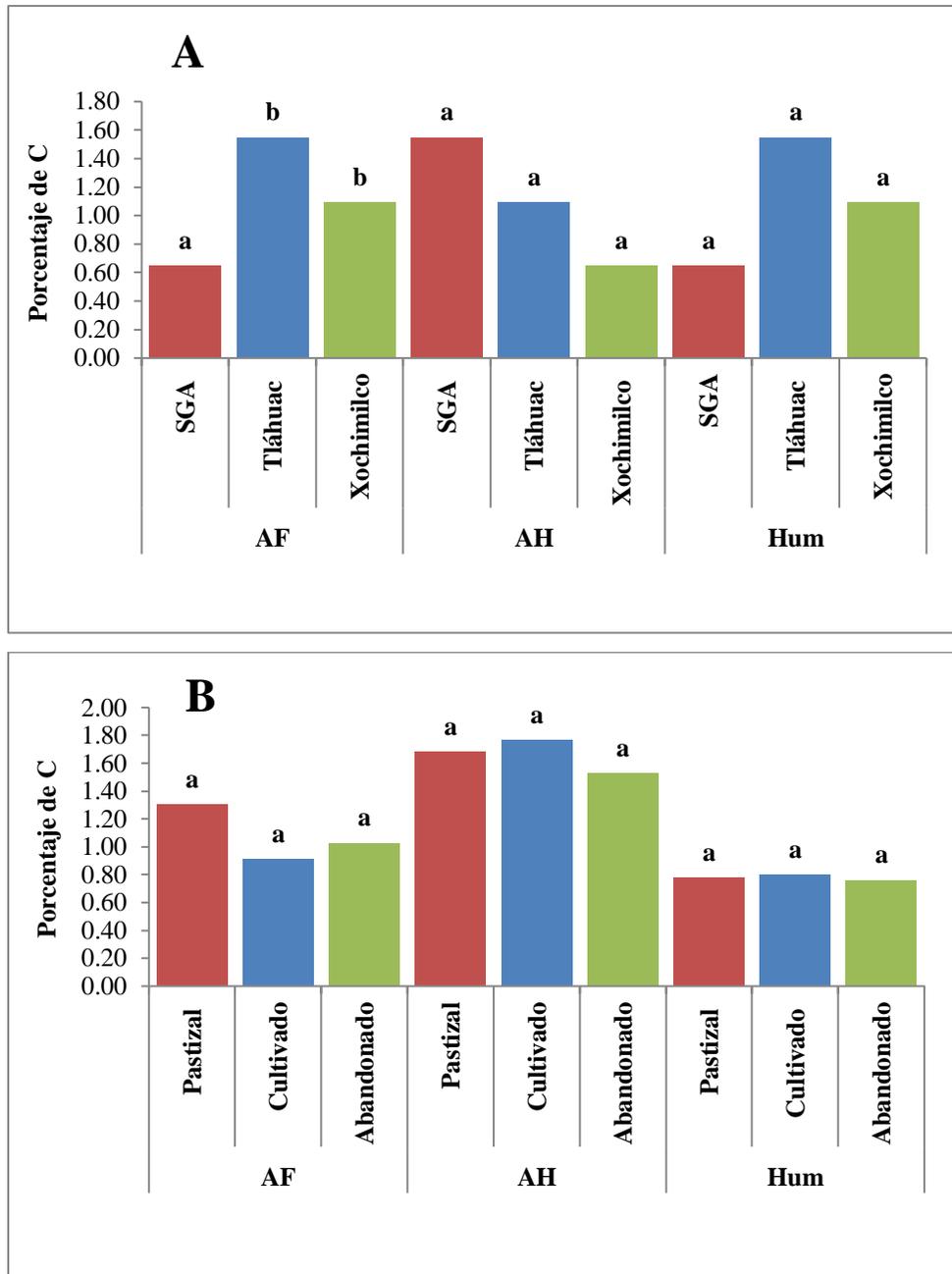
Clave de muestra	Localidad	Uso	% MO	Descripción	% C AH+AF	% C AH	% C AF	% C Hum
E16	SGA	Pastizal	2.11	Medio	1.62	0.43	1.20	0.48
F14	SGA	Pastizal	0.78	Bajo	0.60	0.46	0.14	0.18
F13	SGA	Abandonado	1.63	Medio	1.25	0.85	0.40	0.37
F15	SGA	Abandonado	3.97	Alto	3.06	2.40	0.67	0.91
B17	SGA	Cultivado	4.11	Alto	3.17	2.56	0.61	0.94
C16	SGA	Cultivado	5.08	Alto	3.92	3.03	0.89	1.17
E10	Xoch	Pastizal	4.11	Alto	3.17	2.14	1.03	0.94
C11	Xoch	Pastizal	4.54	Alto	3.50	2.37	1.13	1.04
F9	Xoch	Abandonado	2.65	Medio	3.96	2.68	1.28	1.18
G9	Xoch	Abandonado	3.68	Alto	2.32	0.92	1.40	0.69
C9	Xoch	Cultivado	5.14	Alto	2.04	1.24	0.81	0.61
G7	Xoch	Cultivado	3.01	Medio	2.84	1.94	0.90	0.85
E25	Tláhuac	Pastizal	2.23	Medio	4.21	3.02	3.02	1.25
E22	Tláhuac	Cultivado	3.96	Alto	2.31	1.35	0.96	0.69
E24	Tláhuac	Cultivado	5.46	Alto	1.82	0.49	1.33	0.54
E23	Tláhuac	Abandonado	3.00	Medio	3.05	1.97	1.08	0.91
F23	Tláhuac	Abandonado	2.36	Medio	1.72	0.37	1.35	0.51

**Cuadro 6.** Resultados del porcentaje de MO y C en fracciones húmicas de SGA, Xochimilco y Tláhuac.

% C: porcentaje de carbono, **AH**: ácidos húmicos, **AF**: ácidos fúlvicos, **Hum**: huminas. **AH+AF**: ácidos húmicos y ácidos fúlvicos. **SGA**: San Gregorio Atlapulco, **Xoch**: Xochimilco. De acuerdo a la NOM-021 SEMARNAT-2000, los porcentajes de MO se describen como: **Muy bajo**(< 0.5); **Bajo** (0.6 - 1.5); **Medio**(1.6 -3.5); **Alto**(3.6- 6.0); **Muy alto**(> 6.0).



**Figura 6.** Gráficas del porcentaje promedio de MO en suelos de chinampa **A**: localidad, **B**: uso de suelo. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey  $p > 0.05$ ), las barras de error señalan intervalo de confianza.



**Figura 7.** Gráficas de los promedios del porcentaje de carbono (% C) en las fracciones húmicas con respecto al uso de suelo y ubicación geográfica.

**A:** localidad; **B:** uso de suelo, **SGA:** San Gregorio Atlapulco, **AF:** ácidos fúlvicos, **AH:** ácidos húmicos, **Hum:** huminas. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey  $p > 0.05$ ).

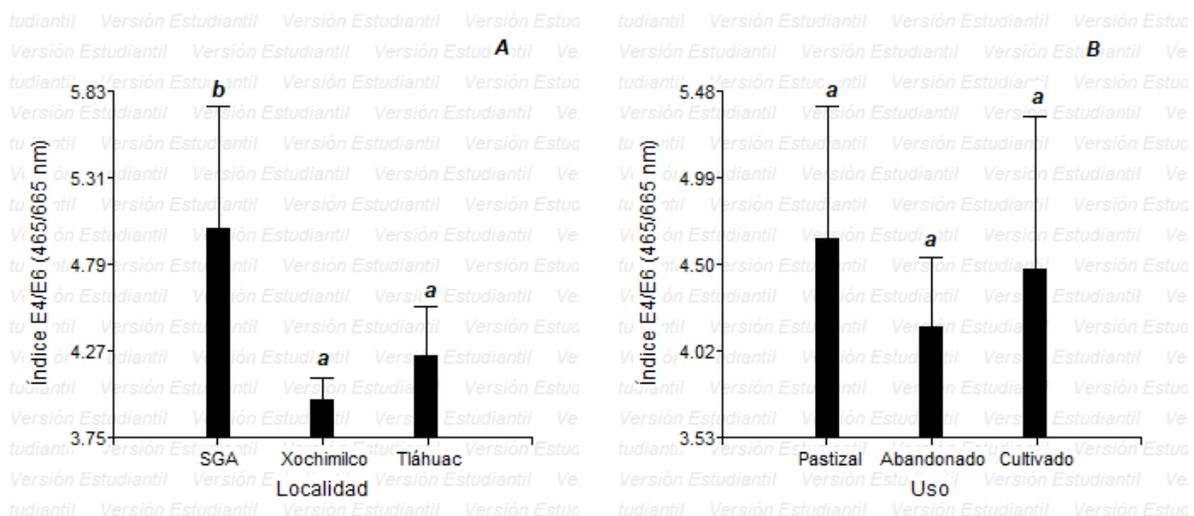
### 7.1.2 Coeficiente $E_4/E_6$ (465 /665 nm)

Con base en el índice  $E_4/E_6$  la complejidad o evolución de las sustancias húmicas no mostraron diferencias estadísticas significativas en cuanto al uso de suelo (Tukey  $P>0.05$ ), sin embargo los índices  $E_4/E_6$  más altos (5.06-5.86) correspondieron a chinampas de pastizal (E16, F14) y cultivados en SGA (B17, C16) (Cuadro 7). De acuerdo a los promedios, la ubicación geográfica mostró diferencias encontrándose los índices más altos en SGA ( $>4.5$ ) y de acuerdo al uso, los suelos de pastizal ( $>4.5$ ) (Tukey  $P<0.05$ , Figura 8, Cuadro 6). Según Schinitzer (1967) (citado por Montoya *et al.*, 2013) los índices con valores  $>5$  distinguen a los AF, mientras que valores menores corresponden a AH, considerando esto, en las chinampas de SGA, con cultivos y con pastizal predominan AH (Figura 8), por lo tanto el humus es más evolucionado y con mayor complejidad, Nambo (2016), también reporto que los suelos con vegetación de pastizal tuvieron mayor complejidad del humus, añadió que son suelos de origen más antiguo, sin embargo, para el caso de los suelos cultivados y sin manejo existió menor complejidad en las moléculas del humus.

Por otro lado, Hiradate *et al.*, 2004, 2006 (citados por Montoya *et al.*, 2013) señalaron que valores altos en la relación  $E_4/E_6$  reflejan bajo grado de condensación aromática con predominio de estructuras alifáticas (mayor complejidad), cuanto más compleja es la molécula habrá mayor contenido de C, en contraste, si se presenta una relación  $E_4/E_6$  inferior existe la posibilidad de una mayor complejidad y grado de condensación y por tanto habrá menor contenido de C (Huelva-López *et al.*, 2013). El promedio del índice  $E_4/E_6$  resultó bajo en los suelos estudiados, en conclusión los suelos presentan mayor complejidad en las moléculas del humus y mayor contenido de carbono.

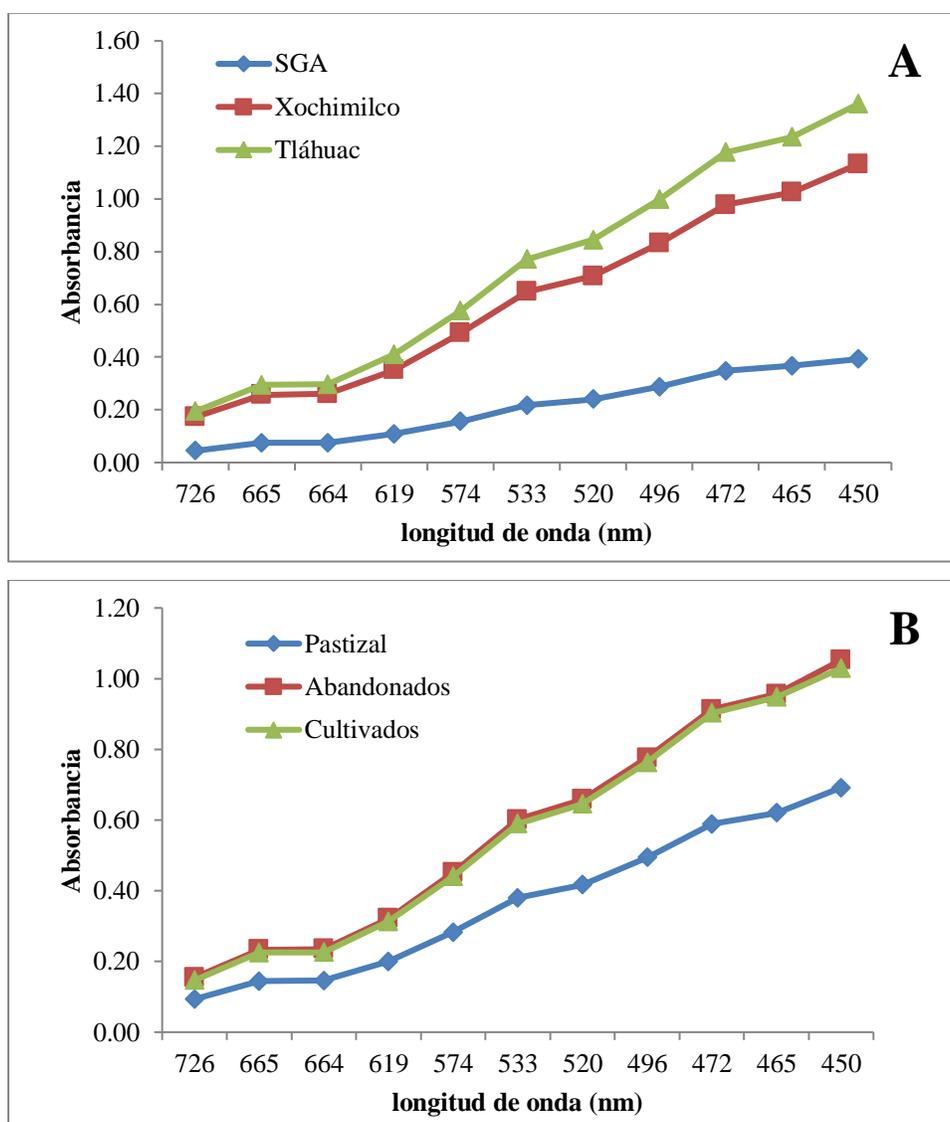
Clave de muestra	Localidad	Uso	Índice E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub> (465/665 nm)
E16	SGA	Pastizal	5.27
F14	SGA	Pastizal	5.24
E10	Xochimilco	Pastizal	4.02
C11	Xochimilco	Pastizal	4.13
E25	Tláhuac	Pastizal	4.6
F13	SGA	Abandonado	4.81
F15	SGA	Abandonado	3.77
F9	Xochimilco	Abandonado	3.91
G9	Xochimilco	Abandonado	3.96
E23	Tláhuac	Abandonado	4.21
F23	Tláhuac	Abandonado	4.24
B17	SGA	Cultivado	5.06
C16	SGA	Cultivado	5.86
C9	Xochimilco	Cultivado	4.05
G7	Xochimilco	Cultivado	3.77
E22	Tláhuac	Cultivado	3.93
E24	Tláhuac	Cultivado	4.19

**Cuadro 7.** Resultados del índice E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> con respecto al uso de suelo y ubicación geográfica



**Figura 8.** Gráficas de los promedios del índice E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> de acuerdo al uso de suelo y la localidad **A:** localidad, **B:** uso de suelo. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey  $p > 0.05$ ), las barras de error señalan el intervalo de confianza.

Con respecto a las gráficas del espectro de luz visible (Figura 9) que representa los promedios de la densidad óptica (absorbancia). La inclinación de la pendiente se asocia con un incremento en el peso molecular, siendo proporcional al grado de humificación y a la maduración de las SH (huminas con mayor peso- más inclinada y AF con menor peso-menor inclinación), es decir, que hay un alto grado de aromaticidad y dobles enlaces conjugados en su estructura. En la Figura 9 se pueden observar pendientes más pronunciadas en suelos de Tláhuac, Xochimilco, abandonados y cultivados, existiendo una mayor complejidad del humus y menor en suelos de SGA y de pastizal.



**Figura 9.** Gráficas del espectro de luz visible (absorbancia) de las SH de acuerdo al uso de suelo y localidad. **A:** Localidad, **B:** Uso de suelo

### 7.1.3 Floculación de humato sódico

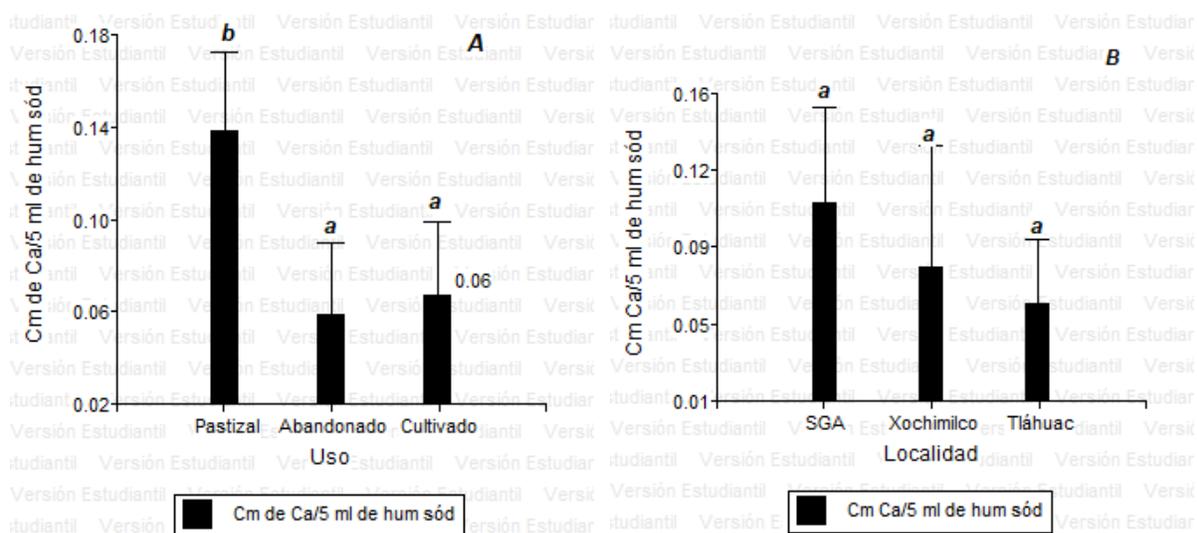
La floculación de humato sódico determinada mediante los Cmoles de Ca/5 ml de humato sódico liberados, no mostraron diferencias significativas en cuanto a la localidad, pero sí en cuanto al uso de suelo. De acuerdo a los promedios en los suelos abandonados y de Tláhuac hay mayor grado de humificación, y menor en suelos de pastizal y de SGA (Figura 10). Se encontró menor grado de humificación en las muestras de suelo de pastizal (E16, F14), abandonado (F13) y cultivado (C16) de SGA, pastizal (E10 y C11) de Xochimilco y en suelo de pastizal (E25) en Tláhuac (Cuadro 8). El grado de humificación descrito para los suelos de chinampa se puede respaldar con lo planteado por Kononova (1982), quien sugiere que entre menor sean los Cmoles de calcio (Ca) liberados (0.0125 a 0.2 Cmoles) que promuevan floculación, mayor es el grado de humificación (ver anexo, Cuadro 10).

Dado que cada sistema forma su propio humus, es de considerarse que cada material orgánico que es incorporado en el suelo de forma natural o artificial dará como consecuencia diferentes grados de humificación, asimismo el proceso se vuelve dependiente del uso de suelo, introducción de nuevas técnicas de cultivo y utilización de fertilizantes artificiales, actividades antropogénicas, provocando cambios en el proceso de humificación a corto y largo plazo Narchi (2013). Un mayor grado de humificación implica que en el suelo ocurra cierto desequilibrio en cuanto a la disponibilidad de nutrientes, para el caso de las chinampas abandonadas y de Tláhuac, podría optarse por un manejo en el que se incorpore materia orgánica fresca, así como el que se da en las chinampas que se utilizarán con fines agrícolas, en donde se promueve la adición continua de enmiendas orgánicas, y material orgánico fresco, ya que según lo observado en los resultados anteriores se mantiene una buena relación entre el proceso de humificación y mineralización para la disponibilidad de nutrientes en el suelo.

Clave de muestra	Localidad	Uso	Cmoles de Ca/5 ml de humato sódico	Grado de humificación
E16	SGA	Pastizal	0.125	Menor
F14	SGA	Pastizal	0.1625	Menor
F13	SGA	Abandonado	0.1125	Menor
F15	SGA	Abandonado	0.0625	Mayor

B17	SGA	Cultivado	0.05	Mayor
C16	SGA	Cultivado	0.125	Menor
E10	Xochimilco	Pastizal	0.125	Menor
C11	Xochimilco	Pastizal	0.1625	Menor
F9	Xochimilco	Abandonado	0.0375	Mayor
G9	Xochimilco	Abandonado	0.0375	Mayor
C9	Xochimilco	Cultivado	0.05	Mayor
G7	Xochimilco	Cultivado	0.05	Mayor
E25	Tláhuac	Pastizal	0.1	Menor
E22	Tláhuac	Cultivado	0.0625	Mayor
E24	Tláhuac	Cultivado	0.05	Mayor
E23	Tláhuac	Abandonado	0.0375	Mayor
F23	Tláhuac	Abandonado	0.05	Mayor

**Cuadro 8.** Resultados del grado de humificación de acuerdo a la floculación de humato sódico



**Figura 10.** Gráficas del promedio de centimoles de Calcio/5ml de humato sódico liberados en las muestras con respecto al uso de suelo y ubicación geográfica.

**A:** Uso de suelo, **B:** Localidad, **Cm** (centimoles), **humsód** (humato sódico). Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey  $p > 0.05$ ), las barras de error señalan el intervalo de confianza.

## 7.2 Actividad enzimática

La actividad enzimática de la  $\beta$ -glucosidasa mostró diferencias significativas en relación a la ubicación geográfica (Cuadro 9, Figura 11, Tukey  $P < 0.05$ ), en la actividad de las otras enzimas estudiadas no se reflejaron diferencias derivado de la ubicación geográfica, asimismo no se encontraron diferencias en la actividad de las enzimas  $\beta$ -galactosidasa, invertasa, celulasa y  $\beta$ -glucosidasa asociada al uso de suelo.

Clave de Muestra	Localidad	Uso	Actividad Enzimática			
			$\beta$ -glucosidasa ( $\mu\text{g PNF g}^{-1}$ suelo $\text{h}^{-1}$ )	Celulasa ( $\mu\text{gCMCg}^{-1}$ suelo $\text{h}^{-1}$ )	Invertasa ( $\mu\text{gsacarosa g}^{-1}$ suelo $\text{h}^{-1}$ )	$\beta$ - galactosidasa ( $\mu\text{g PNF g}^{-1}$ suelo $\text{h}^{-1}$ )
E16	SGA	Pastizal	1.95	0.45	0.58	0.45
F14	SGA	Pastizal	2.05	0.40	0.41	0.67
F13	SGA	Abandonado	2.05	0.39	0.74	0.45
F15	SGA	Abandonado	1.54	0.52	0.38	0.58
B17	SGA	Cultivado	2.74	0.25	0.91	1.55
C16	SGA	Cultivado	1.14	0.47	0.73	1.30
E10	Xochimilco	Pastizal	0.41	0.35	0.44	1.18
C11	Xochimilco	Pastizal	0.76	0.19	0.37	1.36
F9	Xochimilco	Abandonado	0.98	1.16	0.68	0.51
G9	Xochimilco	Abandonado	0.54	0.47	0.72	0.52
C9	Xochimilco	Cultivado	1.05	0.60	0.51	0.59
G7	Xochimilco	Cultivado	1.10	0.40	0.47	0.37
E25	Tláhuac	Pastizal	1.99	0.49	0.73	0.46
E22	Tláhuac	Cultivado	1.58	0.45	0.72	0.65
E24	Tláhuac	Cultivado	0.18	0.47	0.57	0.16
E23	Tláhuac	Abandonado	1.34	0.54	0.66	0.18
F23	Tláhuac	Abandonado	0.86	0.75	0.56	0.18

**Cuadro 9.** Resultados de la actividad enzimática con respecto al uso de suelo y ubicación geográfica. **AE:** actividad enzimática, **CMC:** carboximetilcelulosa, **PNF:** p-nitrofenil-B-D-galactopiranosido.

## **Relación decreciente de la actividad enzimática por uso de suelo**

**Pastizal:**  $\beta$ -glucosidasa >  $\beta$ -galactosidasa > Invertasa > Celulasa

**Abandonado:**  $\beta$ -glucosidasa > Celulasa > Invertasa >  $\beta$ -galactosidasa

**Cultivado:**  $\beta$ -glucosidasa >  $\beta$ -galactosidasa > Invertasa > Celulasa

## **Relación decreciente de la actividad enzimática por ubicación geográfica**

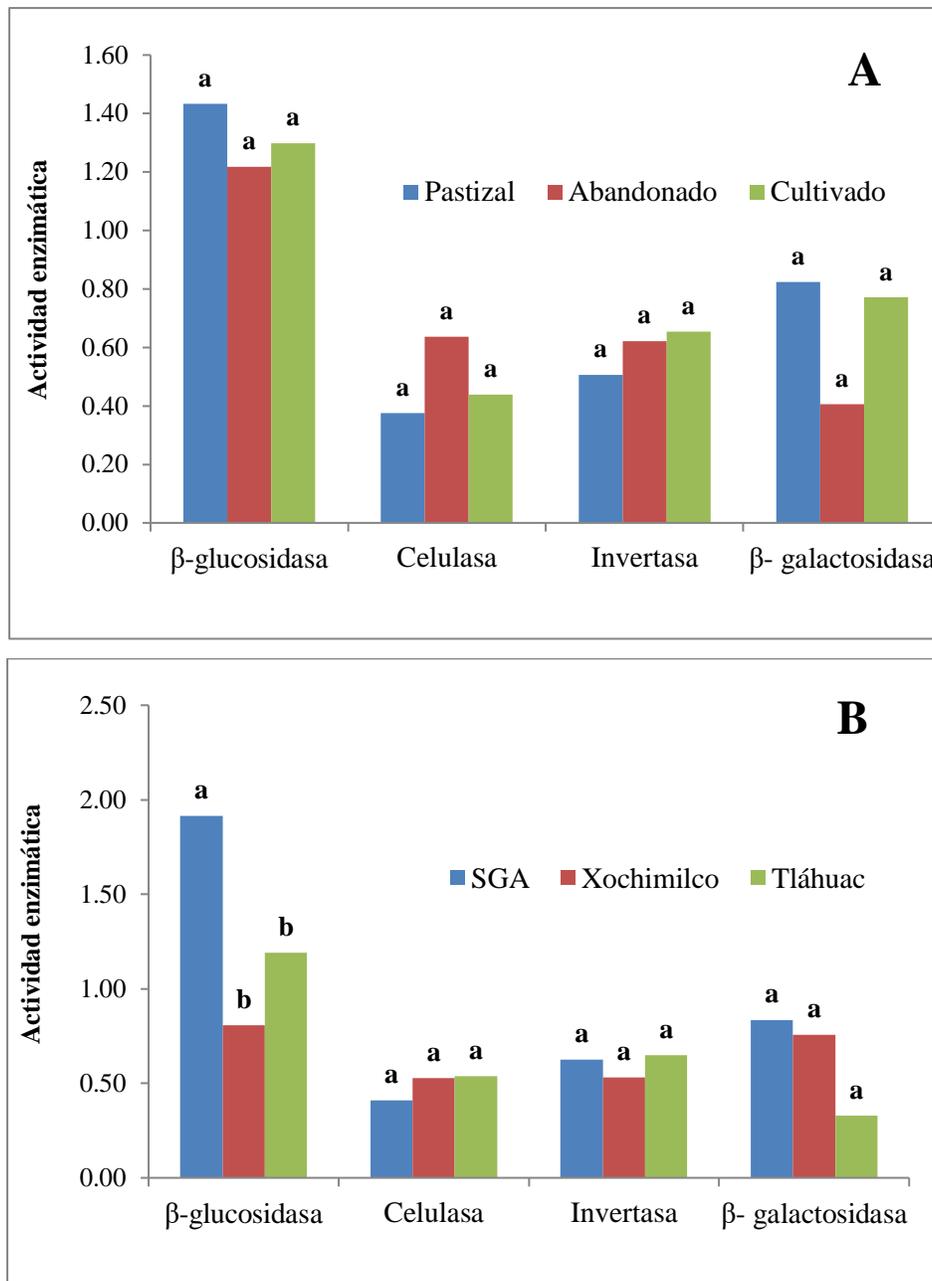
**SGA:**  $\beta$ -glucosidasa >  $\beta$ -galactosidasa > Invertasa > Celulasa

**Xochimilco:**  $\beta$ -glucosidasa >  $\beta$ -galactosidasa > Celulasa > Invertasa

**Tláhuac:**  $\beta$ -glucosidasa > Invertasa > Celulasa >  $\beta$ -galactosidasa

La relación decreciente en cuanto a uso y ubicación geográfica señalan que predomina la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa y  $\beta$ -galactosidasa, principalmente porque las chinampas mantienen una buena proporción de MO, que es relevante en cuanto a fertilidad, actividad biológica, y por ende, buena calidad y salud del suelo. Cuando los suelos se someten a un constante uso de fertilizantes inorgánicos puede repercutir en la AE, Zhang *et al.*, (2015) reportaron que las actividades de la  $\alpha$ - y  $\beta$ -galactosidasa,  $\alpha$ - y  $\beta$ -glucosidasa del suelo cambiaron ante tratamientos orgánicos (estiércol), en un período de 20 años; encontraron que los tratamientos orgánicos aumentan la calidad del suelo asegurando su sostenibilidad, lo cual no sucede en suelos con tratamientos inorgánicos, mencionan que los fertilizantes inorgánicos solos, especialmente en grandes cantidades, resultaron perjudiciales en los suelos. Bajo este escenario, en los suelos de chinampa estudiados las actividades de la  $\beta$ -glucosidasa y  $\beta$ -galactosidasa indican que son suelos con un manejo sostenible sin repercusiones en las transformaciones bioquímicas en el suelo, principalmente en suelos cultivados y de pastizal con mayor actividad potencial de éstas enzimas.

Por otro lado, una disminución de la actividad de la celulasa e invertasa, podrían indicar que no se está incorporando material vegetal fresco, en consecuencia podría verse afectada la actividad bioquímica y disponibilidad de nutrientes del suelo después de un tiempo, debido a la limitada fuente de carbono, sin embargo, más adelante se discutirá cual es el efecto de los distintos manejos y condiciones que repercuten en la actividad de dichas enzimas.



**Figura 11.** Gráficas de los promedios de la AE en suelos con respecto al uso de suelo y ubicación geográfica. **A:** Uso de suelo, **B:** Localidad. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey  $p > 0.05$ )

La actividad de la  $\beta$ -glucosidasa registrada en suelos cultivados fue de  $2.74 \pm 0.18$ , suelos de pastizal  $2.05 \pm 0.41$  y abandonados  $2.05 \pm 0.54$  (Cuadro 9), siendo mayor el promedio en suelos de pastizal (Figura 11) y de SGA, de manera similar Pascual *et al.*, (2000) (citado por García *et al.*, 2003) obtuvieron valores más altos en suelos de pastizal ( $0.384 \pm 0.58$ ), menor actividad en suelos agrícolas ( $0.151 \pm 0.07$ ), y ligeramente más alta en suelos abandonados ( $0.324 \pm 0.09$ ).

Algo a destacar es que hubo una mayor actividad de  $\beta$ -glucosidasa a diferencia de las otras enzimas; se ha planteado que esta enzima persiste tras la desaparición de la microflora (Alkorta *et al.*, 2003), lo que destaca su relevancia en el suelo aún cuando se haya afectado la capacidad biológica, debido a un mal manejo, similarmente Ma *et al.*, (2010), reportan que es más sensible a los diferentes usos de suelo, es decir que su actividad puede disminuir considerablemente si se realiza un mal manejo. Bandick y Dick (1999) encontraron que la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa fue menor en los suelos cultivables que en los bosques y praderas, lo que atribuyeron a la variación de la composición del sustrato y la MO asociada con cada suelo, incrementó su actividad potencial en suelos con mayor MO, también Adetunji *et al.*, (2017) sugieren que la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa está estrechamente relacionada con la materia orgánica del suelo, la actividad biológica y el ciclo del C, y puede proporcionar un signo avanzado de alteraciones en el carbono orgánico cuando disminuye su actividad, puesto que permite la obtención de glucosa que estará disponible en el suelo (para MO y plantas).

Eivazi y Tabatabai (1988), señalaron que de la  $\alpha$  y  $\beta$ -glucosidasa, y  $\alpha$  y  $\beta$ -galactosidasa, la  $\beta$ -glucosidasa fue la más predominante en los suelos; Almeida *et al.*, (2015) reportaron que ésta enzima es abundante en el suelo debido a la gran diversidad de enlaces glucosídicos y las variaciones en sus sustratos, tiene una gran importancia para la descomposición de la glucosa y suministrar energía en los diversos procesos metabólicos que suceden en el suelo. En este sentido, la actividad potencial de la  $\beta$ -glucosidasa sugiere que existe una actividad biológica importante en los suelos de chinampa, indicando un manejo adecuado, facilitando la disponibilidad de energía (glucosa) relevante para los procesos metabólicos que ocurren en estos suelos, sin alterar las reservas de carbono en el suelo, especialmente en los suelos de pastizal ubicados en SGA de acuerdo a la comparación de medias.

En lo que concierne a la actividad de la invertasa, se obtuvieron rangos de  $0.73\pm 0.37$  en chinampas de pastizal, abandonadas  $0.74\pm 0.38$  y cultivadas  $0.91\pm 0.47$ , las chinampas con ubicación en Tláhuac  $0.73\pm 0.56$ , Xochimilco  $0.72\pm 0.37$  y en SGA  $0.91\pm 0.38$ ; los valores más altos se encontraron en suelos cultivados, de Tláhuac y de SGA (Figura 11). Tao *et al.* (2009), señalan que la invertasa se encarga de catalizar la hidrólisis de sacarosa en glucosa y fructosa, y su actividad está vinculada a la biomasa microbiana del suelo, Gu *et al.*, (2019) encontraron que en suelos inundados, la actividad de la invertasa disminuyó significativamente durante 3 días en el período de anegamiento, seguido de un aumento con el tiempo después de la inundación, es

decir que la actividad de la invertasa disminuye por las condiciones anaeróbicas en el suelo que afectan la actividad biológica debido al déficit de oxígeno que provoca el exceso hídrico, como también lo señala Agarwal *et al.*, (2007). Se podría inferir que en las chinampas con mayor actividad de la invertasa (cultivados, de Tláhuac y de SGA) se mantiene una buena capacidad en el suelo para degradar la MO fresca, aún bajo una deficiencia de oxígeno.

La actividad de la celulasa (Cuadro 9) fue de  $0.49 \pm 0.19$  en suelos de pastizal,  $1.16 \pm 0.39$  en suelos abandonados y de  $0.60 \pm 0.25$  en suelos cultivados, por otro lado en las chinampas de Tláhuac se obtuvieron valores de  $0.75 \pm 0.45$ , Xochimilco  $1.16 \pm 0.19$ , y SGA de  $0.52 \pm 0.25$ , y de acuerdo a los promedios su actividad fue más alta en suelos abandonados, de Tláhuac y Xochimilco (Figura 11). Sinegani y Mahohi (2010), mencionan que la AE de la celulasa y la actividad de otras enzimas se relacionan con la condición aeróbica y anaeróbica en el suelo, la aireación inadecuada puede ser un factor inhibitorio en la destrucción de las proteínas enzimáticas. Asimismo, el incremento de la actividad de la celulasa puede estar relacionado con cambios en las condiciones microbianas en el suelo que contribuyen con la degradación de MO, y por la adsorción e inmovilización de enzimas en coloides y de la MO (Safari-Sinegani *et al.*, 2005).

Sinegani *et al.* (2013), encontraron que las variaciones en la AE de la celulasa dependen en gran medida de los cambios de carbono orgánico (CO) en el suelo, la actividad específica incrementó significativamente al aumentar los contenidos de CO. Bajo este escenario, en los suelos abandonados y de Tláhuac, la actividad de la celulasa muestra la importante capacidad del microbioma del suelo para llevar a cabo el ciclo biogeoquímico del carbono, favoreciendo un mayor reservorio de este elemento, a pesar del ambiente inundable en el que se encuentran inmersos éstos suelos. En contraste, una disminución de la AE indica que existe un menor reservorio de C en el suelo y por ende baja actividad de la biomasa microbiana (menor actividad biológica) (Sinigani *et al.*, 2013).

En cierto modo, no se puede expresar que la celulasa tenga menor o mayor actividad, dado que los resultados son muy uniformes en relación a los usos de suelo y la ubicación geográfica, por lo tanto no se puede hablar de un efecto negativo respecto al contenido de carbono ni de la capacidad del microbioma en el suelo, al contrario, se podría sugerir que los suelos mantienen un buen equilibrio en cuanto a procesos como el ciclo biogeoquímico del carbono, humificación y mineralización de la MO, si se toma como referencia la actividad potencial de la celulasa.

La actividad de la  $\beta$ -galactosidasa (Cuadro 9) mostró rangos de  $1.36\pm 0.45$  en chinampas de pastizal,  $0.58\pm 0.18$  abandonadas,  $1.55\pm 0.16$  cultivadas, y en las localidades de Tláhuac  $0.65\pm 0.16$ , Xochimilco  $1.35\pm 0.37$ , y SGA  $1.55\pm 0.45$ , en promedio la actividad potencial de la  $\beta$ -galactosidasa fue más alta en suelos de SGA y de pastizal (Figura 11), estos datos son comparables con los de Ndossi *et al.*, (2020), quienes determinaron que la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa es más alta en pastizales (de montañas bajas), que en suelos agrícolas, puesto que son ecosistemas menos perturbados, entendiendo que los pastizales cumplen la función de proteger el suelo de posibles impactos ambientales y antrópicos, evitando su degradación.

Cabe señalar que la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa es sensible a los contaminantes como los asociados a los suelos de chinampa propiciados por la descarga de aguas negras, en los resultados se puede observar que la media refleja que los suelos de Tláhuac y abandonados tuvieron menor actividad de la  $\beta$ -galactosidasa, sugiriendo que el manejo que ocurre no es el adecuado y la AE posiblemente se ve afectada porque no hay vegetación que de alguna manera recubra el suelo y actúe como un biofiltrador de contaminantes. Sobre este aspecto, Martínez-Iñigo *et al.*, (2009) encontraron que los suelos cultivados con presencia de contaminantes tuvieron mayor actividad de la  $\beta$ -galactosidasa, que en suelos desprovistos de vegetación, es decir que los suelos con vegetación de pastizal, así como los que poseen cultivos proveen cierta protección a los suelos, de manera que para el caso de las chinampas a pesar del nivel de contaminación, el uso de fertilizantes altamente solubles, agroquímicos para el control de plagas y enfermedades que llegan a implementarse, para los suelos cultivados y con pastizales no se dan modificaciones bioquímicas notables.

Otras consideraciones importantes sobre la AE, es que ésta tiene que ver con la MO, dado que un mayor contenido de humus puede facilitar la incorporación de enzimas en el suelo, permitiendo la estabilización de un mayor contenido de exoenzimas, ya que los compuestos de humus son importantes para formar complejos de enzimas en la matriz del suelo (Samuel *et al.*, 2008). Ma *et al.*, (2010), encontraron que existen diferencias en cuanto a la actividad enzimática bajo diferentes usos de suelo, debido al contenido de C orgánico entre los suelos, si se determina mayor proporción de C, implica que exista mayor AE. Por otro lado, las actividades antropogénicas alteran la concentración de C y el ciclo de nutrientes al afectar la actividad microbiana y las propiedades catalíticas de las enzimas como lo indica Ndossi *et al.* (2020). No obstante, en los suelos de chinampa estudiados se presenta una alta proporción de MO, a esto se

atribuye la constante AE, derivado de las enmiendas orgánicas, las técnicas de chapín o en sí las técnicas implementadas para la construcción de las chinampas, las cuales al parecer no han intervenido negativamente, pudiera ser que por eso se observa la AE de manera semejante bajo los tres manejos, demostrando que existe un aprovechamiento sostenible, sin embargo en otro estudio habrá que considerar zonificar las áreas de estudio y describir los tipos de cultivos y los agroquímicos que se implementan para el control de plagas y enfermedades, porque en la literatura se menciona que en ciertas chinampas son utilizados dichos insumos, y repentinamente con el cambio en las técnicas de cultivo, de un cultivo tradicional agroecológico a uno en el que se utilizan pesticidas y fertilizantes artificiales se podrían alterar las propiedades y funciones del suelo y del humedal en sí (Mendoza-Correa, 2018).

Por último en cuanto a la AE como indicador de calidad del suelo, Reyes-Ortigoza (2019), señaló que en las chinampas de Xochimilco, SGA y en chinampas cultivadas hubo mayor AE y menor evolución de humus, lo que indica que las reservas de carbono son menores, en los resultados obtenidos en este trabajo también se observa que las chinampas cultivadas, pero también con pastizales y de SGA presentan mayor AE, evolución de humus, por lo tanto, mayor reserva de carbono y menor degradación química.

## **Recomendaciones para la conservación de la zona e investigaciones futuras**

Con base en la información analizada se hacen las siguientes recomendaciones, entendiendo que se han reportado los suelos de chinampa con un alto contenido de sales, y metales pesados y se ha establecido el mejoramiento a base de enmiendas orgánicas:

En cuanto al uso: implementar el uso agrícola (cultivos) y de pastizal, puesto que presentaron mayor evolución de humus y alta AE lo que incrementa la disponibilidad de nutrientes que pueden ser aprovechados por las plantas, además de presentar una menor degradación química.

Las chinampas abandonadas y de Tláhuac tienen potencial para que se active su productividad o bien para ser utilizadas como refugio, como lo señala Zambrano *et al.*, (2019).

Habría que correlacionar aquellas chinampas con un manejo sostenible y aquellas en las que se utilizan fertilizantes inorgánicos, agroquímicos, ya que a largo plazo este mal manejo puede afectar la capacidad del suelo para almacenar carbono, las propiedades y funciones del suelo y en general del humedal.

En cuanto a las estrategias de mejoramiento: continuar con el plan de mejoramiento con abonos orgánicos (50-80g para hortalizas de hoja, 80-125g para hortalizas de cabeza, 125-250 g para hortalizas de varios cortes) o biofertilizantes (500 ml-1 L de biofertilizante por 20 L) (Zambrano *et al.*, 2014) debido a que no afectan de forma significativa la AE del suelo (indicador de calidad) y se incluye como parte del desarrollo de sistemas sostenibles. En otra investigación, podría sugerirse analizar propiamente los suelos que han sido sujetos a este tipo de enmienda para corroborar esta información.

Se propone realizar periódicamente análisis de la AE y características del humus, debido a que bajo los diferentes usos a los que son destinados los suelos de chinampas, son alteradas sus propiedades bioquímicas, y las metodologías utilizadas en este trabajo marcan una directriz para implementar éste tipo de técnicas que son rápidas, reproducibles, sensibles a los cambios que ocurren a causa de manejos inadecuados y disturbios antropogénicos; los resultados pueden ser contemplados para investigaciones futuras relacionadas a la conservación del suelo chinampero y del humedal.

Asimismo, es necesario analizar otros parámetros como la biomasa microbiana total, la respiración microbiana, el recuento de hongos totales; la densidad de poblaciones de bacterias como las nitrificantes, desnitrificantes y fijadoras de N, ya que también son sensibles a efectos derivados de actividades antropogénicas (Vallejo-Quintero, 2013), como ocurre en las chinampas.

## 8. CONCLUSIONES

Las variables consideradas para definir la evolución de humus, no mostraron diferencias significativas, excepto para el porcentaje de C en AF en chinampas de Tláhuac, infiriendo que en esa localidad particularmente existe menor complejidad del humus (menor evolución).

Hubo efecto en las características químicas del humus en las distintas ubicaciones geográficas, habiendo mayor evolución de humus en SGA y Xochimilco; en SGA se presentó mayor proporción de C en AH y en Xochimilco de huminas.

En cuanto al uso del suelo aunque no hubo diferencias significativas, se encontraron ciertas tendencias, las chinampas cultivadas y de pastizal, tuvieron mayor porcentaje de C en AH reflejando mayor complejidad del humus.

El índice  $E_4/E_6$  mostró que la evolución del humus no difiere en cuanto al uso de suelo, pero sí por la ubicación geográfica. El coeficiente fue más alto en suelos de SGA, con cultivos y con pastizal, en donde predominan AH, por lo tanto el humus es más evolucionado y con mayor complejidad, comportamiento atribuido a la constante incorporación de contenidos de materia orgánica.

La floculación de humato sódico sin diferencias significativas, señaló que en los suelos abandonados y de Tláhuac hay mayor grado de humificación, lo que sugiere un desequilibrio en la disponibilidad de nutrientes. Se encontró menor grado de humificación en suelos de pastizal y de SGA.

La AE de la  $\beta$ -glucosidasa mostró diferencias significativas en cuanto a la ubicación geográfica, su actividad fue alta de SGA, así como en suelos de pastizal. Las actividades de celulasa,  $\beta$ -galactosidasa e invertasa no mostraron diferencias significativas en cuanto a la ubicación geográfica, asimismo derivado del uso de suelo no hubo alteración de la AE. Se encontró que la AE fue ligeramente más alta en suelos cultivados y de pastizal, únicamente la celulasa tuvo mayor actividad en suelos abandonados.

Se observó que las actividades de  $\beta$ -glucosidasa y  $\beta$ -galactosidasa fueron dominantes, de ésta última su actividad disminuyó en chinampas de Tláhuac y abandonadas, sugiriendo que el manejo que ocurre no es el adecuado, dado a los posibles agroquímicos que se pudieran estar implementando, ya que la  $\beta$ -galactosidasa es sensible a los contaminantes.

Con base en la mayor actividad enzimática y la evolución de humus, las chinampas cultivadas, de pastizal y de SGA, puede considerarse que tienen suelos con menor degradación química, debido a la continua aplicación de enmiendas orgánicas, este manejo probablemente promueve un equilibrio entre los procesos de humificación-mineralización e implica que existe estabilidad entre disponibilidad de nutrientes a corto y largo plazo, sin afectaciones en el carbono de reserva almacenado.

## 9. ANEXO 1: Métodos

### Extracción de las fracciones húmicas del suelo (Kononova, 1982)

Se pesaron 5 o 10 g de suelo en matraz Erlenmeyer de 500 ml, donde se adicionaron 250 ml de solución Kononova ( $\text{NaOH} + \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) para agitar durante 8 horas, al término la mezcla se dejó reposar durante 30 minutos. Posteriormente, se centrifugó a 2800 rpm durante 10 minutos, el líquido (AH+AF) se aforó a 250 ml con agua destilada. De este líquido aforado a 250 ml, se colocó una alícuota de 5 ml en matraz Erlenmeyer de 250 ml y se dejó secar en estufa a baño maría a 60° C. Una vez seca la muestra, se determinó el contenido de carbono (C) por el método de Walkley y Black.

Asimismo, del aforo a 250 ml, se tomó una alícuota de 150 ml que se colocó en frasco de plástico de 500 ml. Con la finalidad de precipitar los AH y AF para esto se adicionó HCl 1:1 hasta obtener un pH de 1.5 (con papel indicador, viraje a rojo) y se dejó reposar toda la noche.

Los AH y AF se colocaron en tubos de 50 ml y centrifugaron a 2800 rpm; el sobrenadante que correspondía a los AF (coloración amarillenta) fue desechado y los AH (precipitado oscuro) fueron lavados con agua destilada y centrifugados a 2800 rpm dos veces y el sobrenadante fue desechado. Posteriormente, se agregó NaOH 5M hasta obtener un pH de 12 (con papel indicador). A continuación, se centrifugó a 12, 000 rpm durante 10 minutos (para eliminar arcillas). Los AH se separaron en otro tubo para disminuir nuevamente el pH a 1.5 con HCl 1:1, se lavaron con agua destilada y se centrifugaron 2 veces a 2800 rpm durante 10 minutos desechando el sobrenadante.

Los AH concentrados se colocaron en membranas de diálisis con sensibilidad de paso de 6,000 a 8,00 UD (marca Spectrapor), se dejaron dializar en agua destilada durante 5 días (Figura 12) cambiando diariamente el agua hasta observar una reacción negativa ante cloruros en el agua utilizando gotas de  $\text{AgNO}_3$  0.1 N.

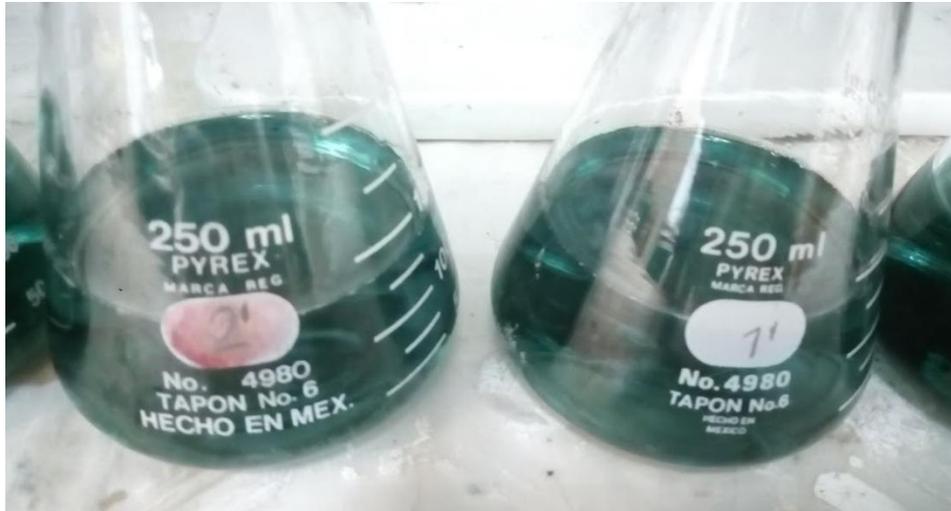


**Figura 12.** AH dializándose

Los AH dializados se trasvasaron a un matraz aforado de 125 ml y se aforaron con  $\text{NaHCO}_3$  0.02 N. Del aforo, se tomó una alícuota de 5 ml y se secó a baño maría a  $60^\circ\text{C}$  y se determinó el carbono por el método de Walkley y Black.

### **Método Walkley y Black**

A la muestra seca, inicialmente se adicionaron 5 ml de dicromato de potasio 1N y 10 ml de sulfato ferroso concentrado con una bureta, se agitó durante un minuto y se dejó reposar durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo, se añadieron 100 ml de agua destilada con una probeta, 5 ml de ácido fosfórico con bureta y 5 gotas de bariosulfonato de difenilamida. Consecutivamente se tituló con sulfato ferroso 0.5 N (viraje pardo a verde esmeralda) (Figura 13), anotando los mililitros gastados en la titulación. Se realizaron los respectivos cálculos en cada caso (AH+AF y AH) para obtener el contenido de carbono en porcentaje y en gramos de carbono por kilogramo (gC/kg) multiplicando por 10 el porcentaje obtenido.



**Figura 13.** Titulación de muestras para determinar el contenido de carbono (Viraje).

**Cálculos para obtener % de C AH+AF**

$$X =$$

$$\frac{5 \text{ o } 10 \text{ g de suelo} \times 5 \text{ ml secos}}{250 \text{ ml de afore}}$$

$$Nr =$$

$$\frac{10 \times 0.5}{\text{ml gastados en el blanco}}$$

$$\% \text{ C de AH+AF} =$$

$$\frac{\text{ml } K_2Cr_2O_2 - (FeSO_4 \times Nr)}{\text{g de suelo}} \times 0.399$$

### **Cálculos para obtener % de C AH**

$$X_1 = \frac{5 \text{ o } 10 \text{ g de suelo} \times 150 \text{ ml de afore}}{250 \text{ ml de afore}}$$

$$X_2 = \frac{X_1 \times 5 \text{ ml secos}}{125 \text{ ml de afore AH}}$$

$$Nr = \frac{10 \times 0.5}{\text{ml gastados en el blanco}}$$

$$\% \text{ C de AH+AF} = \frac{\text{ml K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - (\text{FeSO}_4 \times Nr)}{\text{g de suelo}} \times 0.399$$

### **Cálculos para obtener g C/kg de AH+AF y AH**

$$\text{g C/kg} = \% \text{ C de AH+AF o AH} \times 10$$

$$\text{g C AF/ kg} = \text{g C/kg AH+AF} - \text{g C/kg AH}$$

Con respecto al contenido de carbono cuantificado, se realizó el siguiente cálculo para obtener los mililitros necesarios para aforar a 100 ml con  $\text{NaHCO}_3$  0.02 N y tener una concentración de carbono de 0.136 g/l (Velasco, 1966).

$$\text{ml de AH para aforar a 100ml con NaHCO}_3 = \frac{13.6}{\% \text{ C AH}}$$

### Densidad óptica y coeficiente $E_4/E_6$ (465/665 nm)

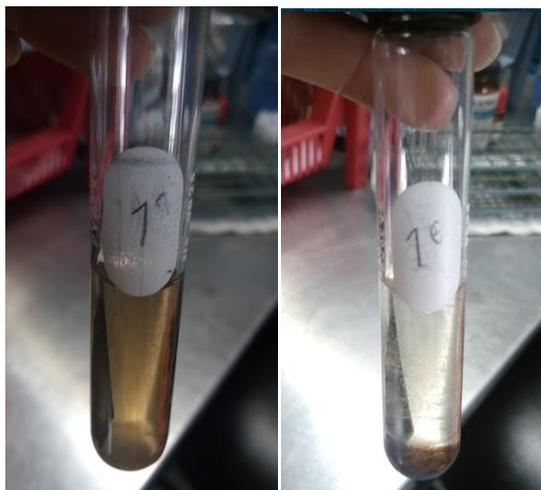
La muestra aforada a 100 ml se dejó reposar durante cuatro días en la oscuridad, con la finalidad de obtener la homogeneización del humato sódico.

Transcurrido el tiempo de reposo, se midieron las absorbancias a las longitudes de onda (nm) 450, 465, 472, 496, 520, 533, 574, 619, 664, 665, 726, en un espectrofotómetro PYE UNICAM 8600 UV/VIS.

Se realizaron gráficas y se determinó el coeficiente  $E_4/E_6$  (465/665 nm).

### Floculación de humato sódico

En una serie de 16 tubos de ensayo de 15 ml con tapas de baquelita, se añadieron con pipeta, cantidades crecientes de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y agua destilada igualando a 1 ml (Cuadro 9), después se añadieron 5 ml de solución de humato sódico a cada tubo (muestra de reposo de cuatro días en oscuridad). Cada tubo se agitó con la mano durante un minuto, registrando el tiempo de floculación incompleta a las 2 horas (solución turbia) y floculación completa a las cuatro horas (Figura 14).



**Figura 14.** Floculación del humato sódico. Floculación incompleta (izquierda). Floculación completa (derecha).

No. de tubo	ml de Agua	ml de Solución de CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	Cmoles de Ca por 5 ml de humato sódico	Cmoles de calcio/litro de humato sódico	
1	0.95	0.05	0.0125	2.5	MAYOR
2	0.9	0.1	0.025	5	GRADO
3	0.85	0.15	0.0375	7.5	DE
4	0.8	0.2	0.05	10	HUMIFICACIÓN
5	0.75	0.25	0.0625	10	
6	0.7	0.3	0.075	12.5	
7	0.65	0.35	0.0875	15	
8	0.6	0.4	0.1	20	
9	0.55	0.45	0.1125	22.5	
10	0.5	0.5	0.125	25	
11	0.45	0.55	0.1375	27.5	
12	0.4	0.6	0.15	30	
13	0.35	0.65	0.1625	32.5	MENOR
14	0.3	0.7	0.175	35	GRADO
15	0.25	0.75	0.1875	37.5	DE
16	0.2	0.8	0.2	40	HUMIFICACIÓN

**Cuadro 10.** Concentraciones en cada tubo de ensayo de CaCl<sub>2</sub>

### Actividad enzimática

*Invertasa* (Hoffmann y Pallauf, 1965, modificado por García-Álvarez e Ibáñez, 1994, citado por García *et al.*, 2003).

### Material y equipos

Espectrofotómetro

Centrífuga

Tubos de centrifugade 15 ml, desechables

Baño María con control de temperatura a 37°C

Pipeta automática de 1-5 ml, micropipetas automáticas de 50-200 µl, 200-1000 µl con puntas desechables, celdas para espectrofotómetro

Se pesó 1 g de muestra y se colocó en tubos de polipropileno de 15 ml. Se adicionaron 2 ml de sacarosa (0.5% p:v), a las muestras problema (3 tubos) y 1 ml de tampón ácido-acético fosfato pH 5.5 a testigos (2 tubos), incubando 3 horas en baño termostático a 37° C.

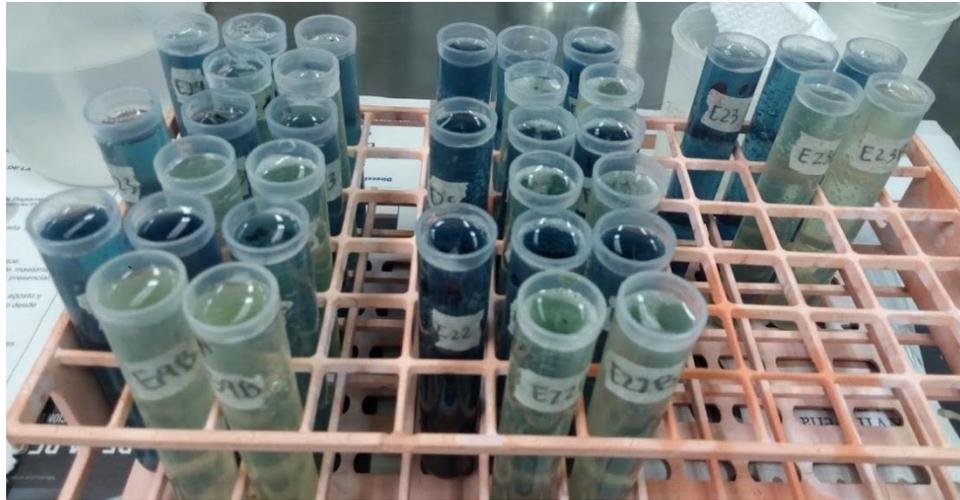
Transcurrido el tiempo de incubación, se adicionaron 4 ml de agua (2 + 2) para lavar las paredes de cada tubo. Posteriormente, se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 minutos. Se tomó 1 ml del sobrenadante y se colocó en otro tubo, a continuación se añadió 1 ml de reactivo Somogyi (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, tartrato sódico potásico, CuSO<sub>4</sub>+5H<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro); los tubos se taparon con papel aluminio y se agitaron. Posteriormente se colocaron en el baño termostático a 85.5° C durante 15 minutos. Transcurrido el tiempo, se enfriaron en una charola con hielo. Una vez fríos, se les adicionó 1 ml de reactivo Nelson (molibdato amónico tetrahidratado, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, AsO<sub>4</sub>HNa<sub>2</sub>), se agitaron y se dejaron reposar 3 minutos. A continuación se añadieron 12 ml de agua destilada a cada tubo, obteniendo un volumen final de 15 ml. Se procedió a realizar la lectura de las muestras en el espectrofotómetro a 540 nm. Para la lectura se utilizó como blanco una mezcla con 1.5 ml de agua destilada y 1.5 ml de tampón ácido-acético fosfato pH 5.5.

### Curva patrón

En tubos se adicionaron las cantidades de la disolución patrón y agua destilada (Cuadro 11, Figura 15), posteriormente se realizó el método indicado para las muestras, que consistió en adicionar reactivo Somogyi (1 ml), calentar a 85°C en baño termostático, enfriar y adicionar reactivo de Nelson (1 ml). Por último se leyó la absorbancia a 540 nm.

Disolución patrón (ml)	Agua destilada (ml)	Glucosa en disolución (µg)	Concentración (mM)	Densidad óptica a 540 nm
0.5	9.5	90	0.05	0.046
1.0	9.0	180	0.10	0.092
2.0	8.0	360	0.20	0.174
3.0	7.0	540	0.30	0.272
4.0	6.0	720	0.40	0.362
5.0	5.0	900	0.50	0.456
6.0	4.0	1080	0.60	0.545
7.0	3.0	1260	0.70	0.638
8.0	2.0	1440	0.80	0.721
9.0	1.0	1620	0.90	0.810
10.0	0.0	1800	1.00	0.870

**Cuadro 11.** Concentraciones requeridas para la curva patrón de la invertasa y densidad óptica teórica. García *et al.*, 2003.



**Figura 15.** Coloración de muestras con reactivos (invertasa)

Cálculos

$$AE = \frac{C \times V}{G}$$

AE= actividad enzimática

C= concentración media de glucosa del promedio de las muestras menos testigo

V= factor de dilución correspondiente al volumen generado durante la incubación (6 ml)

G= gramos de suelo utilizados (1 g)

***$\beta$ -glucosidasa*** (Tabatabai, 1982; Tabatabai, 1988, modificado según el Laboratorio de Bioquímica del Instituto de la Ciencia del Suelo y Nutrición de la Planta Florencia, Italia).

### **Material y equipos**

Espectrofotómetro

Centrífuga

Tubos de centrífuga de 15 ml, desechables

Baño María con control de temperatura a 37°C

Pipeta automática de 1-5 ml, micropipetas automáticas de 50-200  $\mu$ l, 200-1000  $\mu$ l con puntas desechables, celdas para espectrofotómetro.

Se pesaron 0.5 g de muestra en un tubo, se adicionaron 2 ml de MUB pH 6.0, 0.5 ml sustrato (PNG), se agitó cada tubo y se incubaron una hora a 37°C. Transcurrido el tiempo se adicionaron, 2 ml TRIS pH 12, 0.5 ml de CaCl<sub>2</sub> y 5 ml H<sub>2</sub>O. Los tubos se centrifugaron a 6000 rpm, consecutivamente se realizaron las lecturas del precipitado en el espectrofotómetro a 400 nm (Figura 16). Para cada muestra se leyeron dos blancos con suelo, a los cuales se les adicionó el sustrato después de agitar la muestra sólo con buffer.



**Figura 16.** Muestras después de centrifugarse (precipitado empleado para leer la absorbancia)

### Curva patrón

Las cantidades descritas en el Cuadro 12 se colocaron en tubos de centrifuga, posteriormente se midió su absorbancia a 400 nm.

Reactivo	0µg PNF	20µg PNF	40µg PNF	80µg PNF	160µg PNF
µl PNF 2mM	0	100	200	400	800
µg H <sub>2</sub> O	100	900	800	600	200
ml NaOH	2	2	2	2	2
ml H <sub>2</sub> O	7	7	7	7	7

**Cuadro 12.** Concentraciones requeridas para realizar la curva patrón de β-glucosidasa

## Cálculos

$$\text{p-nitrofenol } (\mu\text{gg}^{-1}\text{dwt h}^{-1}) = \frac{C \times v}{\text{dwt (sw) t}}$$

C= concentración de p-nitrofenol ( $\mu\text{gmL}^{-1}$  del filtrado)

v= volumen total de la solución

dwt= peso seco de 1 gr de suelo húmedo

sw= peso exacto de la muestra de suelo usado

t = tiempo de incubación en hora.

***Celulasa* (modificada de Pancholy y Rice 1973, en García-Álvarez e Ibáñez, 1994, citado por García *et al.*, 2003).**

## Material y equipos

Espectrofotómetro

Centrífuga

Tubos de centrífuga y de vidrio pyrex de 15 ml

Baño María con control de temperatura a 37°C

Pipeta automática de 1-5 ml, micropipetas automáticas de 50-200  $\mu\text{l}$ , 200-1000  $\mu\text{l}$  con puntas desechables, celdas para espectrofotómetro.

Estufa

Se pesaron 0.5 g de cada muestra y se colocaron en tubos de polipropileno de 15 ml. Se adicionó 1 ml de CMC (Carboximetilcelulosa), a las muestras problema (3) y 1 ml de tampón fosfato pH 5.5 a testigos (2). Las muestras se dejaron incubando toda la noche (20 h aproximadamente) en baño termostático a 37° C.

Transcurrido el tiempo de incubación, se adicionaron 2 ml de agua (1 + 1) para lavar las paredes de cada tubo. Posteriormente, se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 minutos. Se tomó 1 ml del sobrenadante y se colocó en un tubo de vidrio pyrex de capacidad de 20 ml, a continuación

se añadió 1 ml de reactivo Somogyi (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, tartrato sódico potásico, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro), se taparon con papel aluminio y se agitaron. Posteriormente se calentaron en estufa a 100° C durante 15 minutos. Transcurrido el tiempo, se colocaron en una charola con hielo. Una vez fríos se les adiciono 1 ml de reactivo Nelson (molibdato amónico tetrahidratado, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, AsO<sub>4</sub>HNa<sub>2</sub>), se agitaron y se dejaron reposar 3 minutos. A continuación se añadieron 12 ml de agua destilada a cada tubo, obteniendo un volumen final de 15 ml. Se procedió a realizar la lectura de las muestras en el espectrofotómetro a 540 nm. Para la lectura se utilizó como blanco una mezcla con 1.5 ml de agua destilada y 1.5 ml de tampón fosfato pH 5.5.

### **Curva patrón**

En tubos se adicionaron las cantidades de la disolución patrón y agua destilada (Cuadro 11), posteriormente se realizó el método indicado para las muestras, que consistió en adicionar reactivo Somogyi (1 ml), calentar a 85°C en baño termostático, enfriar y adicionar reactivo de Nelson (1 ml). Por último se leyó la absorbancia a 540 nm.

### **Cálculos**

$$AE = \frac{C \times V}{G \times T}$$

AE= actividad enzimática

C= medio de concentración de muestras menos testigos

V= factor de dilución de incubación (volumen) y agua destilada (3 ml)

G= gramos de suelo (0.5)

T= tiempo de incubación (20 horas)

***β-galactosidasa* (Método de Eivazi y Tabatabai, 1988, citado por García *et al.*, 2003).**

### **Material y equipos**

Espectrofotómetro

Centrífuga

Tubos de centrífuga de 15 ml, desechables

Baño María con control de temperatura a 37°C

Pipeta automática de 1-5 ml, micropipetas automáticas de 50-200  $\mu$ l, 200-1000  $\mu$ l con puntas desechables, celdas para espectrofotómetro.

Se pesó 1 g de suelo en tubos de centrifuga (polipropileno) con capacidad de 15 ml. Se añadieron 4 ml de tampón MUB pH 6 y 1 ml de disolución 25 mM de p-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido, se agitó y se incubó durante una hora a 37°C. Transcurrido el tiempo, se añadieron a todas las muestras 4 ml de THAM pH 12, 1 ml de CaCl<sub>2</sub>. Consecutivamente, se añadió 1 ml de p-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido a los testigos. Los tubos se taparon y centrifugaron a 3000 rpm durante 5 minutos. Se leyó la absorbancia a 400 nm.

### Curva patrón

Se preparó una disolución 100 veces diluida de la disolución patrón de p-nitrofenol. Se tomaron con micropipeta distintas alícuotas de 0, 1, 2, 3, 4 y 5 ml y se colocaron en tubos, se adicionaron 1 ml de CaCl<sub>2</sub> 0.5 M y 4 ml de buffer THAM 0.1 M pH 12, completando hasta un volumen de 10 ml con agua destilada, obteniendo concentraciones de p-nitrofenol; 0, 7.2, 14.4, 21.6, 28.8, 36  $\mu$ M.

### Cálculos

AE ( $\mu$ moles p-nitrofenolxhora y g de suelo)

$$= \frac{(S-B) \times V}{G \times T}$$

AE= actividad enzimática

S= Concentración  $\mu$ molesml<sup>-1</sup> p-nitrofenol de las muestras a partir de la curva patrón

B= Concentración  $\mu$ molesml<sup>-1</sup> p-nitrofenol de los testigos

V= volumen generado durante la incubación (10 ml)

G= peso del suelo (1 g)

T= tiempo de incubación

## 10. ANEXO 2: Reactivos químicos

**Solución Kononova:** Disolver 4 g de NaOH + 44.6 g de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  con agua destilada y aforar a 1000 ml

**$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.25 N:** Disolver 18.70 g de  $\text{CaCl}_2$  en agua destilada y aforar a 1000 ml.

**$\text{CaCl}_2$  0.5 M:** Se disuelven 73.5 g de  $\text{CaCl}_2$  en 1000 ml de agua destilada.

**$\text{NaHCO}_3$  0.02 N:** Se disuelven 1.68 g de  $\text{NaHCO}_3$  en 800 ml de agua destilada y aforar a 1000 ml.

**NaOH 5 M:** Disolver 50 g de NaOH en 200 ml de agua destilada empleando un vaso de nalgene, dejar enfriar y aforar a 250 ml.

**$\text{AgNO}_3$  0.1 N:** Disolver 1.698 g de  $\text{AgNO}_3$  en 60 ml de agua destilada y aforar a 100 ml. Guardar en frasco ámbar.

**HCl 1:1:** En un vaso de nalgene de 1000 ml agregar 250 ml de agua destilada y por la pared del vaso, agregar lentamente 250 ml de HCl concentrado a través de un agitador de vidrio, con mucho cuidado, una vez frío guardar en frasco ámbar.

**NaOH 0.1 M:** Se disuelve 1 g de NaOH en 250 ml de agua destilada

**HCl 0.1 M:** Se colocan 2.08 ml de HCl en un matraz aforado y se aforan a 250 ml con agua destilada.

**Sulfato ferroso 0.5 N:** Se disuelven 140 g de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  en 250 ml de agua, se adicionan 15 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado dejando enfriar a temperatura ambiente. Finalmente se afora a 1000 ml con agua destilada.

**Dicromato de potasio 1 N:** Se disuelven 49.032 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en agua destilada y aforar a 1000 ml.

Ácido sulfúrico concentrado:  $\text{H}_2\text{SO}_4$

Ácido fosfórico concentrado:  $\text{H}_3\text{PO}_4$

**Bariosulfonato de difenilamina:** Se disuelve 0.1 g de reactivo analítico  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NHC}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Ba}$  en 100 ml de agua destilada.

**Buffer Universal Modificado (MUB):** Se disuelven 12.1 g de Tris, 11.6 g de ácido maleico, 14 g de ácido cítrico y 6.3 g de ácido bórico en 500 ml de NaOH 1M, diluir la solución a 1000 ml con agua destilada y almacenar a 4° C. Titular 200 ml de solución MUB al pH indicado con NaOH o HCl 0.1 M y ajustar el volumen a 1 lt.

**Buffer MUB pH 6.0:** Disolver 2.42 g de Tris-hidroximetil-aminometano, 2.32 g de ácido málico, 2.8 g de ácido cítrico, 1.26 g de ácido bórico, en 100 ml de NaOH 1 M, y llevar hasta 200 ml con agua destilada. Ajustar pH a 6 con HCl 0.1 M y aforar hasta 1000 ml.

**Buffer THAM 0.1 M pH 12:** Disolver 12.2 g de Tris-hidroximetil-aminometano en 800 ml de agua destilada. Ajustar pH a 12 con NaOH 0.5 M y aforar a 1000 ml con agua destilada.

**Buffer TRIS (0.1 M, pH 12):** Disolver 12.2 g de tris en 800 ml de agua destilada, ajustar el pH a 12 con NaOH 0.5 M y aforar a 1000 ml con agua destilada.

Solución p-nitrofenol estándar 2mM: disolver 0.040 g en 200 ml.

**p-nitrofenil,  $\beta$ -D-glucosidasa (PNG)25 mM:** Disolver 0.377 g de PNG en 40 ml de buffer MUB y diluir a 50 mL con el mismo buffer, almacenar a 4°C. De preferencia preparar sólo el necesario el día que se va a usar.

**Buffer fosfato pH 5.5:** Se prepara una disolución de fosfato sódico monobásico 0.2 M (24g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) y una disolución de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$  en 1000 ml de agua destilada. Mezclar 239.2 ml de la primera disolución y 10.5 ml de la segunda, se afora a 500 ml con agua destilada. Se ajusta el pH a 5.5 con ácido fosfórico diluido o hidróxido de sodio diluido. Finalmente, se añade timerosal 0.1% p:v (685 mg). Almacenar a 4°C.

**Carboximetilcelulosa (CMC) 0.2%:** Disolver 1 g de CMC (sal sódica) en 500 ml de buffer fosfato pH 5.5. Se prepara al comienzo del ensayo la cantidad requerida

**Disolución patrón glucosa 1mM:** Se disuelven 0.018 g de glucosa anhidra en agua destilada y aforar a 100 ml. Conservar a 4° C.

**Reactivo alcalino de Somogyi:** Se disuelven 24 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y 12 g de tartrato sódico potásico (sal de Rochelle) en un vaso de precipitados. Por otro lado, se disuelven 4 g de  $\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$  en 40 ml de agua destilada. Esta solución se añade a la anterior, manteniendo durante el proceso una agitación constante. A la mezcla se le añaden lentamente 16 g de  $\text{NaHCO}_3$ . Por separado se disuelven 180 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro en 500 ml de agua caliente, dejando hervir unos minutos para desgasificar; una vez frío se añade a la mezcla obtenida y se deposita en un matraz aforado llevando hasta un volumen de 1000 ml con agua destilada. El reactivo se deja en la estufa a 30°C en la oscuridad durante una semana. Transcurrido el tiempo, se filtra y se almacena en un frasco ámbar a temperatura ambiente y en oscuridad.

**Reactivo de Nelson:** Se disuelven 25 g de molibdato amónico tetrahidratado en 450 ml de agua destilada en un vaso de precipitados; a la mezcla se le añaden 21 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$

concentrado, manteniendo en agitación constante con una varilla de vidrio. Por otro lado se disuelven 3 g de hidrógeno arseniato disódico ( $\text{AsO}_4\text{HNa}_2$ ) en 25 ml de agua destilada. La disolución obtenida se mezcla con la anterior y se guarda en estufa a  $37^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Transcurrido el tiempo, el reactivo se almacena en un frasco ámbar, en un lugar seco y en oscuridad a temperatura ambiente.

**Buffer ácido acético-fosfato disódico pH 5.5:** Se disuelven 5.7 ml de ácido acético (99.7% de riqueza) en 1000 ml de agua destilada. Por otro lado se disuelven 11.94 g de  $\text{Na}_2\text{PO}_4$  en 1000 ml de agua destilada. En un vaso de precipitados se depositan 185 ml de la primera disolución, seañaden 500 ml de disolución de fosfato disódico, y se ajusta el pH a 5.5 (ajustando con ácido fosfórico diluido o hidróxido de sodio diluido). Finalmente se añade timerosal 0.1 % p: v (685 mg). Se almacena a  $4^\circ\text{C}$ .

**Disolución de sacarosa 0.5% p: v:** Se disuelven 0.05 g de sacarosa en 100 ml de buffer ácido acético-fosfato disódico pH 5.5.

**Disolución patrón de p-nitrofenol (PNF) 7.2 mM:** Se disuelve 1 g de PNF en 1000 ml de agua destilada.

**p-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido 25 mM:** Se disuelven 0.377 g de p-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido en 50 ml de buffer MUB pH 6.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFIAS

- Adetunji, A.T., Lewu, F.B., Mulidzi, R., & Ncube, B. (2017). The biological activities of  $\beta$ -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: a review. *Journal of soil science and plant nutrition*, 17 (3): 794-807.
- Agarwal, S., Kapoor, A., Lakshmi, O. S. & Grover, A. (2007). Production and phenotypic analysis of rice transgenics with altered levels of pyruvate decarboxylase and alcohol dehydrogenase proteins. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45: 637-646.
- Aguilar, J. U., Rodríguez, A. M. y Vásquez, M. S. (2012). Análisis de la actividad enzimática como un indicador de la calidad del suelo en Chinampas bajo diferentes condiciones de cultivo. XVIII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, VII Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica, X Jornadas Científicas de Biomedicina y Biotecnología Molecular. s.p.
- Aguilera-Herrera, N. (1989). Tratado de Edafología de México. Tomo I. Facultad de Ciencias. UNAM. México, pp: 88-95.
- Agrotecnia. (s.f.). Conservación de los recursos naturales para una Agricultura sostenible. Recuperado el 5 de junio de 2019 de: [http://www.agrotecnia.com.co/novedades/wp-content/uploads/2016/07/organic\\_matter.pdf](http://www.agrotecnia.com.co/novedades/wp-content/uploads/2016/07/organic_matter.pdf).
- Albiach, M. R., Bonmatí, M., Canet, R., García, C., García, A., Gíl F., Gonzalez, S. et al. (2006) (Grupo español de enzimología del suelo). Sobre las enzimas del suelo y sus técnicas de medida. *Edafología*, Vol. 13. (3): 117-125.
- Alkorta, I., Aizpurua, A., Riga, P., Albizu, I., Amézaga, I. & Garbisu, C. (2003). Soil Enzyme Activities as Biological Indicators of Soil Health. *Reviews on Environmental Health*, 18(1), 65-73.
- Almeida, R., Naves, E., Mota, R. (2015). Calidad del suelo: actividad enzimática de la  $\beta$ -glucosidasa del suelo. *Revista mundial de investigaciones y revisiones agrícolas*. 3: 146-150.
- Arreguin, M. I. (2013). Calidad en suelos de humedal de Tláhuac y Xochimilco. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Arroyo, M. de C. (2013). Calidad de suelos de humedal de San Gregorio Atlapulco, Xochimilco, México, D.F. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.

- Atlas de peligros y riesgos de la Ciudad de México. (2014). Mapa de Riesgos de la Delegación Xochimilco. Secretaría de Protección Civil. Ciudad de México.
- Avendaño, A. (2016) Sustancias húmicas: origen e impacto ambiental. *Ciencia Cierta*. Universidad Autónoma de Coahuila. No. 47. s.p.
- Bandick, A. K. & Dick, R. P. (1999). Field management effect on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry*. 31 (11): 1471–1479.
- Bautista-Cruz, A., Etchevers-Barra, J., del Castillo, R. F., Gutiérrez C. (2004). La calidad del suelo y sus indicadores. *Ecosistemas* 13 (2): 90-97.
- Bendeck, L.M. (1996). Origen, formación y composición del humus. Memorias Seminario-Taller: Origen, formación y composición del humus, COUAP. Manizales, Colombia.
- Binnqüist-Cervantes, G. S. (2021). La protección del humedal de Tláhuac en el suelo de conservación. *Cauce* (febrero 2021). Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.
- Bojórquez, C., Arana, F., Esquivel, A., Latournerié, J., Rosiles, R., Soto R. (2017). Contaminación química y biológica en la zona lacustre de Xochimilco. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Serie Académicos Núm. 130. Pp. 342.
- Burbano-Orjuela, H. (2018). El carbono orgánico del suelo y su papel frente al cambio climático. *Rev. Cienc. Agr.* 35 (1): 82-96.
- Camargo, V. M. y Cruz, J. E. (1999). Sustancias húmicas en aguas para abastecimiento. *Revista Ingeniería e Investigación*, (44): 63-72.
- David, G. P. (2008). Extracción, caracterización de sustancias húmicas y su empleo en procesos fotoquímicos de interés ambiental. Tesis doctoral. Facultad de Ciencia Exactas. Universidad Nacional de la Plata. Argentina. 182 p.
- De la Rosa, D. (2008). Evaluación agro-ecológica de suelos para un desarrollo rural sostenible. *Mundi-Prensa*, pp: 195-216.
- Eivazi, F. & Tabatabai, M. A. (1988). Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 20: 601-606.
- Eivazi, F. & Tabatabai, M. A. (1990). Factors affecting glucosidase and galactosidase activities in soils. *Soil Biol. Biochem.* Vol. 22, (7): 891-897.

- Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México Distrito Federal. (s.f.). Tláhuac. Recuperado el 15 de febrero de 2019 de: <http://siglo.inafed.gob.mx/enciclopedia/EMM09DF/delegaciones/09011a.html>.
- Fassbender, H. W. y E. Bornemisza. 1987. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. IICA, San José de Costa Rica, 420 p.
- (FIR) Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar. (2004). Sistema lacustre “Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco. SEDEMA. Recuperado el 7 de Junio de 2020 de: <https://rsis.ramsar.org/RISapp/files/RISrep/MX1363RIS.pdf>.
- Frioni, L. (2006). Microbiología: básica, ambiental y agrícola. Universidad de la República - Facultad de Agronomía. Montevideo, Uruguay. 464 p.
- Galantini, J. A., y Suñer, L. (2008). Las fracciones orgánicas del suelo: análisis en los suelos de la Argentina. *Agriscientia*, 25 (1): 41-55.
- Gaucher, G. (1971). Tratado de Pedología. El Suelo y sus Características Agronómicas. OMEGA. Casanova, Barcelona. 647 p.
- García, C., Gil, F., Hernández, T. y Trasar, C. (2003). Técnicas de Análisis de Parámetros Bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Ediciones Mundi-Prensa, España. 371 p.
- García-Álvarez, A. & Ibáñez, J. J. (1994). Seasonal fluctuations and crop influence on microbiota and enzyme activity in fully developed soils of central Spain, *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 8: 161- 178.
- González-Pozo, A. (2008). Sufre zona chinampera de la ciudad de México condiciones críticas de deterioro, advierten en seminario organizado por la UAM. Boletín No. 257. Universidad Autónoma Metropolitana. México. Recuperado el 5 de junio de 2019 de: <http://www.comunicacionuniversitaria.uam.mx/boletines/anteriores08/indice/agos-13-08.html>
- González-Pozo, A., Ensástiga, E., Chiapa, F., y Ruz-Varas, N. (2016). Las Chinampas Patrimonio Mundial de la Ciudad de México. Gobierno de la Ciudad de México, Autoridad de la zona patrimonio mundial natural y cultural de la humanidad en Xochimilco, Tláhuac y Milpa Alta, y Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Recuperado el 14 de noviembre de 2021 de:

<https://cpbox.files.wordpress.com/2018/02/las-chinampas-patrimonio-mundial-cdmx.pdf>.

- Gu, C., Zhang S., Han P., Hu X., Xie L., Li Y., Brooks, M., Liao, X. & Qin, L. (2019). Soil Enzyme Activity in Soils Subjected to Flooding and the Effect on Nitrogen and Phosphorus Uptake by Oilseed Rape. *Front. Plant Sci.* 10: 368.
- Hayes, M. H. B., MacCarthy, P., Malcolm, R. L. & Swift, R. S. (1989). The search for structure: setting the scene. In humic substances II: in search of structure. (Eds.) Wiley New York, pp: 3-31.
- Henríquez, C., Uribe, L., Valenciano, A., Nogales, R. (2014). Actividad enzimática del suelo deshidrogenasa, glucosidasa, fosfatasa y ureasa, bajo diferentes cultivos. *Agronomía Costarricense* 38 (1): 43-54.
- Huelva-López, R., Martínez-Balmori, D., Calderín-García, A., Hernández-González, O. L. y Guridi-Izquierdo, F. (2013). Propiedades químicas y química-físicas de derivados estructurales de ácidos húmicos obtenidos de vermicompost. Actividad biológica. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 22 (2): 56-60.
- Izquierdo, M., Antelo, J., Fio, S., Gondar, D., Iglesias, A., López, R. y Arce, F. (2004). Caracterización de ácidos fúlvicos y ácidos húmicos extraídos de una turbera minerotrófica. *Edafología*. Vol. 11: 329-339.
- Jaramillo, J. D. (2002). Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Medellín, pp: 63-67.
- Jaramillo, J. D. (2011). Caracterización de la materia orgánica del horizonte superficial de un Andisolhidromórfico del Oriente antioqueño (Colombia). *Rev. Acad. Col. Cienc.* 35 (134): 23 - 33.
- Jiménez-Osornio, J. y Gómez-Pompa, A. (1987). Las chinampas mexicanas. Pensamiento iberoamericano [Publicaciones periódicas]. (12): 201-212.
- Kang, S., Amarasiriwardena, D., Veneman, P. & Xing, B. (2003). Characterization of ten sequentially extracted humic acids and a humin from a soil in Western Massachusetts. *Soil Science*. Vol. 168, (12): 880-887.
- Kononova, M. M. & Bel'chikova, N. P. (1961). Quick methods of determining the humus composition of mineral soils. *Sov. Soil. Sci.* 10: 112-1121.

- Kononova, M. M. (1982). *Materia orgánica del suelo: Su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*/ M.M. Kononova; traducción del ruso de Enriqueta Bordas de Muntan. - 1ª ed. - Vilassar de Mar (Barcelona): Oikos-Tau, 365 p.
- Krasilnikov, P., Jiménez-Nava, F. J., Reyna-Trujillo, T., García-Calderón, N. E. (2011). *Geografía de suelos de México*. La prensa de ciencias, Facultad de Ciencias, México. 462 p.
- López-Salazar, R., González-Cervantes, G., Vázquez-Alvarado, R. E., Olivares-Sáenz, E., Vidales-Contreras, J. A., Carranza, R., Ortega-Escobar, M. (2014). Metodología para obtener ácidos húmicos y fulvicos y su caracterización mediante espectrofotometría infrarroja. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, núm. 8, 1397-1407.
- Ma, X. Z, Chen, L. J, Chen, Z. H, Wu, Z.J, Zhang, L.L, y Zhang, Y.L. (2010). Soil glycosidase activities and water soluble organic carbon under different land use types. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 10 (2): 93-101.
- Martínez-Iñigo, M. J., Pérez-Sanz, A., Ortiz, I., Alonso, J., Alarcón, R., García, P., & Lobo, M. C. (2009). Bulk soil and rhizosphere bacterial community PCR–DGGE profiles and  $\beta$ -galactosidase activity as indicators of biological quality in soils contaminated by heavy metals and cultivated with *Silene vulgaris* (Moench) Garcke. *Chemosphere*, 75(10): 1376–1381.
- Mendoza-Correa, X. A. (2018). *Las chinampas del Humedal de Xochimilco: sistemas de biorremediación para la sostenibilidad*. Tesis de Maestría. El Colegio de la Frontera Norte. Tijuana, B. C., México.
- Miranda-Arce, M.G., Quiroz-Flores, A., & Romero-Ortiz, L. (2018). Fitodepuración de ortofosfatos del agua del lago de los Reyes Aztecas, Tláhuac, Ciudad de México. *Polibotánica*, (46): 221-231.
- Montejo, M., Torres, C. P., Martínez, A., Tenorio, J. A., Cruz M. del R., Ramos, F. R. y Cuevas, M. C. (2012). Técnicas para el análisis de actividad enzimática en suelos. En: Cuevas, M. del C.; Espinosa, G.; Ilizaliturri, C. A. y Mendoza, A. (2012). *Métodos ecotoxicológicos para la evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos*. INE-SEMARNAT. México, pp: 19-46.

- Montoya, J. C., Menjivar, J. C. y Bravo, I. (2013). Fraccionamiento y cuantificación de la materia orgánica en Andisoles bajo diferentes sistemas de producción. *Acta agronómica*. 62 (4): 333-343.
- Mora-Izquierdo, D. G., Lazcano-García, I. (2018). Sistema Agrícola Chinampero de la Ciudad de México. *Revista MEC-EDUPAZ*, Universidad Nacional Autónoma de México. No. XIV, pp: 251-270.
- Nambo, R. L. A. (2016). Fracciones húmicas del suelo en el Sitio RAMSAR 1363 “Sistema lacustre ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco”. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Narchi, N. E. (2013). Deterioro Ambiental en Xochimilco: Lecciones para el cambio climático global. *Veredas, Revista Del Pensamiento Sociológico*, pp: 177–197.
- Navarrete, S., Jiménez, B., Navarro, I., Domínguez, R. (2013). Evaluación del riesgo al acuífero de Xochimilco por lluvias extremas *Ciencias del Agua*, vol. IV, núm. 3, julio-agosto.
- Ndossi, M. E., Becker J. N., Hemp, A., Dippold, M. A., Kuzyakov, Y. & Razavi, B. (2020). Effects of land use and elevation on the functional characteristics of soil enzymes at Mt. Kilimanjaro. *European Journal of Soil Biology*. (97).
- Novelo, R. A. y Gallegos, M. E. (1988). Estudio de la flora y la vegetación acuática relacionada con el sistema de chinampas en el sureste del Valle de México. *Biótica*, 13(1-2): 121-139.
- (PAOT) Procuraduría Ambiental y del Ordenamiento Territorial del D.F. (2008). Estudio sobre la zona chinampera y demás afectadas de las delegaciones Xochimilco, Tláhuac y milpa alta, por la proliferación de asentamientos humanos irregulares en materia de afectaciones al medio ambiente y el ordenamiento territorial. Recuperado el 10 de febrero de 2022 de: <http://centro.paot.org.mx/index.php/publicaciones-paot/16-estudios-tecnicos/275-estudio-sobre-la-zona-chinampera>.
- (PDDU) Programa de desarrollo delegacional de Tláhuac (2008). Programa de desarrollo delegacional de Tláhuac. Gaceta Oficial del Distrito Federal. Recuperado el 06 de febrero de 2022 de: <https://www.seduvi.cdmx.gob.mx/programas-delegacionales-de-desarrollo-urbano>.
- (PDDS) Plan Delegacional de Desarrollo Sustentable de la Delegación Xochimilco (2007). Padilla y Sánchez, 1989.

- Paz, F. J. (2006). Propiedades bioquímicas de suelos de prado de Galicia. Universidad de Santiago de Compostela. España. pp: 35-45.
- Piotrowska-Dlugosz, A. (2020). Significance of the enzymes associated with soil C and N transformation. In: Datta, R., Meena, R., Pathan S., Ceccherini, M. (eds) Carbon and Nitrogen Cycling in Soil. *Springer*, Singapore.
- Proyecto UNESCO-Xochimilco.(s.f.). Informe del taller de planeación participativa: La Chinampa como Patrimonio Cultural en Xochimilco. Recuperado el 7 de junio de 2019 de: <http://upax.mx/wp-content/uploads/2013/09/La-Chinampa-como-Patrimonio.pdf>
- Ramos, R., García, N. E., Ortega, H. M., Krasilnikov, P. (2011). Artificial Chinampas Soils of Mexico City: their Properties and Salinization Hazards. *SJSS. Spanish Journal of Soil Science* 1 (1): 70-85.
- Ramírez-Martínez, I. (2020). San Pedro Tláhuac: Un pueblo chinampero en la Ciudad de México. Atlas fotográfico. Instituto Nacional de los Pueblos Indígenas, Gobierno de México.
- Reyes-Ortigoza, A. L. y García-Calderón, N. E. (2004). Evolución de las fracciones húmicas de los suelos en la zona chinampera de la Ciudad de México. *TERRA latinoamericana*, 22(3): 289-298.
- Reyes-Ortigoza, A. L., Galicia, M. del S., Ramos, R. (2015). Dinámica de micronutrientes, sustancias húmicas y enzimas en la zona lacustre Xochimilco-San Gregorio-Tláhuac, México, D.F. 1er Congreso Iberoamericano sobre sedimentos y ecología, Querétaro, México. 21-24 de julio 2015. (s.p.).
- Reyes Ortigoza, A. L. (2019). Características de la actividad enzimática y el humus en suelos de chinampa. *Terra Latinoamericana*, 37: 339-349.
- Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski. (2001). Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán. 1406 p.
- Samuel, A. D., Domuta, C., Ciobanu, C., & Şandor, M. (2008). Field management effects on soil enzyme activities. *Romanian agricultural research*. 25: 61-68.
- Sales, B. (2006). Caracterización de la materia orgánica de suelos representativos de ecosistemas amazónicos del Perú, Departamento de Ucayali, e influencia de su uso y manejo en el

- secuestro del carbono. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Sevilla, Perú.
- SEDEMA. (2021). Trabaja Sedema por la conservación de humedales. Recuperado el 24 de mayo de 2022 de: <https://www.sedema.cdmx.gob.mx/>.
- SEDEMA. (s.f.). Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco, zona sujeta a conservación ecológica. Recuperado el 20 de mayo de 2022 de: <http://www.sadsma.cdmx.gob.mx:9000/rally/pex/index.php>.
- SEMARNAT. (2000). Norma Oficial Mexicana 021. Que establece la especialidad de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio, muestreo y análisis. 85 p.
- Serrano, J. A. (2000). Efecto del encalado sobre el complejo órgano mineral de dos andosoles del macizo Xalapa-Coatepec, Veracruz. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana, México.
- Simpson, A. J., Kingery, W. L., Hayes, M. H., Spraul, M., Humpfer, E., Dvortsak, P., et al. (2002). Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Natur wissens chaften*. (89): 84–88.
- Safari Sinigani, A. A., Emtiazi, G., & Shariatmadari, H. (2005). Sorption and immobilization of cellulase on silicate clay minerals. *Journal of colloid and interface science*, 290(1), 39–44.
- Sinigani, A. A. S. & Mahohi, A. (2010). Soil water potential effects on the cellulose activities of soil treated with sewage sludge. *Plant Soil Environ*, 56, (7): 333–339.
- Safari Sinigani, A. A. S. & Sinigani, M. S. (2013). Adsorption, immobilization and activity of cellulase in soil: the impacts of maize straw and its humification. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 56 (6): 885-894.
- Stevenson, F.J. (1982). Humus chemistry. genesis, composition, reactions. *John Wiley & Sons*. New York.
- Stevenson, F.J. (1994). Humus chemistry. Genesis, Composition, Reactions. 2ª edición, *John Wiley & Sons*, New York.
- Tao, J., Griffiths, B., Zhang, S.J., Chen, X. Y., Liu, M. Q., Hu, F., et al. (2009). Effects of earthworms on soil enzyme activity in anorganic residue amended rice-wheat rotation agro-ecosystem. *Appl. Soil Ecol* 42, 221–226.
- Theng, B. K. G. (1979). Chapter 12 Humic Substances. *Formation and Properties of Clay-Polymer Complexes*, pp: 283–326.

- Vallejo-Quintero, V. E. (2013). Importancia y utilidad de la evaluación de la calidad de suelos mediante el componente microbiano: experiencias en sistemas silvopastoriles. *Colombia Forestal*, Vol. 16 (1): 83 – 99.
- Zamboni, I., Ballesteros, M. I., & Zamudio, A. (2006). Caracterización de ácidos húmicos y fúlvicos de un mollisol bajo dos coberturas diferentes. *Revista Colombiana de Química*, vol. 35 (2): 191-203.
- Zambrano, L., Tovar, A., Sumano, C., Ayala, C., Rubio, M., Trejo, M. (2014). Rehabilitación de la red chinampera y del hábitat de especies nativas de Xochimilco. Informe Final. Instituto de Biología, UNAM. Recuperado el 22 de febrero de 2021 de: <https://www.azp.cdmx.gob.mx/storage/app/uploads/public/58b/6fb/43d/58b6fb43dfe2f099172367.pdf>
- Zambrano, L., Sumano, C., Jiménez, O., Marín, L., Miyano, H. (2019). Conservación y Reactivación de la Zona Chinampera de Xochimilco. Recuperado el 28 de mayo de 2021 de: <https://lreunam.wixsite.com/lreunam/proyectos-xochimilco>.
- Zhang, L., Chen, W., Burger, M., Yang, L., Gong, P., Whu, Z. (2015). Changes in soil carbon and enzyme activity as a result of different Long-Term fertilization regimes in a Greenhouse Field. *PLOS ONE* 10 (2): e0118371. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118371>.