

Curso 2004/05  
**CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS/26**  
I.S.B.N.: 84-7756-666-6

**MIGUEL ÁNGEL NEGRÍN MEDINA**  
**Especiación de fósforo  
en suelos ándicos de las Islas Canarias**

**Director**  
**JOSÉ MANUEL HERNÁNDEZ MORENO**



**SOPORTES AUDIOVISUALES E INFORMÁTICOS**  
**Serie Tesis Doctorales**

**Memoria que presenta el Licenciado en Ciencias Químicas Miguel Ángel Negrín Medina para optar al grado de Doctor en Química**

**La Laguna, Mayo de 2005**

**Este trabajo ha sido realizado en parte en el Laboratorio de Edafología y Química Agrícola del Dpto. de Química de la Universidad de Burgos y en el Centre de Pedologie Biologique, CNRS, de Nancy (Francia)**

*A Julia, Araceli y Marcos,  
Faros que alumbran el sendero de mi existencia*

*A mis padres, y en especial a ella que ya no está entre nosotros*

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que, de una u otra manera, han dejado su impronta en este trabajo por su colaboración, esfuerzo y amistad.

Al Dr. José Manuel Hernández Moreno, amigo personal y maestro en el arte de aprender amar el quehacer científico, por su apoyo y dedicación en la dirección de este trabajo, pero sobre todo por su confianza después de todos estos años.

A todas las personas que hacen posible el día a día en el Departamento de Edafología y Geología de la Universidad de La Laguna, pero en especial:

- A la Dra. Montserrat Espino Mesa por ser compañera de fatiga en una parte importante de esta Tesis. Un recuerdo especial para ella.
- A la Dra. Carmen Arbelo Rodríguez y a su madre, Dña. M<sup>a</sup> Amalia Rodríguez, por su inestimable colaboración en el diseño y fabricación de las bolsas de nylon para las resinas granulares de intercambio aniónico.
- A la Lcda. Julia Domínguez Hernández por sus consejos, esfuerzo y ayuda en las determinaciones analíticas realizadas, pero sobre todo por su comprensión y paciencia.
- Al Lcdo. Carmelo Batista por su ayuda en los inicios. Al Dr. Pablo Vinuesa y a los Ingenieros Juan José Pérez Suárez y Pedro Martínez Costa por utilizar las muestras de suelo de sus ensayos biológicos. En este sentido, mi agradecimiento a la Dra. Carmen Martínez Barroso del Dpto. de Biología Vegetal de la Universidad de La Laguna y la Dra. María del Carmen Jaizme Vega del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA) de Valle Guerra por la labor de coordinación en los ensayos biológicos realizados tanto en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agrícola de la universidad de La Laguna como en el ICIA.
- A la Dra. Gladys E. Vargas por iniciar juntos la desagregación de suelos con resinas de intercambio aniónico. Al resto de Profesores y Profesoras del Departamento, así como al Personal de Administración y Servicios: Juan Luis



Ventura, Antonio Padrón y al desaparecido Antonio Medina. A Pili y Loli del Consejo, por su desinteresada colaboración en este trabajo.

También deseo expresar mi agradecimiento al Dr. F. Bartoli y a los técnicos G. Burtin y R. Philippy del CPB de Nancy (Francia), así como a los compañeros del Laboratorio de Edafología y Química Agrícola de la Universidad de Burgos, en especial al Dr. Salvador González Carcedo, por sus enseñanzas y colaboración durante las estancias realizadas en dichos centros durante la fase experimental de este trabajo. Por último al Dr. M. Brossard del IRD/EMBRAPA de Cerrados (Brasilia) por su desinteresada colaboración en esta Tesis durante su breve estancia en nuestro Departamento en la que ayudó a poner a punto la técnica de intercambio isotópico de  $^{32}\text{P}$  en Andosoles, en coordinación con la Dra. Carmen María Évora García del Dpto. de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de La Laguna.

Al resto de mi familia y a los que me consideran su amigo.

## ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
	1. Planteamiento y objetivos	2
	2. El problema de la estimación del P disponible	3
	3. El fósforo en el suelo	5
	4. Formas de P en el suelo	6
	5. Referencias	11
<b>II.</b>	<b>SUELOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS</b>	14
	1. <b>Suelos</b>	15
	1.1. Suelos Forestales	15
	1.2. Suelos Cultivados	16
	1.3. Características más relevantes de las muestras de suelo	16
	2. <b>Técnicas Analíticas</b>	18
	3. <b>Referencias</b>	19
<b>III.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	21
	<b>III.1. EXTRACCIÓN DE FÓSFORO CON NaHCO<sub>3</sub> 0,5 M (pH=8,5): CONDICIONES DE EXTRACCIÓN Y VARIABILIDAD DE SUS FRACCIONES</b>	22
	1. <b>Introducción</b>	23
	2. <b>Metodología</b>	24
	2.1. Suelos	25
	2.2. Fraccionamiento del P	25
	2.3. Fracciones del COD, Al y Fe	25
	2.4. Fósforo hidrolizable por la fosfatasa ácida	25
	2.5. Fósforo microbiano	26
	2.6. Técnicas Analíticas	27
	3. <b>Resultados y discusión</b>	27
	3.1. Influencia de la temperatura de centrifugación y de la técnica de filtrado	28
	3.2. Fósforo orgánico	28
	3.3. Fósforo Olsen	33
	3.4. Fósforo hidrolizado por la enzima fosfatasa	35

3.5. Fósforo particulado	37
3.6. Fumigación de muestras de suelo con cloroformo	47
4. <b>Referencias</b>	48
<b>III.2. EXTRACCIÓN DE FÓSFORO CON AGUA: ASOCIACIONES ÓRGANOMINERALES [Al(Fe)-P-ÁCIDO FÚLVICO] Y FASES INORGÁNICAS</b>	53
1. <b>Introducción</b>	54
2. <b>Metodología</b>	56
2.1. Suelos	58
2.2. Extractos suelo-agua	59
2.3. Espectroscopia ultravioleta-visible	59
2.4. Diálisis de los extractos acuosos filtrados por 0,45 µm	59
2.5. Fraccionamiento del P	60
2.6. Fracciones del COD	61
2.7. Técnicas analíticas	62
3. <b>Resultados y discusión</b>	62
3.1. Liberación de P con la dilución en el conjunto de todas las muestras estudiadas (con filtración secundaria, < 0,45 µm)	62
3.2. Muestras seleccionadas de suelos forestales y cultivados para el estudio de diálisis	66
3.2.1. <i>Influencia de la relación w:s sobre las propiedades químicas de los extractos filtrados por 0,45 µm</i>	66
3.2.2. <i>Influencia de la dilución sobre la liberación de P y sus distintas fracciones</i>	69
3.2.3. <i>COD, relaciones E4/E6 y absorbancia a 272 nm</i>	71
3.2.4. <i>Fracciones reactivas y no reactivas calculadas en función del tipo de filtrado</i>	72
3.2.5. <i>Fósforo hidrolizable por la enzima fosfatasa y P microbiano</i>	79
3.2.6. <i>Experimento de diálisis</i>	82
3.3. Información relativa a las fases sólidas fosfatadas	84
3.3.1. <i>Solubilidad de los fosfatos de Al y Fe</i>	84
3.3.2. <i>Información sobre la solubilidad de fosfatos de aluminio en extractos dializados</i>	87
4. <b>Conclusiones</b>	91

5. Referencias	92
----------------	----

### III.3. ESTIMACIÓN DE LA FRACCIÓN TOTAL DISPONIBLE DEL FÓSFORO MEDIANTE LA TÉCNICA DE DILUCIÓN ISOTÓPICA EN SUELOS ÁNDICOS NATURALES Y FERTILIZADOS: TRANSFERENCIA DE P ENTRE LOS CONSTITUYENTES DEL SUELO Y DISOLUCIÓN

99

1. Introducción	100
1.1. Transferencia de iones fosfato entre la fase sólida y la disolución del suelo: factor intensidad	100
1.2. Transferencia de iones fosfato entre la fase sólida y la disolución del suelo: factor cantidad y la dilución isotópica	102
2. Metodología	103
2.1. Suelos	103
2.2. Fósforo presente en la disolución del suelo	103
2.3. Cinética de intercambio isotópico	103
3. Resultados y discusión	105
3.1. Parámetros cinéticos de intercambio isotópico	105
3.2. Constantes medias asociadas al intercambio	108
3.3. Análisis compartimental del P intercambiado isotópicamente	109
3.4. Experimento con membrana de resina y P radioactivo en las muestras fertilizadas	111
3.4.1. Método experimental	112
3.4.2. Balance de fosfato, COD y Al en los extractos y membrana de intercambio aniónico	112
3.4.3. Análisis multicompartimental y estocástico del P intercambiable en ausencia y presencia de MIA	116
4. Conclusión	118
5. Referencias	119

### III.4. DESORCIÓN DE FÓSFORO DISPONIBLE EN SUELOS DE ORIGEN VOLCÁNICO MEDIANTE EL USO DE RESINAS DE INTERCAMBIO ANIÓNICO

123

1. Introducción	124
-----------------	-----

1.1. Procesos de sorción del P en las superficies sorbentes de P (óxidos, minerales de arcilla, carbonatos y materia orgánica) del suelo	124
1.1.1. Sorción sobre óxidos de Al y Fe	124
1.1.2. Características del proceso de desorción de fosfato	126
1.1.3. Uso de resinas de intercambio aniónico en la cuantificación del fosfato disponible	128
1.1.4. Estudio de liberación de fosfato empleando resinas de intercambio iónico	130
<b>2. Material y métodos</b>	134
2.1. Suelos	134
2.2. Preparación de las resinas	134
2.3. Extracción cinética y secuencial de P y otros elementos asociados mediante membranas de diálisis y MIA como agente receptor	136
2.4. Técnicas analíticas	137
<b>3. Resultados y discusión</b>	138
3.1. Caracterización inicial de los eluatos de las diferentes resinas empleadas	138
3.1.1. Variación del pH en la suspensión sobrenadante de las resinas	138
3.1.2. Fósforo y sulfato extraídos por las resinas	139
3.2. Extracción secuencial del P en suelos de un ensayo biológico por membranas de intercambio aniónico	151
3.3. Variación del P extraído con el número de MIA empleadas y con la relación w:s	156
3.4. Extracción secuencial de P y elementos asociados mediante membranas de diálisis y MIA como agente receptor	169
3.4.1. Consideraciones iniciales	169
3.4.2. Ecuaciones cinéticas empleadas en el estudio de la desorción de nutrientes	171
3.4.3. Curvas de liberación de P y del resto de los elementos	175
<b>4. Referencias</b>	198
 <b>IV. ANEJOS: CALIBRADO DE P DISPONIBLE Y ENSAYOS BIOLÓGICOS EN SUELOS VOLCÁNICOS CON ELEVADA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE FOSFATO</b>	 205

<b>IV. 1. Anejo 1: CAMBIOS EN LAS FRACCIONES DE P EN UN ANDISOL, INDUCIDOS POR LA INFECCIÓN DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN CULTIVOS DE TAGASASTE (<i>Chamaecytisus proliferus ssp. proliferus var. Palmensis</i>)</b>	206
<b>1. Introducción</b>	207
<b>2. Material y métodos</b>	208
<b>3. Resultados y discusión</b>	209
<b>4. Referencias</b>	212
<b>IV. 2. Anejo 2: CALIBRADO DE P DISPONIBLE EN SUELOS CON ALTA CAPACIDAD DE RETENCIÓN POR LOS MÉTODOS DE LA MEMBRANA DE INTERCAMBIO IÓNICO Y OLSEN EN MAÍZ (<i>Zea mays L.</i>)</b>	214
<b>1. Introducción</b>	215
1.1. Métodos de calibrado del P disponible	216
<b>2. Material y métodos</b>	217
<b>3. Resultados y discusión:</b>	
<i>Evaluación del P en los suelos después del ensayo biológico</i>	218
3.1. Fósforo Olsen	218
3.2. Fósforo extraído por MIA	219
3.3. Calibrado del P por ambos métodos	221
<b>4. Referencias</b>	222
<b>V. CONCLUSIONES GENERALES</b>	224
1. Método Olsen y extractos acuosos	225
2. Intercambio isotópico	226
3. Resinas de intercambio aniónico	227
4. Interpretación del calibrado de P	228
5. Consideraciones finales	229

## RELACIÓN DE FIGURAS

### I. INTRODUCCIÓN

- 1) **Fig. 1.** Esquema del fraccionamiento secuencial del P (Hedley et al., 1982) 8

### II. SUELOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### III.1. EXTRACCIÓN DE FÓSFORO CON $\text{NaHCO}_3$ 0,5 M (pH=8,5): CONDICIONES DE EXTRACCIÓN Y VARIABILIDAD DE SUS FRACCIONES

- 2) **Fig. 1.** Diagrama que describe las distintas etapas del fraccionamiento del P en los extractos de bicarbonato 26
- 3) **Fig. 2.** Complejos propuestos para explicar la interacción entre compuestos humus-Al y el ortofosfato: (I) Gerke, 1992; (II) P orgánico 35

#### III.2. EXTRACCIÓN DE FÓSFORO CON AGUA: ASOCIACIONES ORGANOMINERALES [Al(Fe)-P-ÁCIDO FÚLVICO] Y FASES INORGÁNICAS

- 4) **Fig. 1.** Diagrama que describe las distintas etapas del fraccionamiento del P en los extractos acuosos 61
- 5) **Fig. 2.** Efecto de la dilución sobre PR en los suelos cultivados (■) y forestales (○) estudiados. Valores medios al 95% de intervalo de confianza y barras de error igual a  $2 \times \text{ESM}$  64
- 6) **Fig. 3.** Efecto de la dilución sobre el pH (○) y COD (■) en los suelos forestales y cultivados estudiados 64
- 7) **Fig. 4.** Relación entre los valores de PR en el rango w:s estudiado (■, todas las muestras; ○, suelos forestales) 64
- 8) **Fig. 5.** Relación entre los valores de PT en el rango w:s estudiado (■, todas las muestras; ○, suelos forestales) 64
- 9) **Fig. 6.** Relaciones E4/E6 en los extractos acuosos a las dos relaciones w:s estudiadas 73
- 10) **Fig. 7.** Absorbancia a 272 nm en los extractos acuosos a las dos relaciones w:s estudiadas 73
- 11) **Fig. 8.** Diagrama de solubilidad para el Al-fosfato en la disolución del suelo (2,5:1). (1) Variscita (2) Variscita amorfa. ■, muestras cultivadas; ○ muestras forestales 85

**12) Fig. 9.** Diagrama de solubilidad para la strengita y el  $\text{FePO}_4$  en equilibrio con el  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (amorfo) y  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (suelo) en la disolución del suelo (2,5:1). Strengita: (1) amorfo (2) suelo;  $\text{FePO}_4$ : (3) amorfo (4) suelo. ■, muestras cultivadas; ○ muestras forestales 86

**13) Fig. 10.** Doble función de solubilidad para el sistema Ca-P para las relaciones 2,5:1 y 75:1. Los números corresponden a las muestras T2-S: 3 y Esperanza A1: 4. (1) Brushita  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , (2) Hidroxiapatito

89

**14) Fig. 11.** Solubilidad del fosfato de aluminio en los extractos acuosos. (a)  $2,5 \text{ l kg}^{-1}$  (b)  $75 \text{ l kg}^{-1}$ . (1) Amorfo análogo, (2) Variscita. ○ Dializados 89

### III.3. ESTIMACIÓN DE LA FRACCIÓN TOTAL DISPONIBLE DEL FÓSFORO MEDIANTE LA TÉCNICA DE DILUCIÓN ISOTÓPICA EN SUELOS ÁNDICOS NATURALES Y FERTILIZADOS: TRANSFERENCIA DE P ENTRE LOS CONSTITUYENTES DEL SUELO Y DISOLUCIÓN

### III.4. DESORCIÓN DE FÓSFORO DISPONIBLE EN SUELOS DE ORIGEN VOLCÁNICO MEDIANTE EL USO DE RESINAS DE INTERCAMBIO ANIÓNICO

**15) Fig. 1.** Influencia de los tratamientos de P sobre las fracciones de P extraído obtenidas en los eluatos. Las barras de error constituyen el error estándar de la media (Pinorg-Bix10 = Bi-Pc)

154

**16) Fig. 2.** Relaciones entre las fracciones de P en los eluatos del suelo La Esperanza A (medias $\pm$ SD)

154

**17) Fig. 3.** Relaciones entre CO, Al y Fe en los eluatos de bicarbonato del suelo La Esperanza A (media $\pm$ SD)

155

**18) Fig. 4.** Rendimiento del cultivo frente al P en los eluatos de cloruro para el suelo La Esperanza A

155

**19) Fig. 5.** Fósforo acumulado durante cada período de extracción y P liberado del suelo durante cada una de las siete extracciones sucesivas con MIA en muestras de suelos seleccionadas. Clave de muestras: D= LE A; E= LE-50; F= LE-200; J= LE A (30000g); L= LE-50 (30000g); N= LE-200 (30000g)

176

**20) Fig. 6.** Aluminio acumulado durante cada período de extracción y Al liberado del suelo durante cada una de las siete extracciones sucesivas con MIA en muestras de suelos seleccionadas. Para clave de muestras, ver Fig. 5

177



<b>21) Fig. 7.</b> Hierro acumulado durante cada período de extracción y Fe liberado del suelo durante cada una de las siete extracciones sucesivas con MIA en muestras de suelos seleccionadas. Para clave de muestras, ver Fig. 5	178
<b>22) Fig. 8.</b> Carbono orgánico (CO) acumulado durante cada período de extracción y CO liberado del suelo durante cada una de las siete extracciones sucesivas con MIA en muestras de suelos seleccionadas	179
<b>23) Fig. 9.</b> Silicio acumulado durante cada período de extracción y Si liberado del suelo durante cada una de las siete extracciones sucesivas con MIA	180
<b>24) Fig. 10.</b> Dependencia temporal de la adsorción total de P por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo. Clave de muestras: A= BC Bw; B= LL A; C= LE Bw; D= LE A; E= LE-50; F= LE-200; G= LE A (arc 1° ext.); H= LE Bw (30000g); I= LE Bw (50000g, 4°C); J= LE A (30000g); K= LE A (50000g, 4°C); L= LE-50 (30000g); M= LE-50 (50000g, 4°C); N= LE-200 (30000g); O= LE-200 (50000g, 4°C)	181
<b>25) Fig. 11.</b> Dependencia temporal de la adsorción total de Al por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo. Claves ver Fig. 10	182
<b>26) Fig. 12.</b> Dependencia temporal de la adsorción total de Fe por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo	183
<b>27) Fig. 13.</b> Dependencia temporal de la adsorción total de CO por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo	184
<b>28) Fig. 14.</b> Dependencia temporal de la adsorción total de Si por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo	185
<b>29) Fig. 15.</b> Dependencia temporal de la adsorción total de P por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto	186-187
<b>30) Fig. 16.</b> Dependencia temporal de la adsorción total de Al por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto	188-189
<b>31) Fig. 17.</b> Dependencia temporal de la adsorción total de Fe por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto	190-191
<b>32) Fig. 18.</b> Dependencia temporal de la adsorción total de Fe por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto	192-193

**33) Fig. 19.** Dependencia temporal de la adsorción total de Si por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto 194-195

#### **IV. ANEJOS: CALIBRADO DE P DISPONIBLE Y ENSAYOS BIOLÓGICOS EN SUELOS VOLCÁNICOS CON ELEVADA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE FOSFATO**

**IV. 1. Anejo 1:** *CAMBIOS EN LAS FRACCIONES DE P EN UN ANDISOL, INDUCIDOS POR LA INFECCIÓN DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN CULTIVOS DE TAGASASTE (Chamaecytisus proliferus ssp. proliferus var. Palmensis)*

**34) Fig. 1.** Esquema procedimental del fraccionamiento del P. POL: P en el extracto de  $\text{HCO}_3^-$  determinado por colorimetría directa. Este incluye, en principio, tanto compuestos inorgánicos como orgánicos "lábil" del P; POLC: contenido en P del extracto de  $\text{HCO}_3^-$  después de su tratamiento con carbón activo para remover la mayor parte del P orgánico; PEN: P hidrolizable por la enzima fosfatasa, potencial fuente de P biodisponible; PT: contenido de P total en los extractos de  $\text{HCO}_3^-$  medido colorimétricamente después de digestión (autoclave) con  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5N 209

**IV. 2. Anejo 2:** *CALIBRADO DE P DISPONIBLE EN SUELOS CON ALTA CAPACIDAD DE RETENCIÓN POR LOS MÉTODOS DE LA MEMBRANA DE INTERCAMBIO IÓNICO Y OLSEN EN MAÍZ (Zea mays L.)*

**35) Fig. 1.** Rectas de regresión del POL (■) y Cl-P (●) frente a los tratamientos con P en la muestra Esperanza 220

**36) Fig. 2.** Rectas de regresión del POL (■) y Cl-P (●) frente a los tratamientos con P en la muestra Karting 220

**37) Fig. 3.** Absorción de P por las plantas frente a los tratamientos con P en las muestras Karting (●) y Esperanza (■) 221

## RELACIÓN DE TABLAS

### I. INTRODUCCIÓN

- 1) **Tabla 1.** Algunos ejemplos de minerales de la familia del apatito 5
- 2) **Tabla 2.** Relación entre el grado de disponibilidad y las fracciones de P de la extracción secuencial de Hedley et al. (1982) (adaptada de Cross y Schlesinger, 1995) 10

### II. SUELOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS

- 3) **Tabla 1.** Clasificación de los suelos y algunas de sus propiedades más relevantes 17

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### III.1. EXTRACCIÓN DE FÓSFORO CON $\text{NaHCO}_3$ 0,5 M (pH=8,5): CONDICIONES DE EXTRACCIÓN Y VARIABILIDAD DE SUS FRACCIONES

- 4) **Tabla 1.** Fraccionamiento del P en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), centrifugados a dos temperaturas diferentes (4 o 20°C) 29
- 5) **Tabla 2.** Fraccionamiento del COD, Al y Fe en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), centrifugados a 4 o 20°C 30
- 6) **Tabla 3.** Fraccionamiento del P en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), filtrados por 0,45  $\mu\text{m}$  y centrifugados a 4 o 20°C 31
- 7) **Tabla 4.** Fraccionamiento del COD, Al y Fe en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), filtrados por 0,45  $\mu\text{m}$  y centrifugados a 4 o 20°C 32
- 8) **Tabla 5.** Fosfato hidrolizable por la enzima fosfatasa alcalina en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) 34
- 9) **Tabla 6.** Fracciones de P particulado (> 0,45  $\mu\text{m}$ ) en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) y centrifugados a 4 o 20°C 38
- 10) **Tabla 7.** Fracciones de COD, Al y Fe particulado (> 0,45  $\mu\text{m}$ ) en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) y centrifugados a 4 o 20°C 39
- 11) **Tabla 8.** Fraccionamiento del P en extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas y centrifugados a 4 o 20°C 40
- 12) **Tabla 9.** Fraccionamiento del COD, Al y Fe en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo y centrifugados a 4 o 20°C 41

<b>13) Tabla 10.</b> Fraccionamiento del P en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo, filtrados por $0,45 \mu\text{m}$ y centrifugados a $4$ o $20^\circ\text{C}$	42
<b>14) Tabla 11.</b> Fraccionamiento del COD, Al y Fe en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo, filtrados por $0,45 \mu\text{m}$ y centrifugados a $4$ o $20^\circ\text{C}$	43
<b>15) Tabla 12.</b> Fracciones de P particulado ( $> 0,45 \mu\text{m}$ ) en extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo y centrifugados a $4$ o $20^\circ\text{C}$	44
<b>16) Tabla 13.</b> Fracciones de COD, Al y Fe particulado ( $>0,45\mu\text{m}$ ) en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo y centrifugados a $4$ o $20^\circ\text{C}$	45
<b>17) Tabla 14.</b> Fracciones de P y COD microbiano y P hidrolizado por la enzima fosfatasa en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo, filtradas por Whatman No. 42 o por $0,45\mu\text{m}$ y centrifugados a $4$ o $20^\circ\text{C}$ ( $\pm$ desviación estándar)	46

### III.2.EXTRACCIÓN DE FÓSFORO CON AGUA: ASOCIACIONES ÓRGANOMINERALES [Al(Fe)-P-ÁCIDO FÚLVICO] Y FASES INORGÁNICAS

<b>18) Tabla 1.</b> Fraccionamiento del P en extractos acuosos de suelos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) filtrados por $0,45 \mu\text{m}$ (DS: desviación estándar, ESM: error estándar de la media)	63
<b>19) Tabla 2.</b> Ecuaciones de regresión que relacionan los valores de P- $0,45\mu\text{m}$ (PR y PT) en los diferentes extractos acuosos. Los valores entre paréntesis de la ecuación representan las relaciones w:s ( $l \text{ kg}^{-1}$ ) (todos los suelos: $n=29$ ; suelos forestales: $n=15$ ; SEM: error estándar de la media)	65
<b>20) Tabla 3.</b> Efecto de la relación w:s sobre la composición de la disolución del suelo ( $\text{mg l}^{-1}$ )	68
<b>21) Tabla 4.</b> Fraccionamiento del P ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en los extractos acuosos- $0,45 \mu\text{m}$ de suelo a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1 $l \text{ kg}^{-1}$ )	70
<b>22) Tabla 5.</b> Fraccionamiento del COD en los extractos acuosos- $0,45 \mu\text{m}$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1 $l \text{ kg}^{-1}$ )	71
<b>23) Tabla 6.</b> Efecto de la relación w:s sobre la composición de la disolución del suelo ( $\text{mg l}^{-1}$ ) en los extractos filtrados por Whatman 42	74
<b>24) Tabla 7.</b> Fraccionamiento del COD en los extractos acuosos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) filtrados por Whatman 42 a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1 $l \text{ kg}^{-1}$ )	75
<b>25) Tabla 8.</b> Fraccionamiento del P ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en los extractos acuosos de suelo en los extractos filtrados por Whatman 42 a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1 $l \text{ kg}^{-1}$ )	76

<b>26) Tabla 9.</b> Fracciones de P ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) reactivas y no reactivas en los extractos acuosos de suelo a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1 $\text{l kg}^{-1}$ )	77
<b>27) Tabla 10.</b> Fracciones de COD ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) y Al ( $\text{mg l}^{-1}$ ) en los extractos acuosos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) con un tamaño de partícula $>0,45 \mu\text{m}$ a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1 $\text{l kg}^{-1}$ )	78
<b>28) Tabla 11.</b> Influencia de la dilución (extractos- $0,45\mu\text{m}$ ) sobre el P hidrolizado por la enzima fosfatasa y sobre las fracciones de P, C y Al liberadas por el cloroformo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) ( $\pm$ error estándar de la media)	80
<b>29) Tabla 12.</b> Análisis de P, Al ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) y COD ( $\text{mg l}^{-1}$ ) en los dializados y en las disoluciones exteriores en los extractos 2,5:1	83
<b>30) Tabla 13.</b> Actividades de P y Al, pH y productos de actividades iónicas (PAI) para los sólidos considerados en todas las muestras de suelo estudiadas	85
<b>31) Tabla 14.</b> Valores de $-\log$ del producto de actividad iónica (pPAI) respecto a la variscita y $\text{Al}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{PO}_4$ en los dializados de los extractos acuosos	90

### III.3. ESTIMACIÓN DE LA FRACCIÓN TOTAL DISPONIBLE DEL FÓSFORO MEDIANTE LA TÉCNICA DE DILUCIÓN ISOTÓPICA EN SUELOS ÁNDICOS NATURALES Y FERTILIZADOS: TRANSFERENCIA DE P ENTRE LOS CONSTITUYENTES DEL SUELO Y DISOLUCIÓN

<b>32) Tabla 1.</b> Concentración de P en la disolución del suelo ( $C_p$ ) después de añadir el P radiactivo durante el experimento de intercambio isotópico y cantidad de P intercambiado isotópicamente hasta 1 min (E1min) en las muestras estudiadas	106
<b>33) Tabla 2.</b> Constantes medias de velocidad de intercambio y de flujo transferido (Fardeau et al., 1991)	109
<b>34) Tabla 3.</b> Contenido de P ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en las diferentes fracciones intercambiables calculadas a partir del análisis multicompartimental (Ec. 7) de Fardeau (1993)	110
<b>35) Tabla 4.</b> Balance del P en los extractos y eluatos y disoluciones remanentes de la MIA ( $\mu\text{g l}^{-1} \pm \text{ESM}$ )	114
<b>36) Tabla 5.</b> Caracterización de los extractos y eluatos de resina	114
<b>37) Tabla 6.</b> Análisis de la radioactividad en los extractos ( $C_p$ ), eluatos de la membrana de resina (NaCl y NaOH) y su sobrenadante (cpm)	115
<b>38) Tabla 7.</b> Análisis compartimental de las fracciones de P después del intercambio isotópico en las muestras fertilizadas, previas al tratamiento con la membrana de intercambio aniónico (MIA). $C_p\text{-PR}$ y $C_p\text{-PT}$ = P reactivo y total de los extractos ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), E ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), tiempo = 1 minuto, 1 día y 40 días	115

<b>39) Tabla 8.</b> Análisis compartimental de las fracciones de P después del intercambio isotópico en las muestras fertilizadas y posterior extracción con membrana de intercambio aniónico (MIA). Cp-Cl-PR y Cp-OH-PR = P reactivo en los eluatos de NaCl y NaOH en la MIA ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ); E( $\text{mg kg}^{-1}$ ), tiempo = 1 minuto, 1 día y 40 días	116
<b>40) Tabla 9.</b> Análisis estocástico del intercambio isotópico en los eluatos de las membranas de resina de las muestras fertilizadas. $K_m$ ( $\text{min}^{-1}$ ), $T_m$ (min), $F_m$ ( $\text{mg kg}^{-1} \text{min}^{-1}$ ), CpR = P reactivo ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), CpT= P total del extracto ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), MIACl = membrana eluída con NaCl ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), MIAOH = membrana eluída con NaOH ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), MIAAt = PR[eluato NaCl + NaOH ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )]. Las concentraciones empleadas para calcular el parámetro F se expresaron en $\text{mg kg}^{-1} \text{min}^{-1}$	118
 <b>III.4. DESORCIÓN DE FÓSFORO DISPONIBLE EN SUELOS DE ORIGEN VOLCÁNICO MEDIANTE EL USO DE RESINAS DE INTERCAMBIO ANIÓNICO</b>	
<b>41) Tabla 1.</b> Resumen de los experimentos realizados con los diferentes tipos de intercambiadores aniónicos	133
<b>42) Tabla 2.</b> Características más importantes de las resinas empleadas	135
<b>43) Tabla 3.</b> Cantidades de P y S extraídos por la resina Dowex y fraccionamiento del P en la suspensión sobrenadante (muestras V: cultivadas)	140-141
<b>44) Tabla 4.</b> Cantidades de P y S extraídos por la MIA y fraccionamiento del P en la suspensión sobrenadante (V: cultivadas)	142-143
<b>45) Tabla 5.</b> Cantidades de P y S extraídos por la resina Merck y fraccionamiento del P en la suspensión sobrenadante (muestras V: cultivadas)	144-145
<b>46) Tabla 6.</b> Cantidades de Al, Si y Fe en equilibrio extraídos por las diferentes resinas ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en la suspensión sobrenadante (muestras V: cultivadas)	147-148
<b>47) Tabla 7.</b> Características de los eluatos de MIA procedentes de las eluciones secuenciales	152
<b>48) Tabla 8.</b> Fraccionamiento del P en los eluatos de MIA (Cl- y Bi-) para el suelo La Esperanza A (media $\pm$ ESM)	152
<b>49) Tabla 9.</b> Fraccionamiento del P en los eluatos de MIA (Cl- y Bi-) para el suelo Karting A (media $\pm$ ESM)	153
<b>50) Tabla 10.</b> Fraccionamiento del P en los eluatos (Cl- y Bi-) para cada tratamiento con MIA (media $\pm$ ESM; l.d.: límite detección)	157-158
<b>51) Tabla 11.</b> Fraccionamiento del P en los eluatos (Cl- y Bi-) para cada relación w:s y con una MIA (media $\pm$ ESM; l.d.: límite detección)	159-160
<b>52) Tabla 12.</b> Fósforo reactivo (PR) en función de la relación w:s (sin MIA) en los suelos del experimento (2) (media $\pm$ ESM)	161

<b>53) Tabla 13.</b> Cantidades de P, carbono orgánico (CO), Al, Fe y Si en las suspensiones sobrenadantes en función del número de membranas (media±ESM)	162-163
<b>54) Tabla 14.</b> Cantidades de P, carbono orgánico disuelto (CO), Al, Fe y Si en las suspensiones sobrenadantes en función de la relación w:s (media±ESM)	164-165
<b>55) Tabla 15.</b> Relaciones molares (mol mol <sup>-1</sup> ) entre el P y el CO, Al, Fe y Si extraídos (Cl-+Bi-) por las membranas en función del número de MIA empleadas	167
<b>56) Tabla 16.</b> Relaciones molares (mol mol <sup>-1</sup> ) entre el P y el CO, Al, Fe y Si extraídos (Cl-+Bi-) por las membranas en función de la relación w:s (l kg <sup>-1</sup> )	167
<b>57) Tabla 17.</b> Cantidades acumuladas de P, carbono orgánico disuelto (CO), Al, Fe, Si y S extraídas por la MIA después de 96 h de extracción secuencial (media de dos observaciones) (μmol MIA <sup>-1</sup> y mg kg <sup>-1</sup> de suelo respectivamente)	170
<b>58) Tabla 18.</b> Cantidades de P, carbono orgánico disuelto (CO), Al, Fe, Si y S en la disolución del suelo resultante después de 96 h de extracción secuencial (media de dos observaciones) (mg kg <sup>-1</sup> de suelo)	171
<b>59) Tabla 19.</b> Relaciones molares entre los diferentes elementos encontrados en los eluatos después de seis extracciones secuenciales con MIA	196

#### **IV. ANEJOS: CALIBRADO DE P DISPONIBLE Y ENSAYOS BIOLÓGICOS EN SUELOS VOLCÁNICOS CON ELEVADA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE FOSFATO**

**IV. 1. Anejo 1:** *CAMBIOS EN LAS FRACCIONES DE P EN UN ANDISOL, INDUCIDOS POR LA INFECCIÓN DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN CULTIVOS DE TAGASASTE (Chamaecytisus proliferus ssp. proliferus var. Palmensis)*

<b>60) Tabla 1.</b> Valores de P extraíble con bicarbonato POL (mg kg <sup>-1</sup> ) antes y después del cultivo (medias±ESM)	210
<b>61) Tabla 2.</b> Valores de POLC, PW3 y PEN (mg kg <sup>-1</sup> ) para los niveles P0 y P2	211

**IV. 2. Anejo 2:** *CALIBRADO DE P DISPONIBLE EN SUELOS CON ALTA CAPACIDAD DE RETENCIÓN POR LOS MÉTODOS DE LA MEMBRANA DE INTERCAMBIO IÓNICO Y OLSEN EN MAÍZ (Zea mays L.)*

<b>62) Tabla 1.</b> Valores medios de POL y Cl-P en función del tratamiento aplicado a los suelos ( $\pm$ desviación estándar)	219
---	-----



**SÍMBOLOS QUE APARECEN CON MÁS FRECUENCIA EN EL TEXTO**

**Al, Fe, Si, S:** aluminio, hierro, silicio y azufre. Para estos elementos es de aplicación las abreviaturas que acompañan al fósforo (pe.: Alf, Feh, AID, etc.).

**Al-4:** Al monómero

**Bi-:** eluato de NaHCO<sub>3</sub> 0,5 M procedente de resina o MIA

**Cl-:** eluato de NaCl 1M procedente de resina o MIA

**CO:** carbono orgánico

**COD:** carbono orgánico disuelto

**CODf:** carbono orgánico disuelto asociado a la fracción fúlvica de la materia orgánica

**CODh:** carbono orgánico disuelto asociado a la fracción húmica de la materia orgánica

**CODD:** carbono orgánico disuelto en dializado

**CODM:** carbono orgánico disuelto asociado a la fracción microbiana

**Cp:** concentración de iones P en disolución

**Elmin:** fósforo intercambiado isotópicamente hasta 1 min

**MIA:** membrana de intercambio aniónico

**OH-:** eluato de NaOH 1M procedente de MIA

**P:** fósforo

**PAI:** producto de actividad iónica

**Pc:** fósforo en eluatos de resina después de tratamiento con carbón activo

**PD:** fósforo dializado

**PEN:** fósforo hidrolizable por la enzima fosfatasa

**Pf:** fósforo asociado a la fracción fúlvica de la materia orgánica

**Ph:** fósforo asociado a la fracción húmica de la materia orgánica

**PI:** fósforo inorgánico

**PINRA:** fósforo orgánico insoluble no reactivo en medio ácido

**PM:** fósforo microbiano

**PND:** fósforo no dializable

**PNR:** fósforo acuoso no reactivo

**PO:** fósforo orgánico

**POL:** fósforo Olsen

**POLA:** fósforo Olsen + reactivo citrato-arsenito

**POLC:** fósforo Olsen después de tratamiento con carbón activo

**POP:** fósforo Olsen particulado

**PP:** fósforo acuoso particulado

**PR:** fósforo acuoso reactivo

**PRC:** fósforo acuoso reactivo después de tratamiento con carbón activo

**PSRA:** fósforo soluble reactivo en extracto acuoso acidificado

**PSTA:** fósforo soluble total en extracto acuoso acidificado

**PT:** fósforo total

**PTI:** P total en extracto acidificado

**PW3:** fósforo acuoso para relación w:s=3

**R, r:** radiactividad introducida y remanente en disolución, respectivamente

**sob:** sobrenadante de resina

**w:s:** relación agua/suelo

CAPÍTULO I:

*INTRODUCCIÓN*

## 1. Planteamiento y objetivos

Los suelos de origen volcánico, especialmente los Andosoles y suelos con propiedades ándicas presentan un comportamiento único respecto a otros tipos de suelos, tanto en sus características físicas como químicas. Destaca su notable capacidad de sorción<sup>1</sup> específica de cationes y aniones, incluyendo compuestos orgánicos. Esta capacidad se debe a sus elevados contenidos en materiales amorfos, o de ordenación de corto alcance: silicatos de aluminio (alofana e imogolita) y oxihidróxidos de hierro y aluminio, de gran superficie específica, lo que, unido a la accesibilidad de grupos funcionales superficiales hidroxilados, confiere al conjunto una gran reactividad química. A la misma también contribuyen los compuestos órganominerales, principalmente los complejos entre las moléculas húmicas y aluminio y hierro, frecuentemente hidroxilados.

No es de extrañar que la investigación de la dinámica del fósforo en estos tipos de suelos haya adquirido un gran desarrollo

por su importancia agronómica y ambiental. Precisamente, en la definición de propiedades ándicas se encuentra un parámetro de retención de fosfato.

En el Departamento de Edafología y Geología de la Universidad de La Laguna se ha venido desarrollando una línea de investigación sobre el fósforo en Andosoles y suelos ándicos que combina el estudio de la química del fósforo con otras medidas de reactividad de los materiales ándicos, con el fin de comprender los mecanismos de interacción del fósforo con estos materiales y los efectos en sus propiedades (carga superficial, propiedades físicas) y su biodisponibilidad. Estos trabajos se irán citando a lo largo de esta Memoria. Destacamos de los resultados de esta investigación -llevada a cabo en el laboratorio, en el invernadero y en el campo- la gran dependencia que presentan las reacciones del fósforo en estos tipos de suelos de las condiciones de humedad, pH y concentración de fósforo, así como la estrecha relación entre este elemento y el aluminio, hierro amorfos y la materia orgánica.

En este contexto, el objetivo del presente trabajo se centra en interpretar las interacciones del fósforo con el aluminio, hierro y materia orgánica en Andosoles y suelos ándicos, su interacción con la disolución del suelo y sus repercusiones en la biodisponibilidad del fósforo. Para ello, se han investigado los siguientes aspectos de la interacción entre las fases sólida y líquida: (1) especiación de la disolución del

---

<sup>1</sup> Se emplea en este trabajo la palabra "sorción" (procedente del inglés *sorption*) utilizando la definición dada por Barrow (1987): este término indica el conjunto del proceso de eliminación del P de la disolución del suelo, bien mediante adsorción, por haber penetrado en la superficie adsorbente formando una unión tridimensional (el ión adsorbido se encuentra localizado sobre la superficie de la fase sólida), o bien por precipitación. La primera referencia de la que hemos tenido noticia sobre el empleo de este término aplicado al análisis de suelos en publicaciones en castellano en España corresponde a Guadalix y Pardo (1990).

suelo y de diferentes extractos de suelos, (2) utilización de ensayos enzimáticos para diferenciar el fósforo orgánico del órgano-mineral, (3) utilización de técnicas isotópicas, (4) utilización de resinas de intercambio aniónico y (5) calibrado del fósforo disponible en ensayos biológicos.

## **2. El problema de la estimación del P disponible**

Los Andosoles y suelos con características ándicas, propios de zonas volcánicas y de gran importancia agrícola y forestal en las Islas Canarias, presentan una gran afinidad por el ión ortofosfato por parte de los compuestos activos de Fe y Al tanto de naturaleza orgánica como órganomineral (Wada, 1980). Estas elevadas capacidades de retención no implican necesariamente una inmovilización del fósforo en el suelo (Hernández-Pérez, 1991); de ahí la importancia del estudio de la reversibilidad del fosfato retenido en función de los diferentes componentes del suelo.

Tanto los procesos implicados en la reversibilidad de la retención de fosfato como en la cinética de desorción juegan un papel determinante en la eficacia de los fertilizantes fosfatados aplicados y en su solubilidad en el suelo, incidiendo directamente en el aprovechamiento del P disponible por parte de las plantas. En suelos volcánicos, la cantidad de P disponible es baja en comparación con el fósforo total lo cual parece constituir un factor limitante en el rendimiento de los cultivos.

Debido a la alta retención de fosfato que presentan estos suelos es frecuente que no haya respuesta a la fertilización fosfatada y que sea necesario sobrefertilizar para alcanzar los niveles de saturación de fósforo. Como consecuencia de las altas dosis de fertilizantes aplicadas y el alto poder de fijación de estos suelos, la proporción de fertilizante inmediatamente disponible para los cultivos es muy baja y, por tanto, cabe esperar un efecto residual de P en sucesivas cosechas.

El principal problema que se plantea es la puesta a punto de técnicas estimativas del P disponible. Su propósito no es otro que determinar la cantidad de P complementario, necesario para evitar posibles pérdidas económicas debidas a la deficiencia de este macronutriente en los cultivos (Fixen y Grove, 1990). Así, desde que Dyer utilizara a finales del siglo XIX el ácido cítrico como extractante del P disponible, han ido apareciendo distintos procedimientos encaminados a tal fin. Sin embargo, la gran diversidad de formas del fósforo en el suelo constituye una de las principales causas del desarrollo de diferentes metodologías analíticas encaminadas a extraer aquellas fracciones de P de fácil disponibilidad para la planta.

Los métodos más ampliamente utilizados en la determinación del P disponible encuentran su base en la extracción química. En principio, se buscaba un reactivo que fuese capaz de solubilizar la misma cantidad de fosfatos del suelo que las raíces de las plantas, ignorando que las diferentes especies

vegetales pueden extraer cantidades diferentes de fosfatos en el mismo suelo (Wild, 1992). A esto hay que unir el desplazamiento de los equilibrios existentes en el suelo debido a la propia naturaleza del agente extractante y, sobre todo, al pH de extracción.

Esta problemática ha sido motivo de estudio en diferentes países y zonas agrícolas de todo el mundo, donde los métodos de rutina utilizados como cuantificadores del fósforo no reflejan las respuestas de los cultivos, ni las necesidades de fertilización (Kamprath y Watson, 1980). En el caso de los Andosoles y otros suelos de carga variable, este problema es mucho más acusado; en este tipo de suelos, las calibraciones utilizadas habitualmente para evaluar las necesidades de los cultivos fracasan estrepitosamente (Fox, 1980).

El establecimiento de planes de fertilización en los cultivos ha llevado a la necesidad de encontrar nuevos métodos de análisis de suelos, orientativos de sus necesidades más inmediatas. De esta manera, el cultivo no sólo estaría bien nutrido, sino que además, la utilización de cantidades óptimas de fertilizantes, repercutiría favorablemente en el ahorro en los costes de producción, en la conservación de recursos naturales y en reducir la contaminación.

Además de todas las ventajas e inconvenientes que por su propio origen los métodos químicos de extracción puedan tener, no cabe duda que existen otros factores que afectan a los valores obtenidos por cada uno de ellos. Entre estos factores tenemos la

materia orgánica, el fósforo orgánico y la propia dinámica química del P en los diferentes tipos de suelos (Sharpley, 2000).

Por otra parte, los bajos niveles de P en la disolución del suelo han dado pie a numerosos trabajos que describen las relaciones que existen entre el P en disolución y el resto de fracciones que interaccionan con él; es por ello que en los últimos quince años haya aumentado el interés por los procesos de mineralización del P orgánico, por ser este la principal reserva de P potencialmente disponible de los suelos.

Aunque la mayor parte del fósforo orgánico del suelo esta considerado como inerte y su estructura lo haría no disponible por las plantas, recientes estudios parecen indicar que el fosfato en la disolución del suelo esta muy ligado a la fracción lábil del P orgánico debido a la rapidez con que transcurre el ciclo del P, atribuible en gran medida a la biomasa del suelo (McLaren y Cameron, 1990). El fosfato liberado de los organismos muertos y en descomposición mediante ruptura enzimática (mineralización) podría ser inmovilizado nuevamente, en parte, por la biomasa mientras que el resto podría ser tomado por las raíces de las plantas. Siguiendo esta vía, la biomasa podría ayudar a mantener la disponibilidad del fosfato para las plantas y en cierta medida, "proteger" a los iones fosfato de las reacciones de fijación.

Debido a la relación existente entre la disponibilidad del fosfato y el P orgánico, hemos realizado una pequeña síntesis de los métodos de extracción del P disponible en el

**Tabla 1.** Algunos ejemplos de minerales de la familia del apatito

Mineral	Fórmula química
Flúorapatito	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{CaF}_2$
Hidroxiapatito	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}(\text{OH})_2$
Carbonato apatito	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{CaCO}_3$
Cloroapatito	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{CaCl}_2$

suelo y el estado actual de las investigaciones del papel que desempeña el P orgánico en el ciclo del macronutriente y su importancia dentro de la edafogénesis.

### 3. El fósforo en el suelo

El P juega un papel esencial en todos los procesos metabólicos de los seres vivos. Procesos bioquímicos especializados como la respiración en los mamíferos, la fotosíntesis en las algas o el fitociclaje microbiano de la materia vegetal en descomposición no serían posibles sin unos niveles de P adecuados. Por esta razón, la distribución y el flujo de las diferentes formas del P podrían indicarnos los niveles y tipos de actividad bioquímica que tienen lugar en un ecosistema (Cole et al., 1977).

En los suelos, la existencia de diferentes formas de P está condicionada por los procesos edáficos que afectan a su disponibilidad; de esta manera, una gran variedad de procesos biológicos y geoquímicos interactuarán para controlar la cantidad de P disponible en el suelo (Tiessen et al., 1984; Smeck, 1985). La importancia relativa de estos procesos puede variar tanto por el tipo de ecosistema (Lajtha y

Schlesinger, 1988) como por el tipo de horizonte (Wood et al., 1984). De aquí la gran estabilidad que presenta el P en el suelo, siendo su poder limitante para el desarrollo de las plantas muy superior al del Ca e incluso al del K.

En el suelo no existe P en su forma libre, sino combinado en fosfatos de diferente naturaleza y estado, procedentes del material de origen o de los fertilizantes añadidos. El material de origen de un suelo contiene fundamentalmente fosfatos de Ca, agrupados dentro de la familia del apatito (Tabla 1). Estos compuestos son poco solubles en suelos neutros y alcalinos y se hidrolizan a medida que progresa la alteración y el desarrollo del suelo, pasando a formar parte de su fase disolución. El P en disolución puede ser retenido por las superficies minerales, precipitando con algunos cationes o ser incorporado a la biomasa y a la materia orgánica del suelo. Durante el proceso de alteración, se produce una pérdida de bases por lavado, generándose oxi-hidróxidos de Al y Fe, seguido por la formación de fosfatos secundarios de Fe o Al (Hsu, 1977).

El contenido total de P en los suelos es relativamente bajo. En suelos minerales de zonas templadas, su contenido suele variar

entre 0.02 y 0.08% (200-800 ppm), si bien de esta cantidad el porcentaje del P orgánico oscila entre el 25 al 75% (Wild, 1992). Como excepción, los suelos jóvenes procedentes de cenizas volcánicas, caso de los Andosoles, presentan un mayor contenido de P total, especialmente los desarrollados a partir de piroclastos de composición basáltica.

El contenido de P es mayor en los horizontes superficiales, disminuyendo al aumentar la profundidad debido a la disminución en el contenido de materia orgánica. Asimismo, el contenido en P, sus formas y su distribución, parecen depender de la textura del suelo, de forma que cuanto más fina sea su textura mayor será su contenido en P y viceversa (O'Halloran et al., 1987).

#### 4. Formas de P en el suelo

Las cantidades y formas en las que el P puede presentarse varían de acuerdo con los factores de formación del suelo (Walker, 1965; Smeck, 1973). En este sentido, Walker (1965) indica el importante papel que desempeñaría este elemento durante la edafogénesis debido a su papel ecológico. Más tarde, Cole y Heil (1981) discutieron la influencia de la concentración de P sobre la tendencia del C y el N a acumularse durante la formación del suelo.

Por otro lado, Walker y Syers (1976) sugieren que tanto los procesos edafogénicos como el grado de intensidad con que un suelo se altera, condicionan la distribución del P total (PT) a medida que éste se desarrolla. En

ecosistemas jóvenes, con suelos ligeramente alterados, la mayor parte del P proviene de los minerales primarios, cuya alteración da lugar a una fracción lábil de disponibilidad inmediata para las plantas. En ecosistemas con un moderado régimen de alteración, gran parte del P se encuentra formando parte de compuestos orgánicos o adsorbidos a minerales secundarios de arcilla. Finalmente, aquellos ecosistemas con suelos altamente alterados, presentan formas de P no lábiles, ocluidas o formando parte de compuestos orgánicos estables.

El conocimiento sobre la procedencia, evolución y comportamiento de cada una de estas formas de P es importante desde el punto de vista de la nutrición de los cultivos, ya que no todas están disponibles para los mismos y en ocasiones estas formas *a priori* no disponibles pasan a serlo a través de procesos propios del suelo, o con la participación de microorganismos.

Sin embargo, los químicos del suelo no han encontrado una terminología general que agrupe las diversas formas en que se encuentra el P. A pesar de que los reactivos de extracción utilizados habitualmente no separan claramente ni agrupan las formas discretas de P en el suelo, la mayoría de los investigadores las clasifican según el tipo de extractantes empleados. La ventaja de esta terminología radica en que se pueden establecer relaciones entre las diversas formas, su evolución y la transformación que sufren en el suelo.

La clasificación más simple de las formas de P, nos lleva a dividir las atendiendo a su



naturaleza primaria. Así, tendríamos la *fracción total* de P (PT) del suelo que a su vez se subdivide en otras dos, la *fracción inorgánica* (PI) asociada al P de naturaleza mineral y la *fracción orgánica* (PO) asociada a la materia orgánica del suelo. La relación entre las tres fracciones vendría dada por:

$$PT = PI + PO$$

conociendo la fracción total y la inorgánica, por diferencia obtendríamos la fracción orgánica.

Sin embargo esta visión holística no diferencia entre las formas químicas de naturaleza inorgánica como orgánica del P en el suelo. Por ejemplo, entre los fosfatos inorgánicos se pueden distinguir formas bien definidas y cristalizadas, formas amorfas, los fosfatos adsorbidos y los presentes en la disolución del suelo. Por otra parte, tampoco nos da cuenta de la naturaleza de la *fracción disponible o asimilable*<sup>2</sup> para la planta, ni los procesos que pueden gobernar la distribución y transformación del P.

El fraccionamiento del P unido al carbonato cálcico o a los minerales de Fe y Al desarrollado por Chang y Jackson (1957), o cualquiera de sus posteriores modificaciones (Jackson, 1958; Peterson y Corey, 1966; Williams et al., 1967), ha sido utilizado para la caracterización del PI y para

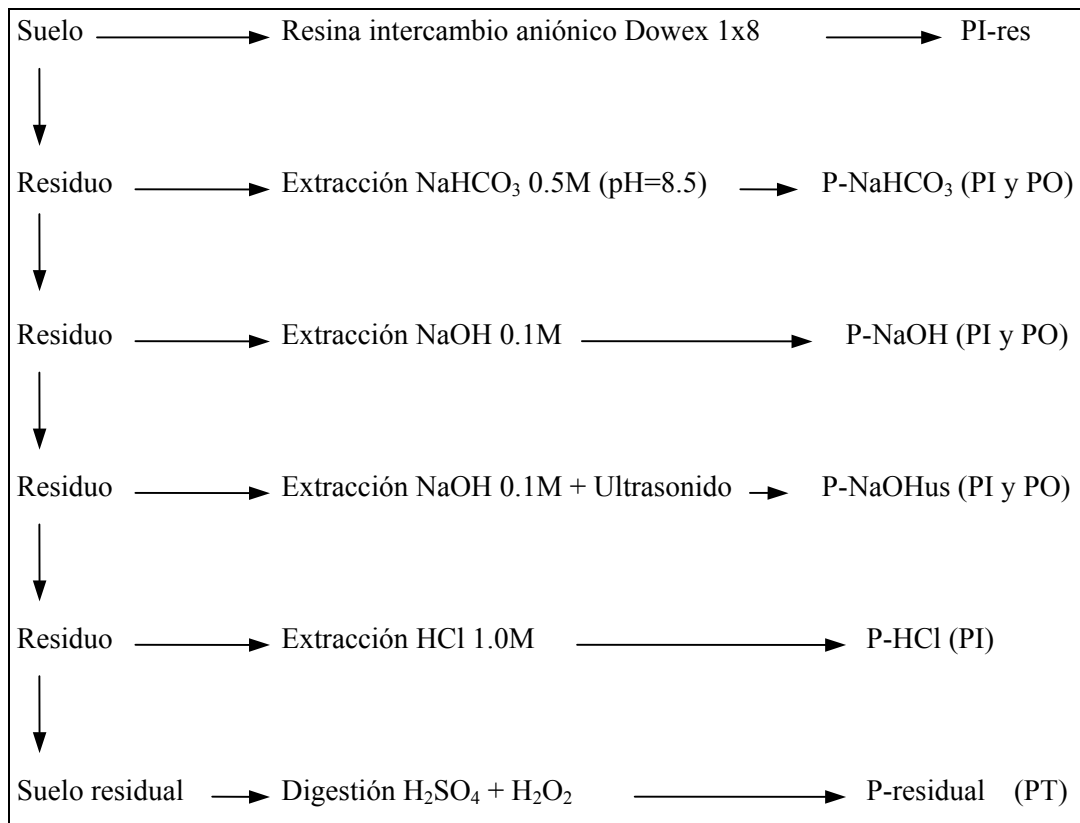
explicar los procesos de transformación del P durante la edafogénesis (Westin y Brito, 1969; Smeck, 1973). Sin embargo, este método no diferencia las fracciones del PO, las cuales no son sólo importantes *per se*, sino que parecen jugar un papel relevante en la nutrición vegetal.

Hedley y Stewart (1982) y Hedley et al. (1982) proponen un fraccionamiento secuencial (Fig. 1) que intenta examinar a través del análisis del P en extractos de suelos no sólo el PI, sino también las formas lábiles y más estables del PO en suelos sometidos a diferentes condiciones de incubación y manejo. Mediante este fraccionamiento, los iones fosfatos son extraídos de la disolución del suelo mediante resinas de intercambio aniónico, mientras que las formas de P inorgánico y orgánico se extraen secuencialmente utilizando reactivos y condiciones de agresividad progresiva.

Con anterioridad al fraccionamiento de Hedley, numerosos métodos de extracción y digestión fueron diseñados para cuantificar la cantidad de P disponible para las plantas y el P geoquímicamente fijado. Así, en suelos alcalinos el P disponible se determinaba en extractos de NaHCO<sub>3</sub> (Olsen et al., 1954), mientras que en suelos ácidos, éste era medido en extractos ácidos (Bray y Kurtz, 1945). El P inorgánico se estimaba utilizando la metodología ya comentada de Chang y Jackson (1957). La fracción de P total en el suelo era determinada a través de técnicas de digestión, ignición o fusión (Metha et al., 1954; Dormaar y Webster, 1964; Dick y Tabatabai, 1977a; Lajtha and Schlesinger,

<sup>2</sup> A lo largo de este trabajo emplearemos el término P disponible y no el de P asimilable ya que este último es mucho más restrictivo que el primero, pues puede ocurrir que de todo el P del suelo disponible para la planta solo una parte sea asimilable por ella ya que su absorción por las raíces depende de la forma química en que se encuentre y cuan exigente sea la planta hacia el macronutriente.

**Figura 1.** Esquema del fraccionamiento secuencial del P desarrollado por Hedley et al. (1982)



1988; Condrón et al., 1990; Fox et al., 1990). Combinando resultados, se podía establecer la cantidad de P que correspondía a cada una de las fracciones.

La principal ventaja del esquema de Hedley sobre estos métodos es que con la misma muestra de suelo, tratada secuencialmente con diversos reactivos, se puede establecer la proporción existente entre las diferentes fracciones de P en la muestra, separando las formas potencialmente disponibles de otras que no lo son (Tiessen y Moir, 1993).

Utilizando la terminología actualizada por Cross y Schlesinger (1995), basada en el fraccionamiento químico de Hedley, las

formas orgánicas e inorgánicas del P en el suelo las podemos agrupar en:

- **Minerales primarios:** minerales asociados al apatito los cuales son extraíbles por ácidos como el HCl. Consistiría en la forma más estable de PI debido a la baja solubilidad que presentan estos minerales (Schoenau et al., 1989).

- **P soluble:** extraíble con agua o disoluciones salinas (Van der Paaw, 1971; Sissingh, 1971).

- **P lábil:** formas intercambiables isotópicamente, extraíbles con resinas

intercambiadoras de aniones o con  $\text{NaHCO}_3$ . Aunque Mattingly (1975) indicara la posibilidad de que la fracción lábil pudiese a su vez subdividirse en otras series de fracciones de diferentes energías de enlace, con el término P lábil nos referiremos al P del suelo que se equilibra rápidamente con la disolución del suelo. Con esta definición, el P soluble formaría parte de la fracción más lábil del suelo (Cross y Schlesinger, 1995). El P lábil conformaría la fracción disponible a corto plazo para las comunidades microbianas y vegetales, pues se desorbe rápidamente de la superficie de las partículas del suelo. El PI asociado sería el de mayor disponibilidad para las plantas ya que se encuentra adsorbido sobre las superficies cristalinas de compuestos de P (Wagar et al., 1986) o sobre los coloides del suelo (Schoenau et al., 1989). La fracción orgánica PO, adsorbida sobre los coloides del suelo (Schoenau et al., 1989), sería fácilmente mineralizada contribuyendo a la fracción disponible (Tiessen et al., 1984; Wagar et al., 1986).

- **P no lábil:** incluyen minerales secundarios de P, originados por quimisorción, fundamentalmente óxidos de Al y Fe y carbonatos, así como minerales formados a bajas temperaturas de cristalización en los que el P es uno de sus componentes estructurales (Hedley et al., 1982; Smeck, 1985). En esta categoría podemos incluir a los fosfatos amorfos y cristalinos de Al (variscita), Fe (strengita) y fosfatos de Ca, bruscita, monetita y el fosfato octocálcico.

La reactividad de los minerales secundarios de P es variable debido a que incluyen P cristalino, P amorfo y P no lábil sorbido (Wagar et al., 1986); además, su persistencia en el suelo es elevada debido a su gran estabilidad termodinámica (Lindsay, 1979), por tanto constituye una fracción de menor disponibilidad. A la variscita se la relaciona con el P extraíble con  $\text{NH}_4\text{F}$ , a la strengita con el extraíble con NaOH (inmovilización del Fe en forma de hidróxidos) y a los fosfatos de Ca con la extracción en HCl.

Smeck (1985) y Schoenau et al. (1989) incluyen dentro de la fracción no lábil al PI y el PO asociado a los compuestos húmicos y adsorbidos a los óxidos de Al y Fe. Este PO estable formaría parte de la reserva de P, por lo que su disponibilidad es a medio plazo (Tiessen et al., 1984; Wagar et al., 1986).

- **P ocluido:** consiste en el encapsulamiento físico del P por minerales que no presentan al macronutriente en su estructura, de esta manera está protegido frente a las otras formas de P más reactivas (Smeck, 1985), y por tanto su disponibilidad sería a muy largo plazo; el P tiende a ocluirse en óxidos de Fe (hematite y goetita) y Al (gibbsita). Los primeros se suelen relacionar con el P que se solubiliza mediante agentes reductores como el citrato-bicarbonato-ditionito, mientras que el ocluido en la gibbsita con el extraíble con NaOH. En esta categoría estarían incluidos los minerales primarios (Schoenau et al., 1989).

**Tabla 2.** Relación entre el grado de disponibilidad y las fracciones de P de la extracción secuencial de Hedley et al. (1982a) (adaptada de Cross y Schlesinger, 1995).

<b>PI-resina</b>	<b>PI-NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>PI-NaOH</b>	<b>PI-NaOHus</b>
No ocluido	No ocluido	No ocluido	Ocluido
Lábil	Lábil	Minerales secundarios	Minerales secundarios
		Asociaciones humus-Me-P	Agregados protegidos
Alta biodisponibilidad	Alta biodisponibilidad	Baja biodisponibilidad	No disponible
<b>PI-HCl</b>	<b>PT-residual</b>	<b>PO-NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>PO-NaOHus</b>
Ocluido	Ocluido	No ocluido	No ocluido
Minerales primarios	Asociaciones inorgánicas y orgánicas con minerales silicatados	Lábil, mineralizable por la biomasa del suelo	No lábil, asociaciones muy estables de PO como humus-Me-PO
No disponible	Baja disponibilidad	Contribuye a la disponibilidad	No disponible

El PI ocluido también incluiría al que se encuentra en las superficies internas de los agregados del suelo, al encapsulado en el interior de los sesquióxidos (Hedley et al., 1982; Wagar et al., 1986), al PI menos lábil asociado con el interior de los fosfatos amorfos de Fe y Al, y a gran parte del PI enlazado con el Ca (Tiessen et al., 1984).

El P encapsulado por los minerales silicatados, primarios o secundarios, también denominado *P residual*, requeriría para su solubilización de tratamientos más fuertes como la disolución con HF o la fusión con

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. En esta categoría también se encuadrarían los PO de mayor estabilidad y asociaciones P-humus de baja biodisponibilidad (Cross y Schlesinger, 1995).

- *P no ocluido*: incluye al P extraído con NaOH; se le considera como una fracción disponible a medio plazo. Incluiría asociaciones órganominerales estables de PI y PO (Wagar et al., 1986), así como las asociaciones menos lábiles del PI con el exterior de los fosfatos amorfos de Fe y Al

(Tiessen et al., 1984) o PI y PO quimiadsorbidos muy fuertemente a los compuestos superficiales de Fe y Al (Hedley et al., 1982).

Como podemos observar, la terminología empleada ha sido interpretada por la bibliografía de diversas maneras. En la Tabla 2 se resumen las distintas fracciones de P y su grado de disponibilidad en los extractos del fraccionamiento secuencial según los criterios señalados por Cross y Schlesinger (1995) en su revisión bibliográfica sobre la metodología de Hedley.

## 5. Referencias

- Barrow, N. J. 1987. Reactions with Variable-Charge Soils. Martinus Nijhoff, Dordrecht.
- Bray, R. H.; Kurtz, L. T. 1945. Determination of total organic and available form of phosphorus in soil. *Soil Science* 59, 39-45.
- Chang, S. C.; Jackson, M. L. 1957. Fractionation of soil phosphorus. *Soil Science* 12, 286-293.
- Cole, C. V.; Heil, R. D. 1981. Phosphorus effects on terrestrial nitrogen cycling. En: Clark, F. E.; Rosswall, T. (Eds.) *Terrestrial Nitrogen Cycles, Processes, Ecosystem and Management Impact*. Ecological Bulletin 33, 363-374.
- Cole, C.V.; Innis, G. S.; Stewart, J. W. B. 1977. Simulation of phosphorus cycling in semiarid grasslands. *Ecology* 58, 1-15.
- Condron, L. M.; Frossard, E.; Tiessen, H.; Newman, R.; Stewart, J. W. B. 1990. Chemical nature of organic phosphorus in cultivated and uncultivated soils under different environmental conditions. *Journal of Soil Science* 41, 41-50.
- Cross, A. F.; Schlesinger, W. H. 1995. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma* 64, 197-214.
- Dick, W.A.; Tabatabai, M. A. 1977. Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds. *Journal of Environmental Quality* 6, 82-85.
- Dormaer, J. F.; Webster, G. R. 1964. Losses inherent in ignition procedures for determining total organic phosphorus. *Canadian journal of soil science* 59, 79-86.
- Fixen, P. E.; Grove, J. H. 1990. Testing soils for phosphorus. En: Westerman, R. L. (Ed.), *Soil Testing and Plant Analysis*, pp. 141-180. Book Series No. 3., Soil Science Society of America, Madison, USA, pp. 141-180.
- Fox, R. L. 1980. Soils with variable charge: agronomic and fertility aspects. En: Theng, B. K. G. (Ed.), *Soils with Variable Charge*, New Zealand Society of Soil Science, Palmerston North, pp. 195-224.
- Fox, R.; Comerford, N. B.; McFee, W. W. 1990. Phosphorus and aluminium release from a spodic horizon mediated by organic acids. *Soil Science of America Journal* 54, 1763-1767.
- Guadalix, M. E.; Pardo, M. T. 1990. Reacción del Anión Fosfato en los Suelos de Carga Variable. CSIC-Instituto de Edafología y Biología Vegetal. Madrid.
- Hedley, M. J.; Stewart, J. W. B. 1982. A method to measure microbial phosphorus in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 14, 377-385.
- Hedley, M.J.; Stewart, J. W. B.; Chauhan, B. S. 1982. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil*

- Science Society of America Journal 46, 970-976.
- Hernández-Pérez, A. 1991. Aplicación de las Técnicas de Disolución Selectiva y Retención de Fosfato en la Caracterización de Fe y Al Activos en Suelos Volcánicos. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de La Laguna, Tenerife.
- Hsu, P. H. 1977. Aluminum Hydroxides and oxyhydroxides. En: Dixon, J. B.; Weed, S. B.; Kittrick, J. A.; Milford, M. H.; White, J. L. (Eds.), Minerals in Soil Environments, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, pp. 99-143.
- Jackson, M. L. 1958. Soil Chemistry Analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Kamprath, E. J.; Watson M. E. 1980. Conventional soil and tissue tests for assessing the phosphorus status of soils. p. 433-469 En: Khasawneh, F. E. (Ed.), The Role of Phosphorus in Agriculture. American Society of Agronomy; Madison, WI, pp. 433-469.
- Lajtha, K.; Schlesinger, W. H. 1988. The biogeochemistry of phosphorus cycling and phosphorus availability along a desert soil chronosequence. Ecology 69, 24-39.
- Lindsay, W. L. 1979. Chemical Equilibria in Soils. Wiley-Interscience, New York.
- Mattingly, G.E.G. 1975. Labile phosphate in soils. Soil Science 119, 369-375.
- McLaren, R. G.; Cameron, K. C. 1990. Soil Science: An introduction to the properties and management of New Zealand soils. Oxford University Press, Auckland.
- Metha, N. S.; Legg, J. O.; Goring, C. A. I.; Black, C. A. 1954. Determination of organic phosphorus in soils. I. Extraction method. Soil Science Society of America. Proceeding 18, 443-449.
- O'Halloran, I. P.; Stewart, J. W. B.; de Jong, E. 1987. Changes in P forms and availability as influenced by management practices. Plant and Soil 100, 113-126.
- Olsen, S. R.; Cole, C. V.; Watanabe, F. S. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Department of Agriculture Circular 939. Washington.
- Peterson, G. W.; Corey, R. B. 1966. A modified Chang and Jackson procedure for routine fractionation of inorganic soil phosphate. Soil Science Society of America Proceedings 30, 563-565.
- Schoenau, J. J.; Stewart, J. W. B.; Bettany, J. R. 1989. Forms and cycling of phosphorus in prairie and boreal forest soils. Biogeochemistry 8, 223-237.
- Sharpley, A. (2000): Phosphorus availability. En: Sumner, M.E. (Ed.): Handbook of Soil Science. CRC Press, Boca Raton, pp. D18-D-38.
- Sissingh, H. A. 1971. Analytical technique of the Pw method, used for the assessment of the phosphate status of arable soils in the Netherlands. Plant and Soil 34, 483-486.
- Smeck, N. E. (1985). Phosphorus dynamics in soils and landscapes, Geoderma 36, 185-199.
- Smeck, N. E. 1973. Phosphorus: an indicator of pedogenic weathering processes. Soil Science 115, 199-206.
- Tiessen, H.; Moir, J. O. 1993. Characterization of available P by sequential extraction. En: Carter, M. R. (Ed.), Soil Sampling and Methods of Analysis. Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 75-86.
- Tiessen, H.; Stewart, J. W. B.; Cole, C. V. 1984. Pathways of phosphorus transformations in

- soils of differing pedogenesis. Soil Science Society of America Journal 48, 853-858.
- Tiessen, H.; Stewart, J. W. B.; Cole, C. V. 1984. Pathways of phosphorus transformations in soils of differing pedogenesis. Soil Science Society of America Journal 48, 853-858.
- van der Paauw, F. 1971. An effective water extraction method for the determination of plant available soil phosphorus. Plant and Soil 34, 467-481.
- Wada, K. (1980). Mineralogical characteristics of Andisols.
- Wagar, B. I.; Stewart, J. W. B.; Moir, J. O. 1986. Changes with time in the form and availability of residual fertilizer phosphorus on Chernozemic soils. Canadian Journal of Soil Science 66, 105-119.
- Walker, P.H. 1963. A reconnaissance of soils in the Kempsey District, NSW. Soils and Land Use Series No. 44, CSIRO, Melbourne, 40 pp.
- Walker, T. W.; Syers, J. K. 1976. The fate of phosphorus during pedogenesis. Geoderma 15, 1-19.
- Westin, F.C.; Brito, J. G. 1969. Phosphorus fractions of some Venezuelan soils as related to their stage of weathering. Soil Science 107, 194-202.
- Wild, A. 1992. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. Editorial Mundi-Prensa. Madrid.
- Williams, J.; Syres, J.; Walker, T. 1967. Fractionation of soil inorganic phosphates by a modification of Chang and Jackson procedure. Soil Science Society of America Proceedings 31, 736-739.
- Wolt, J. D. 1994. Soil Solution Chemistry. John Wiley & Sons, Inc., New York.

CAPÍTULO II:

*SUELOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS*



## 1. Suelos

En este estudio se han empleado diecisiete muestras de suelos forestales de capas superiores e inferiores (horizontes A y B) de suelos derivados de materiales volcánicos (Andosoles y suelos ándicos) procedentes de las islas de La Gomera, La Palma y Tenerife. El material de origen es basáltico excepto para dos perfiles desarrollados sobre pumitas fonolíticas. Como complemento a los suelos forestales también se emplearon los suelos procedentes de dos áreas cultivadas del norte (seis muestras) y sur (ocho muestras) de Tenerife. Todas las muestras de suelo presentaban características ándicas.

### 1.1. Suelos Forestales

Las muestras de suelos forestales estudiadas pertenecen a distintas tipologías: Andisoles, Inceptisoles y Ultisoles con características ándicas.

Los perfiles Las Lajas, Bona, Garajonay y La Esperanza se encuentran descritos en la guía de campo del Congreso Internacional de Suelos Volcánicos celebrado en Tenerife (Departamento de Edafología, 1984). Los perfiles Chío I, Izaña y el Portillo fueron descritos por Fernández-Caldas y Tejedor (1975). Para el calibrado de P, se emplearon los horizontes superficiales del perfil La Esperanza (horizonte A1) y Karting (horizonte Ap); el primero de ellos descrito en la citada

guía de campo del Congreso Internacional de Suelos Volcánicos, mientras que el segundo fue descrito por Rodríguez (1977).

En estas muestras podemos distinguir los siguientes grupos:

#### *Grupo 1.- Andosoles Alofánicos*

Todos los suelos de este grupo se encuentran en situaciones climáticas con régimen hídrico údico y bajo diferentes tipos de vegetación, fundamentalmente bajo la asociación Pinar-Fayal Brezal (La Esperanza) y/o Laurisilva (Garajonay). Dentro de este grupo hay que distinguir los suelos con carácter hídrico (tendencia a formar irreversiblemente agregados estables al secar) como es el caso de perfil Bona.

Son Andosoles típicos, en cualquiera de los sistemas de clasificación.

#### *Grupo 2.- Andosoles Víttricos*

Se incluye en este tipo Andosoles con un alto contenido en vidrio volcánico (superior al 30%), distintos grados de alteración y con régimen hídrico xérico (Chío).

#### *Grupo 3.- Andosoles Órganominerales*

En este grupo se encuentran Andosoles que presentan un alto grado de alteración y evolución hacia suelos con mucho menor contenido en materiales amorfos.

Para diferenciarlos de los grupos anteriores los denominaremos Intergrados. Se incluye en este grupo el perfil Las Lajas.

## 1.2. Suelos Cultivados

### **Suelos de La Victoria**

Terraza característica de la zona de medianías altas del norte de la Isla de Tenerife con unas dimensiones de (50x15) m. Está localizada en el municipio de La Victoria de Acentejo a 600 m de altitud (16° 27' 00", 28° 25' 55"), con una pluviometría anual que ronda los 700 mm. Los materiales dominantes son basaltos de la serie III. La zona presenta fuertes pendientes por lo que el uso natural de los suelos es el pastizal, aunque las mejoras introducidas (aterrazamientos) permiten clasificar el uso del suelo dentro de la clase IV (Departamento de Edafología, 1984).

La vegetación natural predominante es el trébol (*Oxalis* spp.), el laurel [*Laurus azorica* (Senb.) Franco] y brezo (*Erica arborea* L.), mientras que los tipos de cultivos más comunes son la papa (*Solanum tuberosum* L.) y la viña (*Vitis vinifera* L.). Los suelos predominantes son Andosoles y suelos pardos ándicos. En el subsuelo es frecuente encontrar zonas muy arcillosas (greda).

La fertilización está basada en la utilización de estiércol (compost a base de elementos de vegetación natural de la zona, un año bajo las cabras) y en una fertilización mineral muy variable en cuanto a cantidad y composición, aunque destacan las sales amónicas de tipo sulfato y fosfato. Durante el mes de Junio, la viña es tratada con azufre en polvo.

### **Suelos de Arico y Fasnía**

Predominan en estos suelos materiales piroclásticos de las series sálicas que han cubierto gran parte de las coladas de la serie III y IV, quedando estos al descubierto en algunos núcleos. Dentro de los materiales piroclásticos se distinguen los estratificados (normalmente cementados) y no estratificados. Estos últimos se emplean en los aterrazamientos de la zona que han modificado la primigenia morfología de la comarca. El régimen de humedad en las zonas bajas de estos aterrazamientos es árido, mientras que en zonas superiores es xérico.

El elevado grado de erosión que presenta esta zona, junto con la presencia de materiales pumíticos jóvenes, dan cuenta del escaso grado de evolución de los suelos (Entisoles, Inceptisoles y Aridisoles), presentando unas características ándicas más o menos acusadas. Los cultivos de la zona son: papa, viña y maíz (*Zea mays* L.)

Todos los suelos cultivados empleados en este estudio fueron caracterizados por Espino Mesa (1991).

## 1.3. Características más relevantes de las muestras de suelo

Los nombres de los suelos (Soil Survey Staff, 1992) y algunas de sus propiedades se resumen en la Tabla 1 (se dan rangos de valores cuando en cada subgrupo de suelo se haya empleado más de una muestra). El pH del

**Tabla 1.** Clasificación de los suelos y algunas de sus propiedades más relevantes.

Suelo	HOR.	pH	%C	%Alo <sup>c</sup>	Alp/Alo	CICE <sup>d</sup>	%Alofana <sup>e</sup>	Al/Si <sup>f</sup>
Hydic Fulvudands	A	5,7	9,8	6,5	0,4	3,9	15,2	2,7
	Bw	4,1-5,8	5,8-6,7	8,3-11,9	0,1-0,4	1,7-5,1	19,0-42,3	2,6-3,0
Typic Hapludands	A	5,1-6,6	4,5-10,1	2,2-4,6	0,1-1,0	8,9-13,4	(*)-14,9	(*)-2,4
	Bw	5,7-5,9	1,5-2,3	1,5-8,4	0,1-1,0	5,2-6,1	(*)-29,4	2,1-3,5
Andic Hapluhbrepts	A	4,9	12,1	2,3	0,6	14,4	3,03	1,9
	Bw	4,0-4,9	0,7□1,2	0,4-0,7	0,7-1,0	5,6-10,4	(*)-0,76	(*)-2,0
Typic Haplohumults (Las Lajas y Garajonay)	A	4,9-5,5	1,2	0,4	0,8	15,3	(*)	(*)
	2Bt	4,6-5,2	1,2-1,8	0,4-0,6	0,7-1,0	10,6-22,5	(*)-0,47	(*)
Typic Vitrixerands (evolucionados)	A	4,8-5,7	4,1-6,9	0,8-3,5	0,2-0,5	2,6-6,3	1,7-3,0	1,7-2,3
	Bw	5,8-6,3	0,2-4,3	0,7-1,6	0,3-0,4	7,1-11,4	1,7-6,7	0,9-1,5
Vitrixerands	Bw	7,2	1,1	1,8	0,3	14,3	16,3	0,8
Ustalfs	A	5,4	1,5	0,6	0,1	4,1	(*)	(*)
Suelos cultivados <sup>a</sup>	0□30cm		1,9-6,9	0,7-4,3	0,2-1,0	8,2-18,6	1,4-12,8	1,5-2,1
Suelos cultivados <sup>b</sup>	0□30cm		0,7-2,7	0,1-0,7	0,3-1,0	13,3-28,8	(*)-5,8	0,4-4,6

<sup>a</sup>Typic Hapludands <sup>b</sup>Vitrandic Xerorthents y Andic Xerorthents.

<sup>c</sup>Alo: Al oxalato pH 3 Alp: Al pirofosfato pH 10 <sup>d</sup>CICE: Capacidad de Intercambio Cationico Efectiva (cmole kg<sup>-1</sup>).

<sup>e</sup>%Alofana: calculada empleando Sio siguiendo a Parfitt y Wilson (1985).

<sup>f</sup>Al/Si: Relación molar en la alofana (según Parfitt y Wilson, 1985). (\*) Muestras no alofánicas.

<sup>g</sup>S.L.: Silicatos laminares H: Halosita; Sm-V: Interstratificación Smectita-Vermiculita.

suelo se midió en la suspensión acuosa (relación 1:2,5), oscilando entre 4,0 y 7,2 en los suelos forestales y entre 3,8 a 7,5 en las áreas cultivadas. Los suelos contenían mucho sulfato sorbido, especialmente en los horizontes B donde el sulfato desplazado por el fosfato osciló entre los 160 y los 250 mmol kg<sup>-1</sup> (Arbelo, 1989).

El criterio ándico, extracción de Al y Fe con oxalato amónico (Al<sub>0</sub>+1/2Fe<sub>0</sub>), fue siempre mayor al 2% en todas las muestras las cuales presentaban una elevada capacidad de retención de fosfato (>85%). Los Andosoles alofánicos (definidos por la relación molar en la alofana, Tabla 1) contenían solo pequeñas cantidades de filosilicatos (<5%). En los Andosoles órganominerales (relación Al-pirofosfato/Al-oxalato, Alp/Al<sub>0</sub>>0,5, Tabla 1) y en otros suelos ándicos solo se detectó como mineral de arcilla la haloisita, excepto en un suelo que presentaba el estratificado smectita-vermiculita.

## 2. Técnicas Analíticas

En cada capítulo de esta memoria se describen con detalle las técnicas de determinación del P disponible y la especiación de los diferentes extractos. En síntesis, los procedimientos empleados para las diferentes extracciones han sido las siguientes:

- a) Extracción con bicarbonato sódico 0,5 M (pH=8,5; relación suelo:disolución =1:20, tiempo de extracción 30 min.) (Olsen et al., 1954).
- b) Extracción con agua (relaciones agua:suelo = 2,5:1; 25:1; 75:1) (van der Paaw, 1971).
- c) Extracción con resinas aniónicas (Sibbesen, 1977) y membranas de intercambio aniónico (Cooperband y Logan, 1994).
- d) Intercambio isotópico (Morel et al., 1994).

La evaluación cuantitativa del P en los diferentes extractos se realizó siguiendo el método colorimétrico propuesto por Murphy y Riley (1962), referencia obligada en los laboratorios de análisis de suelos a nivel mundial y ampliamente utilizado en las determinaciones rutinarias de este elemento en el Departamento de Edafología y Geología de la Universidad de La Laguna.

La determinación espectrofotométrica del P extraído es posible gracias a la proporcionalidad que se establece entre la concentración de ión ortofosfato y la coloración azul del complejo formado por reducción con ácido ascórbico del fosfomolibdato, formado al reaccionar el anión fosfato con molibdato amónico (Porta et al., 1986).

El complejo formado posee absorciones características a 660 y 800 nm, si bien la sensibilidad para la primera longitud de onda es un tercio de la correspondiente a la segunda (Jackson, 1974). Normalmente, las determinaciones se realizan a una longitud de onda de 882 nm (Kuo, 1996).

El complejo azul formado cumple la ley de Lambert-Beer hasta valores de 2 mg l<sup>-1</sup> en la disolución final de extractos de suelo (Kuo, 1996) mientras que para aguas lo cumple hasta

valores de  $1 \text{ mg l}^{-1}$  (ver sucesivas ediciones del Standard Method for Water Analysis) que fue el valor tomado como referencia en las determinaciones analíticas del P en este trabajo. Por otro lado, la sensibilidad del método es de  $150 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$  con cubetas de 1 cm de paso de luz (Kuo, 1996).

El procedimiento experimental seguido en este trabajo para la determinación colorimétrica del P mediante el método del ácido ascórbico es el descrito por Kuo (1996). En la determinación del P en los extractos de bicarbonato (método Olsen) también se empleó el método de Dick y Tabatabai (1977) que modifica el método de Murphy y Riley (1962) añadiendo una mezcla reactiva, junto con el agente reductor, de citrato-arsenito con el fin de eliminar el exceso de iones molibdato y evitar la hidrólisis de polifosfatos y algo de P orgánico lábil en medio ácido. Por último, en la cuantificación de la concentración de P intercambiado isotópicamente se empleó la modificación de John (1970) que emplea como agente reductor una disolución 0,1 M de ácido ascórbico con el fin de suavizar el proceso de reducción del molibdato y minimizar las interferencias del Si. En los capítulos correspondientes se hará referencia del empleo de alguna de estas modificaciones del método original de Murphy y Riley (1962) en el epígrafe dedicado a material y métodos.

### 3. Referencias

- Arbelo, C. D. 1989. Contribución al Complejo de Cambio en Andisoles. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de La Laguna, Tenerife.
- Cooperband, L. R.; Logan, T. J. 1994. Measuring *in situ* changes in labile soil P using anion exchange membranes. Soil Science Society of America Journal 58, 109-114.
- Departamento de Edafología, Universidad de La Laguna. 1984. Guía de Campo del Congreso Internacional de Suelos Volcánicos. Tenerife.
- Espino Mesa M. 1991. Caracterización de la Acidez en Suelos de Origen Volcánico. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de La Laguna, Tenerife.
- Fernández-Caldas, E.; Tejedor, M. L. 1975. Andosoles de las Islas Canarias. Servicio de Publicaciones de la Caja General de Ahorros de Santa Cruz de Tenerife, Tenerife.
- Jackson, M. L. 1974. Soil Chemical Analysis-Advanced Course. Department of Soil Science, University of Wisconsin, Madison.
- John, M. K. 1970. Colorimetric determination of phosphorus in soil and plant materials with ascorbic acid. Soil Science 109, 214-220.
- Morel, C.; Plenchette, C. 1994. Is the isotopically exchangeable P of a loamy soil the available P to growing roots. Plant & Soil 158, 287-297.
- Murphy, J.; Riley, J. P. 1962. A modified single method for the determination of phosphates in natural waters. Analytica Chimica Acta 27, 31-36.
- Olsen, S. R.; Cole, C. V.; Watanabe, F. S. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Department of Agriculture Circular 939. Washington.
- Parfitt, R. L.; Wilson, A. D. 1985. Estimation of allophane and halloysite in three sequences of volcanic soils, New Zealand. En: Fernández-Caldas, E.; Yaalon, D. H., Volcanic Soils: Weathering and Landscape Relationships of Soils on Tephra and Basalt. Catena Supplement 7, 1-8.

- Porta, J.; López-Acevedo, M.; Rodríguez, R. 1986. Técnicas y Experimentos en Edafología. Universitat Politècnica de Catalunya y Col.legi Oficial d'Enginyers Agrònoms de Catalunya, Lleida.
- Kuo, S. 1996. Phosphorus. En: Sparks, D. L. (Ed.), Methods of Soil Analysis Part 3: Chemical Methods, Soil Science Society of America, Madison, pp. 869-919.
- Rodríguez, A. 1977. Contribución al Estudio de los Suelos Fersialíticos de las Islas Canarias Occidentales (Tenerife y La Palma). Tesis Doctoral. Dpto. de Edafología. Universidad de La Laguna, Tenerife.
- Soil Survey Staff. 1992. Keys to Soil Taxonomy. USDA, Pocahontas Press, Blacksburg.
- Sibbesen, E. 1977. A simple ion exchange resin procedure for extracting plant-available elements from soil. Plant and Soil 46, 665-669.
- Tejedor, M. L.; Padrón, P. A.; Vargas, G. 1995. Guide Book: Fieldtrip in Tenerife. Meeting on The Soil as a Strategic Resource: Degradation Processes. Dpto. de Edafología y Geología de la Universidad de La Laguna y ESSC, Tenerife.
- van der Paauw, F. 1971. An effective water extraction method for the determination of plant available soil phosphorus. Plant and Soil 34, 467-481.

CAPÍTULO III:

***RESULTADOS Y DISCUSIÓN***

## CAPÍTULO III.1:

### ***EXTRACCIÓN DE FÓSFORO CON $\text{NaHCO}_3$ 0,5 M (pH=8,5): CONDICIONES DE EXTRACCIÓN Y VARIABILIDAD DE SUS FRACCIONES***



## 1. Introducción

El uso del bicarbonato sódico 0,5 M (pH= 8,5) constituye uno de los métodos más empleados en la extracción de P disponible del suelo en muchos países, siendo ampliamente utilizado en Canarias para estimar el contenido de este P. El método se fundamenta en la acción de los iones  $\text{OH}^-$  y  $\text{CO}_3^{2-}$  que hacen disminuir la concentración o actividad de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Al}^{3+}$  provocando un aumento en la solubilidad del P en el suelo. El extractante se ha mostrado eficaz tanto en suelos ácidos como en suelos carbonatados (Kuo, 1996). En estos últimos, la solubilidad del fosfato de calcio provoca la disminución de la concentración de Ca debido a que la alta concentración de  $\text{CO}_3^{2-}$  provoca la precipitación de  $\text{CaCO}_3$ . En suelos ácidos o neutros, la solubilidad de los fosfatos de hierro y aluminio aumentan debido a que un incremento en la concentración de  $\text{OH}^-$  disminuye la concentración de  $\text{Fe}^{3+}$  por precipitación como óxido y la del  $\text{Al}^{3+}$  por la formación de aluminatos. El aumento de las cargas negativas superficiales y/o la disminución del número de lugares de sorción sobre los óxidos de Fe y Al superficiales a elevados niveles de pH también podrían ser responsables de la desorción del P sorbido por acción del reactivo alcalino (Kamprath y Watson, 1980).

Por otra parte, la extracción con bicarbonato también se utiliza para extraer el P asociado a la biomasa microbiana del suelo (Brookes et al., 1982; Oberson et al., 1997;

Myers et al., 1999). Recientemente, este método se ha empleado en el estudio de la vinculación existente entre el P del suelo y su transferencia al agua de escorrentías (Pote et al., 1996; Leinweber et al., 1999).

La gran variabilidad del P extraído por este reactivo bajo diversas condiciones experimentales han sido investigadas por diversos autores como Barrow y Shaw (1976a, 1976b, 1976c), Poile et al. (1990), Magid y Nielsen (1992), Turner y Haygarth (2003), etc. Los procedimientos analíticos de rutina solo prevén la determinación de la fracción inorgánica de P (PI) en los extractos de bicarbonato; sin embargo, este agente también es capaz de extraer parte de la fracción orgánica (PO), cuya cantidad total puede ser determinada mediante un proceso de digestión (Hedley et al., 1982). Aunque poco se sabe de la naturaleza química del PO extraíble por el bicarbonato, algunos autores piensan que podría formar parte de la fracción activa y lábil del P orgánico del suelo (Bowman y Cole, 1978a; Dick y Tabatabai, 1978; Hedley et al., 1982; Tiessen et al., 1984; Trasar-Cepeda et al., 1990), a pesar de que en algunos tipos de suelos la enzima fosfatasa solo es capaz de hidrolizar una pequeña cantidad de este PO (Otani y Ae, 1999; Hayes et al., 2000).

Los Andosoles y suelos con características ándicas presentan, en general, elevadas cantidades de carbono orgánico disuelto (COD), Fe y Al en los extractos alcalinos. Estos elementos también están presentes en los extractos de bicarbonato en los que el análisis del P y su interpretación no es muy clara (Turner

y Haygarth, 2003). Nuestro objetivo en este estudio ha consistido en abordar las diferentes fracciones de P en los extractos de bicarbonato con respecto al COD y al Al y Fe soluble en Andosoles bajo diferentes condiciones experimentales, dado el uso habitual del método de Olsen en nuestros laboratorios. La cuestión primordial radica en qué cantidad de P en forma órganomineral se encuentra asociado a compuestos orgánicos y complejos de Fe y Al en relación con la biodisponibilidad y movilidad del P. Por otro lado, el uso del carbón activo para eliminar de los extractos de bicarbonato la materia orgánica coloreada se relaciona con la prevención de posibles interferencias durante la determinación colorimétrica (Olsen y Sommers, 1986), aunque esto pueda traer consigo la pérdida del fósforo orgánico biodisponible. Por otra parte, hemos investigado el uso de la enzima fosfatasa para liberar P de las formas orgánicas o persulfato para oxidar el material orgánico, con el fin de acceder a la estimación de la disponibilidad del P asociado con la materia orgánica extraíble en estos extractos.

## 2. Metodología

El método desarrollado por Olsen ha sufrido numerosas modificaciones desde que se introdujo en 1954. El procedimiento original, por ejemplo, no prevé una etapa de centrifugación, previa al filtrado (Olsen et al., 1954; Olsen y Dean, 1965; Watanabe y Olsen, 1965); así, Poile et al. (1990) han observado cómo las cantidades de P extraídas por el bicarbonato disminuyen con el tiempo de

centrifugación. Por otra parte, la metodología empleada en algunos trabajos incluye procesos de centrifugación a temperatura controlada, aunque en los procedimientos de rutina ésta se realiza a temperatura ambiente. Hedley y Steward (1982) y Schoenau y Huang (1991) realizan la centrifugación de los extractos en un rango de temperaturas entre 0 a 4°C con el fin prevenir la actividad biológica y de favorecer la sedimentación del material coloidal, respectivamente.

La temperatura a la cual se realiza la extracción también parece influir en la variabilidad de los resultados: Magid y Nielsen (1992) observan como al disminuir la temperatura disminuye el P extraído. Por último, señalar la corrección espectrofotométrica del color de los extractos que realizan Hedley et al. (1982) que evita añadir carbón activo conjuntamente con la disolución alcalina con el fin de no eliminar el C soluble y, por extensión, el P asociado a la misma.

La propuesta metodológica que se expone a continuación, basada en las experiencias realizadas por Hedley et al. (1982) y Poile et al. (1990), tiene como objetivo diseñar un esquema de fraccionamiento del P en los extractos de bicarbonato que permitan interpretar tanto las variables asociadas a la extracción como la dinámica de la fracción inorgánica y orgánica de este elemento en términos de su reactividad, asimilabilidad y movilidad dada la consideración de la extracción Olsen como uno de los indicadores más apropiados en el estudio de la respuesta de

las plantas ante la deficiencia o fertilización fosfatada (Bowman y Cole, 1978b).

### 2.1. Suelos

Este estudio se realizó con siete muestras de suelos, seis de naturaleza forestal y uno cultivado. Los suelos forestales corresponden a los perfiles La Esperanza, Las Lajas y Bona Camino. La muestra cultivada, V-4, se corresponde a un suelo órganomineral con características ándicas (0-30 cm). Algunas de sus propiedades más importantes se reseñaron en el capítulo II.

### 2.2. Fraccionamiento del P

Los extractos de bicarbonato, centrifugados a 4 y 20 °C y filtrados a través de papel Whatman No. 42 (Whatman Ltd, Clifton, NJ), se sometieron al esquema de fraccionamiento que se muestra en la Fig.1 para acceder a diferentes fracciones de P. El P se determinó:

- (i) Mediante colorimetría directa con el reactivo molíbdico (POL) (Watanabe y Olsen, 1965).
- (ii) Mediante colorimetría directa con el reactivo molíbdico en presencia de reactivo combinado citrato-arsenito (POLA) (Dick y Tabatabai, 1977).
- (iii) Mediante colorimetría después de tratamiento con carbón activo (POLC) (se agitaron 0.5 g de carbón con 30 ml del extracto de bicarbonato durante 30 min. con posterior filtrado a través de papel Whatman No. 42) (propuesta de este trabajo).

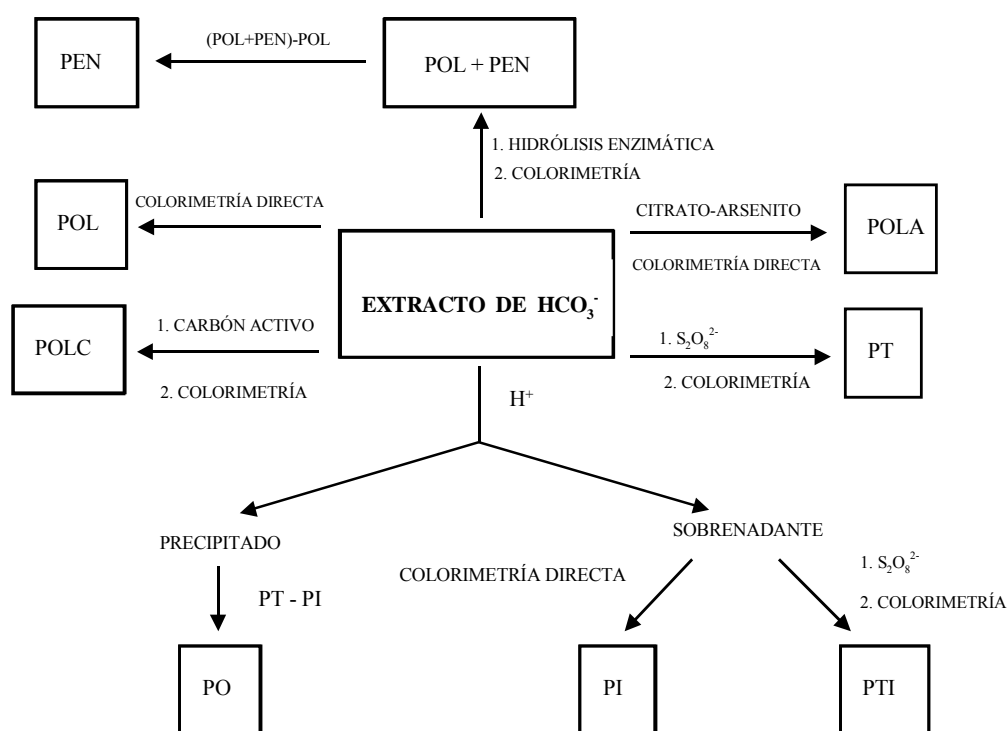
- (iv) El contenido en P total en los extractos de bicarbonato (PT) se determinó después de digestión en autoclave con  $K_2S_2O_8$  y  $H_2SO_4$  2,5 M (Hedley et al., 1982; Rowland y Haygarth, 1997). Una parte del extracto se acidificó con  $H_2SO_4$  1 M para precipitar la materia orgánica extraída y determinar el P inorgánico (PI) en el sobrenadante. El P total en las disoluciones acidificadas (PTI) se determinó después de digestión con persulfato (propuesta de este trabajo).
- (v) Con el fin de acceder al P asociado a las partículas dispersas en el bicarbonato (fósforo Olsen particulado, POP), el fraccionamiento también se realizó en extractos que previamente fueron sometidos a filtración con filtros de éster de celulosa Millipore (Millipore Corp., Milford, MA) que excluyen partículas superiores a 0,45  $\mu m$  (propuesta de este trabajo).

### 2.3. Fracciones del COD, Al y Fe

El COD, Al y Fe totales se determinaron en cada extracto de bicarbonato (CODT, AIT y FeT) y las correspondientes fracciones fúlvicas (CODf, Alf y Fef) en el sobrenadante de los extractos acidificados.

### 2.4. Fósforo hidrolizable por la fosfatasa ácida

El P soluble hidrolizado por la enzima fosfatasa ácida (PEN) se determinó en los extractos de bicarbonato. Se tomaron 2 ml de tampón universal modificado (Skunjins et al.,



**Figura 1.** Diagrama que describe las distintas etapas del fraccionamiento del P en los extractos de bicarbonato. Las fracciones *POLC* y *PTI* constituyen propuestas metodológicas de este trabajo.

1962) ajustado a pH 6 que se añadieron a 5 ml del extracto; posteriormente se añadió 1 ml de fosfatasa ácida al 0.1% [fosfohidrolasa monoéster ortofosfórico procedente de germen de trigo (acidez óptima, EC 3.1.3.2, Sigma Chemical Co., San Luis, MO)], dejando reaccionar la mezcla resultante durante 90 min. a 37°C. La hidrólisis se detuvo añadiendo 1 ml de  $\text{CaCl}_2$  0,5 M y 1 ml de  $\text{NaOH}$  0,5 M; la suspensión se filtró y el P se determinó en el sobrenadante. En este experimento se utilizaron tres extractos de bicarbonato y sus correspondientes controles (POL). El P

determinado de esta forma representa el POL más el P hidrolizado por la enzima (POL+PEN). Esta técnica fue puesta a punto en los laboratorios del Departamento de Química de la Universidad de Burgos.

### 2.5. Fósforo microbiano

El P asociado a la biomasa microbiana se determinó utilizando el método de fumigación-extracción con cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ) (Brookes et al., 1982; Hedley y Steward, 1982; Kouno et al., 1999): 10g de suelo fueron fumigados con

$\text{CHCl}_3$  líquido, en equilibrio con su vapor, durante 24 h con lo que se asegura la muerte y ruptura celular de la biomasa microbiana. La fumigación se realizó por triplicado y las fracciones de P, Al, Fe y COD de las muestras fueron extraídas siguiendo el esquema de fraccionamiento dado en la Fig. 1.

El P microbiano (PM) se estimó restando al P Olsen de las muestras fumigadas ( $\text{POL}_{\text{CHCl}_3}$ ) los correspondientes valores de las muestras sin fumigar (POL) multiplicado por 2,50 por lo que se asume que el 40% del P de la masa microbiana es liberada en forma de P inorgánico por el  $\text{CHCl}_3$  (McLaughlin et al., 1986; Kouno et al., 1999). El correspondiente valor de C asociado a esta fracción ( $\text{C}_{\text{CHCl}_3}$ ) se estimó multiplicando la diferencia entre los valores de COD ( $\text{COD}_{\text{CHCl}_3} - \text{COD}$ ) por el factor 2,22 asumiendo que la biomasa contiene, aproximadamente, un 50% de C (Brookes et al., 1984; Kouno et al., 1999).

### 2.6. Técnicas analíticas

La concentración de P obtenida en las diferentes fracciones de los extractos centrifugados y filtrados se determinó colorimétricamente mediante el método del azul de molibdeno (Murphy y Riley, 1962), excepto la fracción POLA que se determinó por formación de azul de molibdeno en presencia del reactivo combinado ácido ascórbico-citrato-arsenito (Dick y Tabatabai, 1977). La interferencia causada por la absorción de la materia orgánica coloreada se corrigió descontando de la absorbancia procedente de la

determinación analítica con el azul de molibdeno, la obtenida en una alícuota del extracto al que no se le añadió el ácido ascórbico del reactivo molibdico (Hedley et al., 1982). Las fracciones de COD se determinaron midiendo la pérdida de color que sufrió el complejo de Mn(III)-pírofosfato reducido por el C orgánico en presencia de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado (Bartlett y Ross, 1988). Las concentraciones de Fe y Al en las diferentes disoluciones (total y ácida) se determinaron por espectroscopia de absorción atómica (modelo Perkin Elmer 3100).

## 3. Resultados y discusión

Las siguientes fracciones de P se dedujeron de los parámetros experimentales definidos anteriormente:

- P orgánico:  
 $\text{PO} = \text{PT} - \text{PI}$  (definición convencional).
- P fúlvico y húmico:  
 $\text{Pf} = \text{PTI} - \text{PI}$   
 $\text{Ph} = \text{PO} - \text{Pf}$
- P particulado:  
 $\text{POP} = \text{POL} - \text{POL}_{0,45}$
- P microbiano:  
 $\text{PM} = 2,5 \times (\text{POL}_{\text{CHCl}_3} - \text{POL})$
- P hidrolizable por la enzima fosfatasa:  
 $\text{PEN} = (\text{POL} + \text{PEN}) - \text{POL}$

Por analogía con la definición de P húmico, las diferencias entre CODT, AIT, FeT y CODf, Alf, Fef se definieron como las correspondientes fracciones húmicas (CODh, Alh, Feh). Los diferentes valores de P

definidos en el esquema de fraccionamiento (PT, PI, PO, POL, POLA, POLC, PTI) obtenidos en los extractos de bicarbonato centrifugados a 4 y 20°C (E-4 y E-20) se muestran en la Tabla 1, mientras que los correspondientes valores de COD, Al y Fe se muestran en la Tabla 2. Los datos equivalentes de los extractos filtrados a través de 0,45 µm se muestran en las Tablas 3 y 4.

### 3.1. Influencia de la temperatura de centrifugación y de la técnica de filtrado

La temperatura de centrifugación ha tenido un efecto importante sobre el contenido en disolución de P y COD, observándose una disminución de ambos en las diferentes fracciones en los extractos E-4 (Tablas 1 y 2). Este hecho puede ser atribuido al efecto que ejercen las bajas temperaturas sobre la sedimentación de la materia orgánica coloidal. Poile et al. (1990) observó este efecto cuando aumentó la velocidad de centrifugación. Los valores de Al y Fe total también disminuyeron en los extractos E-4, aunque en menor proporción que el COD. En este sentido, la concentración de Al y Fe excede la solubilidad de sus compuestos amorfos a los valores de pH de la extracción. Esto pone en evidencia la existencia de material inorgánico coloidal (alofana, ferrihidrita) junto con los complejos humus-Al(Fe). Johnson y McBride (1991) encuentran complejos estables en suspensión de alofana-humus en disoluciones alcalinas de Spodosoles. Las relaciones Al(Fe)-COD sugieren formas coloidales de estos elementos,

considerando que las relaciones propuestas para una capacidad de complejación máxima en la formación de complejos Al(Fe)-humus oscilaría entre 0,1 y 0,2 (Higashi, 1983; Mandley et al., 1987).

El uso de diferentes técnicas de filtrado parece corroborar la tendencia observada con la temperatura de centrifugación ya que también tuvo efecto sobre los diferentes contenidos de P, COD, Al y Fe en disolución alcalina (Tablas 3 y 4). Así, se observa que ha existido una disminución en la concentración de estos elementos que osciló entre el 10 y el 20% en sus diferentes fracciones en los extractos filtrados por 0,45 µm. Esto parece estar relacionado con un posible reparto de las asociaciones entre estos elementos por su tamaño. Una parte de los compuestos húmicos asociados a materiales coloidales del suelo de tamaño mayor a 0,45 µm podrían haber quedado retenidos en el papel de filtro, manteniendo consigo parte del P extraído por el agente alcalino.

### 3.2. Fósforo orgánico

En la definición operacional de P orgánico en los extractos alcalinos de suelo,  $PO = PT - PI$ , generalmente se asume que en la disolución ácida sobrenadante que resulta del fraccionamiento, PI representa el P total (PTI). Sin embargo, existen referencias que indican que esta suposición es incorrecta (pe. Bowman y Cole, 1978a). En la Tabla 1 se puede observar que PI puede, en muchos casos, corresponder al menos al 50% de PTI. Esta tendencia se mantiene en el caso de los extractos filtrados por

**Tabla 1.** Fraccionamiento del P en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), centrifugados a dos temperaturas diferentes (4 o 20°C)

A) Extractos centrifugados a 4°C												
Suelo	Hor.	POL	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PLPOLC	POLA	POLA-POLC
V-4	ESM*	134	90	143	136	7	140	4	3	46	122	32
		5,5	6,0	8,5	8,5	-	9,5	-	-	-	6,0	-
ESPERANZA	A1	12	1,0	38	10	28	27	16	12	9	8	7
	Bw2	12	2,2	35	11	24	22	10	14	9	8	6
	Bw/C	19	3,4	33	13	20	21	7	13	10	12	9
LAS LAJAS	A1	7	1,9	20	5	15	13	8	7	3	5	3
	Bw	10	1,2	17	9	8	12	3	5	8	8	7
BONA CAMINO	Bw3	12	0,3	21	9	12	12	3	9	9	8	8
	ESM*	2,0	0,2	2,1	1,5	-	5,3	-	-	-	1,5	-
B) Extractos centrifugados a 20°C												
Suelo	Hor.	POL	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PLPOLC	POLA	POLA-POLC
V-4	ESM*	148	110	275	139	137	189	50	87	28	135	25
		9,5	8,0	8,5	1,1	-	8,3	-	-	-	7,5	-
ESPERANZA	A1	27	1,6	50	24	26	36	12	14	23	18	16
	Bw2	36	3,3	73	34	39	59	25	14	31	28	25
	Bw/C	48	5,5	81	42	39	50	8	31	36	34	29
LAS LAJAS	A1	31	2,8	69	28	42	56	28	13	25	22	18
	Bw	30	1,9	66	25	41	45	20	21	23	23	21
BONA CAMINO	Bw3	30	0,5	70	28	51	42	14	37	27	20	19
	ESM*	4,6	0,3	2,5	1,4	-	1,1	-	-	-	3,5	-

\* Error estándar de la media

**Tabla 2.** Fraccionamiento del COD, Al y Fe en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), centrifugados a 4 o 20°C.

A) Extractos centrifugados a 4°C

Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AlT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	$[(\text{Al}+\text{Fe})/\text{COD}]T^*$	CODT/PO*
V-4		380	200	180	110	104	6	15	12	3	0,14	140
ESPERANZA	A1	320	300	20	43	41	2	8	6	2	0,07	30
	Bw2	200	195	5	62	60	2	4	4	0	0,14	22
	Bw/C	50	50	0	6	5	1	5	4	1	0,07	6
LAS LAJAS	A1	750	575	175	204	197	7	14	11	3	0,12	129
	Bw	480	390	90	113	109	4	8	7	1	0,11	155
BONA CAMINO	Bw3	850	795	55	110	103	7	15	12	3	0,06	183

B) Extractos centrifugados a 20°C

Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AlT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	$[(\text{Al}+\text{Fe})/\text{COD}]T^*$	CODT/PO*
V-4		1780	880	900	116	85	31	20	15	5	0,03	34
ESPERANZA	A1	650	575	75	30	21	9	9	8	1	0,02	65
	Bw2	490	395	95	56	50	6	5	5	0	0,05	32
	Bw/C	530	300	230	26	16	10	7	6	1	0,02	35
LAS LAJAS	A1	1600	1050	550	234	104	130	18	14	4	0,07	98
	Bw	1130	880	250	165	149	16	12	9	3	0,07	71
BONA CAMINO	Bw3	1900	1610	290	142	124	18	12	9	3	0,04	96

\* Relación molar



**Tabla 3.** Fraccionamiento del P en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), filtrados por  $0,45 \mu\text{m}$  y centrifugados a 4 o  $20^\circ\text{C}$ .

A) Extractos centrifugados a $4^\circ\text{C}$												
Suelo	Hor.	POL	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PI-POLC	POLA	POLA-P <sub>OLC</sub>
V-4		118	85	133	126	7	129	3	4	41	109	24
	ESM*	4,5	5,0	8,0	7,5	-	7,5	-	-	-	6,0	-
ESPERANZA	A1	8	1,0	28	5	23	21	16	7	4	3	2
	Bw2	9	2,0	22	7	15	15	8	7	5	4	2
	Bw/C	14	2,9	26	9	17	16	7	10	6	7	4
LAS LAJAS	A1	3	1,4	13	2	11	9	7	4	2	2	1
	Bw	8	0,8	11	5	6	7	2	4	4	3	2
	Bw3	8	0,3	18	4	8	8	4	4	4	3	3
	ESM*	1,0	0,2	1,1	0,5	-	2,3	-	-	-	0,5	-
B) Extractos centrifugados a $20^\circ\text{C}$												
Suelo	Hor.	POL	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PI-POLC	POLA	POLA-P <sub>OLC</sub>
V-4		131	99	208	131	77	149	18	59	32	124	25
	ESM*	7,5	7,0	6,5	1,0	-	6,1	-	-	-	5,5	-
ESPERANZA	A1	21	1,0	41	16	25	30	14	11	15	11	10
	Bw2	28	2,5	59	26	33	49	23	10	23	16	14
	Bw/C	39	4,1	68	34	34	44	2	32	38	14	10
LAS LAJAS	A1	22	1,2	59	18	41	43	25	16	17	10	9
	Bw	22	0,9	54	14	40	31	17	23	13	13	12
	Bw3	23	0,5	60	19	48	32	13	35	18	9	9
	ESM*	2,0	0,5	2,2	1,1	-	1,1	-	-	-	1,9	-

\* Error estándar de la media

**Tabla 4.** Fraccionamiento del COD, Al y Fe en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), filtrados por 0,45  $\mu\text{m}$  y centrifugados a 4 o 20°C.

A) Extractos centrifugados a 4°C													
Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AlT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	[(Al+Fe)/COD]T*	[(Al+Fe)/COD]f*	CODT/PO*
V-4		275	200	75	90	90	0	13	10	3	0,16	0,16	101
ESPERANZA	A1	210	200	10	31	31	0	6	6	0	0,07	0,07	24
	Bw2	100	100	0	39	39	0	4	4	0	0,19	0,19	17
	Bw/C	20	20	0	4	4	0	4	4	0	0,13	0,13	3
LAS LAJAS	A1	550	500	50	178	176	2	10	10	0	0,15	0,15	129
	Bw	320	310	10	92	91	1	8	7	1	0,13	0,13	138
BONA CAMINO	Bw3	540	520	20	89	87	2	13	10	3	0,08	0,08	174
B) Extractos centrifugados a 20°C													
Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AlT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	[(Al+Fe)/COD]T*	[(Al+Fe)/COD]f*	CODT/PO*
V-4		1230	790	440	90	80	5	11	10	1	0,03	0,03	41
ESPERANZA	A1	525	500	25	22	19	3	5	5	0	0,02	0,02	54
	Bw2	390	350	40	46	45	1	5	5	0	0,06	0,06	30
	Bw/C	230	200	30	16	16	0	4	4	0	0,03	0,03	17
LAS LAJAS	A1	1150	900	250	204	198	6	10	8	2	0,08	0,08	73
	Bw	825	735	85	135	129	6	8	7	1	0,07	0,07	53
BONA CAMINO	Bw3	1520	1470	50	110	104	6	6	6	0	0,03	0,03	82

\* Relación molar

0,45  $\mu\text{m}$  (Tabla 3). Fox y Comerford (1992) encuentran que los valores de PI pueden estar sobrestimados debido a la liberación de P durante su determinación analítica por la hidrólisis que sufre parte de los compuestos orgánicos de P (resistentes a la hidrólisis ácida anterior), como los fosfatos de inositol u otros éster fosfatos, con la subsiguiente infravaloración de Pf y por tanto de PO.

Por otra parte, Borie y Zunino (1983), investigando extractos de NaOH de Andisoles, asumen la existencia de dos fracciones en la fracción PO, una asociada a los ácidos fúlvicos (Pf) y la otra a los ácidos húmicos (Ph) (Pf se define operacionalmente como la diferencia entre PTI y PI mientras que Ph corresponde a la diferencia existente entre PT y PTI). El elevado contenido de COD en el sobrenadante ácido (CODI) (Tablas 2 y 4), junto con los valores de PTI, parecen confirmar la existencia de Pf, aunque esta fracción probablemente estaría infravalorada.

### 3.3. Fósforo Olsen

Los valores de POL se situaron entre los de PT y PI, y fueron más bajos que los de PTI, independientemente de la temperatura de centrifugación y el tipo de filtrado realizado (Tablas 1 y 3). La diferencia entre POL y PI pudo deberse a la hidrólisis de una parte de Pf y Ph durante la determinación del POL, ya que el medio fuertemente ácido de la disolución molíbdica ( $\text{pH} < 1$ ) podría inducir la hidrólisis de parte del P asociado a los compuestos húmicos de los extractos (Poile et al., 1990; Gerke y Jungk, 1991), sobrestimando el

ortofosfato libre. La posible existencia en los extractos de fosfatos complejos de Al(Fe)-humus capaces de hidrolizarse a  $\text{pH} < 4$  (Gerke, 1992) podrían explicar este hecho. Los altos contenidos de Al y Fe encontrados en las disoluciones ácidas (Tablas 2 y 4) parecen indicar la presencia de este tipo de complejos asociados fundamentalmente con la fracción fúlvica.

Las relaciones COD/PO (Tablas 2 y 4) parecen apuntar a la existencia de complejos de P-Al(Fe)-humus. Smeck (1985) indica que suelos con una relación C/PO inferior a 100 poseen altos contenidos de P lábil, posiblemente asociada en nuestro caso a estos compuestos, siendo menor esta relación en el caso de los extractos centrifugados a  $20^{\circ}\text{C}$ , independientemente del filtrado utilizado. La labilidad de los compuestos de P o de sus asociaciones con la materia orgánica extraída por el bicarbonato parece estar relacionada con la menor actividad fosfatásica que presentaban los extractos centrifugados a  $20^{\circ}\text{C}$  con respecto a los centrifugados a  $4^{\circ}\text{C}$  (datos no mostrados). Esto podría significar que el bicarbonato es capaz de extraer fracciones bioquímicamente activas del suelo que pueden estimular o reprimir la actividad fosfatásica del extracto en función de las condiciones térmicas bajo las cuales se realiza el proceso de centrifugación.

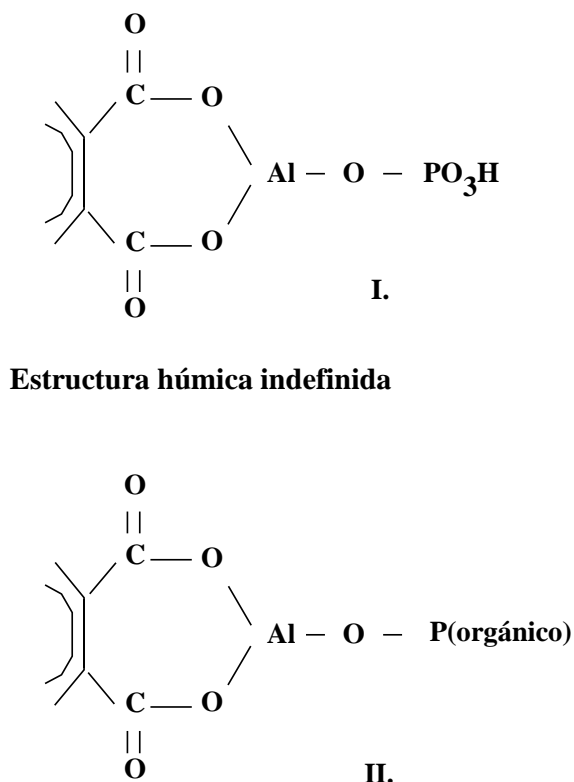
Por otra parte, los valores del P Olsen con carbón activo (POL) oscilaron entre el 3% y el 27% del POL en los suelos forestales. Si asumimos que el carbón activo es capaz de adsorber el P orgánico y los fosfatos complejos de Al(Fe)-humus, entonces POLC podría considerarse como una estimación del

**Tabla 5.** Fosfato hidrolizable por la enzima fosfatasa alcalina en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) ( $\pm$  desviación estándar de la media)

		PEN		PEN/PO (%)	
		4°C	20°C	4°C	20°C
a) Filtrados por Whatman No. 42					
V-4		5 $\pm$ 1	63 $\pm$ 2	61	46
ESPERANZA	A1	26 $\pm$ 2	18 $\pm$ 1	92	71
	Bw2	16 $\pm$ 2	36 $\pm$ 3	65	92
	Bw/C	11 $\pm$ 1	28 $\pm$ 1	85	71
LAS LAJAS	A1	11 $\pm$ 1	35 $\pm$ 1	72	85
	Bw	5 $\pm$ 1	30 $\pm$ 2	61	72
BONA CAMINO	Bw3	4 $\pm$ 1	33 $\pm$ 3	37	64
b) Filtrados por 0,45 $\mu\text{m}$					
		PEN		PEN/PO (%)	
		4°C	20°C	4°C	20°C
V-4		4 $\pm$ 1	59 $\pm$ 2	57	77
ESPERANZA	A1	22 $\pm$ 2	18 $\pm$ 1	97	72
	Bw2	14 $\pm$ 1	30 $\pm$ 2	95	92
	Bw/C	9 $\pm$ 1	27 $\pm$ 2	54	78
LAS LAJAS	A1	10 $\pm$ 1	31 $\pm$ 2	90	76
	Bw	4 $\pm$ 1	26 $\pm$ 2	58	65
BONA CAMINO	Bw3	4 $\pm$ 1	31 $\pm$ 2	51	64

ortofosfato libre. Por tanto, PI - POLC representa la cantidad de PI sobrestimado debido a la hidrólisis del P orgánico y organomineral en la disolución ácida de molibdato (Tablas 1 y 3) que en nuestras condiciones experimentales, oscila entre el 20 y el 50% del PT del extracto. Los valores de P determinados por el método de Tabatabai y Dick (POLA) siempre fueron inferiores a los de POL, oscilando entre un 90% de esta fracción en el caso de los extractos centrifugados a 4°C y un 70% en el caso de los centrifugados a 20°C (Tabla 1), manteniéndose

esta tendencia en los extractos filtrados por papel Whatman y por 0,45  $\mu\text{m}$  (Tabla 3). Sin embargo, estos valores son muy superiores a los correspondientes a POLC (Tablas 1 y 3). La diferencia entre POLA y POLC indica que podrían existir en el extracto, compuestos lábiles de P hidrolizables en presencia del reactivo combinado ácido ascórbico-citrato-arsenito. Tabatabai y Dick (1977) demuestran que el reactivo combinado no es capaz de atacar compuestos orgánicos de P como el nucleótido trifosfopiridina, la D-glucosa-6-fosfato, el p-nitrofenil fosfato y el



**Figura 2.** Complejos propuestos para explicar la interacción entre compuestos humus-Al y el ortofosfato: (I) Gerke, 1992; (II) P orgánico.

ácido fítico o compuestos inorgánicos como el pirofosfato, metafosfato y polifosfatos en general. Asumiendo este resultado, POLA – POLC podría representar la cantidad de P asociado a complejos Al(Fe)-humus (P órganomineral) capaces de hidrolizarse bajo las condiciones del reactivo combinado que aunque no sean tan extremas como en el caso del método clásico de Murphy y Riley (1962), el pH del reactivo es inferior a 4 que, tal y como se expuso anteriormente, constituye el límite superior de acidez para la hidrólisis de estos compuestos (Gerke, 1992).

#### 3.4. Fósforo hidrolizado por la enzima fosfatasa

Una fracción importante del P soluble en los extractos de bicarbonato fue hidrolizado por la enzima fosfatasa (PEN) (Tabla 5). PEN fue mucho mayor en los extractos E-20 que en los E-4, excepto en el horizonte A del perfil La Esperanza. Esta diferencia podría estar asociada con las altas cantidades de COD y PO en los extractos E-20. PEN osciló entre el 33 y el 93% de PO. La tendencia fue la misma independientemente del tipo de filtrado lo cual parece indicar que el P hidrolizable por la enzima fosfatasa debería tener un tamaño

inferior a las 0,45  $\mu\text{m}$ . Nuestros resultados contrastan con los de otros autores que indican valores mucho más bajos de P hidrolizable, tanto por la fosfatasa ácida como por la fosfatasa alcalina, en extractos acuosos (Fox y Comerford, 1992; Pant et al., 1994; Shand y Smith, 1997; Turner et al., 2002). En principio, PEN debe provenir de la hidrólisis de los monoésteres fosfato (Skunjins, 1967; Tabatabai y Fu, 1992; Fox y Comerford, 1992), aunque recientemente se ha considerado la posibilidad de que una parte de otros compuestos orgánicos del P, como el hexafosfato de inositol (HPI) y los diésteres fosfato, puedan ser hidrolizados por la fosfatasa alcalina (Shand y Smith, 1997; Hayes et al., 2000).

Se le ha prestado mucha atención a la extracción de los ésteres fosfatos del suelo. Así, Bowman y Cole (1978b) encontraron que los fosfatos de glicerol y el ARN podrían extraerse con  $\text{NaHCO}_3$  0,5 M, pero no así el HPI. Evans (1985) encontró HPI en los percolados de suelo, aumentando su cantidad cuando disminuye la fuerza iónica de la disolución percolante (KCl). Este resultado fue atribuido a las transiciones conformacionales de la materia orgánica, inducidas por la fuerza iónica, lo cual permite que su solubilidad se vea incrementada a fuerzas iónicas relativamente bajas. Por otra parte, Borie et al. (1989) extrajeron HPI en Andisoles chilenos (cuyos valores oscilaron entre un 47 y un 67% del P orgánico) mediante una vigorosa extracción con NaOH 1 M en caliente, aunque no se produjo la extracción cuando se utilizó el método de Steward y Oades (1972) mucho menos vigoroso. Estas observaciones sugieren que la extracción de los fosfatos de inositol

asociados con las superficies minerales de Al(Fe) (oxi-hidróxidos, alofanos) es improbable debido a que las moléculas se encontrarían fuertemente retenidas (Borie et al., 1989). Esto pone de manifiesto la posibilidad de que los fosfatos complejos de Al(Fe)-humus puedan encontrarse en disolución bajo condiciones alcalinas. Por otra parte, se han propuesto complejos ternarios del tipo: HA-Al-P (ver Fig. 2, complejos del tipo I, HA: estructura húmica indefinida) (Lévesque y Schnitzer, 1967; Sinha, 1972; Gerke, 1992). En suelos ándicos, la fracción del aluminio activo total (definido operacionalmente como el aluminio extraído con  $\text{NH}_4\text{Ox}$  pH 3) asociado con los compuestos húmicos probablemente se encuentre en forma HA-Al-OH. Estos suelos reaccionan vigorosamente con el ortofosfato, con la liberación concomitante de grupos OH, de tal manera que los productos resultantes podrían tender a los complejos del tipo I. La solubilidad y sensibilidad a la hidrólisis de estos compuestos depende de su masa molecular, tipo de puente metálico, etc. Los complejos solubles del tipo I podrían hidrolizarse parcialmente bajo condiciones ácidas, por ejemplo, durante la determinación analítica del P, como lo han sugerido Sinha (1972) y Gerke (1992), aunque la reacción con la fosfatasa no tendría lugar. Sin embargo el P hidrolizable por la enzima puede tener lugar con complejos del mismo tipo propuesto por Gerke (1992), en los cuales los ésteres fosfato se encuentran enlazados vía puentes Al(Fe) a las sustancias húmicas (ver Fig. 2, complejos del tipo II). Su solubilidad, al igual que en los complejos del tipo I, dependería de la estructura del resto HA. Estos complejos podrían

representar parcialmente la "estabilización del fosfato orgánico por el Al(Fe)", sugerida por Borie et al. (1989).

Nuestros resultados muestran la necesidad de estandarizar la extracción de P por el método Olsen, al menos en suelos ándicos; la importancia del PO hidrolizable por la enzima fosfatasa, tal y como ha revelado nuestro estudio, está de acuerdo con los resultados sobre la estabilización del P orgánico lábil del suelo, en diferentes partes del mundo y bajo diferentes condiciones de uso y manejo, a través de los monoésteres ortofosfato (Dai et al., 1996; Gressel et al., 1996; Möller et al., 2000; Cardoso et al., 2003; Toor et al., 2003) que parece ser la especie de P dominante en cada una de las diferentes fracciones de suelo (Makarov et al., 2004). Algunos autores señalan que esta predominancia puede ser debida a la hidrólisis de diésteres procedentes de la masa microbiana tales como ARN y fosfolípidos (Makarov et al., 2002). De todas maneras, la bioasimilabilidad del P orgánico podría explicar la baja respuesta a la fertilización fosfatada observada en algunos tipos de Andosoles con altas capacidades de retención de P (Hernández Moreno et al., 1990).

El reconocimiento del importante papel que puede jugar el P orgánico en la biodisponibilidad del P (Tiessen et al., 1984) podría ser de especial relevancia en suelos ándicos y en otros suelos de carga variable donde los habituales ensayos de calibración del P no son los adecuados (Fox, 1980).

### 3.5. Fósforo particulado

En las Tablas 6 y 7 se recogen las cantidades de P asociadas a las distintas fracciones estudiadas cuyo tamaño de partícula es superior a 0,45  $\mu\text{m}$ . Se observa como independientemente de la temperatura de centrifugación, los valores de P en las diferentes fracciones son relativamente bajos con respecto a los obtenidos en disolución. Devlin et al. (2000) ponen de manifiesto que el P particulado presente en las aguas de escorrentías parece estar: (i) asociado a las partículas del suelo, (ii) en forma mineral como compuestos de Al, Fe o Ca y (iii) incorporado a la materia orgánica, siendo controlada su asimilabilidad a través de ciertos procesos químicos, biológicos e hidrológicos (Mallarino et al., 2002). Nuestros resultados ponen de manifiesto que el P extraído por el bicarbonato parece estar asociado fundamentalmente a partículas de tamaño inferior a 0,45  $\mu\text{m}$  aunque, posiblemente, parte de este P podría haber sido arrastrado por partículas superiores a 0,45  $\mu\text{m}$  lo que explicaría los valores obtenidos para el POLC.

Por otra parte, los datos de COD parecen indicar que una parte de la fracción húmica del extracto alcalino fue retenida por el filtro, siendo mayor la retención en los extractos centrifugados a 20°C que a 4°C. Los valores de Al y Fe, aunque importantes, constituyen solo una pequeña fracción del total extraído por el bicarbonato. Estos elementos pueden que estén asociados a la materia orgánica disuelta, posiblemente de elevada masa molecular, retenida en el filtro. Los resultados parecen confirmar que la materia húmica de las asociaciones del tipo P-Al(Fe)-humus presentes

**Tabla 6.** Fracciones de P particulado ( $>0,45 \mu\text{m}$ ) en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) y centrifugados a 4 o 20°C.

A) Extractos centrifugados a 4°C

Suelo	Hor.	POP	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PI-POLC	POLA	POLA-POIC
V-4		16	5	10	10	0	11	1	0	5	13	8
ESPERANZA	AI	4	0	10	5	5	6	0	5	5	5	5
	Bw2	3	0,2	13	4	9	7	2	7	4	4	4
	Bw/C	5	0,5	7	4	3	5	0	3	4	5	5
LAS LAJAS	AI	4	0,5	7	3	4	4	1	3	3	3	3
	Bw	2	0,4	6	4	2	5	1	1	4	5	5
BONA CAMINO	Bw3	4	0	3	5	4	4	0	5	5	5	5

B) Extractos centrifugados a 20°C

Suelo	Hor.	POP	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PI-POLC	POLA	POLA-POIC
V-4		17	11	67	8	60	40	32	18	4	11	0
ESPERANZA	AI	6	0,6	9	8	1	6	0	3	8	7	6
	Bw2	8	0,8	14	13	1	10	2	4	8	12	11
	Bw/C	9	1,4	13	8	8	6	6	9	0	20	19
LAS LAJAS	AI	9	1,6	10	10	1	13	3	3	8	12	9
	Bw	8	1,0	12	11	1	9	3	2	10	10	9
BONA CAMINO	Bw3	7	0	10	9	3	10	1	2	9	11	10

\* Error estándar de la media



**Tabla 7.** Fracciones de COD, Al y Fe particulado ( $> 0,45 \mu\text{m}$ ) en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) y centrifugados a 4 o 20°C

A) Extractos centrifugados a 4°C												
Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AlT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	$[(\text{Al}+\text{Fe})/\text{COD}]^*$	CODT/PO*
V-4		95	10	105	20	14	6	2	2	0	0,10	-
ESPERANZA	A1	110	100	10	12	10	2	2	0	2	0,05	57
	Bw2	100	95	5	23	21	2	0	0	0	0,10	29
	Bw/C	30	30	0	2	1	1	1	0	1	0,04	26
LAS LAJAS	A1	200	75	125	26	21	5	4	1	3	0,06	129
	Bw	160	80	80	21	18	3	0	0	0	0,06	206
BONA CAMINO	Bw3	310	275	35	21	16	5	2	2	0	0,03	200
B) Extractos centrifugados a 20°C												
Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AlT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	$[(\text{Al}+\text{Fe})/\text{COD}]^*$	CODT/PO*
V-4		550	90	460	26	5	26	9	5	4	0,02	24
ESPERANZA	A1	125	75	50	8	2	6	4	3	1	0,04	323
	Bw2	100	45	50	10	5	5	0	0	0	0,04	258
	Bw/C	300	100	200	10	0	10	3	2	1	0,02	97
LAS LAJAS	A1	450	150	300	30	6	24	8	6	2	0,03	1163
	Bw	305	145	165	30	20	10	4	2	2	0,05	788
BONA CAMINO	Bw3	480	140	240	32	20	12	6	3	3	0,03	413

\* Relación molar

**Tabla 8.** Fraccionamiento del P en extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas y centrifugados a 4 o 20°C.

A) Extractos centrifugados a 4°C												
Suelo	Hor.	POL	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PI-POLC	POLA	POLA-POLC
V-4		149	91	170	155	15	160	10	5	54	145	54
	ESM*	8,3	7,2	11	10	-	12	-	-	-	8,5	-
	Al	19	2,1	49	15	34	37	22	12	13	12	10
ESPERANZA	Bw2	21	3,7	52	19	33	39	20	13	15	15	12
	Bw/C	25	4,6	43	18	25	30	12	13	13	17	12
LAS LAJAS	Al	12	2,3	31	9	22	24	15	7	7	10	8,7
	Bw	16	2,0	26	13	13	21	8	5	11	13	11
	Bw3	20	1,0	35	13	22	25	12	10	12	16	15
BONA CAMINO	ESM*	2,2	0,4	3,2	2,4	-	5,9	-	-	-	3,1	-
B) Extractos centrifugados a 20°C												
Suelo	Hor.	POL	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PI-POLC	POLA	POLA-POLC
V-4		181	114	351	155	196	259	104	92	30	172	58
	ESM*	11	11	19	14	-	14	-	-	-	12	-
	Al	45	2,0	63	26	37	50	24	13	24	33	31
ESPERANZA	Bw2	41	3,0	89	34	55	67	33	22	31	37	34
	Bw/C	52	6,4	93	44	49	62	18	34	38	47	41
LAS LAJAS	Al	44	4,2	90	35	51	69	34	17	31	39	35
	Bw	39	2,7	78	30	48	57	27	21	27	31	28
	Bw3	42	1,0	99	39	60	63	24	36	38	38	37
BONA CAMINO	ESM*	5,5	0,2	8,2	6,9	-	3,9	-	-	-	5,2	-

\* Error estándar de la media

**Tabla 9.** Fraccionamiento del COD, Al y Fe en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo y centrifugados a 4 o 20°C.

A) Extractos centrifugados a 4°C												
Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AIT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	$[(\text{Al}+\text{Fe})/\text{COD}]\text{T}^*$	$\text{CODT}/\text{PO}^*$
V-4		455	255	200	142	135	7	28	20	8	0,15	78
ESPERANZA	Al	410	380	30	57	52	5	17	11	6	0,07	31
	Bw2	280	270	10	71	66	5	9	5	4	0,12	22
	Bw/C	90	85	5	8	6	2	15	11	4	0,08	9
LAS LAJAS	Al	975	750	225	255	247	8	21	18	3	0,12	114
	Bw	610	500	110	168	159	11	15	10	5	0,13	121
BONA CAMINO	Bw3	1005	915	90	150	138	12	24	19	5	0,07	118
B) Extractos centrifugados a 20°C												
Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AIT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	$[(\text{Al}+\text{Fe})/\text{COD}]\text{T}^*$	$\text{CODT}/\text{PO}^*$
V-4		2525	1575	950	190	125	65	42	34	8	0,04	33
ESPERANZA	Al	990	850	140	74	47	27	24	18	6	0,04	69
	Bw2	735	575	160	88	75	23	15	10	5	0,06	35
	Bw/C	615	375	140	39	26	13	29	26	3	0,04	32
LAS LAJAS	Al	2150	1590	560	380	240	140	41	35	6	0,08	109
	Bw	1590	1325	265	189	150	39	38	31	7	0,06	86
BONA CAMINO	Bw3	2375	1905	470	170	151	19	39	30	9	0,04	102

\* Relación molar

**Tabla 10.** Fraccionamiento del P en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo, filtrados por  $0,45 \mu\text{m}$  y centrifugados a 4 o  $20^\circ\text{C}$ .A) Extractos centrifugados a  $4^\circ\text{C}$ 

Suelo	Hor.	POL	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PI-POLC	POLA	POLA-POLC
V-4		134	92	145	133	12	140	7	5	31	130	38
	ESM*	7,7	7,0	12	11	-	11	-	-	-	9,2	-
ESPERANZA	A1	17	1,8	37	11	26	30	19	7	9	10	8
	Bw2	18	3,0	42	15	27	33	18	9	12	12	9
	Bw/C	20	3,1	35	10	25	22	12	13	7	12	9
LASLAJAS	A1	11	1,8	24	8	16	20	12	4	6	7	5
	Bw	14	1,4	18	9	9	14	5	4	8	9	8
BONA CAMINO	Bw3	17	1,0	29	9	20	19	10	10	8	13	12
	ESM*	1,1	0,3	2,1	0,9	-	3,3	-	-	-	2,0	-

B) Extractos centrifugados a  $20^\circ\text{C}$ 

Suelo	Hor.	POL	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PI-POLC	POLA	POLA-POLC
V-4		169	118	284	142	142	244	98	44	24	165	47
	ESM*	12	10	16	11	-	10	-	-	-	11	-
ESPERANZA	A1	39	1,5	52	20	32	41	21	11	18	28	27
	Bw2	35	2,1	65	19	46	52	33	13	17	30	28
	Bw/C	48	3,7	80	34	46	50	16	30	30	42	38
LASLAJAS	A1	38	2,0	77	30	47	61	31	16	28	31	29
	Bw	33	1,9	67	27	40	49	22	18	25	26	24
BONA CAMINO	Bw3	33	0,5	88	34	54	58	24	30	34	30	30
	ESM*	3,0	0,2	6,2	5,5	-	3,2	-	-	-	5,0	-

\* Error estándar de la media

**Tabla 11.** Fraccionamiento del COD, Al y Fe en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo, filtrados por  $0,45 \mu\text{m}$  y centrifugados a  $4$  o  $20^\circ\text{C}$ .

A) Extractos centrifugados a $4^\circ\text{C}$												
Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AlT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	$[(\text{Al}+\text{Fe})/\text{COD}]^*$	CODT/PO*
V-4		325	195	130	130	126	4	22	19	3	0,24	70
ESPERANZA	A1	350	330	20	45	44	1	13	11	2	0,07	35
	Bw2	200	195	5	60	58	2	6	4	2	0,14	19
	Bw/C	70	70	0	5	5	0	10	9	1	0,06	7
LAS LAJAS	A1	820	700	120	210	204	6	14	14	0	0,12	132
	Bw	505	430	75	144	138	6	11	9	2	0,14	145
	Bw3	815	780	35	121	118	3	16	14	2	0,07	105
B) Extractos centrifugados a $20^\circ\text{C}$												
Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AlT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	$[(\text{Al}+\text{Fe})/\text{COD}]^*$	CODT/PO*
V-4		1950	1325	625	168	109	59	31	27	4	0,04	4
ESPERANZA	A1	725	630	95	57	33	24	18	16	2	0,04	59
	Bw2	590	470	120	65	60	5	12	9	3	0,05	33
	Bw/C	515	410	105	22	18	4	21	18	3	0,04	29
LAS LAJAS	A1	1870	1500	370	274	210	64	33	29	4	0,07	103
	Bw	1220	1100	120	149	122	27	30	28	2	0,06	79
	Bw3	1995	1805	190	151	134	17	32	26	6	0,04	95

\* Relación molar

**Tabla 12.** Fracciones de P particulado ( $> 0,45 \mu\text{m}$ ) en extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo y

A) Extractos centrifugados a 4°C													
Suelo	Hor.	POL	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PI-POLC	POLA	POLA-POLC	
V-4		15	9	25	22	3	20	3	0	13	15	6	
ESPERANZA	A1	2	0,3	12	4	8	7	3	5	4	2	2	
	Bw2	3	0,7	10	4	6	6	2	4	3	3	3	
	Bw/C	5	1,5	8	8	0	8	0	0	7	5	3	
LAS LAJAS	A1	1	0,5	7	1	6	4	3	3	1	3	4	
	Bw	2	0,6	8	4	4	7	3	1	3	4	3	
BONA CAMINO	Bw3	3	0	6	4	2	6	2	0	4	3	3	
B) Extractos centrifugados a 20°C													
Suelo	Hor.	POL	POLC	PT	PI	PO	PTI	Pf	Ph	PI-POLC	POLA	POLA-POLC	
V-4		12	7	67	13	54	15	6	48	6	7	0	
ESPERANZA	A1	6	0,5	11	6	5	9	3	2	6	5	4	
	Bw2	6	0,9	24	15	9	15	0	9	14	7	6	
	Bw/C	11	2,7	13	10	3	12	2	4	8	5	3	
LAS LAJAS	A1	6	2,2	13	5	4	8	3	1	7	8	6	
	Bw	6	0,8	11	3	8	8	5	3	2	5	4	
BONA CAMINO	Bw3	9	0,5	11	5	6	5	0	6	4	8	7	

**Tabla 13.** Fracciones de COD, Al y Fe particulado ( $> 0,45 \mu\text{m}$ ) en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo y centrifugados a 4 o 20°C.

A) Extractos centrifugados a 4°C

Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AlT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	[(Al+Fe)/COD]T*	CODT/PO*
V-4		130	15	115	12	9	3	6	1	5	0,44	112
ESPERANZA	A1	60	50	10	12	8	4	4	0	4	0,10	19
	Bw2	80	75	5	11	8	3	3	1	2	0,05	34
	Bw/C	20	15	5	3	1	2	5	2	3	0,12	-
LAS LAJAS	A1	155	50	105	45	43	2	7	4	3	0,14	67
	Bw	105	70	35	24	21	5	4	1	3	0,11	68
BONA CAMINO	Bw3	190	135	55	29	20	9	8	5	3	0,08	245

B) Extractos centrifugados a 20°C

Suelo	Hor.	CODT	CODf	CODh	AlT	Alf	Alh	FeT	Fef	Feh	[(Al+Fe)/COD]T*	CODT/PO*
V-4		575	250	325	22	16	6	11	7	4	0,02	68
ESPERANZA	A1	265	220	45	17	14	3	6	2	4	0,03	137
	Bw2	145	105	40	23	15	18	3	1	2	0,08	42
	Bw/C	100	35	25	17	8	9	8	8	0	0,09	86
LAS LAJAS	A1	280	90	190	106	30	76	8	6	2	0,17	181
	Bw	370	225	145	79	28	12	8	3	5	0,10	119
BONA CAMINO	Bw3	380	100	280	20	17	2	7	4	3	0,03	164

\* Relación molar

**Tabla 14.** Fracciones de P y COD microbiano y P hidrolizado por la enzima fosfatasa en los extractos de bicarbonato ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de muestras fumigadas con cloroformo, filtradas por Whatman No. 42 o por  $0,45\mu\text{m}$  y centrifugados a 4 o  $20^\circ\text{C}$  ( $\pm$  desviación estándar)

Whatman No. 42							0,45 $\mu\text{m}$			
Suelo	Hor.	PM	CODM	PEN	PM	CODM	PEN	CODM	PM	PEN
V-4		38 $\pm$ 4	167 $\pm$ 11	9 $\pm$ 1	40 $\pm$ 3	111 $\pm$ 9	8 $\pm$ 1			
ESPERANZA	A1	15 $\pm$ 2	200 $\pm$ 13	37 $\pm$ 2	23 $\pm$ 2	311 $\pm$ 23	34 $\pm$ 3			
	Bw2	23 $\pm$ 3	178 $\pm$ 10	30 $\pm$ 3	23 $\pm$ 2	222 $\pm$ 19	31 $\pm$ 2			
	Bw/C	15 $\pm$ 3	89 $\pm$ 5	23 $\pm$ 2	15 $\pm$ 2	111 $\pm$ 12	21 $\pm$ 2			
LAS LAJAS	A1	13 $\pm$ 2	500 $\pm$ 27	19 $\pm$ 2	20 $\pm$ 3	599 $\pm$ 30	18 $\pm$ 2			
	Bw	15 $\pm$ 2	289 $\pm$ 15	12 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1	411 $\pm$ 24	12 $\pm$ 2			
BONA CAMINO	Bw3	10 $\pm$ 3	344 $\pm$ 21	14 $\pm$ 2	23 $\pm$ 2	611 $\pm$ 39	15 $\pm$ 1			

Whatman No. 42							0,45 $\mu\text{m}$			
Suelo	Hor.	PM	CODM	PEN	PM	CODM	PEN	CODM	PM	PEN
V-4		83 $\pm$ 7	1654 $\pm$ 99	98 $\pm$ 7	95 $\pm$ 8	1598 $\pm$ 102	91 $\pm$ 9			
ESPERANZA	A1	13 $\pm$ 2	755 $\pm$ 33	32 $\pm$ 3	45 $\pm$ 4	444 $\pm$ 33	29 $\pm$ 2			
	Bw2	13 $\pm$ 1	544 $\pm$ 25	55 $\pm$ 4	18 $\pm$ 2	444 $\pm$ 29	50 $\pm$ 4			
	Bw/C	10 $\pm$ 1	189 $\pm$ 12	51 $\pm$ 4	23 $\pm$ 2	633 $\pm$ 37	48 $\pm$ 4			
LAS LAJAS	A1	33 $\pm$ 3	1221 $\pm$ 95	59 $\pm$ 3	40 $\pm$ 3	1598 $\pm$ 91	55 $\pm$ 5			
	Bw	23 $\pm$ 3	1021 $\pm$ 85	51 $\pm$ 4	28 $\pm$ 3	877 $\pm$ 62	47 $\pm$ 4			
BONA CAMINO	Bw3	30 $\pm$ 2	1800 $\pm$ 79	60 $\pm$ 5	25 $\pm$ 3	1055 $\pm$ 65	55 $\pm$ 5			

B) Extractos centrifugados a  $20^\circ\text{C}$



en el extracto sean, en gran parte, de naturaleza fúlvica de tamaño de partícula  $< 0,45 \mu\text{m}$ , aunque sin descartar la posibilidad de que existan otros compuestos orgánicos de P asociados con material húmico presente en el suelo.

### 3.6. Fumigación de las muestras de suelo con cloroformo

Las Tablas de la 8 a la 13 detallan los datos referentes a la caracterización de los extractos fumigados con cloroformo. Se observa, en primer lugar, un aumento considerable de los contenidos de las diferentes fracciones de P (Tablas 8 y 10), de COD y de Al y Fe (Tablas 9 y 11) con respecto a las muestras no fumigadas, independientemente de la temperatura de centrifugación y tipo de filtrado. La tendencia es similar tanto en el suelo cultivado como en los naturales, incluso en los diferentes perfiles considerados. En lo que se refiere a la fracción particulada ( $> 0,45 \mu\text{m}$ ) la tendencia es parecida a las de las muestras sin fumigar (Tablas 12 y 13), con un ligero repunte del COD retenido en el filtro.

Con respecto a la fracción microbiana, las cantidades de PM y de CODM, calculadas a partir de los datos de POL y COD de las muestras fumigadas y sin fumigar, son relativamente bajas (Tabla 14) con respecto a los valores de PT y CODT, siendo mayores, independientemente de la temperatura de centrifugación, en los extractos filtrados por  $0,45 \mu\text{m}$  que por Whatman No. 42 lo que podría estar relacionado con la retención en el filtro de mayor cantidad de material coloidal en los

extractos de muestras no fumigadas por  $0,45 \mu\text{m}$  que provocaría una mayor diferencia entre las dos fracciones reactivas ( $\text{POL}_{\text{CHCl}_3}$ - POL) y por tanto en PM. Con respecto a la temperatura de centrifugación, los valores de PM y CODM siempre fueron mayores a  $20^\circ\text{C}$  que a  $4^\circ\text{C}$ , excepto en el perfil La Esperanza (alofánico) en el cual los valores de PM fueron menores en los segundos que en los primeros, a pesar del aumento en CODM lo que podría estar relacionado por una posible fijación de una parte importante de PM a la matriz del suelo durante el proceso de extracción.

En principio, estos resultados parecen indicar que las asociaciones Al(Fe)-humus con el P en los extractos de bicarbonato en muestras fumigadas parecen constituir el componente mayoritario de los mismos, confirmando los resultados anteriores. El efecto de la fumigación del suelo con cloroformo se traduce en un aumento de estas asociaciones en los extractos lo cual parece indicar que durante el proceso de hidrólisis bacteriana se han podido producir reagrupamientos de las fracciones de P, en teoría lábiles, con la liberación de estos complejos. Si consideramos que el P proveniente de los microorganismos del suelo está formado en un 60% de ácidos nucleicos, en un 20% de P inorgánico soluble en medio ácido y ésteres orgánicos de P (azúcares, ésteres nucleótidos, co-enzimas fosforiladas y polifosfatos) y en  $< 10\%$  de fosfolípidos (Stewart y Tiessen, 1987), siendo la proporción entre las formas orgánicas e inorgánicas de P en los microorganismos dependientes de la concentración de P en la disolución del suelo, así como del contenido de P de las células y la edad de las mismas (Hedley

y Stewart, 1982), podemos intuir que el desplazamiento concomitante de las asociaciones humus-Al(Fe)-P durante el tiempo de extracción pudo deberse a la fijación de los productos procedentes de la lisis bacteriana a la matriz inorgánica de los suelos, desplazando a los complejos o bien a la rápida incorporación de este P liberado a la fase sólida formando estos complejos. A favor de esta hipótesis juega el hecho que los valores de PM y DOCM (Tabla 14) son altos comparados con otros encontrados en la bibliografía y cuyas muestras de suelo habían recibido un tratamiento fosfórico previo (Thien y Myers, 1992; Kouno et al., 1999; Oehl et al., 2001). Por otro lado, como hemos asumido el hecho de que alrededor del 40% del P de la biomasa microbiana es liberada por el cloroformo en forma de P inorgánico (Kuo et al., 1999), este fosfato podría también desplazar a parte de la materia orgánica ligada a la superficie del suelo, posiblemente unida a estos complejos, aumentando así su concentración en los extractos alcalinos.

Otro aspecto a destacar es el aumento del P hidrolizado por la enzima fosfatasa en los extractos fumigados, oscilando entre un 30 y un 50% respecto a las muestras sin fumigar (Tabla 14). Este resultado, unido a los datos anteriores, refuerza la hipótesis de la existencia en disolución de los complejos organominerales del tipo Gerke o asociados a PO que hemos destacado en la Figura 2.

Bajo esta premisa, podemos considerar que las asociaciones P-Al(Fe)-humus deben jugar un papel fundamental en el control de la disponibilidad del P en Andosoles ya que su incorporación a la disolución del suelo parece

depender de complejas relaciones de afinidad entre los diversos compuestos de P (tanto de procedencia biótica como abiótica) y la matriz del suelo. Si estas relaciones originan que gran parte de los productos del P procedentes de la biomasa microbiana [fracción que puede actuar como fuente de P disponible para las plantas dentro de las fracciones lábiles de este elemento (Macklon et al., 1997)] no se encuentren disponibles podría explicar, en parte, la falta de respuesta de estos suelos a la fertilización fosfatada, dada la dificultad de transformar en formas asimilables los complejos ternarios de P y que la extracción con bicarbonato, por tanto la significación del valor de POL obtenido analíticamente, sea mucho más compleja que la simple extracción del P débilmente adsorbido definido por Hedley et al. (1982) en, al menos, este tipo de suelos.

#### 4. Referencias

- Barrow, N. J.; Shaw, T. C. 1976a. Sodium bicarbonate as an extractant for soil phosphate. I. Separation of the factors affecting the amount of phosphate displaced from soil from those affecting secondary adsorption. *Geoderma* 16, 91-107.
- Barrow, N. J.; Shaw, T. C. 1976b. Sodium bicarbonate as an extractant for soil phosphate. II. Effect of varying the conditions of extraction on the amount of phosphate initially displaced and on the secondary adsorption. *Geoderma* 16, 109-123.
- Barrow, N. J.; Shaw, T. C. 1976c. Sodium bicarbonate as an extractant for soil phosphate. III. Effects of the buffering capacity of a soil for phosphate. *Geoderma* 16, 273-283.
- Bartlett, R. J.; Ross, D. S. 1988. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil

- solutions. *Soil Science Society of America Journal* 52, 1191-1192.
- Blakemore, L. C.; Searle, P. L.; Daly, B. K. 1981. Methods for chemical analysis of soils. In *Soil Bureau Laboratory Methods*. New Zealand Soils Bureau Scientific Report, Lower Hutt.
- Borie, F.; Zunino, H. 1983. Organic matter-phosphorus associations as a sink in P-fixation processes in allophanic soils of Chile. *Soil Biology & Biochemistry* 15, 599-603.
- Borie, F.; Zunino, H.; Martínez, L. 1989. Macromolecule-P associations and inositol phosphates in some Chilean volcanic soils of temperate regions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 20, 1881-1894.
- Bowman, R. A.; Cole, C. V. 1978a. An exploratory method for fractionation of organic phosphorus from grassland soils. *Soil Science* 125, 95-101.
- Bowman, R. A.; Cole, C. V. 1978b. Transformations of organic phosphorus substances in soil as evaluated by sodium-bicarbonate extraction. *Soil Science* 125, 49-54.
- Brookes, P. C.; Powlson, D. S.; Jenkinson, D. S. 1982. Measurement of microbial phosphorus in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 14, 319-329.
- Brookes, P. C.; Powlson, D. S.; Jenkinson, D. S. 1984. Phosphorus in the microbial biomass. *Soil Biology & Biochemistry* 16, 169-175.
- Cardoso, I. M.; van der Meer, P.; Oenema, O.; Janssen, B. H.; Kuyper, T. W. 2003. Analysis of phosphorus by  $^{31}\text{P}$  NMR in oxisols under agroforestry and conventional coffee systems in Brazil. *Geoderma* 112, 51-70.
- Dai, K. H.; David, M. B.; Vance, G. F.; Kryszowska, A. J. 1996. Characterization of phosphorus in a spruce-fir Spodosol by phosphorus-31 nuclear resonance spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal* 60, 1943-1950.
- Devlin, D. L.; Whitney, D. A.; McVay, K. A. 2000. Phosphorus and water quality in Kansas. Kansas State University. Kansas.
- Dick, W. A.; Tabatabai, M. A. 1977. Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds. *Journal of Environmental Quality* 6, 82-85.
- Dick, W. A.; Tabatabai, M. A. 1978. Hydrolysis of organic and inorganic phosphorus compounds added to soils. *Geoderma* 21, 175-182.
- Evans, Jr A. 1985. The adsorption of inorganic phosphate by a sandy soil as influenced by dissolved organic compounds. *Soil Science* 140, 251-255.
- Fox, R. L. 1980. Soils with variable charge: agronomic and fertility aspects. En: Theng, B. K. G. (Ed.), *Soils with Variable Charge*, New Zealand Society of Soil Science, Palmerston North, pp. 195-224.
- Fox, T. R.; Comerford, N. B. 1992. Rhizosphere phosphatase activity and phosphatase hydrolysable organic phosphorus in two forested Spodosols. *Soil Biology & Biochemistry* 24, 579-583.
- Gerke, J. 1992. Orthophosphate and organic phosphate in the soil solution of four sandy soils in relation to pH-evidence for humic-Fe-(Al)-phosphate complexes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 23, 601-612.
- Gerke, J.; Jungk, A. 1991. Separation of phosphorus bound to organic matrices from inorganic phosphorus in alkaline soil extracts by ultrafiltration. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 22, 1621-1630.
- Gressel, N.; McColl, J. G.; Preston, C. M.; Newman, R. H.; Powers, R. F. 1996. Linkages between phosphorus transformations and carbon decomposition in a forest soil. *Biogeochemistry* 33, 97-123.

- Hayes, J. E.; Richardson, A. E.; Simpson, R. J. 2000. Components of organic phosphorus in soil extracts that are hydrolysed by phytase and acid phosphatase. *Biology & Fertility of Soils* 32, 279-286.
- Hedley, M. J.; Stewart, J. W. B. 1982. A method to measure microbial phosphorus in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 14, 377-385.
- Hedley, M.J.; Stewart, J. W. B.; Chauhan, B. S. 1982. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal* 46, 970-976.
- Hernández Moreno, J. M.; Hernández Pérez, A.; Pinheiro, J. 1990. Comparación de diferentes métodos de fosfato disponible en un suelo con alta capacidad de retención de fosfato (Dystrandeps). En: Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (Ed.), *Actas de Horticultura, S.E.C.H., Córdoba*, pp. 287-292.
- Higashi, T. 1983. Characterization of Al/Fe-humus complexes in Dystrandeps through comparison with synthetic forms. *Geoderma* 31, 277-288.
- Johnson, M. G.; McBride, M. B. 1991. Solubility of aluminium and silicon in acidified Spodosols: evidence for soluble aluminosilicate. En: Wright, R. J.; Baligar, V. C.; Murrmann, R. P. (Eds.), *Plant-Soil Interactions at Low pH* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 99-106.
- Kamprath, E. J.; Watson, W. E. 1980. Conventional soil and tissue tests for assessing the phosphorus status in soils. En: Khasawneh, F. E.; Sample, E. C.; Kamprath, E. J. (Eds.), *The Role of Phosphorus in Agriculture*, ASA, CSSA y SSSA, Madison, pp. 433-469.
- Kuo, S. 1996. Phosphorus. En: Sparks, D. L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis Part 3: Chemical Methods*, Soil Science Society of America, Madison, pp. 869-919.
- Leinweber, P.; Meissner, R.; Eckhardt, K. -U.; Seeger, J. 1999. Management effects on forms of phosphorus in soil and leaching losses. *European Journal of Soil Science* 50, 413-424.
- Lévesque, M. 1969. Characterization of model and soil organic matter metal-phosphate complexes. *Canadian Journal of Soil Science* 49, 365-373.
- Lévesque, M.; Schnitzer M. 1967. Organo-metallic interactions in soils: 6. Preparation and properties of fulvic acid-metal phosphates. *Soil Science* 103, 183-190.
- Magid, J.; Nielsen N. E. 1992. Seasonal variation in organic and inorganic phosphorus fractions of temperate-climate sandy soils. *Plant and Soils* 144, 155-165.
- Macklon, A. E. S.; Grayston, S. J.; Shand, C. A.; Sim, A.; Sellars, S.; Ord, B. G. 1997. Uptake and transport of phosphorus by *Agrostis capillaries* seedling from rapidly hydrolysed organic sources extracted from <sup>32</sup>P-labelled bacterial cultures. *Plant and Soil* 190, 163-167.
- Mallarino A. P.; Stewart, B. M.; Baker, J. L., Downing, J. D., Sawyer J. E. 2002. Phosphorus indexing for cropland: overview and basic concepts of the Iowa phosphorus index. *Journal of Soil and Water Conservation* 57, 440-447.
- Makarov, M. I.; Haumaier, L.; Zech, W. 2002. Nature of soil organic phosphorus: an assessment of peak assignments in the diester region of <sup>31</sup>P NMR spectra. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 1467-1477.
- Makarov, M. I.; Haumaier, L.; Zech, W.; Malysheva, T. I. 2004. Organic phosphorus compounds in particle-size fractions of mountain soils in northwestern Caucasus. *Geoderma* 118 (1-2), 101-114.
- Manley, E. P.; Chesworth, W.; Evans, L. J. 1987. The solution chemistry of podzolic soils from the eastern Canadian shield: a thermodynamic interpretation of the mineral phases controlling

- soluble  $\text{Al}^{3+}$  and  $\text{H}_4\text{SiO}_4$ . *Journal of Soil Science* 38, 39-51.
- McLaughlin, M. J.; Alston, A. M.; Martin, J. K. 1986. Measurement of phosphorus in the soil microbial biomass: a modified procedure for fields soils. *Soil Biology & Biochemistry* 18, 437-443.
- Möller, A.; Kaiser, K.; Amelung W.; Niamskul, C.; Udomsri, S.; Puthawong, M.; Haumaier, L.; Zech, W. 2000. Forms of organic C and P extracted from tropical soils as assessed by liquid-state  $^{13}\text{C}$ - and  $^{31}\text{P}$ -NMR spectroscopy. *Australian Journal of Soil Research* 38, 1017-1035.
- Murphy, J.; Riley, J. P. 1962. A modified single method for the determination of phosphates in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27, 31-36.
- Myers, R. G.; Thien, S. J.; Pierzynski, G. M. 1999. Using an ion sink to extract microbial phosphorus from soil. *Soil Science Society of America Journal* 63, 1229-1237.
- Oberson, A.; Friesen, D. K.; Morel, C.; Tiessen, H. 1997. Determination of phosphorus released by chloroform fumigation from microbial biomass in high P sorbing tropical soils. *Soil Biology & Biochemistry* 29, 1579-1583.
- Oehl, F.; Oberson, A.; Probst, M.; Fliessbach, A.; Roth, H.-H.; Frossard, E. 2001. Kinetics of microbial phosphorus uptake in cultivated soils. *Biology & Fertility of Soils* 34, 31-41.
- Olsen, S. R.; Cole, C. V.; Watanabe, F. S. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Department of Agriculture Circular 939. Washington.
- Olsen, S. R.; Sommers, L. E. 1986. Phosphorus. En: Page, A. L.; Miller, R. H.; Keeney, D. R. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, 2<sup>a</sup> Ed., American Society of Agronomy, Madison, pp. 403-430.
- Olsen, S. R.; Dean, L. A. 1965. Phosphorus. En: Black, A. L.; Clark, F. E.; Evans, D. D.; Ensminger, L. E.; White, J.L. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, American Society of Agronomy, Madison, pp. 1035-1099.
- Otani, T.; Ae, N. 1999. Extraction of organic phosphorus in Andisol by various methods. *Soil Science and Plant Nutrition* 45, 151-161.
- Pant, H. K.; Edwards, A. C.; Vaughan, D. 1994. Extraction, molecular fractionation and enzyme degradation of organically associated phosphorus in soil solutions. *Biology & Fertility of Soils* 17, 196-200.
- Poile, G. J.; Ring, S. M.; Conyers, M. K.; Slattery, W. J. 1990. The influence of centrifuging on phosphorus (Olsen P) soil test values. *Australian Journal of Soil Research* 28, 559-562.
- Pote, D. H., Daniel, T. C., Sharpley, A. N.; Moore Jr., P. A.; Edwards, D. R.; Nichols, D. J. 1996. Relating extractable soil phosphorus to phosphorus losses in runoff. *Soil Science Society of America Journal* 60, 855-859.
- Kouno, K.; Lukito, H. P.; Ando, T. 1999. Minimum available N requirement for microbial biomass P formation in a regosol. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 797-802.
- Rowland, A. P.; Haygarth, P. M. 1997. Determination of total dissolved phosphorus in soil solution. *Journal Environmental Quality* 26, 410-415.
- Schoenau, J. J.; Huang, W. Z. 1991. Anion-exchange membrane, water, and sodium bicarbonate extractions as a soil test for phosphorus. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 22, 465-492.
- Shand, C. A.; Smith, S. 1997. Enzymatic release of phosphatase from model substrates and P compounds in soil solution from a peaty podzol. *Biology & Fertility of Soils* 24, 183-187.
- Sinha, M. K. 1972. Organo-metallic phosphates III. Synthesis and their role in plant nutrition. *Plant and Soil* 37, 449-456.

- Skunjins, J. J. 1967. Enzymes in soil. En: McLaren, A. D.; Peterson, G. H. (Eds.), *Soil Biochemistry*, Vol. 1, Marcel Dekker, New York, pp. 371-414.
- Skunjins, J. J.; Braal, L.; McLaren, A. D. 1962. Characterization of phosphatase in a terrestrial soil sterilized with an electron beam. *Enzymologia* 25, 125-133.
- Smbeck, N. E. 1985. Phosphorus dynamics in soils and landscapes. *Geoderma* 36, 185-199.
- Soil Survey Staff. 1990. *Keys to Soil Taxonomy*, 4<sup>a</sup> Ed., SMSS Technical Monograph No 9. USDA-AID. Blacksburg.
- Steward, J. H.; Oades, J. M. 1972. The determination of organic phosphorus in soils. *Journal of Soil Science* 23, 38-49.
- Stewart, J. W. B.; Tiessen, H. 1987. Dynamics of soil organic phosphorus. *Biogeochemistry* 4, 41-60.
- Tabatabai, M. A.; Fu, M. 1992. Extraction of enzymes from soils. En: Stotzky, G.; Bollag, J. M. (Eds.), *Soil Biochemistry*, Vol. 7, Marcel Dekker, New York, pp. 197-227.
- Thien, S. J.; Myers, R. 1992. Determination of bioavailable phosphorus in soil. *Soil Science Society of America Journal* 56, 814-818.
- Tiessen, H.; Stewart, J. W. B.; Cole, C.V. 1984. Pathways of phosphorus transformations in soils of differing pedogenesis. *Soil Science Society of America Journal* 48, 854-858.
- Toor, G.; Condron, L.; Di, H.; Cameron, K., Cademenu, B. 2003. Characterization of organic phosphorus in lechate from a grassland soil. *Soil Biology & Biochemistry* 35, 1317-1323.
- Trasar-Cepeda, C.; Gil-Sotres, F.; Guitián Ojea, F. 1990. Relation between phosphorus fractions and development of soils from Galicia, NW Spain. *Geoderma* 27, 139-150.
- Turner B. L.; Haygarth, P. M. 2003. Changes in bicarbonate-extractable inorganic and organic phosphorus by drying pasture soils. *Soil Science Society of America Journal* 67, 344-350.
- Turner, B. L.; McKelvie, D. M.; Haygarth, P. M. 2002. Characterisation of water-extractable soil organic phosphorus by phosphatase hydrolysis. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 27-35.
- Watanabe, F.S.; Olsen, S. R. 1965. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO<sub>3</sub> extracts from soil. *Soil Science Society America Proceedings* 29, 677-678.

## CAPÍTULO III.2:

### ***EXTRACCIÓN DE FÓSFORO CON AGUA: ASOCIACIONES ÓRGANOMINERALES (Al-P-ÁCIDO FÚLVICO) Y FASES INORGÁNICAS***

## 1. Introducción

Es bien conocido el papel esencial que el P juega en todas las formas de vida de nuestro planeta. La distribución de las formas químicamente activas del P puede proporcionarnos un índice que nos indique el nivel y tipo de actividad biológica en un ecosistema dado. En el suelo, la existencia de diferentes formas de P está condicionada por todos los procesos edafogénicos que afectan a la disponibilidad de P a través de mecanismos biológicos o geoquímicos (Tiessen et al., 1984; Smeck, 1985). El peso que tienen los diferentes procesos específicos que controlan la disponibilidad del P puede verse afectado tanto por el tipo de ecosistema (Lajtha y Schlesinger, 1988) como por el tipo de horizonte del suelo (Wood et al., 1984).

Un índice para determinar la disponibilidad de P debe ser capaz de integrar todos estos procesos, poniendo un especial hincapié en el lugar crítico donde ocurren gran parte de los procesos físico-químicos del suelo: la disolución del suelo. La composición de ésta refleja la solubilidad, la disponibilidad para las plantas y el posible movimiento a través del perfil de los elementos nativos o añadidos en el suelo. Sin embargo, el término disolución del suelo es definido de forma operacional debido, fundamentalmente, a los diferentes métodos disponibles y a la ausencia de un método estandarizado para obtener una muestra de la disolución, químicamente inalterada, representativa de la matriz de la cual fue extraída. En cualquier caso, la determinación de las diferentes formas de P en la disolución

del suelo así como de las correspondientes concentraciones asociadas, constituye el marco básico en la investigación de los mecanismos que concurren en la toma de P por parte de la planta y en las pérdidas de este macronutriente por fenómenos de lavado (Leinweber et al., 2002).

Los extractos acuosos se han empleado en ocasiones como modelo de la disolución del suelo (Wolt, 1994). Por otro lado, los ensayos de P basados en la extracción con agua (Sissingh, 1971; van der Paaw, 1971) tienen un interés potencial tanto para fines medioambientales como agronómicos, aunque su uso está limitado por los problemas metodológicos relacionados con la incertidumbre analítica en la determinación de los contenidos de las diferentes formas de P que contribuyen a la fracción soluble en agua.

Por otro lado, la dinámica del fósforo en Andosoles y suelos ándicos está controlada por el contenido de Al y Fe activo que incluyen fases inorgánicas del tipo alofana y ferrihidrita, así como por complejos organominerales. En relación con los suelos que presentan una elevada capacidad para fijar fosfato se acepta, generalmente, que el ión ortofosfato reacciona con minerales de Al(Fe) para formar compuestos superficiales y fosfatos de Al(Fe) que presentan un amplio rango de solubilidades. Sin embargo, los aspectos relacionados con los mecanismos implicados y las fases fosfatadas formadas continúan siendo motivo de discusión y controversia. En este sentido, Hetrick y Schawb (1992) han observado en suelos sometidos a largos períodos de fertilización que la solubilidad del



Al y el P podrían depender del tipo de fertilización aplicada, estando el proceso controlado por algunas fases como el  $\text{Al}(\text{OH})_3$  amorfo, el hidroxapatito, el fosfato octocálcico y la variscita. Sin embargo, en suelos ácidos o con contenidos importantes de Al y/o Fe activos, los productos iniciales de la reacción de los fertilizantes fosfatados con el suelo parecen ser los fosfatos de Al y Fe cristalinos y amorfos (Veith y Sposito, 1977; Lindsay, 1979; Pierzynski et al., 1990b).

Por otra parte, y como complemento del mecanismo que conlleva la reacción del P con las superficies hidroxiladas de Al y Fe, se ha demostrado en suelos alofánicos la formación de minerales fosfatados secundarios como el amorfo análogo a la variscita (Veith y Sposito, 1977). Este compuesto se ha considerado como producto de reacción entre los iones ortofosfato con el Al cambiante y los hidróxidos de Al y aluminosilicatos estables a valores de  $\text{pH} > 7$  (Coleman et al., 1960). Sin embargo en este tipo de suelos, Veith y Sposito (1977) han suministrado evidencias de la formación de fosfatos de Al amorfos debido a una precipitación secundaria más que por formación de una fase superficial fosfatada. Estos estudios se han basado principalmente en evidencias indirectas como el criterio de solubilidad, aunque en los últimos quince años se han utilizado evidencias directas como la microscopía y la espectroscopia (Pierzynski, 1991).

Considerando las conclusiones establecidas por Borie y Zunino (1983) para suelos volcánicos chilenos, las fuentes principales de P en los suelos alofánicos parecen ser,

conjuntamente, los minerales tipo variscita y los complejos humus-Al-P. Sin embargo, en los Andosoles existe un rango continuo de Al activo entre las asociaciones alofana-imogolita y Al-humus en los que estos miembros finales son raros (Mizota y van Reeuwijk, 1989). Esta diversidad de asociaciones podría explicar parcialmente el por qué las calibraciones usuales que relacionan el P extraíble con los rendimientos esperados de los cultivos y los requerimientos de fertilización de P parecen no ser los adecuados para estos suelos (Fox, 1980).

La extracción en fase acuosa del P del suelo ha sido empleada como indicador de la asimilabilidad y disponibilidad del P en una amplia tipología de suelos, principalmente en suelos muy fertilizados o en suelos alcalinos (Sorn-Srivichai et al., 1988). Se debe tener en cuenta, además, la incertidumbre analítica existente en la determinación del P acuoso en aquellos suelos pobres en este elemento (van der Zee et al., 1988; Salcedo et al., 1991). Sin embargo, el estudio de los mecanismos de desorción de P mediante este método es de sumo interés para la investigación en nutrición vegetal y calidad del agua (Schoenau y Huang, 1991). Esto tiene una especial importancia en Andosoles y suelos ándicos en los que ocurren cambios importantes en la capacidad de cambio catiónica y aniónica debido a las oscilaciones en la fuerza iónica de la disolución del suelo (Espino-Mesa et al., 1993), de sumo interés práctico en los procesos de lavado y salinización secundaria. El P extraíble en agua también ha sido utilizado en modelos para predecir el P del suelo solubilizado por la lluvia y que entra a formar parte de las aguas de escorrentía

(Sharpley, 1983). De todas maneras, existe una cierta controversia conceptual sobre la terminología más apropiada para representar las formas de P extraíbles con agua en el estudio de la transferencia de P hacia desde los terrenos agrícolas. Así, Haygarth y Sharpley (2000) han sugerido una clasificación de estas formas solubles de P en función de la definición operacional de los diferentes métodos analíticos y del tamaño de poro del filtro empleado.

En ensayos preliminares (Negrín et al., 1993) hemos encontrado que Andosoles y suelos ándicos de Canarias pueden liberar al agua cantidades importantes de P, Al y carbono orgánico disuelto (COD) bajo las condiciones de extracción dadas por el método de van der Paaw (1971). Traina et al. (1986) atribuyó el incremento de la solubilidad del ortofosfato en agua a la presencia de complejos solubles de Al-P-materia orgánica.

El objetivo que nos hemos propuesto ha consistido en acceder a la sensibilidad del P, pH, Al, Fe, COD a los cambios en las relaciones w:s en suelos volcánicos forestales y cultivados, y determinar los factores que podrían gobernar la liberación de P en el agua bajo estas condiciones experimentales.

## 2. Metodología

Tal y como indicamos en la Introducción, las formas de P potencialmente extraíbles por el agua o que se encuentran presentes en ella, han sido determinadas convencionalmente sobre la base de procedimientos operacionales que incluyen:

a) Un fraccionamiento químico del extracto sin filtrar o con una filtración primaria utilizando papel Whatman No. 42 basado en la reacción del P inorgánico con el reactivo molibdico, seguido de una subsiguiente reducción y detección espectrofotométrica. Esta detección se basa en el método descrito por Murphy y Riley (1962) para la determinación del ortofosfato. El P así determinado se ha denominado como P reactivo (PR) y no P inorgánico (Haygarth y Sharpley, 2000) debido a la sobreestimación del ortofosfato libre.

De todas maneras, la preparación de la muestra y las condiciones de la reacción podrían llevar a la hidrólisis de especies lábiles de P orgánico dadas las condiciones fuertemente ácidas requeridas para el desarrollo del color (Staiton, 1980; Tarapachak et al., 1982 y 1993), sin descartar las posibles interferencias causadas por un exceso de Si (Ciavatta et al., 1990) y la turbidez de las disoluciones.

b) Un fraccionamiento físico basado en el filtrado de los extractos o muestras de aguas a través de filtros con un tamaño de poro inferior a  $1\ \mu\text{m}$ , utilizándose comúnmente aquellos filtros con un tamaño de poro de  $0,45\ \mu\text{m}$ . El filtrado  $< 0,45\ \mu\text{m}$  se sometería entonces al correspondiente fraccionamiento químico, similar al realizado a la muestra no filtrada o con filtración primaria.

Mediante este proceso se definen las fracciones “disuelta” ( $< 0,45\ \mu\text{m}$ ) y “particulada” ( $> 0,45\ \mu\text{m}$ ) del P acuoso, aunque ciertos autores han puesto en duda esta clasificación (Haygarth y Sharpley, 2000; Leinweber et al., 2002) debido a que las muestras acuosas parecen contener un continuo

de partículas para el rango de tamaño  $< 0,45 \mu\text{m}$ , estando incluidas en ellas parte de las denominadas partículas coloidales (1 nm – 1  $\mu\text{m}$ ) que estarían asociadas a especies minerales específicas (Kretzschmar et al., 1999).

c) Siguiendo a Haygarth y Sharpley (2000) y a Leinweber et al. (2002), tendríamos dos tipos de fracciones de P en función de su comportamiento frente al reactivo molibdico: una fracción “reactiva” al Mo (PR) y otra residual “no reactiva” frente al Mo (PNR). Esta fracción no reactiva se calcularía mediante la diferencia que existe entre el P total del extracto (PT), determinado mediante un método apropiado de digestión (Rowland y Haygarth, 1997) y PR.

La fracción PNR representaría, en principio, compuestos orgánicos de P como monoésteres fosfatos (pe.: fosfatos de inositol, azúcares fosfato o mononucleótidos), diésteres fosfato (p. e.: ácidos nucleicos y fosfolípidos), fosfonatos (ácido aminoetilfosfónico) y otras formas condensadas de P orgánico (ATP), aunque solo algunas de estas formas han sido detectadas directamente en las disoluciones acuosas (Espinosa et al., 1999). Para Ron-Vaz et al. (1993) no toda la fracción PNR debe ser atribuida al P orgánico ya que esta podría incluir formas condensadas de P inorgánico inactivas frente al reactivo molibdico como, por ejemplo, los pirofosfatos y otros polifosfatos que podrían estar presentes en cantidades importantes en la disolución del suelo.

d) Desde esta perspectiva tendríamos cuatro fracciones directamente determinadas a través de su reacción frente al Mo, con o sin digestión, y

filtradas o no (o bien con filtración primaria con papel Whatman 42 y por  $0,45 \mu\text{m}$ ):

Total: PT,  $\text{PT}(< 0,45 \mu\text{m})$ .

Reactiva: PR,  $\text{PR}(< 0,45 \mu\text{m})$ .

A partir de estas fracciones, se calcularían otras cuatro por diferencia:

$$\text{PNR}(< 0,45 \mu\text{m}) = \text{PT}(< 0,45 \mu\text{m}) - \text{PR}(< 0,45 \mu\text{m})$$

$$\text{PT}(> 0,45 \mu\text{m}) = \text{PT} - \text{PT}(< 0,45 \mu\text{m})$$

$$\text{PR}(> 0,45 \mu\text{m}) = \text{PR} - \text{PR}(< 0,45 \mu\text{m})$$

$$\text{PNR}(> 0,45 \mu\text{m}) = \text{PT}(> 0,45 \mu\text{m}) - \text{PR}(> 0,45 \mu\text{m})$$

En resumen, la equivalencia de estos términos con los ya establecidos sería el siguiente:

**1.-  $\text{PR}(< 0,45 \mu\text{m})$ :** P reactivo al molibdato (PRM), P reactivo disuelto (PRD), P reactivo soluble (PRS), P disuelto reactivo al molibdato, ortofosfato, P inorgánico, fosfato.

**2.- PR:** P total reactivo (PTR), muestra sin filtrar o filtrado por Whatman 42.

**3.-  $\text{PT}(< 0,45 \mu\text{m})$ :** P total disuelto (PTD).

**4.- PT:** P total, muestra sin filtrar o filtrado por Whatman 42.

**5.-  $\text{PNR}(< 0,45 \mu\text{m})$ :** P orgánico disuelto (POD), P orgánico soluble (POS), P disuelto no reactivo al molibdato (PDNR).

**6.-  $\text{PT}(> 0,45 \mu\text{m})$ :** P particulado (PP); este término sigue siendo ampliamente utilizado.

**7.-  $\text{PR}(> 0,45 \mu\text{m})$ :** P particulado reactivo al molibdato (PPRM), P particulado reactivo (PPR).

En este trabajo haremos uso de esta terminología, aunque en muchas partes

emplearemos la equivalente ya que sigue siendo utilizada con asiduidad en la literatura edafológica.

Aunque el empleo de una terminología apropiada sigue siendo un problema a resolver, existen otros, de tipo analítico, asociados a la falta de una metodología claramente definida para la extracción de P del suelo con agua. Entre otros, cabrían citarse:

**1.-** Las condiciones de humedad de la muestra: el método de Sissingh (1971) y van der Paauw (1971) exigen una incubación previa con agua antes de la extracción.

**2.-** La relación agua:suelo (w:s) en los extractos: relaciones 2:1, 2,5:1 y 5:1 han sido utilizadas en análisis de rutina (Sonnenveld et al., 1990), en el estudio de índices de Na del suelo en relación con la supresividad que presentan algunos suelos volcánicos al mal de Panamá (Domínguez et al., 2003) y en el diseño de modelos que estudian mecanismos de concentración o dilución de sales en sistemas suelo-agua (Rieu et al., 1998). De todas maneras, no existe un criterio único que fije esta variable ya que en el estudio de predicciones de pérdidas de P por lavado o por aguas de escorrentía, las relaciones w:s han oscilado entre 1,2:1 hasta 15:1 (Chapman et al., 1997) o superiores, llegando hasta relaciones que oscilaban entre 100 y 2000 (Yli-Halla et al., 1995; Yli-Halla et al., 2002) e incluso hasta 10000 bajo condiciones de agitación cuasiestáticas o turbulentas (Torrent y Delgado, 2001). Téngase en cuenta que tanto la fuerza iónica de los extractos como la composición catiónica de los mismos dependerá de la relación w:s empleada.

Es por todo esto que la propuesta metodológica que se expone a continuación tiene como objetivo diseñar un esquema de fraccionamiento de las especies de P solubles en agua que permita aglutinar los aspectos reseñados con otras variables a considerar como son la solubilidad de los compuestos de P asociados tanto a la fracción activa del Al (Fe) como a la materia orgánica, primordiales en los mecanismos de desorción de fosfato del suelo.

En una primera etapa estudiaremos las características de los extractos que han sido sometidos a filtración secundaria (0,45  $\mu\text{m}$ ) en lo referente al fraccionamiento de P, COD, Al y Fe, así como los mecanismos de desorción y solubilidad que puedan estar controlando la liberación de estos elementos a la fase acuosa, en una serie de Andosoles y suelos Ándicos forestales y cultivados. Posteriormente haremos un análisis pormenorizado y con experiencias particulares a un grupo seleccionado de estos suelos, con el fin de poder enunciar algún mecanismo plausible que explique el comportamiento de estos suelos ante la extracción con agua.

### 2.1. Suelos

El estudio se realizó con todas las muestras de suelos forestales y cultivadas descritas en el capítulo II (29 muestras), aunque con ocho de ellas, cinco de naturaleza forestal y tres cultivadas, se realizaron experimentos específicos. Los suelos forestales corresponden a los horizontes A y B de los perfiles La Esperanza, Las Lajas, Bona Camino y

Garajonay, mientras que las muestras cultivadas, V-2 y V-4, corresponden a suelos órganominerales con características ándicas y carácter alofánico en general. La muestra cultivada T2-S se trata de un suelo poco desarrollado sobre pumita fonolítica.

## 2.2. Extractos suelo-agua

La extracción en fase acuosa se realizó siguiendo la metodología empleada por Dufey y Marot (1987), modificado por Delvaux (1988): se agitaron 10g de suelo con 25 ml de agua destilada en un agitador mecánico durante 30 min., equilibrando posteriormente el sistema a una temperatura de 4°C durante 24h. El equilibrio se realizó a esta temperatura con el fin de prevenir la actividad biológica y favorecer la sedimentación del material coloidal. Al finalizar este tiempo, las suspensiones se centrifugaron durante 15 min. a 2000g, realizándose una filtración primaria por papel Whatman 42 (Whatman Ltd, Clifton, NJ) y luego una secundaria a través de filtro de éster de celulosa Millipore 0,45µm (Millipore Corp., Milford, MA). En ambos filtrados se midieron el pH y la conductividad eléctrica, determinándose los cationes y aniones mayores, Al, Fe, P y carbono orgánico disuelto (COD). También se realizó el equilibrio empleando relaciones agua:suelo (w:s) 25:1 y 75:1.

## 2.3. Espectroscopia ultravioleta-visible

Las absorbancias de los extractos acuosos a 465 y 665 nm se midieron utilizando un

espectrofotómetro Shimadzu UV-160 (Kyoto, Japón), equipado con una cubeta de 1,0 cm de paso de radiación. Las medidas de las absorbancias fueron realizadas inmediatamente después de cada extracción, a los valores de pH original de cada extracto, con el fin de prevenir los cambios estructurales debido a procesos de polimerización o la oxidación del COD (Gressel et al., 1995). Los extractos fueron diluidos a una concentración en la cual el espectro de absorción producido obedece la Ley de Lambert-Beer (Baes y Bloom, 1990). Este procedimiento constituye una adaptación del método de Chen et al. (1977) para la medida de las relaciones E4/E6 de las sustancias húmicas.

También se realizó la medida de la absorbancia de cada extracto a 272 nm, pues esta constituye una rápida estimación de la naturaleza aromática del COD (Traina et al., 1990) debido a que a esa longitud de onda se produce el solapamiento de las transiciones  $p \rightarrow p^*$  en las estructuras aromáticas de los arenos fenólicos, ácidos benzóicos, polienos e hidrocarburos aromáticos policíclicos con un número de anillos igual o superior a dos (Gauthier et al., 1987).

## 2.4. Diálisis de los extractos acuosos filtrados por 0,45 µm

Los extractos 2,5:1 y 75:1 de las muestras estudiadas fueron dializados para su especiación siguiendo el método desarrollado por LaZerte (1984). Los sacos empleados se fabricaron a partir de membranas de diálisis

Spectrapor 6 para un tamaño molecular de paso de hasta 1000 Da y un diámetro de 11,5 mm (relación 3,5 de superficie a volumen); previamente fueron sumergidas en HNO<sub>3</sub> al 1% durante 24 h y luego enjuagadas con agua destilada antes de su uso. Un saco de diálisis con 5 ml de agua destilada se sumergió en 100 ml del extracto (la cantidad de agua respecto al extracto no debe superar el 5% para evitar efectos de dilución), equilibrándose el sistema durante 24h. Seguidamente, se retiró el saco, se agitó fuertemente para mezclar su contenido, se enjuagó el exterior con agua destilada y se extrajo el dializado. En estos últimos se determinaron Al, Fe, P y COD.

### 2.5. Fraccionamiento del P

El fraccionamiento del P en los extractos centrifugados, tanto los filtrados procedentes de filtración primaria como aquellos con filtración secundaria, se realizó de acuerdo con la Fig. 1.

El fósforo total disuelto en los extractos (PT) se determinó una vez finalizada su digestión en autoclave con K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5N (Hedley et al., 1982; Rowland y Haygarth, 1997). El fósforo reactivo disuelto se analizó:

- (i) como la fracción de P acuoso que ha reaccionado directamente con los iones molibdato (PR).
- (ii) mediante colorimetría después de tratamiento con carbón activo (PRC) (se agitaron 0.5 g de carbón con 30 ml del extracto de bicarbonato durante 30 min. con posterior filtrado a través de papel Whatman No. 42) (contribución de este trabajo).

- (iii) Posteriormente, una parte del extracto se acidificó con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N para precipitar la materia orgánica disuelta, determinándose en el sobrenadante tanto el P soluble reactivo e hidrolizable en medio ácido (PSRA) como el P total presente en este medio (PSTA) (contribución de este trabajo).

PSRA constituye una definición operacional del ortofosfato libre pues la acidificación puede hidrolizar una parte del P orgánico disuelto. La fracción del P orgánico no hidrolizable en medio ácido se encontraría incluida en la fracción que hemos denominado como P no reactivo insoluble en este medio (PINRA), calculada como la diferencia entre PT y PSTA.

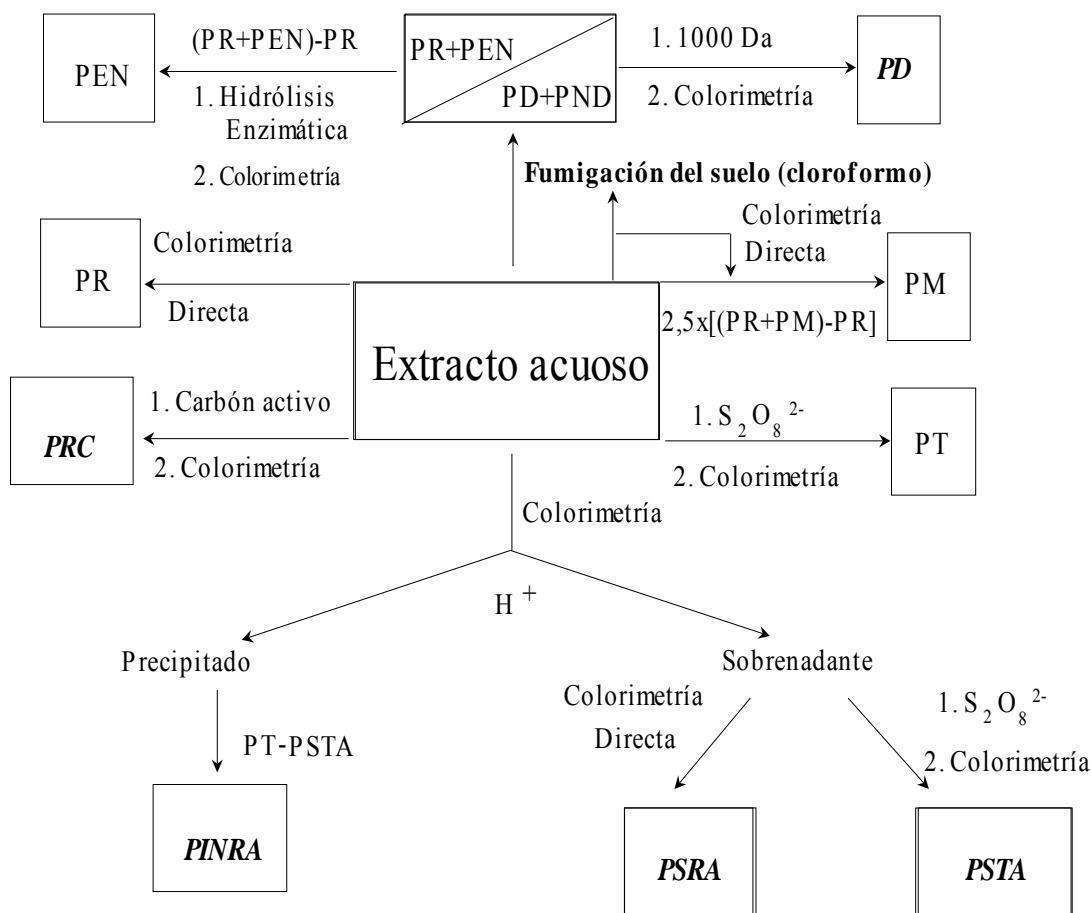
- (iv) en el interior de la membrana de diálisis (1000 Da). Los valores encontrados por 1,05 (factor de dilución debido a la adición de un saco con agua) se definió como P dializable (PD) en el extracto original (contribución de este trabajo).

- (v) después de añadir al extracto acuoso la enzima fosfatasa ácida con el fin de valorar el posible P hidrolizable por ella.

- (vi) después de tratar a la muestra de suelo con cloroformo y realizar la extracción acuosa para valorar el P microbiano extraíble.

En los casos (v) y (vi) se siguieron las pautas y cálculos indicados en el capítulo III.1.

Las concentraciones de fósforo en las diferentes fracciones fueron determinadas colorimétricamente mediante la formación de un complejo fosfomolibdico a una longitud de



**Figura 1.** Diagrama que describe las distintas etapas del fraccionamiento del P en los extractos acuosos. En negrita y cursiva se destaca la contribución metodológica de este trabajo.

onda a 882 nm (Murphy y Riley, 1962); en cada una de las determinaciones se realizó una corrección colorimétrica en una alícuota de cada extracto para eliminar la absorción causada por la materia orgánica disuelta, omitiendo el ácido ascórbico del reactivo ácido molíbdico (Hedley et al., 1982). Con los datos de las fracciones de P determinadas en los extractos filtrados a través de papel Whatman No. 42 [PT, PR] y 0,45  $\mu\text{m}$  [PR (< 0,45  $\mu\text{m}$ ), PT (< 0,45  $\mu\text{m}$ )] se calcularon, por diferencia, las fracciones PNR (< 0,45  $\mu\text{m}$ ), PNR (> 0,45  $\mu\text{m}$ ), PR (> 0,45  $\mu\text{m}$ ), PT (> 0,45  $\mu\text{m}$ ) y PTNR.

Por último, señalar que el protocolo completo de fraccionamiento se realizó en las muestras forestales y cultivadas seleccionadas (filtración primaria y secundaria). Para el conjunto de todos los suelos, el análisis realizado se llevó a cabo en los extractos filtrados por 0,45  $\mu\text{m}$ .

## 2.6. Fracciones de COD

Tal y como se indicó anteriormente, el COD se determinó en cada uno de los extractos (COD) y en los dializados (CODD). Con el fin de obtener otras fracciones de interés de

carbono disuelto, también se determinó el COD en el sobrenadante de las disoluciones acidificadas para acceder a la fracción fúlvica (CODF) de los extractos y por diferencia obtener la fracción húmica (CODH=COD-CODF).

### 2.7. Técnicas analíticas

Las concentraciones de los cationes mayoritarios en el extracto (Ca, Mg, Na y K) se determinaron mediante espectroscopia de absorción atómica (espectrofotómetro Perkin Elmer 3100), el cloruro mediante valoración potenciométrica normal (Frakenberger et al., 1996) y el sulfato mediante valoración potenciométrica con electrodo selectivo de Pb (Espino-Mesa y Hernández-Moreno, 1994). El COD y el COD dializable (CODD) se determinaron midiendo la pérdida de color del complejo Mn(III)-pirofosfato reducido por el C orgánico en presencia de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (Bartlett et al., 1988). Tanto en los filtrados-0,45µm como en los dializados, la concentración de Al monómero reactivo fue determinada con violeta de pirocatecol (VPC) (Dougan y Wilson, 1974) con unos 4 min. de tiempo de contacto (Al-4 y AID), mientras que el Al monómero total (Al) se determinó después de 2h de reacción (Seip et al., 1984); el F fue determinado mediante electrodo de ión selectivo.

Las actividades de todas las especies iónicas en los extractos y en los dializados se calcularon con el programa MINTEQA1 (Brown y Allinson, 1987). El Al y AID se usaron como datos de entrada para el Al.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Liberación de P con la dilución en el conjunto de todas las muestras estudiadas (con filtración secundaria, < 0,45 µm)

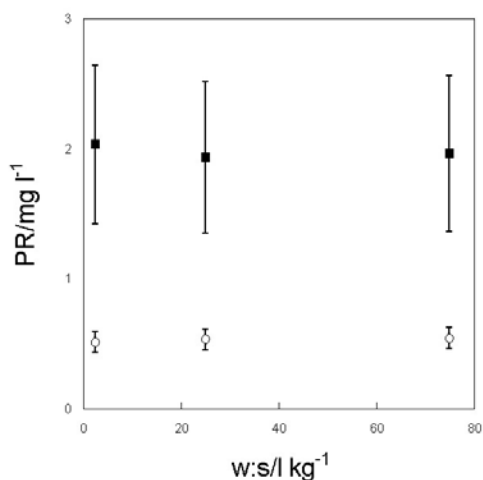
Las figuras 2 y 3 muestran la influencia de la dilución sobre el P soluble, COD y pH. El valor de este último parámetro se incrementó moderadamente al aumentar la relación w:s. Tanto las concentraciones de PR y PSRA (mg l<sup>-1</sup>) permanecieron relativamente constantes a lo largo de las relaciones w:s utilizadas (Tabla 1), aunque el COD disminuyó significativamente (Fig. 3); este resultado está en consonancia con los encontrados por otros autores (Zsolnay, 1996; Chapman et al., 1997; Staunton et al., 2002) en suelos de naturaleza no volcánica. Sin embargo, hemos encontrado concentraciones elevadas para PT en los extractos 2,5:1. Los valores de PR oscilaron desde el 70 al 80% de PT, lo que indica que entre el 20 y el 30% del PT no fue hidrolizable durante la determinación colorimétrica del P (Tabla 1); esta fracción del PT probablemente consistía en P orgánico no hidrolizable.

Las figuras 4 y 5 representan la relación entre los valores de P (PR y PT) en los diferentes extractos, mientras que en la Tabla 2 se presentan las ecuaciones de regresión lineal entre los valores de P para los diferentes extractos de 29 muestras de suelo. La linealidad observada muestra que el equilibrio de saturación se encuentra gobernado por las relaciones w:s. Por otra parte, nuestros datos parecen adaptarse al modelo simplificado dado por Sharpley et al. (1981) para la liberación del

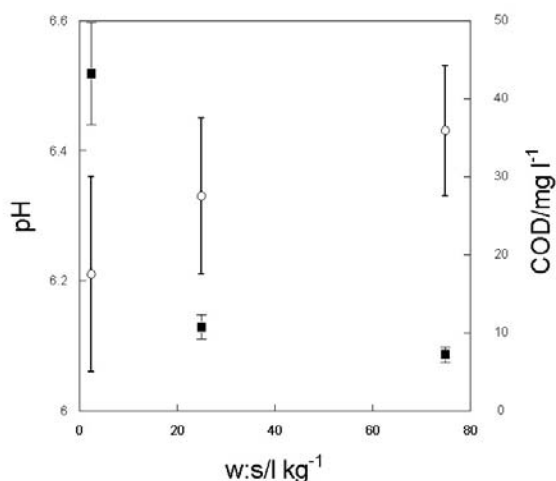


**Tabla 1.** Fraccionamiento del P en extractos acuosos de suelos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) filtrados por  $0,45 \mu\text{m}$  (DS: desviación estándar, ESM: error estándar de la media)

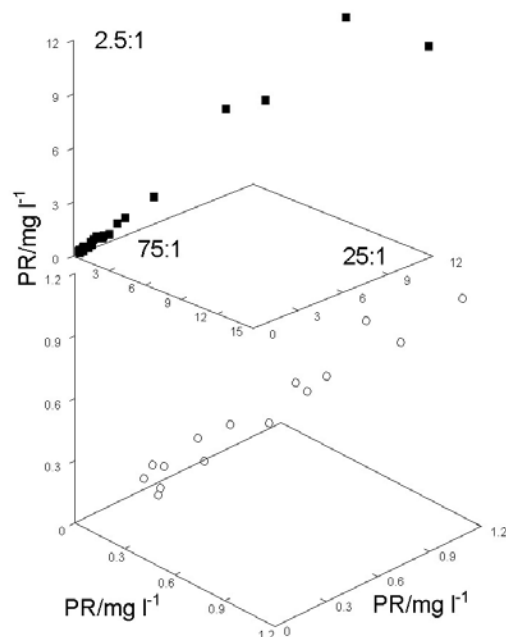
w:s ( $\text{kg}^{-1}$ )	Suelos Forestales															
	2,5					25					75					
	PR	PT	PSRA	COD	PR	PT	PSRA	COD	PR	PT	PSRA	COD	PR	PT	PSRA	COD
Media	1,3	1,9	1,3	77	14	18	13	193	46	54	40	419	46	54	40	419
Máximo	2,6	3,5	2,5	209	28	37	27	593	101	109	83	1203	101	109	83	1203
Mínimo	0,3	0,6	0,3	3	5,7	7,0	5,0	11	19	23	17	30	19	23	17	30
DS	0,8	1,0	0,7	80	7,7	9,3	7,6	214	24	26	22	469	24	26	22	469
ESM	0,2	0,3	0,2	20	2,0	2,4	2,0	55	6	7	6	121	6	7	6	121
	<b>Suelos Cultivados</b>															
Media	9,1	14	8,7	172	95	124	83	424	266	383,8	261,2	818	266	383,8	261,2	818
Máximo	30	47	25	363	336	399	279	875	1143	1219,8	971,7	1700	1143	1219,8	971,7	1700
Mínimo	1,2	2,4	1,1	39	11	19	10	175	28	58,1	26,0	288	28	58,1	26,0	288
DS	11	16	9,9	102	113	141	96	217	349	437,1	300,9	416	349	437,1	300,9	416
ESM	2,8	4,2	2,7	27	30	38	26	58	93	116,8	80,4	111	93	116,8	80,4	111



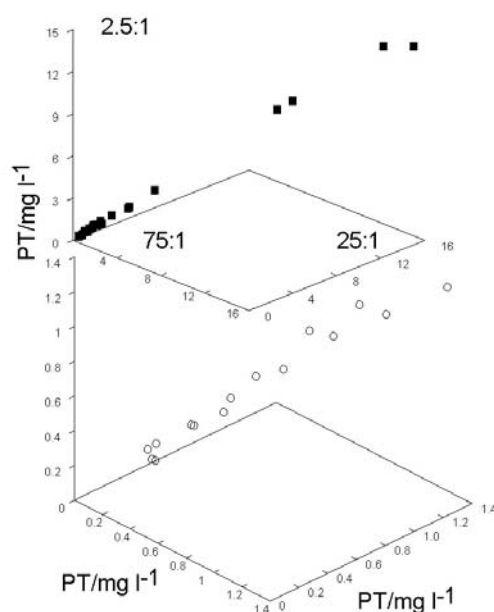
**Figura 2.** Efecto de la dilución sobre PR en los suelos cultivados (■) y forestales (○) estudiados. Valores medios al 95% de intervalo de confianza y barras de error igual a 2xESM.



**Figura 3.** Efecto de la dilución sobre el pH (○) y COD (■) en los suelos forestales y cultivados estudiados. Valores medios al 95% de intervalo de confianza y barras de error igual a 2xESM.



**Figura 4.** Relación entre los valores de PR en el rango w:s estudiado (■, todas las muestras; ○, suelos forestales).



**Figura 5.** Relación entre los valores de PT en el rango w:s estudiado (■, todas las muestras; ○, suelos forestales).

**Tabla 2.** Ecuaciones de regresión que relacionan los valores de P-0,45 $\mu$ m (PR y PT) en los diferentes extractos acuosos. Los valores entre paréntesis de la ecuación representan las relaciones w:s (l kg<sup>-1</sup>) (todos los suelos: n=29; suelos forestales: n=15; ESM: error estándar de la media)

<b>PR (mg l<sup>-1</sup>)</b>	
<b>PR(2,5:1) = 1,05PR(25:1) - 6x10<sup>-3</sup></b>	n=29, r=0,99, ESM=0,38
<b>PR(2,5:1) = 0,99PR(25:1) - 0,017</b>	n=15, r=0,98, ESM=0,07
<b>PR(25:1) = 0,94PR(75:1) + 0,081</b>	n=29, r=0,98, ESM=0,69
<b>PR(25:1) = 0,99PR(75:1) - 9x10<sup>-3</sup></b>	n=15, r=0,96, ESM=0,09
<b>PR(2,5:1) = 0,98PR(75:1) + 0,104</b>	n=29, r=0,96, ESM=0,97
<b>PR(2,5:1) = 0,99PR(75:1) - 0,020</b>	n=15, r=0,96, ESM=0,09
<b>PT (mg l<sup>-1</sup>)</b>	
<b>PT(2,5:1) = 1,12PT(25:1) + 0,014</b>	n=29, r=0,99, ESM=0,20
<b>PT(2,5:1) = 1,02PT(25:1) - 0,019</b>	n=15, r=0,98, ESM=0,06
<b>PT(25:1) = 1,14PT(75:1) + 0,184</b>	n=29, r=0,97, ESM=0,99
<b>PT(25:1) = 1,12PT(75:1) + 0,031</b>	n=15, r=0,95, ESM=0,11
<b>PT(2,5:1) = 1,07PT(75:1) - 0,074</b>	n=29, r=0,99, ESM=0,44
<b>PT(2,5:1) = 1,06PT(75:1) - 0,013</b>	n=15, r=0,97, ESM=0,09

P al agua:

$$P_d = kPa^{\alpha}W^{\beta} \quad (1)$$

donde W es la relación w:s del sistema en equilibrio, Pa representa la cantidad de P liberado por desorción que, por motivos prácticos, se asimila al estimado como P disponible (pe. P Olsen) y t es el tiempo de extracción (h). Los coeficientes de extracción (k,  $\alpha$ , y  $\beta$ ) conforman un conjunto de constantes características para un suelo dado; k representa un término asociado a la capacidad amortiguadora del suelo y  $\alpha$  expresa la velocidad de desorción de P. Para nuestras

condiciones experimentales, la ecuación (1) se transforma en:

$$PR = K(w:s)^{\beta} \quad (2)$$

donde  $K = kPa^{\alpha}$ ,  $t = 30$  min y  $Pa = POL$ .

Los valores obtenidos para  $\beta$  oscilaron desde 1 hasta 1,26 para PR. Para  $\beta = 1$ , la ecuación (2) predice que la concentración de P (mg l<sup>-1</sup>) permanecerá constante sobre el rango de w:s, tal y como observamos en este estudio. Para Sharpley (1983) la constante  $\beta$  está asociada al poder tampón (*buffer*) del suelo y que esta al aumentar por efecto de la dilución, provoca que la interacción entre el suelo y

agua tenga un importante efecto sobre el proceso de desorción de P. Para este autor, valores bajos de la constante  $\beta$  podrían estar relacionados con fenómenos de desorción pues el mayor contacto con la superficie de los suelos al aumentar la relación w:s provocaría una disminución en la capacidad de los mismos para seguir reteniendo P (tanto orgánico como inorgánico sorbido).

La capacidad de los suelos para liberar P con el incremento de la dilución confirma trabajos previos en Andosoles y suelos ándicos (Negrín et al., 1993). Sorn-Srivichai et al. (1988) encontraron un resultado similar en un Eutrochrept de Nueva Zelanda el cual presentaba concentraciones constantes de P en disolución, aumentando la desorción al aumentar la relación w:s. Por otro lado, es conocido el hecho de que la concentración del P en la disolución del suelo está controlado por el equilibrio que se establece entre el sistema de sorción del suelo, la composición de la disolución del suelo y los compuestos de P precipitados (McDowell y Sharpley, 2003). Por ello hemos atribuido el comportamiento encontrado en nuestras muestras a: (i) la solubilización de una parte del P mineral para que el sistema pueda mantener la concentración de P en disolución (Schoenau y Huang, 1991; Sparks, 1999) y (ii) los cambios en las transiciones conformacionales de la materia orgánica a elevadas relaciones w:s que podrían provocar la ruptura y desorción de compuestos húmicos que favorecerían la hidrólisis del P asociado (fosfatos de inositol u otros ésteres fosfatos) durante su determinación analítica, debido al medio

fuertemente ácido de la disolución molíbdica ( $\text{pH} < 1$ ), con la subsecuente sobreestimación del ortofosfato libre (Gerke y Jungk, 1991; Fox y Comerford, 1992a).

Torrent y Delgado (2001), en una amplia tipología de suelos europeos, han encontrado que a bajas relaciones w:s (pe. 1:1), PR parece constituir un índice muy útil para predecir la liberación potencial de P desde el suelo al agua para diferentes condiciones de desorción de fosfato, aunque este poder predictor parece disminuir al aumentar la relación w:s; para este caso, Freese et al. (1995) ponen de manifiesto que la cinética de liberación de fosfatos podría verse enmascarada por procesos de readsorción de P. Por otra parte, Sorn-Srivichai et al. (1988) sugieren que en las medidas realizadas a mayores relaciones w:s se incluyen cantidades relacionadas con el P que se encuentra sobre las superficies adsorbentes (cantidad de fosfato, Q) y, además, podría ser indicativo de la capacidad tampón del suelo para el P ( $dQ/dI$ , donde I constituye el factor intensidad). En nuestro caso, el hecho de que los valores de PR para la relación 75:1 oscilara entre el 60% y más del 100% del P extraíble con bicarbonato, sugiere que el PR en Andosoles puede incluir al factor capacidad.

### 3.2. Muestras seleccionadas de suelos forestales y cultivados para el estudio de diálisis

#### 3.2.1. Influencia de la relación w:s sobre las propiedades químicas de los extractos filtrados por 0,45 $\mu\text{m}$

En primer lugar, y al igual que ocurrió con las propiedades estudiadas para el conjunto de todos los suelos, la dilución ha ejercido un importante papel en las propiedades químicas de los extractos filtrados por 0,45  $\mu\text{m}$  en las muestras seleccionadas (Tabla 3). Con el incremento de la relación w:s, el pH de los extractos aumentó en todas las muestras. Sin embargo, el incremento fue mucho mayor en los horizontes orgánicos y en las muestras cultivadas que en los horizontes B; en estos suelos, el pH permanece constante o incrementa ligeramente al aumentar w:s. El incremento de este parámetro con la dilución parece indicar una posible disminución de la capacidad de los suelos para liberar  $\text{H}^+$ .

Es bien conocido el efecto que sobre el aumento pH ejerce la dilución (Thomas, 1996). De todas maneras, el efecto no es proporcional: un incremento de w:s desde la relación 1:1 a 10:1 solo parece provocar un aumento medio de 0,4 unidades de pH (Davis, 1943; Thomas, 1996). En suelos ácidos, este efecto parece deberse a que la dilución tiende a aumentar la disociación de  $\text{H}^+$  desde la superficie del suelo y, además, aumentar la hidrólisis de cualquier especie de Al que pudiese estar presente. Ambos efectos ayudan a tamponar la disolución y, por tanto, a mantener el pH en un valor relativamente estable en este rango de dilución. En nuestro caso, se produce este efecto con un aumento medio de 0,4 unidades de pH al incrementar 30 veces el contenido de agua para la extracción.

Sin embargo, Skylberg (1995) ha obtenido un aumento importante en la liberación de  $\text{H}^+$  con la dilución, comportamiento asimilable al

de un ácido poliprótico débil, en horizontes orgánicos (O y E) de Spodosoles, aunque muestras procedentes de horizontes B mostraron una mayor intensidad tampón del pH en relación con la dilución. Sin embargo, en un trabajo posterior, Skylberg et al. (2001) indican que la casuística que se encuentra detrás de los cambios de pH en estos suelos estaría asociada a: (i) los cambios en la cantidad de materia orgánica soluble, (ii) la fuerza iónica de la disolución del suelo y (iii) la composición relativa del Al y el H adsorbido en el suelo. Por ello, en Andosoles y suelos ándicos podría ocurrir un mecanismo tampón mucho más complejo que un simple equilibrio de un ácido débil, en donde parámetros como el carbono disuelto y el contenido en Al podrían jugar un papel preponderante en el control del pH de los extractos.

Las cantidades de COD disminuyeron significativamente al aumentar la relación w:s. Los rangos obtenidos en los extractos 2,5:1 y 75:1 oscilaron desde 142 a 16  $\text{mg l}^{-1}$  y desde 22 a 1,5  $\text{mg l}^{-1}$  respectivamente. El hecho de que la materia orgánica liberada disminuyera podría indicar que las cantidades de carbono soluble disuelto estuviesen controlados desde la fase sólida orgánica y la relación w:s. En experimentos de equilibrio, Nodvin et al. (1986) han encontrado que las cantidades de COD liberadas a la fase acuosa por el suelo son función lineal de las cantidades iniciales de C añadido al sistema suelo-agua. Este resultado fue interpretado en términos de una distribución simple entre las fases sólidas y acuosas de acuerdo con un coeficiente de

**Tabla 3.** Efecto de la relación w:s sobre la composición de la disolución del suelo ( $\text{mg l}^{-1}$ )

Suelo	Horizonte	pH	CE ( $\text{dS m}^{-1}$ )	I (M)**	PR	COD	Al	Al-4
<b>W:s 2,5:1</b>								
V-2	Cultivado	4,3	0,55	0,0029	0,9	16	1,8	1,0
V-4	Cultivado	4,2	0,73	0,0018	2	37	1,9	1,9
T-2S	Cultivado	7,4	1,43	0,0089	12	142	0,7	0,5
Esperanza	A1	6,9	0,20	0,0009	0,3	25	0,3	0,3
Garajonay	A1	5,8	0,46	0,0019	1	33	0,7	0,6
Las Lajas	A1	5,4	0,21	0,0016	0,4	82	0,8	0,6
Las Lajas	Btg	6,0	0,18	0,0004	0,1	14	0,6	0,4
Bona Camino	Bw3	5,2	0,10	0,0002	0,3	17	0,3	0,3
ESM*		0,4	0,16	0,0010	1,4	16	0,2	0,2
<b>W:s 75:1</b>								
V-2	Cultivado	5,2	0,07	0,0004	1	7	0,5	0,5
V-4	Cultivado	4,8	0,10	0,0004	2	4	0,6	0,5
T-2S	Cultivado	7,9	0,11	0,0009	9	25	0,6	0,6
Esperanza	A1	7,8	0,05	0,0003	0,3	2	0,6	0,5
Garajonay	A1	6,3	0,06	0,0003	1	15	0,4	0,3
Las Lajas	A1	6,1	0,04	0,0003	0,7	15	0,6	0,5
Las Lajas	Btg	6,4	0,03	0,0001	0,1	2	0,5	0,4
Bona Camino	Bw3	5,7	0,02	0,0001	0,2	8	0,2	0,1
ESM		0,4	0,01	0,0001	1	3	0,1	0,1

\*Error estándar de la media.

\*\*Fuerza Iónica calculada a partir de los valores de EC mediante la relación empírica de Gillman y Bell (1978):  $I = 0,0120CE - 0,0004$ .

reparto entre ambas. Nuestros resultados ponen de manifiesto que el posible reparto de la materia orgánica entre el suelo y la fase acuosa parece ser función de la relación w:s. La conductividad eléctrica y la fuerza iónica de los extractos 2,5:1 fueron significativamente mayores que los extractos 75:1. Los rangos obtenidos para la fuerza iónica de la disolución del suelo en los extractos oscilaron desde  $10^{-3}$  a  $9 \cdot 10^{-3}$  M y  $10^{-4}$  a  $9 \cdot 10^{-4}$  M, respectivamente.

Este hecho es atribuido al efecto de la dilución sobre la presencia de la materia orgánica coloidal disuelta en los extractos. Los cambios en las transiciones conformacionales de la materia orgánica a altas relaciones w:s podría provocar la ruptura de compuestos húmicos y, por tanto, desorción de moléculas orgánicas de baja masa molecular lo que podría hacer disminuir la dispersión de la materia orgánica

coloidal y, subsecuentemente, disminuir la fuerza iónica en los extractos.

Los valores de Al reactivo y total también disminuyeron, aunque en una proporción menor que el COD. Esta diferencia podría estar asociada con las elevadas cantidades de COD en los extractos 2,5:1 y con el incremento del pH provocado por la dilución. En este sentido, algunos autores (Walker et al., 1990) consideran que la concentración de Al en disolución podría estar controlada por el pH de la misma y por la saturación de las posiciones orgánicas de intercambio del suelo con este elemento, mientras que otros (Mulder y Stein, 1994) parten de la premisa que parte de la solubilidad del Al estaría controlada por las modificaciones que ocurrirían en la fracción de Al del suelo asociada con la materia orgánica.

Nuestros resultados parecen indicar que alguna de las características químicas de los extractos acuosos de Andosoles y suelos ándicos que podrían estar influyendo sobre los mecanismos de liberación del Al, parecen estar controlados por los cambios en la relación w:s.

### 3.2.2. Influencia de la dilución sobre la liberación de P y sus distintas fracciones

Al igual que para el conjunto de todos los suelos, la concentración de PR en disolución ( $\text{mg l}^{-1}$ ) permaneció relativamente constante en el rango de relaciones w:s estudiadas (Tabla 3). Esto significó una respuesta positiva a los cambios de w:s en términos de incremento de PR y del resto de fracciones de P liberadas ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) (Tabla 4). En líneas generales, la

tendencia encontrada para las diferentes especies de P estudiadas en el conjunto de todas los suelos fue prácticamente la misma en las muestras forestales y cultivadas:

- Parte del PT consistió en P orgánico no hidrolizable en medio ácido.
- Los valores de PR se encontraban entre los valores de PSTA y PSRA.

La diferencia entre PR y PSRA la hemos atribuido a la hidrólisis del P asociado a las fracciones fúlvicas ( $\text{Pf} = \text{PSTA} - \text{PSRA}$ ) y húmicas ( $\text{Ph} = \text{PINRA} - \text{Pf}$ ) del COD durante la determinación de PR.

Por otro lado, los valores de P obtenidos después del tratamiento con carbón activo (PRC) aumentan con la dilución en los suelos cultivados y en uno de los suelos forestales (Tabla 4), el resto está por debajo del límite de detección. Al igual que postulamos en el capítulo anterior, PRC constituiría la estimación del ortofosfato libre en el extracto y, por tanto, PSRA-PRC representaría la cantidad de PSRA que está sobreestimado por la hidrólisis de los compuestos orgánicos en la disolución molibdica fuertemente ácida (Tabla 4).

Estos resultados son consistentes con la extracción, al aumentar la relación w:s, de cantidades importantes de P orgánico hidrolizable en medio ácido. Este P, en principio lábil, formaría parte de la fracción de P soluble disponible. Nuestros datos parecen volver a indicar que la relación w:s controlaría la liberación y calidad de las fracciones de P extraídas, constituyendo el P orgánico la fracción más importante para este elemento en

**Tabla 4.** Fraccionamiento del P (mg kg<sup>-1</sup>) en los extractos acuosos-0,45 µm de suelo a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1 l kg<sup>-1</sup>)

Suelo	Horizonte	PR	PRC	PT	PSRA	PINRA	PSTA	Pf	Ph	PSTA-PRC
<b>w:s 2,5:1</b>										
V-2	Cultivado	2	0,2	3	0,9	2	2	2	0	0,7
V-4	Cultivado	5	0,8	8	2	6	6	4	2	1
T-2S	Cultivado	30	2	47	4	43	37	32	11	2
Esperanza	A1	0,7	0	0,9	1.d.	0,9	0,9	0,9	0	0
Garajonay	A1	3	0,4	4	0,8	3	3	3	0	0,4
Las Lajas	A1	1	1.d.	2	0,8	1	1	1	0	0,8
Bona	2Btg	0,3	1.d.	0,7	1.d.	0,7	0,7	0,7	0	0
Bona	Bw3	0,7	1.d.	2	0,8	1	1	1	0	0,8
ESM		4	0,2	6	0,5	5	4	4	1	-
<b>w:s 75:1</b>										
V-2	Cultivado	99	10	111	32	79	90	58	19	22
V-4	Cultivado	159	47	183	157	26	176	19	7	117
T-2S	Cultivado	807	115	1190	722	468	1100	380	86	607
Esperanza	A1	24	1.d.	25	21	4	24	3	1	21
Garajonay	A1	101	10	109	83	26	101	19	7	73
Las Lajas	A1	54	1.d.	56	38	18	48	10	8	38
Las Lajas	2Btg	9	1.d.	11	8	3	11	3	0	8
Bona	Bw3	25	1.d.	46	23	23	38	16	7	23
ESM		94	14	140	86	56	130	46	10	-

I.d.: límite de detección



**Tabla 5.** Fraccionamiento del COD en los extractos acuosos-0,45  $\mu\text{m}$  ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1  $\text{l kg}^{-1}$ ).

Suelo	Horizonte	COD	CODf	CODh
<b>w:s 2.5:1</b>				
V-2	Cultivado	39	30	9
V-4	Cultivado	112	92	20
T-2S	Cultivado	520	480	40
Esperanza	A1	86	70	16
Garajonay	A1	84	81	3
Las Lajas	A1	198	148	50
	2Btg	30	30	0
Bona	Bw3	44	40	4
ESM*		58	-	-
<b>w:s 75:1</b>				
V-2	Cultivado	549	520	29
V-4	Cultivado	288	280	8
T-2S	Cultivado	1700	1540	160
Esperanza	A1	117	107	10
Garajonay	A1	990	985	5
Las Lajas	A1	1113	1025	88
	2Btg	125	125	0
Bona	Bw3	463	455	8
ESM		197	-	-

\*Error estándar de la media.

la disolución del suelo en Andosoles y suelos ándicos.

### 3.2.3. COD, relaciones E4/E6 y absorbancia a 272 nm

En la Tabla 5 se recoge la influencia que tuvo la dilución sobre el carbono orgánico extraíble en agua (COD). Los valores de COD ( $\text{mg C kg}^{-1}$  suelo) aumentaron moderadamente con el incremento de la relación w:s, a pesar de

la disminución que mostró en disolución ( $\text{mg C l}^{-1}$ ) (Tabla 3). Las cantidades de COD oscilaron desde los 30  $\text{mg C kg}^{-1}$  hasta los 520  $\text{mg C kg}^{-1}$  para los extractos 2,5:1 y desde los 125  $\text{mg C kg}^{-1}$  hasta 1700  $\text{mg C kg}^{-1}$  para los extractos 75:1. La diferencia en COD entre ambos extractos se debió fundamentalmente al incremento de la fracción fúlvica (Tabla 5). En todos los extractos, esta fracción fue significativamente mayor que la húmica, aunque en los extractos 75:1 las cantidades de

CODh no fueron diferentes a las encontradas en los extractos 2,5:1 (excepto la muestra sobrefertilizada T2-S).

Tipping y Hurley (1988) ponen de manifiesto la necesidad de una elevada carga negativa en la interfase sólido/disolución para que se produzca la solubilización de los ácidos orgánicos de elevada masa molecular, cosa que no ocurre con los ácidos de menor masa que requieren una carga neta negativa mucho menor para pasar a la fase acuosa. Esto podría indicar dos cosas, o bien que los ácidos de elevada masa molecular se encuentran precipitados fuera de la disolución del suelo en un mayor grado que los ácidos orgánicos más pequeños, a relaciones w:s elevadas, o que los primeros podrían sufrir reacciones de hidrólisis por efecto de la dilución, liberando moléculas mucho más pequeñas contribuyendo de esta forma al aumento de la fracción fúlvica del COD.

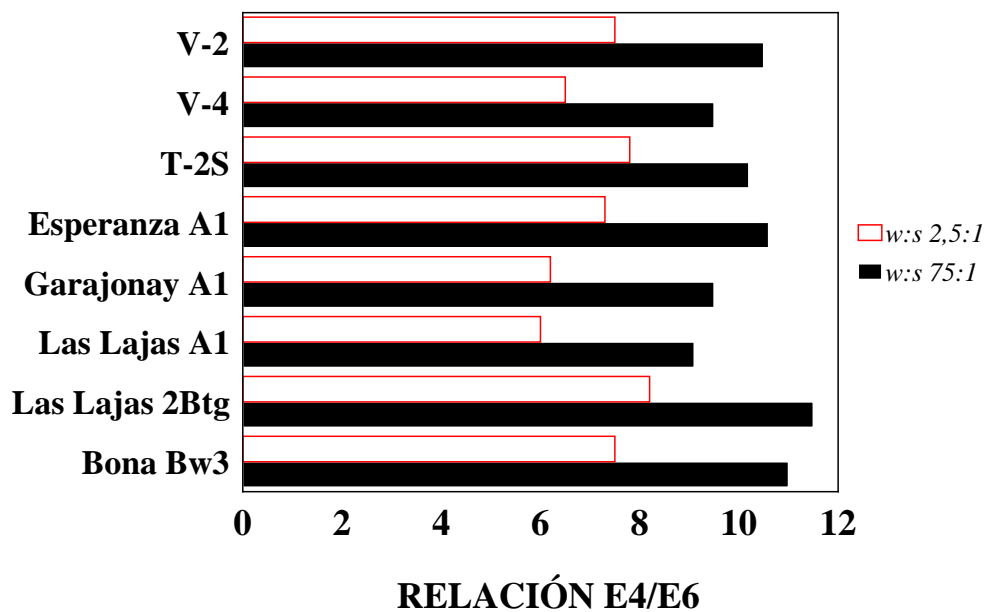
En este sentido, las relaciones E4/E6 fueron significativamente mayores en los extractos 75:1 que en los 2,5:1 (Fig. 7). Esto parece indicar que la dilución ha jugado un papel importante en las relaciones obtenidas y, por tanto, sobre la calidad de la materia orgánica extraída. Chen et al. (1977) atribuyen el carácter de las relaciones E4/E6 a los tamaños moleculares y a las masas (aumenta la relación E4/E6 cuando disminuye el tamaño molecular). Los resultados serían consistentes con la extracción de cromóforos de pequeña talla molecular o con un menor grado de condensación, estructuras que contribuirían a dar al COD un carácter menos aromático a

mayores relaciones E4/E6 (Gressel et al., 1995).

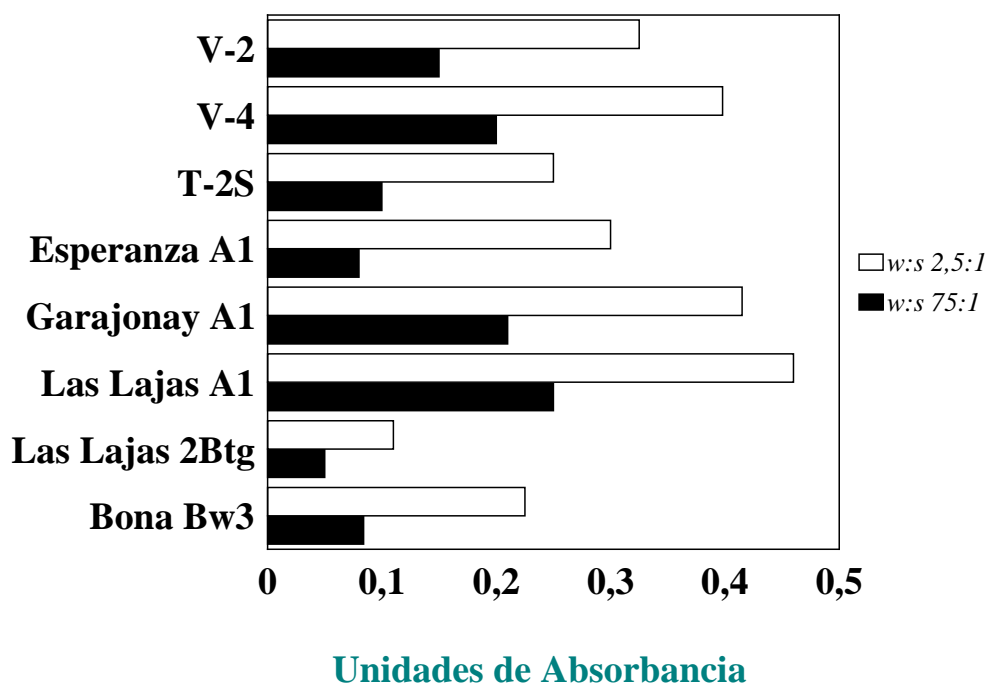
También existieron marcadas diferencias en los valores de absorbancia a 272 nm en todas las muestras en correspondencia con los cambios en las relaciones w:s. Los valores de absorbancia fueron mucho más elevados en los extractos 2,5:1 que en los 75:1 (Fig. 8). Traina et al. (1990) consideran que el contenido de C aromático en ácidos húmicos puede ser estimado mediante la medida de la absorbancia en UV (272 nm) de disoluciones acuosas de ácidos húmicos. Considerando lo anterior, nuestros resultados sugieren la presencia de compuestos aromáticos con un amplio rango de masas moleculares en los extractos 2,5:1; el carácter aromático del COD tendería a disminuir al incrementarse la relación w:s. Esto es consistente con las altas cantidades de CODf con un carácter menos aromático en los extractos 75:1. La disminución en el carácter aromático y el tamaño de la materia orgánica soluble extraída a elevadas relaciones w:s podrían atribuirse, entonces, a la ruptura de las estructuras (*moieties*) húmicas, incluyendo la ruptura de posibles compuestos aromáticos y otros ésteres (polisacáridos) (Baldock et al., 1992), con lo que se incrementaría la fracción fúlvica.

#### 3.2.4. Fracciones reactivas y no reactivas calculadas en función del tipo de filtrado

En las Tablas 6, 7 y 8 se recogen los datos relativos a la caracterización de los extractos acuosos filtrados por Whatman 42. En ellos se



**Figura 6.** Relaciones E4/E6 en los extractos acuosa a las dos relaciones w:s estudiadas.



**Figura 7.** Absorbancia a 272 nm en los extractos acuosa a las dos relaciones w:s estudiadas.

**Tabla 6.** Efecto de la relación w:s sobre la composición de la disolución del suelo ( $\text{mg l}^{-1}$ ) en los extractos filtrados por Whatman 42

Suelo	Horizonte	pH	CE ( $\text{dS m}^{-1}$ )	I (M)**	PR	COD	Al	Al-4
<b>w:s 2,5:1</b>								
V-2	Cultivado	4,0	0,72	0,0082	1,9	30	3,5	2,0
V-4	Cultivado	4,0	0,99	0,0115	3,2	54	2,9	2,5
T-2S	Cultivado	7,5	1,83	0,0216	17	192	1,1	0,8
Esperanza	A1	6,4	0,29	0,0031	0,9	35	0,6	0,5
Garajonay	A1	5,2	0,66	0,0075	1,8	55	1,2	0,9
Las Lajas	A1	5,0	0,31	0,0033	0,9	107	1,3	0,9
Las Lajas	Btg	5,5	0,27	0,0028	0,5	33	1,1	0,8
Bona Camino	Bw3	4,9	0,18	0,0018	0,7	30	0,5	0,4
ESM*		0,8	0,43	0,0047	3,4	41	0,7	0,6
<b>w:s 75:1</b>								
V-2	Cultivado	5,2	0,07	0,0004	2,1	15	0,8	0,7
V-4	Cultivado	4,8	0,10	0,0008	2,8	9	0,9	0,7
T-2S	Cultivado	7,9	0,11	0,0009	13	37	0,6	0,6
Esperanza	A1	7,8	0,05	0,0002	0,8	9	0,6	0,5
Garajonay	A1	6,3	0,06	0,0003	1,4	22	0,8	0,5
Las Lajas	A1	6,1	0,04	0,0001	1,0	26	0,8	0,6
Las Lajas	Btg	6,4	0,03	0,0001	0,5	11	0,6	0,5
Bona Camino	Bw3	5,7	0,02	0,0001	0,6	14	0,3	0,2
ESM		0,8	0,03	0,0002	2,6	8	0,1	0,1

\*Error estándar de la media.

\*\*Fuerza Iónica calculada a partir de los valores de EC mediante la relación empírica de Gillman y Bell (1978) :  $I = 0,0120CE - 0,0004$ .

infiere una tendencia similar a los extractos filtrados por  $0,45 \mu\text{m}$ , con unos valores de pH ligeramente inferiores y de conductividad eléctrica ligeramente superiores.

Con respecto a las fracciones reactivas y no reactivas del P, en las Tablas 9 y 10 se recogen los resultados obtenidos. Se observa como la fracción de P total  $>0,45 \mu\text{m}$  tiene un peso mucho más importante en los extractos

2,5:1 que en los extractos 75:1, pudiendo ser en algunos casos el 70% del PT del extracto filtrado por Whatman 42. Esto parece indicar que formas del P mucho más condensadas y no reactivas son extraídas a diluciones bajas. En los extractos 75:1, la fracción  $>0,45 \mu\text{m}$  contribuye menos a la fracción total del P extraíble (Tabla 9). Es aquí donde radica la importancia de la selección de las fracciones

**Tabla 7.** Fraccionamiento del COD en los extractos acuosos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) filtrados por Whatman 42 a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1  $\text{l kg}^{-1}$ )

Suelo	Horizonte	COD	CODF	CODH
<b>w:s 2.5:1</b>				
V-2	Cultivado	55	36	19
V-4	Cultivado	137	95	40
T-2S	Cultivado	611	506	105
Esperanza	A1	106	77	29
Garajonay	A1	120	98	22
Las Lajas	A1	228	158	70
	2Btg	52	40	12
Bona	Bw3	60	45	15
ESM*		124	-	-
<b>w:s 75:1</b>				
V-2	Cultivado	609	532	77
V-4	Cultivado	312	282	30
T-2S	Cultivado	1799	1549	250
Esperanza	A1	149	120	29
Garajonay	A1	1115	1010	105
Las Lajas	A1	1167	1045	122
	2Btg	158	140	18
Bona	Bw3	521	477	44
ESM		491	-	-

\*Error estándar de la media.

extraíbles en fase acuosa: diferentes fracciones podrían indicar diferentes formas nativas de P que han sido solubilizadas del suelo por el agua. Esto puede significar o bien que a bajas diluciones las formas más complejas son desorbidas de la fase sólida con una mayor facilidad que a diluciones elevadas o, por el contrario, estas formas podrían verse sometidas a procesos de hidrólisis durante la extracción que las transformarían en formas más simples y que serían fácilmente transportables por las

aguas. En este sentido, Devlin et al. (2000) ponen de manifiesto que el P particulado presente en las aguas de escorrentía parece estar asociado a los sedimentos que son transportados a las fases minerales fosfatadas de Al, Fe y Ca o incorporado a la materia orgánica en forma de P orgánico, en principio no disponible, cuya disponibilidad estaría controlada a través de ciertos procesos químicos, biológicos e hidrológicos (Mallarino et al., 2002).

Tabla 8. Fraccionamiento del P ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en los extractos acuosos de suelo en los extractos filtrados por Whatman 42 a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 7,5:1  $\text{kg}^{-1}$ )

Suelo	Horizonte	PR	PRC	PT	PSRA	PINRA	PSTA	Pf	Phi	PSTA-PRC
<b>w:s 2,5:1</b>										
V-2	Cultivado	4	1	8	1	4	5	4	0	4
V-4	Cultivado	7	2	14	3	9	9	6	3	7
T-2S	Cultivado	39	4	63	8	51	47	39	12	43
Esperanza	A1	1	I.d.	2	I.d.	1	1	1	0	1
Garajonay	A1	4	1	7	2	5	5	3	2	4
Las Lajas	A1	2	I.d.	4	1	2	2	1	1	2
Bona	2Btg	1	I.d.	2	I.d.	1	1	1	0	1
Bona	Bw3	2	I.d.	4	1	2	2	1	1	2
ESM		8	1	13	2	10	10	8	3	-
<b>w:s 7,5:1</b>										
V-2	Cultivado	133	15	167	55	99	132	77	22	117
V-4	Cultivado	189	55	227	175	45	199	24	21	144
T-2S	Cultivado	917	132	1387	837	881	1311	474	207	1179
Esperanza	A1	39	7	55	29	17	33	4	13	26
Garajonay	A1	124	15	170	104	48	141	37	11	126
Las Lajas	A1	77	11	101	59	29	78	19	10	67
Bona	2Btg	24	4	36	17	11	24	7	4	20
Bona	Bw3	39	7	65	28	42	55	27	15	48
ESM		181	31	140	190	74	246	98	42	-

**Tabla 9.** Fracciones de P ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) reactivas y no reactivas en los extractos acuosos de suelo a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1  $\text{kg}^{-1}$ )

Suelo	Horizonte	PT	PT	PR	PR	PNR	PT	PT	PR	PR	PNR	PT	PT	PR	PR	PNR
		(<0,45 $\mu\text{m}$ )			(<0,45 $\mu\text{m}$ )			(>0,45 $\mu\text{m}$ )			(>0,45 $\mu\text{m}$ )					
<b>w:s 2,5:1</b>																
V□2	Cultivado	8	3	4	2	1	5	5	2	2	3	3	3	2	2	3
V□4	Cultivado	14	8	7	5	3	6	6	2	2	4	4	4	2	2	4
T□2S	Cultivado	63	47	39	30	17	16	16	9	9	7	7	7	9	9	7
Esperanza	A1	2	0,9	1	0,7	0,2	1	1	0,3	0,3	0,7	0,7	0,7	0,3	0,3	0,7
Garajonay	A1	7	4	4	3	1	3	3	1	1	2	2	2	1	1	2
Las Lajas	A1	4	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
Bona	2Btg	2	0,7	1	0,3	0,4	1	1	0,7	0,7	0,3	1	1	0,7	0,7	0,3
ESM	Bw3	4	2	2	0,7	1	2	2	0,7	0,7	1	2	2	1	1	1
	ESM	13	6	8	4	-	-	-	4	4	-	-	-	-	-	-
<b>w:s 75:1</b>																
V□2	Cultivado	167	111	133	99	12	56	56	34	34	22	22	22	34	34	22
V□4	Cultivado	227	183	189	159	24	44	44	30	30	14	14	14	30	30	14
T□2S	Cultivado	1387	1190	917	807	383	197	197	110	110	87	87	87	110	110	87
Esperanza	A1	55	25	39	24	1	30	30	15	15	15	15	15	15	15	15
Garajonay	A1	170	109	124	101	8	61	61	23	23	38	38	38	23	23	38
Las Lajas	A1	101	56	77	54	2	45	45	23	23	22	22	22	23	23	22
Bona	2Btg	36	11	24	9	2	25	25	15	15	10	10	10	15	15	10
ESM	Bw3	65	46	39	25	21	19	19	14	14	5	5	5	14	14	5
	ESM	140	140	181	94	-	-	-	94	94	-	-	-	-	-	-

**Tabla 10.** Fracciones de COD ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) y AI ( $\text{mg l}^{-1}$ ) en los extractos acuosos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) con un tamaño de partícula  $>0,45 \mu\text{m}$  a las dos relaciones w:s (2,5:1 o 75:1  $\text{kg}^{-1}$ )

Suelo	Horizonte	AI	AI-4	COD	CODF	CODH
<b>w:s 2,5:1</b>						
V-2	Cultivado	1,7	1,0	16	6	10
V-4	Cultivado	1,0	0,6	25	3	20
T-2S	Cultivado	0,4	0,3	91	26	65
Esperanza	A1	0,3	0,2	20	7	13
Garajonay	A1	0,5	0,3	36	17	19
Las Leñas	A1	0,5	0,3	30	10	20
	2Btg	0,5	0,4	22	10	12
Bona	Bw3	0,2	0,1	16	5	11
<b>w:s 75:1</b>						
V-2	Cultivado	0,3	0,2	60	12	48
V-4	Cultivado	0,3	0,2	24	2	22
T-2S	Cultivado	0	0	99	9	90
Esperanza	A1	0	0	32	13	19
Garajonay	A1	0,4	0,3	125	25	100
Las Leñas	A1	0,2	0,1	54	20	34
	2Btg	0,1	0,1	33	15	18
Bona	Bw3	0,1	0,1	58	22	36



Los datos ponen de manifiesto que el P extraído en fase acuosa parece estar asociado a partículas de tamaño inferior a 0,45  $\mu\text{m}$ , en gran parte reactivo, aunque no es descartable que una parte de este P pudiera haber sido arrastrado por partículas superiores a 0,45  $\mu\text{m}$ , quedando atrapado por el filtro independientemente de la dilución empleada. Esto explicaría los bajos valores obtenidos para el PRC que, como hemos establecido, podría constituir una medida del ortofosfato libre y, por tanto, de disponibilidad inmediata para la planta desde la disolución del suelo.

Los datos de COD parecen poner de manifiesto que una parte importante de la fracción húmica de los extractos acuosos quedó retenida por el filtro, independientemente de la dilución realizada, aunque el grueso principal del C disuelto parece tener un tamaño de partícula inferior a 0,45  $\mu\text{m}$  (Tabla 10). Los valores de Al reactivo de tamaño superior a 0,45  $\mu\text{m}$  (Tabla 10), aunque importantes, constituyen solo una pequeña fracción del total extraído (Tabla 6). Este dato pone en evidencia su asociación con la materia orgánica disuelta, posiblemente de elevada masa molecular, retenida en el filtro. Los resultados parecen confirmar que la materia húmica de las asociaciones del tipo P-Al-humus presentes en el extracto acuoso sean, en gran medida, de naturaleza fúlvica, con un tamaño de partícula < 0,45  $\mu\text{m}$ , aunque sin descartar la posibilidad de que existan otros compuestos orgánicos de P asociados con material húmico presente en el suelo y otras asociaciones inorgánicas que contribuyan a la concentración de P en disolución. Tampoco se pueden descartar

asociaciones complejas del P con la materia orgánica relacionada con partículas mayores de 0,45  $\mu\text{m}$ . En este sentido, Pant et al. (2002) han observado elevadas cantidades de P orgánico en la fracción >0,45 $\mu\text{m}$  que podrían tener un carácter biodisponible importante a pesar de estar asociado a partículas que tienen un bajo potencial de hidrólisis enzimática. Por tanto sería interesante un estudio con detenimiento de la fracción orgánica y, por supuesto, órganomineral del P en suelos como los Andosoles, ricos en materia orgánica con gran capacidad para asociarse con los materiales amorfos reactivos que podrían controlar el paso del P a la disolución del suelo.

Por último, concluir que la definición de fracciones reactivas y no reactivas de P en función del tipo de filtrado, brinda la oportunidad de establecer un criterio físico del tamaño de las partículas de P que son extraíbles por el agua. Sin embargo, creemos conveniente que esta clasificación debe completarse con el análisis de lo que químicamente representa cada una de ellas ya que, a fin de cuentas, estamos interesados de cuán disponible puede ser el P disponible para las plantas desde la disolución del suelo, incluida su naturaleza química y las asociaciones que puede formar, máxime en suelos como los Andosoles que *per se* necesitan una metodología específica.

### 3.2.5. Fósforo hidrolizable por la enzima fosfatasa y P microbiano

Al igual que ocurrió en los extractos de bicarbonato, una fracción importante de PT de

**Tabla 11.** Influencia de la dilución (extractos-0,45 $\mu$ m) sobre el P hidrolizado por la enzima fosfatasa y sobre las fracciones de P, C y Al liberadas por el cloroformo (mg kg<sup>-1</sup>) ( $\pm$  error estándar de la media)

Suelo	Horizonte	PEN	PEN/PNR(%)*	PM	CODM	Al-4M
<b>w:s 2.5:1</b>						
V-2	Cultivado	1 $\pm$ 0,2	50	0,5 $\pm$ 0,0	45 $\pm$ 3	6 $\pm$ 0,2
V-4	Cultivado	3 $\pm$ 0,2	50	1 $\pm$ 0,2	122 $\pm$ 9	9 $\pm$ 0,5
T-2S	Cultivado	15 $\pm$ 1	35	8 $\pm$ 0,4	578 $\pm$ 21	5 $\pm$ 0,2
Esperanza	A1	0,2 $\pm$ 0,0	22	0,2 $\pm$ 0,0	95 $\pm$ 6	3 $\pm$ 0,1
Garajonay	A1	2 $\pm$ 0,3	67	0,5 $\pm$ 0,0	91 $\pm$ 7	6 $\pm$ 0,3
Las Lajas	A1	0,6 $\pm$ 0,0	60	0,5 $\pm$ 0,0	221 $\pm$ 14	5 $\pm$ 0,3
	2Btg	0	0	0,1 $\pm$ 0,0	34 $\pm$ 3	4 $\pm$ 0,1
Bona Camino	Bw3	0,5 $\pm$ 0,0	50	0,2 $\pm$ 0,0	53 $\pm$ 3	4 $\pm$ 0,2
<b>w:s 75:1</b>						
V-2	Cultivado	50 $\pm$ 5	63	6 $\pm$ 0,4	599 $\pm$ 21	55 $\pm$ 4
V-4	Cultivado	24 $\pm$ 2	92	11 $\pm$ 0,8	300 $\pm$ 18	49 $\pm$ 3
T-2S	Cultivado	273 $\pm$ 11	58	32 $\pm$ 2	1779 $\pm$ 110	59 $\pm$ 4
Esperanza	A1	4 $\pm$ 0,3	100	2 $\pm$ 0,2	148 $\pm$ 10	41 $\pm$ 4
Garajonay	A1	22 $\pm$ 2	85	6 $\pm$ 0,3	1016 $\pm$ 63	31 $\pm$ 3
Las Lajas	A1	14 $\pm$ 1	78	2 $\pm$ 0,1	1150 $\pm$ 77	49 $\pm$ 3
	2Btg	1 $\pm$ 0,0	33	1 $\pm$ 0,1	175 $\pm$ 11	38 $\pm$ 2
Bona Camino	Bw3	19 $\pm$ 1	83	14 $\pm$ 0,2	530 $\pm$ 22	19 $\pm$ 2

\* PNR (<0,45 $\mu$ m)

los extractos acuosos fue hidrolizada por la enzima fosfatasa (Tabla 11). La hidrólisis fue mayor para la relación 75:1 que para la relación 2,5:1. PEN osciló entre el 20 y el 60% del PNR (<0,45 $\mu$ m) para el caso de la relación 2,5:1 y entre el 30 y el 100% de esta fracción para el caso de la relación 75:1. Esto significa que gran parte del P hidrolizado por la enzima fosfatasa procede de la fracción orgánica no reactiva ante el molibdato. Estos valores difieren con los obtenidos por Turner et al. (2002a) que encuentran bajas cantidades de

PNR hidrolizable por la fosfomonoesterasa alcalina, aunque estos autores indican que otros investigadores han encontrado valores superiores, utilizando tanto la fosfatasa ácida como alcalina, y que se ajustan a los resultados obtenidos en este trabajo (Pant et al., 1994; Shand y Smith, 1997; Pant y Warman, 2000). De todas maneras, en extractos de bicarbonato de suelos cultivados, el propio equipo del Dr. Turner (Turner et al., 2003) encuentra valores de hidrólisis de PO que oscilaban entre el 30 y el 60%.

Tal y como explicamos en el capítulo anterior, PEN proviene de la hidrólisis de monoésteres fosfatos. Sin embargo, su presencia en los extractos acuosos parece ser escasa debido principalmente a que estos compuestos se hidrolizan rápidamente al ser añadidos al suelo (Bowman y Cole, 1978; Dick y Tabatabai, 1978) por lo que su tiempo de residencia en la disolución del suelo debería ser escaso (Turner et al., 2002a). Esto significa que nuestros resultados podrían ser compatibles con la presencia en los extractos acuosos de monoésteres fosfatos lábiles, diésteres fosfatos e incluso hexafosfatos de inositol (HPI) potencialmente hidrolizables por la fosfatasa ácida (Shand y Smith, 1997; Haynes et al., 2000).

Por otro lado, el incremento del porcentaje de PNR hidrolizable por la enzima para la relación w:s 75:1 parece indicar que al disminuir la fuerza iónica podría: (i) hidrolizar a monoésteres fosfatos y una parte de los diésteres presentes en el suelo, facilitando el ataque posterior de la enzima y (ii) liberar HPI que, en principio, no constituye una fracción biodisponible pues se encuentra protegida de ataques enzimáticos en el suelo debido a que está fuertemente complejada a compuestos de Al (en suelos ándicos a los oxihidróxidos y a material alofánico) y Ca del suelo (Turner et al., 2002b). Los cambios conformacionales de la materia orgánica por efecto de la fuerza iónica (Evans, 1985) que también tendría su efecto sobre el estado de los agregados durante la extracción, ayudaría a la solubilización de HPI. Esto pone de manifiesto la posibilidad de que en los extractos se encuentren presentes complejos

de tipo I (HA-Al-P) y II (HA-Al-PO), analizados en el capítulo anterior, y que la enzima fosfatasa ácida podría hidrolizar en el caso de los complejos tipo II. Esto sugiere que la solubilidad de este tipo de complejos hacia la disolución del suelo podría tener un importante papel en la bioasimilabilidad del P en suelos de naturaleza volcánica.

En cuanto a la fracción microbiana, los valores de PM son relativamente bajos con respecto al resto de fracciones estudiadas para ambas relaciones w:s (Tabla 11). Sin embargo, los valores de CODM son superiores a los de COD. Esto parece indicar que el P liberado por la lisis bacteriana se ha fijado en el suelo, desplazando materia orgánica lo que se traduciría en un aumento del COD. Por otro lado, se observa un aumento del Al reactivo por efecto del cloroformo lo que indica la presencia de asociaciones Al-humus, posiblemente asociado al P obtenido. El efecto del tratamiento del suelo con cloroformo y de la relación w:s se traduce en un aumento de estas asociaciones en los extractos lo cual parece indicar que durante el proceso de hidrólisis bacteriana se han podido producir reagrupamientos de las fracciones de P, en teoría lábiles, con la liberación de estos complejos. Este análisis coincide con los resultados obtenidos en los extractos de bicarbonato. A favor de esta hipótesis se encuentra el hecho de que los valores de PM y CODM para las relaciones 75:1 son mayores cuando lo comparamos con los obtenidos por otros autores que previamente habían sometido a sus muestras a tratamientos de fertilización (Thien y Myers, 1992; Kouno et al., 1999; Oehl et al., 2001).

### 3.2.6. Experimento de diálisis

Los resultados para el Al, COD y P en los extractos 2,5:1 se muestran en la Tabla 12. No existieron cambios significativos en el pH entre las disoluciones del interior (dializada) y del exterior. Una fracción importante del P disuelto pasó a la disolución interior del tubo de diálisis. Los valores de PD oscilaron entre el 40 y el 65% del PT y desde el 70 al 95% del PR, con una media del 50 y el 80% respectivamente (Tabla 4 y 12). Para los extractos 75:1 se observó la misma distribución con un ligero desplazamiento en los valores medios. El reparto uniforme del P entre el interior y el exterior de la membrana en el extracto 2,5:1, en función de PR y PT, mostró una elevada correlación:

$$-PD = 0,80PR + 2,27 \times 10^{-3} \text{ (mg l}^{-1}\text{)}, R^2=0,99, P<0,01.$$

$$-PD = 0,50PT + 0,017 \text{ (mg l}^{-1}\text{)}, R^2=0,99, P<0,01.$$

Para los extractos 75:1 se obtuvo una tendencia similar, con ligeros desplazamientos de las pendientes. Estos resultados sugieren que el PR se encuentra asociado con los compuestos de masa molecular inferior a 1000 Da.

Las concentraciones de CODD variaron desde el 10% hasta el 90% del COD con una media del 60%. La variación del P a través de la membrana ( $\Delta P = PR - PD$ ) se explica, en parte, a través de la correspondiente diferencia encontrada en el COD ( $\Delta COD = COD - CODD$ ):

$$-\Delta P = 0,015\Delta COD - 8,6 \times 10^{-3} \text{ (mg l}^{-1}\text{)}, R^2=0,97, P<0,01.$$

Las relaciones  $\Delta P$  a  $\Delta COD$  (Tabla 7) sugieren la presencia en los extractos de compuestos orgánicos de estos elementos, si nos atenemos a las relaciones propuestas por Borie et al. (1989) para las asociaciones solubles ácido húmico-P. Si CODD podemos considerarlo como una fracción asociada fundamentalmente a los ácidos fúlvicos (incluyendo ácidos orgánicos de baja masa molecular), el compartimento PD podría representar la cantidad de P asociado con los compuestos fúlvicos más el ortofosfato libre. Estas asociaciones AF-P podrían contribuir de forma importante a las cantidades de P desorbido y sobre  $\beta$ .

Por otra parte, AID representó entre el 20 y el 60% de Al-4, con una media del 47%, sugiriendo un reparto menos uniforme:

$$-AIM = 0,458Al4 - 7,8 \times 10^{-5} \text{ (mg l}^{-1}\text{)}, R^2=0,93, P<0,01.$$

Aunque el equilibrio de diálisis se realizó con el fin de separar las fracciones del Al monómero, el tubo utilizado (1000 Da) también permitió la entrada de ácidos fúlvicos de pequeño tamaño y asociaciones Al-AF (LaZerte, 1984). El Al también podría estar enlazado a compuestos orgánicos de baja masa molecular (tipo oxalato, malato, etc.). Los resultados son consistentes con la existencia de complejos orgánicos solubles con Al. Por otra parte, Lazerte et al. (1988) indica que una de las potenciales desventajas del uso del método del violeta de pirocatecol (VPC) en la determinación de las fracciones de Al monómero es la debilidad del enlace que se establece al formarse el complejo entre el Al enlazado orgánicamente y el pirocatecol

**Tabla 12.** Análisis de P, Al ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) y COD ( $\text{mg l}^{-1}$ ) en los dializados y en las disoluciones exteriores en los extractos 2,5:1.

Suelo	pH	Al-4	AID	PR	PD	COD	CODD	$\Delta\text{P}:\Delta\text{COD}^*$
V-2	4,3	1,4	0,4	34	28	16	10	1:30
V-4	4,2	25	13	64	47	37	10	1:50
T-2S	7,4	0,7	0,5	316	253	142	11	1:60
Esperanza A1	6,9	0,4	0,2	8,4	7	25	13	1:300
Garajonay A1	5,8	0,8	0,4	32	28	33	24	1:70
Lajas A1	5,4	0,9	0,2	14	11	82	66	1:170
Lajas 2Btg	6,0	2,1	0,9	3	3	14	13	1:190
Bona BW3	5,2	0,7	0,4	17	15	17	11	1:60
ESM**	0,4	3	2	37	30	16	7	-

Relaciones molares.

\*\*Error estándar de la media.

respecto al método de la oxina. En principio, el Al determinado con VPC con 4 min. de tiempo de contacto (Al reactivo) comprendería: Al en disolución en forma de acuo-complejos ( $\text{Al}^{3+}$ ), Al polimérico y complejos monómeros con OH, F y  $\text{SO}_4$ , quedando las asociaciones de Al monómero con los ligandos orgánicos incluidos en el Al determinado con VPC después de 2 h de contacto. Sin embargo, nuestro estudio muestra que el método del VPC sobrestima el Al inorgánico monómero debido a que también determina algo del Al orgánico (Bloom y Erich, 1989).

Nuestros datos parecen ser consistentes con la presencia de complejos ternarios solubles del tipo ácido fúlvico-Al-fosfato (FA-Al-P). Stevenson y Vance (1989) informaron que parte del fosfato en las soluciones del suelo y en las aguas de lavado de suelos forestales se encuentran en forma de FA-Al-P. La liberación de estos complejos por el suelo podría estar favorecidos por el aumento del pH y la disminución de la fuerza iónica con la dilución. En el capítulo anterior hemos sugerido la presencia de estos complejos en los extractos de bicarbonato. Las interacciones entre el carbono orgánico, el Al y el P podrían producir complejos y reagrupamientos estructurales relativamente estables, dando una protección adicional a la acción de ciertas enzimas del suelo (Pant et al., 1994) y podría representar, en parte, el reparto del P orgánico entre las fases sólida y líquida del suelo en Andosoles y otros suelos con carga variable.

### 3.3. Información relativa a las fases sólidas fosfatadas

#### 3.3.1. Solubilidad de fosfatos de Al y Fe

Los fosfatos de Al y Fe son, posiblemente entre otros minerales secundarios de P, los más importantes en Andosoles y otros suelos ándicos (Veith y Sposito, 1977). Los sólidos considerados para determinar la contribución de los fosfatos de Al a la liberación de P fueron la variscita ( $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) y el análogo amorfo a la variscita,  $\text{Al}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{PO}_4$ . Para todos los suelos, los diagramas de estabilidad se establecieron para los extractos 2,5:1. En la Tabla 2 se muestran los valores medios de pH y los productos de actividad iónica (PAI) del fosfato y Al de las disoluciones. El valor medio de pPAI para los suelos cultivados fue sensiblemente menor a los obtenidos para los suelos forestales.

El valor del producto de solubilidad ( $K_{ps}$ ) utilizado para la variscita fue  $\text{p}K_{ps} = 30,5$  e incluye la hidrólisis del agua (Lindsay, 1979). El valor de  $\text{p}K_{ps}$  para el análogo amorfo de la variscita varía en la literatura, con un rango de valores que van desde 27 a 29 (Traina et al., 1986; Veith y Sposito, 1977). En la Fig. 8 se representan los datos obtenidos en el diagrama de ejes combinados  $\log(a_{\text{H}_2\text{PO}_4^-})-\text{pH}$  frente a  $\log(a_{\text{Al}^{3+}}+3\text{pH})$ , utilizados para eliminar la dependencia del pH (Lindsay, 1979). Como referencia se han tomado las siguientes ecuaciones correspondientes a los dos sólidos considerados:

**Variscita:** (3)

$$\log(a_{\text{H}_2\text{PO}_4^-}) - \text{pH} = -2,5 - \{ \log(a_{\text{Al}}) + 3\text{pH} \}$$

**Al(OH)<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:** (4)

$$\log(a_{\text{H}_2\text{PO}_4^-}) - \text{pH} = -1 - \{ \log(a_{\text{Al}}) + 3\text{pH} \}$$

La mayor parte de los suelos se encontraron entre las líneas de solubilidad de la variscita y de su análogo amorfo. Los suelos

forestales se situaron principalmente alrededor de la línea de la variscita, mientras que los cultivados eran, generalmente, más solubles. Este resultado es coherente con la regla de Gay-Lussac-Ostwald (GLO) (Sposito, 1985) lo que explicaría por qué el compuesto amorfo está favorecido cinéticamente y, por tanto, es capaz de persistir en el suelo, contrariamente a lo que ocurre con la variscita cuya estabilidad se encuentra termodinámicamente favorecida

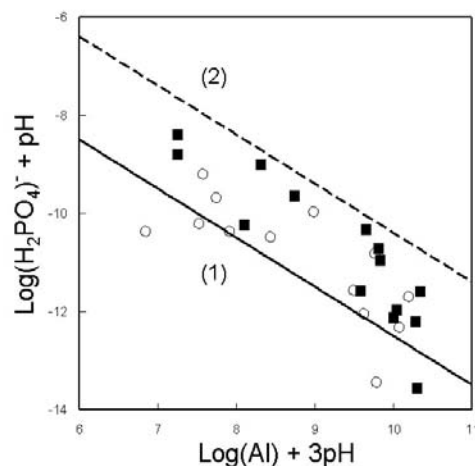
**Tabla 13.** Actividades de P y Al, pH y productos de actividades iónicas (PAI) para los sólidos considerados en todos los suelos estudiados

Suelos	pH	p(a <sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>)</sub>	p(a <sub>Al</sub> )	Variscita	Strengita
				p(PAI)	p(PAI)
Forestales	5,4	5,0	8,3	30,4	34,4
ESM**	0,5	0,2	0,5	0,4	0,8
Cultivados	5,1	4,3	7,6	29,8	34,9
ESM	0,2	0,3	0,5	0,3	0,5
Todos	5,3	4,7	8,0	30,0	34,7
ESM	0,4	0,3	0,5	0,4	0,7

\*Suponiendo control del hidróxido de hierro amorfo (Lindsay, 1979).

\*\*Error estándar de la media.

**Figura 8.** Diagrama de solubilidad para el Al-fosfato en la disolución del suelo (2,5:1). (1) Variscita (2) Variscita amorfa. ■, suelos cultivados; ○ muestras forestales.



(Sposito, 1981).

Por otra parte, el sólido considerado para el caso de los fosfatos de Fe fue la strengita,  $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; el  $\text{FePO}_4$  cristalino (forma no estable de fosfato de hierro en el suelo; Lindsay, 1979) se utilizó como referencia. El valor de  $\text{pKps}$  para la strengita varía según diversos autores; así Nriagu (1972) (citado por Ball y Nordstrom, 1991) calcula un valor de 26,4 para esta fase mineral mientras que Lindsay (1979) propone como valor probable de  $\text{pKps}$  el de 35 y, más recientemente, de Haas et al. (2001) señalan un valor de 28,7. Para nuestros propósitos, hemos empleado como valor de  $\text{pKps}$  para la strengita el dado por Lindsay (1979). Los valores de  $\text{pPAI}$  correspondientes al fosfato férrico ( $\text{p}a_{\text{H}_2\text{PO}_4^-} + \text{p}a_{\text{Fe}} - 2\text{pH}$ ) (Tabla 13) se calcularon asumiendo el control de la actividad del Fe por parte del hidróxido de Fe amorfo (Lindsay, 1979). Los datos de solubilidad de los fosfatos de Fe en los extractos acuosos 2,5:1 de las muestras estudiadas se representan en la Figura 6, utilizando las ecuaciones siguientes:

**Strengita- $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (amorfo):** (5)

$$\log(a_{\text{H}_2\text{PO}_4^-}) = -10,39 - \text{pH}$$

**Strengita- $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (suelo):** (6)

$$\log(a_{\text{H}_2\text{PO}_4^-}) = -9,55 - \text{pH}$$

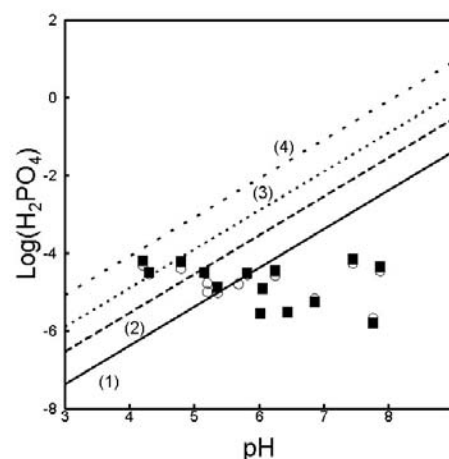
**$\text{FePO}_4$ - $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (amorfo):** (7)

$$\log(a_{\text{H}_2\text{PO}_4^-}) = -8,91 - \text{pH}$$

**$\text{FePO}_4$ - $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (suelo):** (8)

$$\log(a_{\text{H}_2\text{PO}_4^-}) = -8,08 - \text{pH}$$

Las ecuaciones 5-8 se han representado como líneas de referencia. Hemos empleado estas ecuaciones y no las dadas en términos de parámetros de doble función que incluyen las actividades de  $\text{H}^+$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , debido a las dificultades que supone la correcta determinación analítica del  $\text{Fe}(\text{III})$  en estos extractos (Lindsay, 1979). Por ejemplo, el



**Figura 9.** Diagrama de solubilidad para la strengita y el  $\text{FePO}_4$  en equilibrio con el  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (amorfo) y  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (suelo) en la disolución del suelo (2,5:1). Strengita: (1) amorfo (2) suelo;  $\text{FePO}_4$ : (3) amorfo (4) suelo. ■, suelos cultivados; ○ suelos forestales



límite de detección para el Fe de un método colorimétrico como el de la fenantrolina es de  $0,1 \text{ mg l}^{-1}$  de Fe (Olson et al., 1982).

Por otra parte, el diagrama de solubilidad de la Fig. 9 parece indicar que los valores de solubilidad se distribuyen a través de las líneas correspondientes a la strengita y el  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  amorfo con lo que la solubilidad del fosfato de Fe precipitado debería ser independiente de la relación molar Fe/P en consonancia con el modelo sugerido por Blanchar y Frazier (1991) para la solubilidad-precipitación de estos fosfatos (coprecipitación desde la disolución del suelo y reacción del P con los hidróxidos de Fe precipitados). La gráfica también pone de manifiesto que aparentemente la solubilidad de los Fe-P no depende del pH; este hecho podría ser consistente con el hecho de que el  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  es mucho más insoluble que el  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , dificultándose la formación de Fe-P, pudiendo existir un mayor control del Al a la hora de liberar P desde las especies  $\text{AlPO}_4$ .

De todas maneras y aunque la formación de diferentes precipitados de Fe-P se vea dificultada, Pierzynski et al. (1990b) y McDowell y Sharpley (2003) ponen de manifiesto la posibilidad de que se formen precipitados heterogéneos de composición mixta en relación con las especies minerales puras.

Los resultados obtenidos podrían ser compatibles con un control simultáneo de los fosfatos de Fe y Al en la liberación de P a la disolución del suelo en la gran mayoría de las muestras estudiadas. Por otra parte, a pesar de ser los responsables del fosfato adsorbido (Freese et al., 1992), la alta reactividad del Al

y el Fe amorfo complica el estudio de la solubilidad de los fosfatos de Al(Fe) en estos suelos. Algunos autores consideran que la solubilidad de estos elementos depende de factores como las reacciones que se establecen con los agentes complejantes orgánicos de baja masa molecular (Fox y Comerford, 1992b; Gerke, 1994a), el pH y la fuerza iónica (Murrmann y Peech, 1969). Blazer y Sposito (1987) encuentran en extractos acuosos, especies alumínicas complejadas con ligandos orgánicos formando cuasi-partículas con Al y  $\text{Al}(\text{OH})_3$ .

Por otro lado y en suelos con un alto contenido en materia orgánica, más del 90% del Al en disolución podría estar complejado por sustancias húmicas dada la elevada estabilidad de los complejos de Al-humus (Gerke, 1994b), aunque la solubilidad del Fe parece depender de las especies carboxiladas y el pH (Gerke, 1993). Todos estos supuestos hacen que exista una importante incertidumbre en la estimación de las actividades de Al y Fe cuando se calcula los PAI de los fosfatos de Al (Fe) (Pierzynski et al., 1990b), especialmente en suelos de naturaleza volcánica que presentan, *per se*, elevadas cantidades de Al(Fe) activo y macromoléculas orgánicas solubles.

### 3.3.2. Información sobre la solubilidad de fosfatos de aluminio en extractos dializados

Los valores de actividad iónica del P (pPAI), calculados a partir del experimento de diálisis, se presentan en la Tabla 14. En todos los suelos, excepto en el horizonte A de La

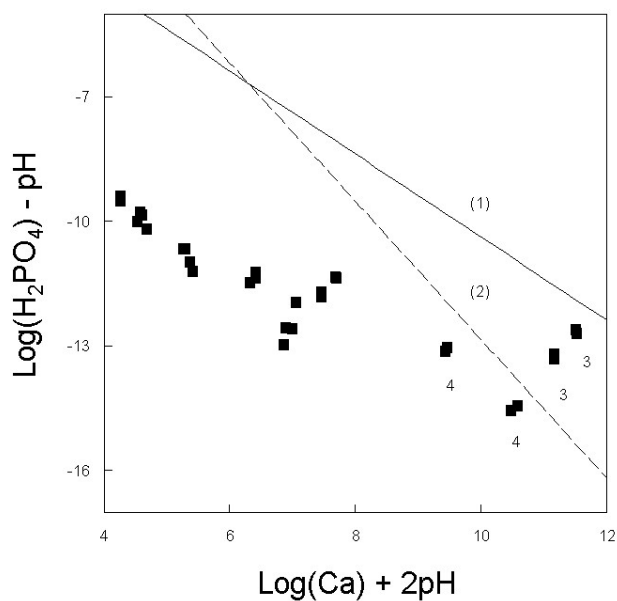
Esperanza, los valores de PAI en los extractos 2,5:1 y 75:1 no fueron significativamente diferentes. Los valores de pPAI para suelos con  $\text{pH} < 6$  indicaron un equilibrio aparente con la variscita. Suelos con  $\text{pH}$  superiores se localizaron en la región de los fosfatos de Ca (Fig. 10). El aparente equilibrio que se establece para el control simultáneo de la solubilidad del P entre el Al y el Ca fue indicado por Hetrick y Schwab (1992) en suelos ricos en fosfatos en el rango de  $\text{pH}$  que iba desde 5,5 a 6,5.

Por otra parte, la muestra V-4 se aproximó a la solubilidad del análogo amorfo a la variscita ( $K_{ps}=28,1$ ; Veith y Sposito, 1977). Este sólido fue el primero que se indicó como producto de la reacción entre los iones ortofosfato con el Al cambiante (Coleman et al., 1960); en suelos alofánicos, Veith y Sposito (1977) señalaron evidencias que indicaban la formación de un compuesto amorfo de Al con el fosfato debido a una precipitación secundaria y no por la formación de una fase fosfatada superficial. Observaciones realizadas sobre partículas ricas en P, procedentes de suelos excesivamente fertilizados, mediante microscopía de transmisión electrónica de barrido (STEM) (Pierzynski et al., 1990a) indican la existencia de un sólido amorfo de fosfato de Al, sugiriendo que estas partículas son cinéticamente estables en muchos de los ambientes en los que el suelo se desarrolla; Pierzynski et al. (1990a) llaman la atención sobre la incertidumbre en la estimación de las actividades del Al cuando se calculan los productos de solubilidad de los fosfatos de Al.

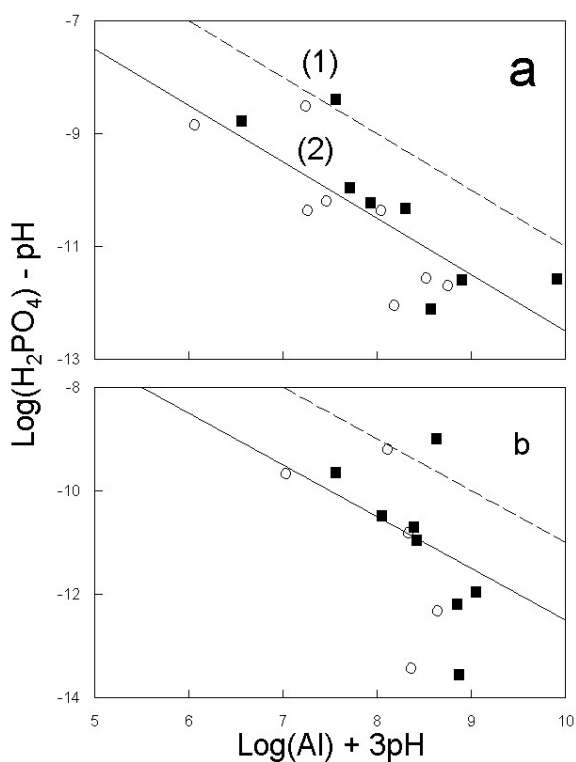
En este sentido, es interesante señalar que en este estudio (experimento de diálisis), todas las muestras presentaban una saturación aparente respecto a la alofana, gibbsita o haloisita.

En nuestro estudio el tiempo de contacto entre el suelo y el agua fue de 24h; generalmente, los estudios de solubilidad en el suelo que implican fosfatos de Al y Fe necesitan de unos cuantos días para poder alcanzar las condiciones de estado estacionario (Pierzynski et al., 1990b). Sin embargo, la constancia de los PAI observados en nuestro estudio, a las dos relaciones w:s utilizadas (Tabla 9), sugiere una rápida aproximación al estado estacionario. Este rápido equilibrio cinético aparentemente podría estar favorecido por la elevada superficie específica que presenta estos suelos. Desde el punto de vista ambiental, el resultado sugiere que, a corto plazo, lluvias intensas podrían eliminar la fracción inorgánica de P del suelo soluble en agua y redistribuirlo en las aguas de escorrentía.

Además de los datos obtenidos en el experimento de diálisis, los valores de P obtenidos de los filtrados por  $0,45 \mu\text{m}$  que se utilizaron como entradas en el programa MINTEQA1 para calcular las actividades de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , también nos indicaron que la mayoría de los suelos estaban sobresaturadas respecto a la variscita (Figura 11). Para tener más información cuantitativa sobre la contribución de la disolución de los fosfatos de Al, comparamos las cantidades de P dializable ( $\Sigma\text{PD}$ ) con los valores teóricos ( $\Sigma\text{P}$ ) (Tabla 9) de las especies  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y  $\text{HPO}_4^{2-}$ , calculados a



**Figura 10.** Doble función de solubilidad para el sistema Ca-P para las relaciones 2,5:1 y 75:1. Los números corresponden a las muestras T2-S: 3 y Esperanza A1: 4. (1) Brushita  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , (2) Hidroxiapatito.



**Figura 11.** Solubilidad del fosfato de aluminio en los extractos acuosos. (a)  $2,5 \text{ l kg}^{-1}$  (b)  $75 \text{ l kg}^{-1}$ . (1) Amorfo análogo, (2) Variscita.  $\circ$  Dializados.

**Tabla 14.** Valores de  $-\log$  del producto de actividad iónica (pPAD) respecto a la variscita y  $\text{Al}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{PO}_4$  en los dializados de los extractos acuosos.

Suelo	w:s (1kg <sup>-1</sup> )	pH	$\log(\text{Al})+3\text{pH}$	$\log(\text{H}_2\text{PO}_4)$	pIAP	$\Sigma\text{P}^*$ (mg kg <sup>-1</sup> )	$\Sigma\text{PD}^*$ (mg kg <sup>-1</sup> )
V-2	75	5,2	7,03	-4,53	30,7±0,2	100	61
V-2	2,5	4,3	6,06	-4,55	30,8±0,2	5	2
V-4	75	4,8	8,11	-4,41	29,1±0,3	115	99
V-4	2,5	4,2	7,24	-4,32	29,1±0,2	7	4
T2-S	75	7,9	8,64	-4,47	31,7±0,1	7660	545
T2-S	2,5	7,4	8,75	-4,27	31,0±0,2	44	20
Esperanza Al	75	7,8	8,36	-5,69	33,1±0,2	9191	17
Esperanza Al	2,5	6,9	8,18	-5,19	31,9±0,1	18	1
Garajonay Al	75	6,3	8,33	-4,58	30,5±0,2	70	71
Garajonay Al	2,5	5,8	8,04	-4,56	30,3±0,1	2	2

\* $\Sigma\text{P}$  y  $\Sigma\text{PD}$  representan, respectivamente, la suma teórica y experimental de las concentraciones de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y  $\text{HPO}_4^{2-}$  en in disolución para la disolución de la variscita o su análogo amorfo.

través de las ecuaciones (3) y (4) para la disolución de la variscita o su análogo amorfo.

En la Tabla 14,  $\Sigma P$  y  $\Sigma PD$  representan la suma de concentraciones, en  $\text{mg kg}^{-1}$  de suelo, de las especies de P predominantes después de la corrección de los coeficientes de actividad. En la mayoría de los casos,  $\Sigma PD$  osciló entre el 40 y el 100% de  $\Sigma P$ , con una media del 70%, lo cual parece indicar que los fosfatos de Al y Fe pueden jugar un importante papel en las cantidades de PD obtenidas. De esta manera concluimos que el control de la solubilidad del P por la variscita y su análogo amorfo puede explicar parte de P liberado (como ortofosfato libre) con el aumento de la relación w:s.

Sin embargo, hay que ser cuidadosos con el uso de los diagramas de equilibrio para interpretar la química del P y el Al en estos suelos. Por ejemplo, las condiciones favorables para la cristalización de la variscita serían aquellas disoluciones ricas en Al-P fuertemente ácidas, lo cual no es compatible con las condiciones ambientales de los suelos (Hsu y Sikora, 1993); estas solo podrían desarrollarse en las proximidades de los granos de fertilizantes que contienen hidrógenofosfato cálcico (Lindsay y Stephenson, 1959), aunque estas condiciones no se mantienen en el suelo pasados unos cuantos días. Por ello la composición de la disolución del suelo (datos de partida de este estudio) debe ser reflejo tanto de la solubilidad como de la disponibilidad para la planta y el movimiento a través del perfil del suelo de los elementos que les son añadidos (Bierman et al., 1995). Sin embargo, nuestros datos apuntan, tal y como también quedó reflejado para el caso del S-

sulfato en el trabajo de Espino-Mesa y Hernández-Moreno (1994), que los datos de la disolución del suelo en Andosoles y otros suelos con características ándicas deberían ser interpretados en función del control simultáneo que realizan una variedad de fases con una amplia ordenación que conforman un conjunto ensamblado pero en permanente desequilibrio.

#### 4. Conclusiones

La solubilidad de los fosfatos de Al (probablemente también los fosfato de Fe) y el reparto de P orgánico entre las fases sólida y líquida del suelo podrían ser los mecanismos principales que expliquen el comportamiento de la liberación de P desde el suelo al agua en Andosoles y suelos ándicos. Esto reafirma la hipótesis de que la principal fuente de P en Andosoles (órganominerales y alofánicos) son los fosfatos de Al(Fe) y los complejos de P-Al(Fe)-humus los cuales parecen influir sobre el reparto del P entre el suelo y la disolución. La solubilidad de estos compuestos depende del pH del suelo y de la fuerza iónica; esto podría dar cuenta de la inconsistencia de los métodos de extracción de P del suelo cuando se aplican a los Andosoles y suelos ándicos. El control de la solubilidad del P por la variscita (y su análogo amorfo) y la biodisponibilidad del P orgánico podrían explicar la falta de respuesta a la fertilización fosfatada observada en Andosoles y en suelos con elevadas capacidad de retención de P (Hernández-Moreno et al., 1990).

Por otro lado, debe existir una estrecha relación entre los procesos de agregación y

solubilidad en aquellos agregados formados por el entrecruzamiento de sustancias húmicas con partículas de arcilla y óxidos de Al y Fe en superficie (complejos organominerales), procesos de gran importancia en Andosoles y Spodosoles (Stevenson y Vance, 1989); por tanto, el balance dinámico entre la agregación-desagregación (solubilización), afectado por el pH, la fuerza iónica y la relación catión/anión, podrían tener un papel importante en los procesos de solubilidad descritos en este trabajo. Los resultados contradictorios sobre la capacidad de retención de P y su bioasimilabilidad en Andosoles podrían explicarse a través de los procesos reseñados.

La importancia que los procesos de solubilidad pueden tener en la regulación del reparto entre las fases sólida y acuosa del suelo deben ser tenidos en consideración para el manejo del fósforo en Andosoles: análisis de suelos, estimación nutricional, planes de fertilización y prácticas conservacionistas sostenibles.

## 5. Referencias

- Baes, A. U.; Bloom P. R. 1990. Fulvic acid ultraviolet-visible spectra: Influence of solvent and pH. *Soil Science Society of America Journal* 54, 1248-1254.
- Baldock, J. A.; Oades, J. M.; Waters, A. G.; Peng, X.; Vasallo, A. M.; Wilson, M. A. 1992. Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy. *Biogeochemistry* 16,1-42.
- Ball, J. W.; Nordstrom, D. K. 1991. User's manual for WATEQ4F, with revised thermodynamic data base and test cases for calculating speciation of major, trace, and redox elements in natural waters. Open-file Report 91-183 (revised in 2001). U. S. Geological Survey, Menlo Park, CA.
- Bartlett, R. J.; Ross, D. S. 1988. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. *Soil Science Society of America Journal* 52, 1191-1192.
- Bierman, P. M.; Rosen, C. J.; Bloom, P. R.; Nater E. A. 1995. Soil solution chemistry of sewage sludge incinerator ash and phosphate fertilizer amended soil. *Journal Environmental Quality* 24, 279-285.
- Blaser, P.; Sposito, G. 1987. Spectrofluorometric investigation of trace metal complexation by an aqueous chestnut leaf litter extract. *Soil Science Society of America Journal* 51, 612-619.
- Bloom, P. R.; Erich, M. S. 1989. The quantitation of aqueous aluminium. En: Sposito, G. (Ed.), *Environmental Chemistry of Aluminium*, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, pp. 1-27.
- Borie, F.; Zunino, H. 1983. Organic matter-phosphorus associations as a sink in P fixation processes in allophanic soils of Chile. *Soil Biology & Biochemistry* 15, 599-603.
- Borie, F.; Zunino, H.; Martínez, L. 1989. Macromolecule-P associations and inositol phosphates in some Chilean volcanic soils of temperate regions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 20, 1881-1894.
- Bowman, R. A.; Cole, C. V. 1978. Transformations of organic phosphorus substances in soil as evaluated by sodium-bicarbonate extraction. *Soil Science* 125, 49-54.
- Brown, D. S.; Allison, D. J. 1987. MINTEQA1, an equilibrium metal speciation model user's manual. USEPA, National Technical Service, Springfield, VA.
- Ciavatta, C.; Antisari, L. V.; Sequi, P. 1990. Interference of soluble silica in the determination

- of orthophosphate-phosphorus. *Journal of Environmental Quality* 19, 761-764.
- Coleman, N. T.; Thorup, J. T.; Jackson, W. A. 1960. Phosphate-sorption reactions that involve exchangeable aluminium. *Soil Science* 90, 1-7.
- Chapman, P. J.; Edwards, A. C.; Shand, C. A. 1997. The phosphorus composition of soil solutions and soil leachates: Influence of soil:solution ratio. *European Journal of Soil Science* 48, 703-710.
- Chen, Y.; Senesi, N.; Schnitzer, M. 1977. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. *Soil Science Society of America Journal* 41, 352-358.
- Davis, L. E. 1943. Measurements of pH with the glass electrode as affected by soil moisture. *Soil Science* 56, 405-422.
- de Haas, D. W.; Wentzel, M. C.; Ekama, G. A. 2001. The use of simultaneous chemical precipitation in modified activated sludge systems exhibiting biological excess phosphate removal. Part 6: Modelling of simultaneous chemical-biological P removal-Review of existing models. *Water SA* 27, 135-150.
- Delvaux, B. 1988. Constituants et propriétés de surface des sols dérivés de pyroclastes basaltiques du Cameroun occidental: Approche génétique de leur fertilité. Thèse, Université Catholique de Louvain.
- Devlin, D. L.; Whitney, D. A.; McVay, K. A. 2000. Phosphorus and water quality in Kansas. Kansas State University. Kansas.
- Dick, W. A.; Tabatabai, M. A. 1978. Hydrolysis of organic and inorganic phosphorus compounds added to soils. *Geoderma* 21, 175-182.
- Domínguez, J.; Negrín, M. A.; Rodríguez, C. M. 2003. Evaluating soil sodium indices in soils of volcanic nature conducive or suppressive to Fusarium wilt of banana. *Soil Biology & Biochemistry* 35, 565-575.
- Dougan, W. K.; Wilson, A. L. 1974. The absorptiometric determination of aluminium in water. A comparison of some chromogenic reagents and development of an improved method. *Analyst* 99, 413-430.
- Dufey, J. E.; Marot, J. M. 1987. Single empirical relationship for potassium exchange equilibria in various Soils. *Soil Science Society America Journal* 51, 918-920.
- Espino-Mesa, M.; Hernández-Moreno, J.M. 1994. Potassium selectivity in andic soils in relation to induced acidity, sulphate status and layer silicates. *Geoderma*, 191-201.
- Espino-Mesa, M.; Arbelo, C. D.; Hernández-Moreno, J. M. 1993. Predicting value of diagnostic soil properties on actual and potential cation exchange capacity (CEC) in Andisols and Andic soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 24, 2569-2584.
- Espinosa, M.; Turner, B. L.; Haygarth, P. M. 1999. Pre-concentration and separation of trace phosphorus compounds in soil leachate. *Journal of Environmental Quality* 29, 1497-1504.
- Evans, Jr A. 1985. The adsorption of inorganic phosphate by a sandy soil as influenced by dissolved organic compounds. *Soil Science* 140, 251-255.
- Frankenberger, W. T.; Tabatabai, M. A.; Adriano, D. C.; Doner, H. E. 1996. Bromine, chlorine, & fluorine. En: Spark, D. L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis Part 3: Chemical Methods*, Soil Science Society of America, Madison, pp. 833-867.
- Fox, R. L. 1980. Soils with variable charge: agronomic and fertility aspects. En: Theng, B. K. G. (Ed.), *Soils with Variable Charge*, New Zealand Society of Soil Science, Palmerston North, pp. 195-224.
- Fox, T. R.; Comerford, N. B. 1992a. Rhizosphere phosphatase activity and phosphatase hydrolysable organic phosphorus in two forested

- Spodosols. *Soil Biology & Biochemistry* 24, 579-583.
- Fox, T. R.; Comerford, N. B. 1992b. Influence of oxalate loading on phosphorus and aluminium solubility in Spodosols. *Soil Science Society of America Journal* 56, 290-294.
- Freese, D.; Lookman, R.; Merckx, R.; van Riemsdijk, W. H. 1995. New method for assessment of long-term phosphate desorption from soils. *Soil Science Society of America Journal* 59, 1295-1300.
- Freese, D.; van der Zee, S. E. A. T.; van Riemsdijk, W. H. 1992. Comparison of different models for phosphate sorption as a function of the iron and aluminium oxides of soils. *Journal of Soil Science* 43, 729-738.
- Gauthier, T. D.; Seitz, W. R.; Grant, C. L. 1987. Effects of structural and compositional variations of dissolved humic materials on pyrene  $K_{OC}$  values. *Environmental Science & Technology* 21, 243-248.
- Gerke, J. 1992. Orthophosphate and organic phosphate in the soil solution of four sandy soils in relation to pH-evidence for humic-Fe-(Al)-phosphate complexes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 23, 601-612.
- Gerke, J. 1993. Solubilization of Fe(III) from humic-Fe complexes, humic/Fe-oxide mixtures and from poorly ordered Fe-oxide by organic acids-consequences for P adsorption. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 156, 253-257.
- Gerke, J. 1994a. Kinetics of soil phosphate desorption as affected by citric acid. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 157, 17-22.
- Gerke, J. 1994b. Aluminium complexation by humic substances and aluminium species in soil solution. *Geoderma* 63, 165-175.
- Gerke, J.; Jungk, A. 1991. Separation of phosphorus bound to organic matrices from inorganic phosphorus in alkaline soil extracts by ultrafiltration. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 22, 1621-1630.
- Gillman, G. P.; Bell, L. C. 1978. Soil solution studies on weathered soils from tropical North Queensland. *Australian Journal of Soil Research* 16, 67-77.
- Gressel, N.; McGrath, A. E.; McColl, J. G.; Powers, R. F. 1995. Spectroscopy of aqueous extracts of forest litter. I: Suitability of methods. *Soil Science Society of America Journal* 59, 1715-1723.
- Hayes, J. E.; Richardson, A. E.; Simpson, R. J. 2000. Components of organic phosphorus in soil extracts that are hydrolysed by phytase and acid phosphatase. *Biology & Fertility of Soils* 32, 279-286.
- Haygarth, P. M.; Sharpley, A. N. 2000. Terminology for phosphorus transfer. *Journal of Environmental Quality* 29, 10-15.
- Hedley, M. J.; Stewart, J. W. B. 1982. A method to measure microbial phosphorus in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 14, 377-385.
- Hedley, M.J.; Stewart, J. W. B.; Chauhan, B. S. 1982. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal* 46, 970-976.
- Hernández-Moreno, J. M.; Hernández-Pérez, A.; Pinheiro, J. 1990. Comparación de diferentes métodos de fósforo disponible en un suelo con alta capacidad de retención de fósforo (Dystrandeps). En: *Sociedad Española de Ciencias Hortícolas* (Ed.), *Actas de Horticultura, SECH, Córdoba*, pp. 287-292.
- Hernández-Pérez, A. 1991. Aplicación de las Técnicas de Disolución Selectiva y Retención de Fósforo en la Caracterización de Fe y Al Activos en Suelos Volcánicos. *Secretariado de Publicaciones de la Universidad de La Laguna, Tenerife*.



- Hetrick, J. A.; Schawb, A. P. 1992. Changes in aluminium and phosphorus solubilities in response to long-term fertilization. *Soil Science Society of America Journal* 56, 755-761.
- Hsu, P. H.; Sikora, F. 1993. Effects of aluminium and phosphate concentrations and acidity on the crystallization of variscite at 90°C. *Soil Science* 156, 71-78.
- Kouno, K.; Lukito, H. P.; Ando, T. 1999. Minimum available N requirement for microbial biomass P formation in a regosol. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 797-802.
- Kretzschmar, R.; Borkovec, M.; Grolimund, D.; Elimelech, M. 1999. Mobile subsurface colloids and their role in contaminant transport. *Advances in Agronomy* 66:121-193.
- Lajtha, K.; Schlesinger, W. H. 1988. The biogeochemistry of phosphorus cycling and phosphorus availability along a desert soil chronosequence. *Ecology* 69, 24-39.
- LaZerte, B. D. 1984. Forms of aqueous aluminium in acidified catchments of central Ontario: a methodological analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 41, 766-776.
- LaZerte, B. D.; Chun, C.; Evans, D.; Tomassini, F. 1988. Measurement of aqueous aluminium species: comparison of dialysis and ion-exchange techniques. *Environmental Science Technology* 22, 1106-1108.
- Leinweber, P.; Turner, B. L.; Meissner, R. 2002. Chapter 2: Phosphorus. En: Haygarth, P. M.; Jarvis, S. C. (Eds.), *Agriculture, Hydrology and Water Quality*, CABI International, pp. 29 - 50
- Lindsay, W. L. 1979. *Chemical Equilibria in Soils*. Wiley-Interscience, New York.
- Lindsay, W. L.; Stephenson, H. R. 1959. Nature of the reactions of monocalcium phosphate monohydrate in soils: I. The solution that reacts with the soil. *Soil Science Society of America Proceedings* 23, 12-18.
- Mallarino A. P.; Stewart, B. M.; Baker, J. L., Downing, J. D., Sawyer J. E. 2002. Phosphorus indexing for cropland: overview and basic concepts of the Iowa phosphorus index. *Journal of Soil and Water Conservation* 57, 440-447.
- McDowell, R. W.; Sharpley, A. N. 2003. Phosphorus solubility and release kinetics as a function of soil test P concentration. *Geoderma* 112, 143-154.
- Mizota, C.; van Reeuwijk, L.P. 1989. *Clay Mineralogy and Chemistry of Soils Formed in Volcanic Material in Diverse Climatic Regions*. Soil Monograph 2 ISRIC, Wageningen.
- Mulder, J.; Stein, A. 1994. The solubility of aluminium in acidic forest soils: Long-term changes due to acid deposition. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58, 85-94.
- Murphy, J.; Riley, J. P. 1962. A modified single method for the determination of phosphates in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27, 31-36.
- Murmann, R. P.; Peech, M. 1969. Relative significance of labile and crystalline phosphates in soil. *Soil Science* 107, 249-255.
- Negrín, M. A.; Espino-Mesa, M.; Hernández-Moreno, J.M. 1993. Solubilidad del P en suelos ándicos naturales y cultivados sobrefertilizados. En: Gallardo Lancho, J. F. (Ed.), *El Estudio del Suelo y de su Degradación en Relación con la Desertificación*, Tomo I. Sociedad Española de la Ciencia del Suelo, Salamanca, pp. 309-317.
- Nriagu, J. O. 1972. Solubility equilibrium constant of strengite. *America Journal of Science* 272, 476-484.
- Oehl, F.; Oberson, A.; Probst, M.; Fließbach, A.; Roth, H.-H.; Frossard, E. 2001. Kinetics of microbial phosphorus uptake in cultivated soils. *Biology & Fertility of Soils* 34, 31-41.
- Olsen, S. R.; Cole, C. V.; Watanabe, F. S. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S.

- Department of Agriculture Circular 939. Washington.
- Olson, R. V.; Ellis, R. 1982. Iron. En: Page, A. L.; Miller, R. H.; Keeney, D. R. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, 2<sup>a</sup> Ed., American Society of Agronomy, Madison, pp. 301-312.
- Pant, H. K.; Edwards, A. C.; Vaughan, D. 1994. Extraction, molecular fractionation and enzyme degradation of organically associated phosphorus in soil solutions. *Biology and Fertility of Soils* 17, 196-200.
- Pant, H. K.; Warman, P. R. 2000. Enzymatic hydrolysis of soil organic phosphorus by immobilized phosphatases. *Biology and Fertility of Soils* 30, 306-311.
- Pant, H. K.; Reddy, K. R.; Dierberg, F. E. 2002. Bioavailability of organic phosphorus in a submerged aquatic vegetation-dominated treatment wetland. *Journal of Environmental Quality* 31, 1748-1756.
- Parfitt, R. L.; Wilson, L.D. 1985. Estimation of allophane and halloysite in three sequences of volcanic soils, New Zealand. En: Fernández-Caldas, E.; Yaalon, D. H. (Eds.), *Volcanic Soils*, Catena Supplement 7, Cremlingen, pp. 1-8.
- Pierzynski, G. M. 1991. The chemistry and mineralogy of phosphorus in excessively fertilized soils. *Critical Reviews in Environmental Control* 21, 265-295.
- Pierzynski, G. M.; Logan, T. J.; Traina, S. J. 1990b. Phosphorus chemistry and mineralogy in excessively fertilized soils: Solubility equilibria. *Soil Science Society of America Journal* 54, 1589-1595.
- Pierzynski, G. M.; Logan, T. J.; Traina, S. J.; Bigam, J. M. 1990a. Phosphorus chemistry and mineralogy in excessively fertilized soils: Quantitative analysis of phosphorus-rich particles. *Soil Science Society of America Journal* 54, 1576-1583.
- Rieu, M., Vaz, R., Cabrera, F., Moreno, F., 1998. Modelling the concentration or dilution of saline soil-water systems. *European Journal of Soil Science* 49, 53-63.
- Ron Vaz, M. D.; Edwards A. C.; Shand, C. A.; Cresser M. S. 1993. Phosphorus fractions in soil solution: Influence of soil acidity and fertiliser additions. *Plant and Soil* 148, 175-183.
- Rowland, A. P.; Haygarth, P. M. 1997. Determination of total dissolved phosphorus in soil solutions. *Journal Environmental Quality* 26, 410-415.
- Salcedo, I. H.; Bertino, F.; Sampaio, E. V. S. B. 1991. Reactivity of phosphorus in Northeastern Brazilian soils assessed by isotopic dilution. *Soil Science Society of America Journal* 55, 140-145.
- Schoenau, J. J.; Huang, W. Z. 1991. Anion-exchange membrane, water, and sodium bicarbonate extractions as soil test for phosphorus. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 22, 465-492.
- Seip, H. M.; Muller, L.; Naas, A. 1984. Aluminium speciation: comparison of two spectrophotometry analytical methods and observed concentrations in some acidic aquatic systems in southern Norway. *Water, Air & Soil Pollution* 23, 81-95.
- Shand, C. A.; Smith, S. 1997. Enzymatic release of phosphatase from model substrates and P compounds in soil solution from a peaty podzol. *Biology & Fertility of Soils* 24, 183-187.
- Sharpley, A. N. 1983. Effect of soil properties on the kinetics of phosphorus desorption. *Soil Science Society of America Journal* 47, 462-467.
- Sharpley, A. N.; Ahuja, L. R.; Yamamoto, M.; Menzel, R. G. 1981. The kinetics of phosphorus

- desorption from soil. Soil Science Society of America Journal 45, 493-496.
- Sissingh, H. A. 1971. Analytical technique of the Pw method, used for the assessment of the phosphate status of arable soils in the Netherlands. Plant and Soil 34, 483-486.
- Skyllberg, U. 1995. Solution / soil ratio and release of cations and acidity from Spodosol horizons. Soil Science Society of America Journal 59: 786-795.
- Skyllberg, U.; Raulund-Rasmussen, K.; Borggaard, O. K. 2001. pH buffering in acidic soils developed under *Picea abies* and *Quercus* robur-effects of soil organic matter, adsorbed cations and soil solution ionic strength. Biogeochemistry 56, 51-74.
- Smekc, N. E. 1985. Phosphorus dynamics in soils and landscapes. Geoderma 36, 185-199.
- Sonneveld, C., Van den Ende J., De Bes S. S., 1990. Estimating the chemical compositions of soil solutions by obtaining saturation extracts or specific 1 : 2 by volume extracts. Plant and Soil 122, 169-175.
- Sorn-Srivichai, P.; Syers, J. K.; Tillman, R. W.; Cornforth, I. S. 1988. An evaluation of water extraction as a soil-testing procedure for phosphorus I. Glasshouse assessment of plant-available phosphorus. Fertilizer Research 15, 211-223.
- Sparks, D. L. 1999. Kinetics and mechanisms of chemical reactions at the soil mineral/waters interface. En: Sparks, D. L. (Ed.), Soil Physical Chemistry, 2<sup>a</sup> ed. CRC Press, Boca Ratón, Florida, pp. 135-191.
- Sposito, G. 1981. The Thermodynamics of Soil Solutions. Oxford University Press, Oxford.
- Sposito, G. 1985. Chemical models of weathering in soils. En: Drever, J. I. (Ed.), The Chemistry of Weathering, D. Reides, Dordrecht.
- Staiton, M. P. 1980. Errors in molybdenum blue methods for determining orthophosphate in freshwater. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 37, 472-478.
- Staunton, S.; Dumat, C.; Zsolnay, A. 2002. Possible role of organic matter in radiocaesium adsorption in soils. Journal of Environmental Radioactivity 58, 163-173.
- Stevenson, F. J.; Vance, G. F. 1989. Naturally Occurring Aluminium-Organic Complexes. En: Sposito, G. (Ed.), Environmental Chemistry of Aluminium, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pp. 117-145.
- Tarapachak, S. J. 1993. Soluble reactive phosphorus in lake water: evidence for molybdate enhanced hydrolysis. Journal of Environmental Quality 12, 105-108.
- Tarapachak, S. J.; Bigelow, S. M.; Rubitschum, C. 1982. Overestimation of orthophosphorus concentrations in surface waters of southern Lake Michigan: effects of acid and ammonium molybdate. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 39, 296-304.
- Thien, S. J.; Myers, R. 1992. Determination of bioavailable phosphorus in soil. Soil Science Society of America Journal 56, 814-818.
- Thomas, G. W. 1996. Soil pH and soil acidity. En: Sparks, D. L. (Ed.), Methods of Soil Analysis Part 3: Chemical Methods, Soil Science Society of America, Madison, pp. 475-490.
- Tiessen, H.; Stewart, J. W. B.; Cole, C. V. 1984. Pathways of phosphorus transformation in soils of differing pedogenesis. Soil Science Society of America Journal 48, 853-858.
- Tipping, E.; Hurley, M. A. 1988 A model of solid-solution interactions in acid organic soils, based on the complexation properties of humic substances. Journal of Soil Science 39, 505-519.
- Torrent, J.; Delgado, A. 2001. Using phosphorus concentration in the soil solution to predict phosphorus desorption to water. Journal Environmental Quality 30, 1829-1835.

- Traina, S. J.; Novak, J.; Smeck N. E. 1990. An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids. *Journal of Environmental Quality* 19, 151-153.
- Traina, S. J.; Sposito, G.; Hesterberg, D.; Kafkafi, U. 1986. Effects of pH and organic acids on orthophosphate solubility in an acidic, montmorillonitic soil. *Soil Science Society of America Journal* 50, 45-52.
- Turner, B. L.; Cade-Menun, B. J., Westermann, D. T. 2003. Organic phosphorus composition and potential bioavailability in semi-arid arable soils of Western United States. *Soil Science Society of America Journal* 67, 1168-1179.
- Turner, B. L.; McKelvie, D. M.; Haygarth, P. M. 2002a. Characterisation of water-extractable soil organic phosphorus by phosphatase hydrolysis. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 27-35.
- Turner, B. L.; Papha'zy, M.; Haygarth, P. M.; McKelvie, I. D. 2002b. Inositol phosphates in the environment. *Philosophical Transactions of Royal Society of London Serie B* 357, 449-469.
- van der Paauw, F. 1971. An effective water extraction method for the determination of plant available soil phosphorus. *Plant and Soil* 34, 467-481.
- van der Zee, S. E. A. T. M.; Fokkink, L. G. J.; van Riemsdijk, W. H. 1987. A new technique for assessment of reversibly adsorbed phosphate. *Soil Science Society of America Journal* 51, 599-604.
- Veith, J. A.; Sposito, G. 1977. Reactions of aluminosilicates, aluminum hydrous oxides, and aluminium oxide with o-phosphate: The formation of x-ray amorphous analogs of variscite and montebrasite. *Soil Science Society of America Journal*, 41, 870-876.
- Walker, W. J.; Cronan, C. S.; Bloom, P. R. 1990. Aluminum solubility in organic soil horizons from northern and southern forested watersheds. *Soil Science Society of America Journal* 54, 369-374.
- Wolt, J. D. 1994. *Soil Solution Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Yli-Halla, M.; Hartikainen, H.; Ekholm, P.; Turtola, E.; Puustinen, M.; Kallio, K. 1995. Assessment of soluble phosphorus load in surface runoff by soil analyses. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 56: 53-62.
- Yli-Halla, M.; Hartikainen, H.; Väätäinen, P. 2002. Depletion of soil phosphorus as assessed by several indices of phosphorus supplying power. *European Journal of Soil Science* 53, 431-438.
- Zsolnay, A. 1996. Dissolved humus in soil waters. En: Piccolo, A. (Ed.), *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*, Elsevier Science, Amsterdam, pp. 171-223.

## CAPÍTULO III.3:

### ***ESTIMACIÓN DE LA FRACCIÓN TOTAL DISPONIBLE DEL FÓSFORO MEDIANTE LA TÉCNICA DE DILUCIÓN ISOTÓPICA EN SUELOS ÁNDICOS NATURALES Y FERTILIZADOS: TRANSFERENCIA DE P ENTRE LOS CONSTITUYENTES DEL SUELO Y DISOLUCIÓN***

## 1. Introducción

En suelos de origen volcánico, las fracciones activas de Al y Fe constituyen los componentes mayoritarios de la fracción arcilla; en horizontes superficiales alofánicos estas fracciones se encuentran representadas por las asociaciones alofana-imogolita y los complejos de Al(Fe)-humus, mientras que en horizontes no alofánicos son estos complejos metal-humus y silicatos del tipo 2:1 sus constituyentes. Estos compuestos activos reaccionan fácilmente con el fósforo para formar compuestos químicos poco solubles. Por tanto, la eficacia fertilizante del P en estos suelos para el crecimiento de plantas bajo cultivo es muy baja, teniendo que recurrir a elevadas dosis de fertilizantes fosfatados para suplir esta deficiencia.

A pesar de que los niveles óptimos de P disponible recomendado no deberían exceder los  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  (Pierzynski, 1991), en suelos volcánicos niveles superiores a este parecen tener un impacto positivo (Shoji y Takahashi, 2002). En las Islas Canarias se han observado valores superiores a los  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  en suelos de fincas de platanera afectadas por *Fusarium* sin que se produzca, en principio, ningún efecto negativo sobre el cultivo y sobre la expresión de la enfermedad (Domínguez et al., 2003). Por otro lado, es conocido el hecho de la existencia de discrepancias, en este tipo de suelos, entre los valores recomendados de fertilización fosfatada para un cultivo determinado y las calibraciones habituales que relacionan el P extraíble con el rendimiento de los cultivos (Fox, 1980). Este hecho ha sido

atribuido por Wada (1995) a la elevada capacidad de retención que muestran habitualmente los suelos de origen volcánico. El P sorbido en un Andosol podría estar presente (en términos absolutos) en una elevada cantidad pero en lo que se refiere a su capacidad de adsorción, la cantidad de P adsorbido es pequeña. Así, la capacidad de retención de P en Andosoles y suelos ándicos de Canarias puede superar el 90%, manteniéndose esta capacidad incluso después de fertilizarlos como consecuencia de los compuestos activos de Al/Fe que provocan la irreversibilidad de la reacción de adsorción observada en suelos volcánicos ricos en alofanas alumínicas y oxi-hidróxidos de Fe. Todo esto justifica la importancia que para el establecimiento de niveles de P disponible recomendables para el desarrollo sostenible de cultivos en nuestros suelos tiene la modelización y validación de los procesos de transferencia de los iones fosfato desde la fase sólida a la disolución del suelo.

### *1.1. Transferencia de iones fosfato entre la fase sólida y la disolución del suelo: factor intensidad.*

La representación más simple que permite estudiar la transferencia de iones P entre las fases sólida y líquida del suelo viene dada por las relaciones Q/I; la transferencia de estos iones entre ambas fases vendrá determinada por el análisis del P en la disolución del suelo [factor intensidad (I)] y la cantidad de iones P presente sobre los constituyentes del suelo [factor

cantidad (Q)] que actúa como reserva de iones P para su reemplazo en disolución (Olsen y Khasawneh, 1980). La cantidad Q de iones P transferidos al suelo depende de la actividad de este elemento en disolución (I). La relación curvilínea  $Q = f(I)$  describe la evolución de Q en función de I permitiendo estimar, para cualquier nivel de I, la capacidad de un suelo para mantener constante la actividad de iones P en disolución cuando esta varía [factor capacidad o capacidad tampón (CT)] debido a la absorción por las plantas o por aportaciones de fertilizantes fosfatados al suelo (Holford, 1997). Matemáticamente, CT representa la derivada primera de Q respecto a I, es decir, constituye la recta tangente a la curva de la relación  $Q = f(I)$ .

Por otra parte, del análisis de este tipo de curvas podríamos distinguir una serie de factores que, aunque complementarios entre sí, inciden sobre la información obtenida. Estos factores serían:

- 1) La metodología que permite evaluar la reserva del P en el suelo (Q) y el que se encuentra en disolución (I).
- 2) La descripción de aquellas variables que nos ayudan a dilucidar la transferencia de iones P entre la fase sólida y la disolución del suelo.
- 3) Los modos operacionales que permiten determinar la relación  $Q = f(I)$ .

Generalmente, la actividad de iones P en disolución se estima mediante la concentración de iones fosfato en disolución ( $C_p$ , siguiendo la terminología empleada por Morel (2001)] utilizando métodos colorimétricos como el azul de molibdeno (Murphy y Riley, 1962; John,

1970) o el verde de malaquita (van Veldhoven y Mannaerts, 1987). La determinación colorimétrica presenta el problema, como ya se ha citado en capítulos precedentes, que el medio fuertemente ácido puede liberar moléculas de ortofosfato provenientes, por ejemplo, de coloides ricos en fósforo, de polifosfatos y de fósforo orgánico (Haygarth et al., 1997; Sinaj et al., 1998). Por esta razón, algunos investigadores se decantan por la cromatografía iónica para determinar  $C_p$  ya que se evita el paso previo de la acidificación de la disolución, necesaria en el método colorimétrico, y mediante ella podríamos discernir esta fracción del P total disuelto que se puede determinar mediante, por ejemplo, la espectroscopia de emisión atómica (ICP) (Masson et al., 2001). La diferencia es, además, función de la concentración de iones fosfato en disolución provenientes de los coloides a cuya estructura se encontrarían unidos estos iones en una mayor o menor cantidad. La relación w:s de la propia suspensión también influiría sobre la concentración de P en la disolución del suelo (Chapman et al., 1997). Por último señalar que a pesar de utilizar la misma técnica de filtrado para separar la suspensión del suelo, los valores de  $C_p$  parecen depender del tipo de muestra analizada (Sinaj et al., 1998).

Todos estos factores de incertidumbre indican que no existe un método perfecto para estimar la actividad de iones fosfato en disolución. En muchos tipos de suelos tropicales, con elevada capacidad de retención de P, los valores de  $C_p$  se encuentran próximos al límite de detección admitido por los métodos colorimétricos; en este caso, se prefiere filtrar la suspensión a través de  $0,025 \mu\text{m}$  y emplear la

cromatografía iónica para su determinación (Masson et al., 2001) puesto que las suspensiones filtradas por 0,45  $\mu\text{m}$  podrían contener P no intercambiable isotópicamente con el suelo (Sinaj et al., 1998; Hens y Merckx, 2001; Masson et al., 2001). Sin embargo en los suelos de regiones templadas, cultivados y fertilizados a lo largo de muchas décadas, la incertidumbre sobre los niveles de iones fosfato en las disoluciones del suelo filtradas por 0,20  $\mu\text{m}$  es baja en comparación con los niveles de Cp (Morel, 2001). Esta es la razón por la que en la mayoría de los estudios la determinación del P se realiza por colorimetría, método simple, rápido y poco costoso en su análisis.

### 1.2. Transferencia de iones fosfato entre la fase sólida y la disolución del suelo: factor cantidad y la dilución isotópica

Existen varios métodos experimentales que permiten medir el factor Q del suelo. Entre estos métodos tenemos la adsorción/desorción (Barrow, 1978; Barrow, 1979; Chardon y Blaauw, 1998), la electroultrafiltración (Steffens, 1994; Nair, 1996) y la dilución isotópica. Esta última técnica ha sido ampliamente utilizada durante décadas para estimar la fracción total disponible del P (*E-value*) en el suelo (Russell et al., 1954; Talibudeen, 1957; Fardeau y Jappé, 1976 y 1988; Fardeau, 1981; Tran et al., 1988; Fardeau, 1993; Morel y Planchette, 1994; Morel y Torrent, 1997; Frossard y Sinaj, 1997, etc.), así como su asimilabilidad desde diferentes tipos de fertilizantes (Hendricks y Dean, 1947; Frossard et al., 1996). Cualquiera de los iones radiactivos

del fósforo ( $^{32}\text{PO}_4^{3-}$  o  $^{33}\text{PO}_4^{3-}$ ), radioquímicamente puros y no acompañados por iones P no marcados (R), son introducidos en la disolución de una suspensión de suelo en estado estacionario (Cp constante), produciéndose un intercambio homoiónico entre el isótopo radiactivo introducido y el  $^{31}\text{PO}_4^{3-}$  localizado sobre la fase sólida del suelo, con la subsiguiente disminución de la radioactividad al aumentar el tiempo de intercambio (Fardeau, 1996). La cantidad de iones transferidos por difusión entre las dos fases, líquida y sólida, se calcula aplicando el principio de dilución isotópica: los iones P isotópicamente diluidos en el suelo poseen la misma composición isotópica que en disolución. Puesto que el flujo neto de iones P entre el suelo y la disolución es nula, esta técnica permite cuantificar el flujo bruto de iones P entre el suelo y la disolución cuando este se realice entre isótopos iguales o diferentes (Morel et al., 2000).

De acuerdo con este principio, la composición isotópica ( $^{32}\text{P}/^{31}\text{P}$ ) de iones P en disolución en equilibrio con el P isotópicamente intercambiable vendría dado por la expresión:

$$R / Q = r / Q_w \quad (1)$$

en donde:

$$Q = Q_w(R / r)$$

y

$$Q_w = C_p * w : s$$

R es la cantidad de  $^{32}\text{P}$  añadida a la suspensión, r es la cantidad de  $^{32}\text{P}$  remanente en disolución, Q es la cantidad de iones P que se encuentran en la fase sólida del suelo y  $Q_w$  la cantidad de iones P en disolución calculada como el producto entre Cp y la relación w:s. Con



respecto a otros métodos, la información es obtenida sobre el grueso de la transferencia de iones P entre la fase líquida y los constituyentes del suelo. Si  $C_p$  es constante (la suspensión del suelo ha alcanzado el estado estacionario), la transferencia neta de P es nula pues la transferencia directa e inversa entre la fase líquida y sólida del suelo son iguales y cuantificable por la Ec. (1).

Nuestro objetivo ha consistido en estudiar la cinética de la transferencia de iones P entre los constituyentes del suelo y la disolución mediante el intercambio isotópico entre ambas fases en Andosoles naturales y fertilizados como diagnóstico del P disponible y de las necesidades de fertilización de estos suelos.

## 2. Metodología

### 2.1. Suelos

En esta experiencia se emplearon los suelos ándicos forestales Las Lajas A (LL A) (representante de suelo organomineral), La Esperanza Bw3 (E Bw3) (representante de suelo alofánico) y el horizonte Ap del perfil fersialítico Karting (K). Además se han empleado muestras del horizonte A1 del perfil La Esperanza (muestras E), procedentes de un ensayo biológico con maíz (véase anejo II del Capítulo IV de este trabajo), que fueron sometidas a fertilización fosfatada mediante tratamientos de 0 (control, E-0), 100 (E-100) y 200 (E-200) mg de P  $\text{kg}^{-1}$  de suelo. En la selección de estas muestras ha primado, además de sus diferencias en sus características físico-químicas, en que

todas ellas presentan una elevada capacidad para fijar fosfato.

### 2.2. Fósforo presente en la disolución del suelo

Las muestras fueron sometidas a extracción con agua desionizada empleando una relación w:s de 10 l  $\text{kg}^{-1}$  de suelo. Las suspensiones, agitadas durante 18h, fueron filtradas a través de filtro de éster de celulosa Millipore de 0,025  $\mu\text{m}$ . El P presente en las disoluciones obtenidas ( $C_p$ ) se determinaron empleando el método colorimétrico del molibdato amónico y ácido ascórbico descrito por Jones (1970), similar al método de Murphy y Riley (1962) excepto por el uso de una disolución 0,1 M de ácido ascórbico.

### 2.3. Cinética de intercambio isotópico

El método de intercambio isotópico para cuantificar la transferencia del ión P entre el suelo y la disolución que hemos empleado fue el descrito por Morel et al (1994): se agitan 10 g de suelo con 199 ml de agua desionizada en un recipiente plástico durante 18 h; a esta suspensión se le añade una disolución marcada con  $^{32}\text{P}$  (1 ml de  $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$  con un nivel de radioactividad que oscila entre 0,01 y 0,1 MBq), homogeneizándose vigorosamente con un agitador magnético. Después de 1, 3, 10 minutos de intercambio isotópico, se extraen, mediante jeringa, entre 8-10 ml de la mezcla separándose inmediatamente la disolución de la fase sólida mediante filtración Millipore (primero a través

de 0,45  $\mu\text{m}$  y luego por 0,025  $\mu\text{m}$  para eliminar el posible P particulado). La actividad de  $^{32}\text{P}$  (número de cuentas del isótopo radiactivo) remanente en la disolución, para cada tiempo, se determina por efecto Cerenkov empleando un contador de líquido de centelleo (Packard 2500 TR de los Servicios Generales de Apoyo a la Investigación de la Universidad de La Laguna) con 1 ml del filtrado. Todos los análisis se han realizado por triplicado.

La cantidad de radioactividad  $[r(t)]$ , remanente en la disolución disminuye con el tiempo (min), de acuerdo con la ecuación (Fardeau et al., 1985):

$$\frac{r(t)}{R} = \frac{r(1)}{R} \left\{ t + \left[ \frac{r(1)}{R} \right]^{(1/n)} \right\}^{-n} + \frac{r(\infty)}{R} \quad (2)$$

donde  $r(1)$  y  $r(\infty)$  son las medidas de radioactividad (MBq) remanente en la disolución después de 1 min. y después de un período infinito de intercambio isotópico, respectivamente. Simplificando (Fardeau, 1993; Morel et al., 2000):

$$\frac{r}{R} = m(t + m^{1/n})^{-n} + \frac{r(\infty)}{R} \quad (3)$$

donde  $m$  y  $n$  son parámetros cinéticos. Fardeau y Jappé (1978) y Fardeau et al. (1991) encuentran una elevada correlación entre los valores de  $\log [r(t)/R]$  y  $\log (t)$ , siguiendo la siguiente expresión empírica:

$$\log [r(t)/R] = \log [r(1)/R] - n \log (t) \quad (4)$$

Fardeau et al. (1991) indicaron que la función anterior no es sino la simplificación de la ecuación teórica (3) ya que los datos que predice esta última son compatibles con los obtenidos de la regresión lineal de los datos experimentales que genera la ecuación empírica

(4). Por tal motivo, en este experimento se calculó  $n$  como la pendiente de la ecuación de regresión entre  $\log [r(t)/R]$  y  $\log (t)$ .

La relación  $r(\infty)/R$  es la máxima dilución posible del isótopo la cual se aproxima al cociente entre  $C_p$ , concentración de P en la disolución ( $\text{mg P l}^{-1}$ ), y el P inorgánico total (PI) del suelo ( $\text{mg P kg}^{-1}$ ) (Fardeau, 1993; Frossard et al., 1995):

$$\frac{r(\infty)}{R} = \frac{10C_p}{P_i} = \frac{Q_w}{P_i} \quad (5)$$

donde el factor 10 procede de la relación w:s (10:1) y  $Q_w$  representa la cantidad de iones P en disolución.

Para caracterizar el intercambio isotópico de iones fosfato entre el suelo y la disolución se determinaron los parámetros  $m$ ,  $n$ ,  $C_p$  y PI. El parámetro  $m$  que sustituye al parámetro  $r(1)/R$ , está relacionado con la capacidad del suelo para fijar P (Frossard et al., 1993). Así suelos que presentan valores de  $m < 0,2$  tienen una alta capacidad para fijar fosfato, mientras que suelos con  $m > 0,4$  presentan una baja capacidad de fijación.

Aunque el sistema haya alcanzado el estado estacionario (la concentración de ortofosfato en la disolución es constante), la disminución de la radioactividad se debe al intercambio homoiónico entre los iones ortofosfato- $^{32}\text{P}$  añadidos a la disolución y los iones ortofosfato- $^{31}\text{P}$  localizados sobre la fase sólida del suelo. Para nuestras condiciones, la cantidad de P intercambiado isotópicamente en un tiempo  $t$   $[E(t)]$  se calculó asumiendo que (i): los iones  $^{31}\text{PO}_4$  y  $^{32}\text{PO}_4$  tienen el mismo destino en el sistema y (ii): para cualquier tiempo  $t$ , la actividad específica de los iones fosfato en la

disolución del suelo es idéntica a la que tienen los iones fosfato intercambiados isotópicamente en el interior del sistema (Frossard et al., 1994; Bühler et al., 2003):

$$\frac{E(t)}{R} = \frac{10C_p}{r} = \frac{Q_w}{r} \quad (6)$$

por tanto:

$$E(t) = \frac{10RC_p}{r} = \frac{Q_w}{m \left( t + m^{1/n} \right)^{-n} + \frac{r(\infty)}{R}} \quad (7)$$

En algunos casos, donde los valores de  $n$  son inferiores a 0,2, la ecuación anterior puede simplificarse (Fardeau et al., 1985), tomando la forma de la ecuación cinética empírica desarrollada por Wiklander (1950):

$$E(t) = 10C_p \left[ \frac{R}{r(1)} \right] t^n = Q_w \left[ \frac{R}{r(1)} \right] t^n \quad (8)$$

Por otra parte, los parámetros experimentales de la cinética de intercambio permiten el cálculo de otras variables asociadas a la capacidad de los iones fosfato para transferirse más o menos rápidamente desde el suelo hacia la disolución (Fardeau et al., 1991; Frossard et al. 1995). Así, se puede calcular la velocidad media de intercambio  $k_m$  ( $\text{min}^{-1}$ ) de los iones fosfato entre la disolución del suelo y la fase sólida, como:

$$k_m = \frac{n}{\left[ \frac{r(1)}{R} \right]^{(1/n)}} \quad (9)$$

El tiempo medio de residencia de los iones fosfato en la disolución,  $T_m$  (min), se define como el inverso de  $k_m$ , mientras que el flujo medio de intercambio  $F_m$  ( $\text{mg kg}^{-1} \text{min}^{-1}$ ), entre la fase sólida y la disolución se ha definido de la siguiente manera:

$$F_m = 10C_p k_m = Q_w k_m = \frac{Q_w n}{\left[ \frac{r(1)}{R} \right]^{(1/n)}} \quad (10)$$

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Parámetros cinéticos de intercambio isotópico

Los valores de  $C_p$ ,  $r(1)/R$ ,  $E(1\text{min})$ ,  $E(1\text{min})/C_p$  y el exponente  $n$  de la función compleja que define  $E(t)$  (Ec. 8) se presentan en la Tabla 1.

El P en la disolución del suelo ( $C_p$ ) procedente de los tres suelos forestales y del suelo fertilizado E-0 no presentaban una desviación significativa, oscilando entre 25 y 27  $\mu\text{g l}^{-1}$ ; en el resto de los suelos fertilizados (E-100 y E-200),  $C_p$  fue sólo ligeramente superior a las anteriores, oscilando entre 16  $\mu\text{g l}^{-1}$  para el suelo E-100 y 31  $\mu\text{g l}^{-1}$  para el E-200. A efectos prácticos, si suponemos que el método de John (1970) para la determinación del P en estos extractos milliporados por 0,025  $\mu\text{m}$  nos proporciona el P libre en disolución, se observa como este es muy bajo y que la fertilización aumenta en muy poca cuantía esta fracción soluble del P.

Por otra parte, los valores de  $r(1)/R$  siempre fueron inferiores a 0,2 excepto en LL A en el que se aproximó a 0,9. Esto parece significar que los suelos estudiados presentan una elevada capacidad tampón para el P (Tran et al., 1988; Salcedo et al., 1991). En el caso de Las Lajas, este valor se correspondería con suelos con baja capacidad para fijar fosfato (Frossard et al.,

**Tabla 1.** Concentración de P en la disolución del suelo ( $C_p$ ) después de añadir el P radiactivo durante el experimento de intercambio isotópico y cantidad de P intercambiado isotópicamente hasta 1 min (E1min) en las muestras estudiadas

Suelo	$C_p$ (mg l <sup>-1</sup> )	$r(1)/R^a$	$n^b$	E1min (mg kg <sup>-1</sup> )	E1min/ $C_p$ (l kg <sup>-1</sup> )
E-0	0,013	0,033±0,003	0,61±0,03	3,5	269
E-100	0,016	0,069±0,005	0,60±0,02	2,3	139
E-200	0,031	0,086±0,006	0,55±0,02	3,8	120
E Bw3	0,010	0,008±0,001	0,61±0,01	13,5	1323
LL A	0,016	0,879±0,007	0,04±0,01	0,18	11
K	0,014	0,010±0,001	0,36±0,05	15,3	1085

<sup>a</sup>Relación entre la radioactividad remanente en la disolución del suelo después de 1 min [ $r(1)$ ] y la radioactividad introducida (R).

<sup>b</sup> $n$  se ha determinado como la pendiente de la ecuación de regresión lineal entre  $\log [r(t)/R]$  y  $\log (t)$ . Se muestra el valor absoluto de  $n$  para cada muestra de suelo.

1993); sin embargo este suelo presenta una capacidad de retención para el fosfato del 95% (Departamento de Edafología, 1994). El carácter órganomineral de la muestra ( $Al_p/Al_o = 1,05$ ) podría ser un factor a tener en cuenta, pues la formación en el suelo de complejos órganominerales de P de gran estabilidad, podría no favorecer el intercambio entre el <sup>31</sup>P y el <sup>32</sup>P lo cual supondría que la actividad radiactiva del extracto siguiera siendo elevada y, por tanto, también el factor  $r(1)/R$ . Por otro lado, una parte de estos complejos son solubles en medio acuoso y en disolución podrían ser susceptibles de sufrir el proceso de intercambio isotópico: el <sup>32</sup>P se intercambiaría con el P presente en los complejos (AH-Al-P), dejando una elevada radiactividad en el extracto acuoso de este suelo.

En el caso de las muestras fertilizadas, la razón  $r(1)/R$  aumenta con el tratamiento pasando

de 0,03 en la muestra E-0 a 0,09 en la E-200. Sin embargo, estos valores están todavía muy por debajo del límite de 0,2 para suelos con alta capacidad de retención. Este resultado parece indicar que dosis de 200 mg kg<sup>-1</sup> de suelo son insuficientes para superar la capacidad tampón para el P en este suelo, rico en material alofánico. En este sentido, Frossard et al.(1994), encuentran que la aplicación de 100 mg de P soluble en agua por kg de suelo, incrementa el parámetro  $r(1)/R$ , duplicándose en el caso de los vertisoles cuyos valores de  $r(1)/R$  eran similares a los que presentaban las muestras E. Salcedo et al. (1991) en un experimento de invernadero y con fertilización de hasta 43,7 mg P kg<sup>-1</sup> de suelo, relaciona el incremento de  $r(1)/R$  con el incremento del P sorbido, pues al saturar con P las superficies de sorción disminuye la velocidad de desaparición de <sup>32</sup>P de la disolución. Sin

embargo, en el caso de los suelos E, la adición de hasta 200 mg P kg<sup>-1</sup> y debido a su capacidad tampón para el P, el incremento en r(1)/R es limitado en términos reales.

El parámetro cinético n varió de acuerdo con el tipo de suelo. Así los suelos alofánicos (E y E Bw) presentaron los valores máximos; el suelo fersialítico (K) presentó un valor de n inferior a las muestras alofánicas a pesar de tener entre ellas valores similares de r(1)/R. La muestra órganomineral (LL A) presentó el valor más elevado de r(1)/R (permanece en disolución cerca del 80% de la radiactividad introducida) que se correspondería, como se indicó anteriormente, con un suelo poco fijador de P lo cual entra en aparente contradicción con su capacidad de retención de fosfato. En capítulos anteriores quedó reflejada la mayor labilidad de las asociaciones del P con complejos Al-humus en este suelo, por lo que la permanencia del <sup>32</sup>P podría atribuirse a la interacción con estos complejos. En este sentido Larsen (1967) indica que en suelos ácidos, los valores de r(1)/R pueden subestimarse debido a la presencia de complejos de P y Al marcados en disolución que pueden ser detectados por el contador pero no por el análisis convencional de ortofosfato. mostró el valor mínimo de n a pesar de tener el valor más elevado de r(1)/R.

Por otro lado, n tiende a disminuir ligeramente con el tratamiento en las muestras fertilizadas del suelo E; Frossard et al. (1994) encuentran una drástica disminución de la constante n en Ultisoles cuando la muestra se somete a fertilización con P soluble; estos autores asocian este resultado, junto con el aumento de la relación r(1)/R, al aumento del P

en la disolución del suelo. Sin embargo, las muestras E presentan un aumento poco significativo del Cp con relación al tratamiento; esto parece indicar que el P soluble añadido ha sido fuertemente retenido por la fase sólida, sin descartar la posible inmovilización vía microbiana que en el caso de los Andosoles es menos importante que su capacidad tampón para el P (Frossard et al., 1995).

De los valores experimentales de Cp, r(1)/R y n se ha determinado el P isotópicamente intercambiable después de 1 min. (E1min). Este valor refleja la cantidad de iones ortofosfato que se encuentran libres en el sistema suelo-disolución y que es potencialmente disponible por la planta, pues se supone que estos iones no sufren ninguna transformación química en el suelo (Tran et al., 1988; Salcedo et al., 1991). Bajo estas condiciones, los suelos no fertilizados E Bw y K presentan valores de E1min típicas de suelos con un contenido medio de P disponible, mientras que LL A presentaría deficiencias en P. Sin embargo, todas estas muestras presentan una elevada capacidad para retener P; esto parece significar que el parámetro E1min sobreestima el P disponible en suelos ácidos.

En la muestra de suelo fertilizada E, el parámetro E1min parece indicar que, a pesar de aplicar dosis de hasta 200 mg P kg<sup>-1</sup>, el suelo sigue presentando una elevada capacidad de retención y, por tanto, un bajo contenido de P disponible. Los valores de E1min no varían significativamente con el tratamiento, situándose en los tres casos alrededor de 3 mg kg<sup>-1</sup>. Puesto que el parámetro r(1)/R sí aumenta significativamente con el tratamiento, el problema se encuentra o bien en la

determinación de  $C_p$  o en una inmovilización del P en posiciones de alta afinidad pero intercambiable isotópicamente.

Por otra parte, Fardeu et al. (1991) indican que la concentración  $C_p$  constituye una medida de del factor intensidad, mientras que el valor de  $E_{1min}$  parece ser representativa del factor cantidad (Tran et al., 1988). Estos autores adoptan la relación  $E_{1min}/C_p$  ( $l\ kg^{-1}$ ) como factor de capacidad o coeficiente de reparto. Los suelos E Bw y K presentarían, entonces, un elevado factor de capacidad mientras que el suelo órganomineral (LL A) no, a pesar de su elevada capacidad de retención. En el suelo fertilizado E, el factor capacidad parece disminuir con el tratamiento; esto significaría que la superficie reactiva del suelo comienza a saturarse en P, aunque sigue siendo elevado ( $120\ l\ kg^{-1}$ ) para el tratamiento mayor.

De todas maneras, la literatura indica que el parámetro  $C_p$  debe ser analizado con cautela dadas las características analíticas de su determinación. Algunos autores atribuyen esta sobreestimación del parámetro  $E_{1min}$  a errores que se cometen durante la determinación de  $C_p$  (Frossard et al., 1994), a la adsorción específica de una fracción de la radioactividad añadida (Amer et al., 1969; Wolf et al., 1986), a procesos microbianos (Oberson et al., 2001; Buehler et al., 2002) o bioquímicos (Oelh et al., 2001) de hidrólisis del P orgánico durante el proceso de intercambio isotópico.

### 3.2. Constantes medias asociadas al intercambio.

Los valores medios de velocidad de intercambio ( $k_m$ ) y de flujo transferido entre la fase sólida y líquida ( $F_m$ ) se recogen en la Tabla 2. Los valores de  $k_m$  variaron en función del tipo de suelo; así los más elevados correspondieron al suelo fersialítico (K) y el horizonte Bw3 de la Esperanza; sin embargo, el menor valor de todas las muestras de suelo (incluidas las fertilizadas) correspondió al suelo órganomineral (LL A). La constante  $k_m$  representa la velocidad de intercambio de iones fosfatos entre la fase líquida y el suelo, estando afectada por la composición de la fase sólida del suelo. Valores elevados de la constante indican que la cinética transcurre muy rápidamente y que por tanto la formación y transformación de compuestos fosfatados en la fase sólida del suelo transcurre de forma relativamente rápida (Barrow, 1980); esto está en concordancia con la elevada capacidad de retención que presentan para el P los suelos K y E Bw3.

El valor de  $k_m$  para la muestra de suelo órganomineral (LL A) puede atribuirse al efecto que las formas orgánicas y órganominerales del P ejercen sobre los parámetros  $r(1)/R$  y  $n$  de los cuales depende el valor de la constante cinética; esto parece señalar que en dicha muestra, el intercambio parece transcurrir entre estas formas solubles de P orgánico y el  $^{32}P$  en disolución, con una posible cinética mucho más rápida que entre la superficie y la disolución del suelo.

Por otra parte,  $k_m$  disminuye significativamente con la fertilización hasta  $100\ mg\ kg^{-1}$  de P, aunque cuando se duplica la dosis las diferencias entre E-100 y E-200 son

**Tabla 2.** Constantes medias de velocidad de intercambio y de flujo transferido (Fardeau et al., 1991).

Suelo	$K_m(\text{min}^{-1})$	$T_m$ (min)	$F_m$ ( $\text{mg kg}^{-1} \text{min}^{-1}$ )
E-0	159	0,006	21
E-100	51	0,019	8
E-200	48	0,021	15
E Bw3	1749	$6 \times 10^{-4}$	131
LL A	19	0,053	3
K	138200	$7 \times 10^{-6}$	12440

mínimas; esto parece indicar que a medida que el tratamiento aumenta, el intercambio con la fase sólida va disminuyendo y que, por tanto, el intercambio podría ocurrir, *ad hoc*, con las formas solubles presentes en disolución. Es interesante hacer notar que esta disminución en  $k_m$  ha ido aparejada con el aumento del carbono orgánico disuelto (COD) en los extractos (Tabla 5); esto significa que tanto este parámetro como de los que depende, podrían estar afectados por el contenido de COD presente en disolución. El parámetro inverso a  $k_m$ ,  $T_m$ , que representa el tiempo necesario para que una cantidad de iones fosfato presente en la disolución del suelo sea renovada en su totalidad por una cantidad igual proveniente de la fase sólida (Fardeau et al., 1991), es bastante bajo (muy por debajo a 1 min) en todos los suelos (incluido el sometido a fertilización); estos valores parecen indicar que los iones ortofosfato que se encuentran en disolución, reaccionan muy rápidamente con la fracción coloidal presente en la suspensión o con la superficie reactiva del suelo. Estos resultados, ponen de manifiesto que el reparto entre la fase

sólida y líquida del suelo de las diferentes fracciones de P en este tipo de suelos parece ocurrir a través de una cinética rápida.

Por otro lado, la constante  $F_m$  varió significativamente entre suelos; así el valor más elevado, con diferencia, correspondió a la muestra de suelo K, mientras que LL A presentó el valor más bajo. Este parámetro representa el flujo medio de intercambio y de transferencia de iones fosfato entre la fase sólida y líquida del suelo. Así, niveles de  $F_m$  superiores a  $80 \text{ mg kg}^{-1} \text{min}^{-1}$  indican, según Fardeau et al. (1991), que el P no constituye un factor limitante para el crecimiento de los cultivos. Esto parece significar que las muestras K y E Bw3 no deberían presentar problemas en cuanto a disponibilidad del macronutriente lo cual vuelve a entrar en contradicción con la capacidad de retención que presentan las muestras estudiadas.

### 3.3. Análisis compartimental del P intercambiado isotópicamente

**Tabla 3.** Contenido de P ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en las diferentes fracciones intercambiables calculadas a partir del análisis multicompartimental (Ec. 7) de Fardeau (1993).

Muestra	E1min	E1min-1d	E1d-40d	E40d-1A	E>1A
E-0	3,9	830	307	42	17
E-100	2,3	829	236	24	8,3
E-200	4,0	886	101	8	2,5
E Bw3	13	1154	30	1,9	0,5
K	16	563	264	80	54
LL A	0,19	0,6	0,3	0,2	998

El contenido de P en cada fracción del modelo compartimental se calculó según la descripción hecha por Fardeau (1993) representada por la Ec. 7. El contenido de P en la fracción que indica la cantidad de P libre en el sistema se aproximó al valor dado por E1min (Tran et al., 1988). El P contenido en el compartimiento E1min-1d se calculó como la diferencia entre E1d y E1min. El contenido de P en los compartimientos E1d-40d y E40d-1A se calcularon como E40d-E1d y E1A-E40d respectivamente. El P del último compartimiento (E>1A) se calculó como la diferencia entre el P inorgánico total del suelo (PI) y E1A. Este cálculo es posible debido a la validez de la expresión general para E(t) la cual puede extrapolarse para una duración del proceso de intercambio superiores a 12 semanas (Frossard et al., 1994; Bühler et al., 2003). Los valores de PI rondaron los  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  para los suelos forestales y entre los  $1000$  y  $1250 \text{ mg kg}^{-1}$  para los diferentes tratamientos del suelo fertilizado E (datos no mostrados). La

Tabla 3 recoge estos valores de P calculados para los diferentes períodos de intercambio.

Como ocurrió para los parámetros cinéticos de intercambio, el contenido en P de los diferentes compartimientos varió según el tipo de suelo y con la fertilización. Así se encontraron valores de P libre (E1min) superiores a  $10 \text{ mg P kg}^{-1}$  para las muestras LE Bw y K, mientras que para LL A este compartimiento se situó alrededor de  $1 \text{ mg P kg}^{-1}$ . El suelo fertilizado E presentó valores de E1min que oscilaron entre los  $2,3 \text{ mg P kg}^{-1}$  para el tratamiento 100 y los  $4,0 \text{ mg P kg}^{-1}$  para el tratamiento 0, aunque el tratamiento 200 fue ligeramente inferior a este último. Las mayores cantidades de P más lentamente intercambiable correspondió al suelo LL A, mientras que las cantidades mínimas correspondieron a LE Bw. El suelo fertilizado E también presentó esta tendencia; así el valor más bajo correspondió al tratamiento 0 ( $2 \text{ mg kg}^{-1}$ ), le siguió el tratamiento 100 ( $8 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y finalmente la



cantidad mayor correspondió al tratamiento 200 (17 mg kg<sup>-1</sup>).

Todas las muestras, excepto LL A e incluyendo las fertilizadas, presentaron el máximo de intercambio en el compartimiento E1min-1d, superándose los 1000 mg P kg<sup>-1</sup> en el suelo LE Bw. El resto de compartimientos (E1d-40d, E40d-1A y E>1A) fueron decreciendo paulatinamente su contenido en P, aunque disminuyó muy rápidamente para LE Bw. LL A presenta en sus compartimientos cantidades de P muy bajas, inferiores a 0,5 mg P kg<sup>-1</sup> para cada uno de ellos.

Los resultados obtenidos indican que la muestra fertilizada E y la órganomineral (LL A) presentan valores de P disponible bajos, inferiores a 5 mg kg<sup>-1</sup>; este valor de E1min se ha considerado como límite para afirmar que un suelo presenta deficiencias de P (Tran et al., 1988). Esto contradice el resultado que para la muestra LL A se obtuvo con los parámetros cinéticos de intercambio. Este resultado, apoyaría la hipótesis del intercambio de P radiactivo en disolución con las formas solubles órganominerales del P presentes en fase acuosa lo que podría explicar la alta radioactividad remanente que presenta dicha muestra.

Por otra parte, los resultados de E1min parecen indicar que las muestras LE Bw y K no presentan, *a priori*, deficiencias de P. Este dato vuelve a entrar en contradicción con la elevada capacidad de retención que presentan estos suelos para el macronutriente. Sin embargo, el elevado porcentaje del P intercambiado en el compartimiento E1min-1d que, para Frossard et al. (1995) representa el período de tiempo en el cual una raíz simple puede tomar activamente P,

sugiere que la disponibilidad del P estaría limitada a solo 24 h, ya que el intercambio a más largo plazo parece estar limitado y, por tanto, el posible P potencialmente disponible estaría fuertemente retenido por las superficies activas de los suelos, en forma de fosfatos de Al (variscita) y Fe (strengita) o complejos ternarios del tipo AH-P-Al(Fe). En este sentido, consideramos espectacular la caída del P intercambiado en la muestra LE Bw que de 1100 mg P kg<sup>-1</sup> potencialmente intercambiable en el compartimiento E1min-1d, pasa a 30 mg P kg<sup>-1</sup> en el compartimiento E1d-E40d.

#### 3.4. Experimento con membrana de resina y P radioactivo en las muestras fertilizadas

Hamon y McLaughlin (2002) en un trabajo sobre las interferencias que tiene el proceso analítico de determinación del P sobre el parámetro E, indican que el uso de membranas de intercambio aniónico (MIA) durante el proceso cinético de intercambio isotópico disminuye las interferencias causadas por el P no intercambiable isotópicamente asociado a los coloides del suelo, concentrando el P procedente de la fracción lábil. Maertens et al. (2004), por otra parte, modifican el procedimiento analítico diseñado por los dos autores anteriores añadiendo una MIA una vez que el intercambio isotópico ha finalizado de tal manera que ésta solo debería extraer ortofosfato de la fracción lábil, independientemente del isótopo que se trate, ya que la membrana no tendría ningún tipo de selectividad sobre alguno de ellos (<sup>31</sup>P o <sup>32</sup>P) en las posiciones de enlace de su matriz. Los resultados de estos autores parecen dar buenos

resultados en aquellos suelos donde el P soluble se encuentra cerca del límite de detección del método colorimétrico.

Debido a los resultados que hemos obtenido anteriormente, nos hemos planteado la necesidad de estudiar, de forma indirecta mediante la MIA, la importancia que en el mecanismo de intercambio isotópico tienen tanto el P orgánico como los complejos organominerales de P-Al en los suelos de naturaleza volcánica. Para ello, hemos hecho uso de una MIA que por sus características permiten, *a priori*, separar la fracción inorgánica de la orgánica de los extractos acuosos en los que se realiza el intercambio radiactivo.

#### 3.4.1. Método experimental

A 10g de suelo fertilizado (suelo E) se añadieron 100 ml de agua, permaneciendo el sistema en agitación durante 16 h; a 20 ml de las suspensiones, centrifugadas y filtradas por 0,025  $\mu\text{m}$ , le fue añadida una 1 MIA (para la descripción de las membranas, véase el capítulo III.4). El nuevo sistema continuó en agitación durante 16 h, separando al final de este proceso la disolución remanente, sometiendo posteriormente a la membrana a dos extracciones sucesivas: (a) NaCl 1N, tiempo de agitación 1 h y (b) NaOH 1 N, tiempo de agitación 1 h. En estos eluatos se determinó el P reactivo (Cl-P y OH-P, respectivamente) mediante colorimetría directa (Murphy y Riley, 1962) y el P total (Cl-PT y OH-PT) mediante el método del persulfato potásico (Hedley et al., 1982); también se determinaron el pH, el carbono orgánico (CO)

(Barlett y Ross, 1988), el Al monómero (Al-4Cl y Al-4OH) presente mediante el método del violeta de pirocatecol con 4 min de contacto (Seip et al., 1984) y el Si por colorimetría (Weaver et al., 1968). En la disolución remanente antes separada (sobrenadante de la MIA) se determinaron tanto el P reactivo (PRR) como el P total presente (PTR).

Las extracciones se realizaron por triplicado, con tres blancos sin MIA. En estos se determinaron el pH, el P reactivo (PR), el P total (PT), el COD y el Al monómero (Al-4); también se determinó el pH en NaF, indicador de la presencia de alofanas en el medio.

El proceso se repitió añadiendo a las suspensiones suelo-agua 1 ml de  $^{32}\text{P}$  (20000-50000 cpm), con un tiempo de intercambio entre isótopos de 1 h. Una vez finalizada esta fase, las suspensiones se filtraron a través de filtros Millipore de 0,025  $\mu\text{m}$ , midiéndose la radioactividad remanente en los extractos. A continuación se tomaron 20 ml de la disolución Cp, añadiéndole 1 MIA tal y como se detalló anteriormente. En los eluatos de resina se determinaron la radioactividad extraída por el NaCl y el NaOH. Este experimento fue realizado, al igual que el anterior, por triplicado.

#### 3.4.2. Balance de fósforo, carbono orgánico y aluminio en los extractos y membrana de intercambio aniónico

Los valores de PR aumentaron con el tratamiento de P aplicado a los suelos, aunque el PT en los extractos triplicaba e incluso

cuadruplicaba al PR (Tabla 4). Esto parece indicar que una parte del P presente en los extractos era orgánico no hidrolizable por el molibdato. Este resultado discrepa con el encontrado por Hens y Merckx (2001) quienes indican que el P que es capaz de atravesar un filtro de 0,025  $\mu\text{m}$  es el hidrolizable por el reactivo molíbdico. El Si no pareció interferir en los datos de P pues sus valores siempre se mantuvieron por debajo del límite de detección del método (0,4 mg Si l<sup>-1</sup>).

Por otra parte, en la muestra E-0 se observa como gran parte del PT es retenido por la membrana ( $\Sigma\text{PTMIA}$ ), aunque para los tratamientos E-100 y E-200 esta cifra es de solo un 50% (Tabla 4).

La mayor parte del PR parece estar fuertemente asociado a la MIA. Para la muestra E-0, el NaCl es incapaz de recuperar PR, mientras que para los tratamientos E-100 y E-200 la disolución salina eluye poco más del 10% de esta fracción. El NaOH, por otra parte, se muestra como un mejor agente eluyente para el P (OH-P) que el NaCl (Cl-P), aunque de todas maneras en la MIA queda una cantidad de P residual ( $\Delta\text{P}$ ) que resiste a ambos tratamientos (Tabla 4); también es de interés señalar que la cantidad de PRR después de la extracción con la MIA, no presenta diferencias significativas con el correspondiente PTR que queda en disolución. Esto parece poner de manifiesto el posible carácter orgánico de estas fracciones, una muy afín a la membrana mientras que la otra es netamente hidrófila. Por otra parte, tanto el P residual que permanece en la MIA ( $\Delta\text{P}$ ) como el P remanente en disolución (PRR) aumentan con la fertilización; esto hace sospechar que el

fosfato aplicado desplazaría parte de la materia orgánica ligada a la superficie de los óxidos de Fe y Al y con ella el posible P orgánico u organomineral asociado, facilitando entonces su mineralización (Kudeyarova, 1991).

La idea anterior parece ser consistente con los valores de C orgánico disuelto encontrados en los extractos (COD) y en los eluatos de MIA (carbono orgánico fijado en la membrana, CO) (Tabla 5). Así el COD extraído y el CO en los eluatos alcalinos aumentaron con la fertilización; sin embargo no se detectó CO en los eluatos de NaCl. Esto podría explicarse a través del efecto que la fuerza iónica del agente eluyente ejerce sobre la conformación espacial de la materia orgánica retenida. Esto podría suponer que grupos funcionales no ionizados asociados a la materia orgánica disuelta que en principio no estuviesen fijados a las posiciones de cambio de la MIA ahora si lo estén y por tanto, se liberaría P de esta matriz orgánica y no CO.

Por otra parte la cantidad de Al monómero, al igual que el CO y el P, aumenta con la fertilización (Tabla 5). Esto parece significar que una parte muy importante del P estaría asociado a complejos ternarios P-Al-AF dada la presencia de Al en los eluatos de NaOH, aunque no se detectó en los eluatos de NaCl; esto podría deberse a la influencia de la fuerza iónica sobre la materia orgánica, tal y como se comentó anteriormente para el caso del P, pero que en el caso del Al haría posible que este elemento, asociado al P y a la materia orgánica, posiblemente de naturaleza fúlvica, retenida en la MIA no pasase a la disolución salina por estar fuertemente retenido al CO; solo bajo la acción del NaOH como eluyente,

**Tabla 4.** Balance del P en los extractos y eluatos y disoluciones remanentes de la MIA ( $\mu\text{g l}^{-1}\pm\text{ESM}$ ).

Suelo	PR	PT	Cl-P	OH-P	Cl-PT	OH-PT	$\Sigma\text{PTMIA}^*$	PRR	PTR	$\Sigma\text{P}^{**}$	$\Delta\text{P}^{***}$
E-0	12 $\pm$ 1	21 $\pm$ 1	1.d.	19 $\pm$ 2	1.d.	19 $\pm$ 1	19	1.d.	1.d.	19	2
E-100	17 $\pm$ 1	60 $\pm$ 4	3,4 $\pm$ 0	31 $\pm$ 3	4,0 $\pm$ 0,5	31 $\pm$ 3	35	18 $\pm$ 2	19 $\pm$ 2	54	6
E-200	31 $\pm$ 2	137 $\pm$ 11	11 $\pm$ 1	53 $\pm$ 4	12 $\pm$ 1	54 $\pm$ 4	64	56 $\pm$ 4	60 $\pm$ 4	124	13

\*Cl-PT+OH-PT; \*\* $\Sigma\text{PTMIA}+\text{PTR}$ ; \*\*\*  $\Delta\text{P}$  residual en la membrana de resina no extraíble por los tratamientos con NaCl y NaOH (PT- $\Sigma\text{P}$ )

1.d.: límite de detección; ESM: error estándar de la media

**Tabla 5.** Caracterización de los extractos y eluatos de resina.

Suelo	pH	pH-NaF	COD	Al-4	Si	pH-Cl	CO-Cl	Al-4Cl	pH-OH	CO-OH	Al-4OH
E-0	6,8 $\pm$ 0,4	9,4 $\pm$ 0,2	3,7 $\pm$ 0,7	10 $\pm$ 1	1.d.	9,0 $\pm$ 0,2	1.d.	1.d.	11,9 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,4	5 $\pm$ 1
E-100	6,4 $\pm$ 0,1	10,0 $\pm$ 0,4	8,7 $\pm$ 0,9	19 $\pm$ 2	1.d.	8,3 $\pm$ 0,2	1.d.	1.d.	11,9 $\pm$ 0,1	4,4 $\pm$ 0,5	14 $\pm$ 2
E-200	6,2 $\pm$ 0,1	10,8 $\pm$ 0,4	15 $\pm$ 1	28 $\pm$ 2	1.d.	8,0 $\pm$ 0,3	1.d.	1.d.	11,9 $\pm$ 0,2	7,0 $\pm$ 0,5	20 $\pm$ 2

COD: Carbono orgánico disuelto ( $\text{mg l}^{-1}$ ); CO = Carbono orgánico en la membrana.  
Al-4: Al monómero ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )  
Cl: eluato de NaCl, OH: eluato de NaOH

pH-NaF = pH del eluato al añadir NaF; 1.d.: límite de detección;  $\pm\text{ESM}$ : error estándar de la media

**Tabla 6.** Análisis de la radioactividad en los extractos (Cp), eluatos de la membrana de resina (NaCl y NaOH) y su sobrenadante (cpm).

<i>Suelo</i>	<i>E-0</i>	<i>E-100</i>	<i>E-200</i>
Cuentas-Cl	14,7	10,7	10,9
Cuentas-OH	9,0	9,5	9,2
Cuentas-Sob	34,0	105,3	45,2
$\Sigma$ Cuentas	57,7	125,5	65,3
Cuentas Cp	54,9	158,8	200,9
Radioactividad residual en resina	0	33,3	135,6

**Tabla 7.** Análisis compartimental de las fracciones de P después del intercambio isotópico en los suelos fertilizados, previas al tratamiento con la membrana de intercambio aniónico (MIA). Cp-PR y Cp-PT= P reactivo y total de los extractos ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), E ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), tiempo = 1 minuto, 1 día y 40 días.

<i>Suelo</i>	<i>E-0</i>	<i>E-100</i>	<i>E-20</i>
Cp-PR	12,2 $\pm$ 1,3	17,0 $\pm$ 0,7	31,4 $\pm$ 1,3
E1min	3,9	2,3	3,8
E1d	889	831	834
E40d	989	1067	1141
E1min-1d	830	829	886
E1d-40d	307	236	101
Cp-PT	21,4 $\pm$ 0,7	59,6 $\pm$ 0,3	137,4 $\pm$ 0,6
E1mint	6,5	8,8	16,2
E1dt	932	1014	1090
E40dt	994	1091	1186
E(1min-1d)t	926	1005	1074
E(1d-40d)t	62	77	96
$\Delta$ E1d	43	183	256
$\Delta$ E1min	2,6	6,5	12,4
$\Delta$ E40d	5	24	45

**Tabla 8.** Análisis compartimental de las fracciones de P después del intercambio isotópico en los suelos fertilizados y posterior extracción con membrana de intercambio aniónico (MIA). Cp-Cl-PR y Cp-OH-PR = P reactivo en los eluatos de NaCl y NaOH en la MIA ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ); E( $\text{mg kg}^{-1}$ ), tiempo = 1 minuto, 1 día y 40 días.

<i>Suelo</i>	<i>E-0</i>	<i>E-100</i>	<i>E-200</i>
Cp-Cl-PR	0	3,4±0,3	10,8±0,8
E1min-Cl	0	0,5	1,3
E1d-Cl	0	455	525
E40d-Cl	0	966	1041
E1min-1d(Cl)	0	455	524
E1d-40d(Cl)	0	511	516
Cp-OH-PR	19,1±0,1	30,6±0,1	53,2±0,9
E1min-OH	6,1	4,5	6,3
E1d-OH	924	945	952
E40d-OH	993	1051	1164
E1min-1d(OH)	918	941	946
E1d-40d(OH)	69	106	212
$\Delta\text{E1min}$	6,1	4,0	5,0
$\Delta\text{E1d}$	924	490	427
$\Delta\text{E40d}$	993	85	123

el Al monómero y el CO abandonarían la matriz de la membrana intercambiadora. En este sentido, señalar que el pH de los eluyentes salino y alcalino no variaron lo cual es indicativo que el proceso de extracción de la membrana fue independiente de este parámetro.

Por último, poner de manifiesto que el balance de P (Tabla 4) y de radioactividad (Tabla 6) en el global del proceso indica que existe una parte del P, parte del él radiactivo, que es retenido por la membrana a pesar de las extracciones sucesivas con NaCl y NaOH.

Posiblemente este P estaría asociado a complejos órgano-alumínicos que no son solubles o intercambiables a pH elevados. Se ha observado que a pH y relaciones Al/C elevadas, el Al puede presentarse en forma de complejos órgano-alumínicos insolubles (Jasen et al., 2002; Nierop et al., 2002) lo que avalaría, en parte, nuestro análisis.

*3.4.3. Análisis multicompartimental y estocástico del P intercambiable en ausencia y presencia de MIA*

En las Tablas 7 y 8 se recogen, respectivamente, los análisis compartimentales en ausencia y presencia de una MIA en los extractos acuosos filtrados por 0,025  $\mu\text{m}$ . Para el primer caso, los valores de E para el P reactivo (PR) ya se analizó en las secciones anteriores. Es interesante hacer resaltar como los elevados valores de PT en cada uno de los extractos, elevan significativamente los valores de E1min (Tabla 7) hasta alcanzar cifras que, en principio, no contemplarían al P como un elemento limitante de los cultivos (Tran et al., 1988). Gran parte de este P, tanto hidrolizable como no hidrolizable por el molibdato, sería de naturaleza orgánica u órganomineral. Por otro lado se observa como la inmensa mayoría del P es intercambiable entre 1 min. y 1 día, aumentando muy poco con el tratamiento de fertilización al cual fue sometida la muestra (el parámetro parece no ser sensible al proceso de fertilización). Esto parece significar que los valores de E en el extracto acuoso están muy condicionados por la determinación analítica del P reactivo que, como se observa, hace que los valores de E1min estén sobreestimados y que, por tanto, este parámetro no constituiría una medida representativa de la fracción lábil del P en Andosoles y suelos ándicos.

Sin embargo, el análisis compartimental de las fracciones de P utilizando la MIA (Tabla 8) arroja resultados que son más acordes con la falta de respuesta que presentan los cultivos cuando los suelos ándicos y Andosoles son sometidos a fertilización. En concreto, los valores de E1min en los eluatos de NaCl indican que las cantidades de P intercambiables son muy bajas, desde 0 mg kg<sup>-1</sup>

<sup>1</sup> para E-0 (no existe P lábil disponible) hasta los 1,3 mg kg<sup>-1</sup> para E-200 (disponibilidad muy limitada a pesar de la fertilización). Sin embargo, estos valores son muy superiores en los eluatos de NaOH lo que da cuenta, junto con los valores de CO y Al obtenidos (Tabla 6), que este P constituye una fracción importante del P total del extracto que hace que los valores de E1min estén sobreestimados en el caso del intercambio isotópico normal. Estos datos ponen de manifiesto que el uso de la MIA, utilizando como eluyente el NaCl, es mucho más selectivo a la hora de limitar la fracción del P lábil extraído (P disponible por la planta) y que los resultados son compatibles con la elevada capacidad de retención del P que presentan los Andosoles y suelos ándicos que limita la presencia de P lábil en la disolución del suelo.

Por otro lado, también se observa como los valores de E entre 1 min-1 día y entre 1 día-40 días en los eluatos muestran un crecimiento mucho más lento, aumentando con la fertilización, siendo prácticamente la mitad que en el caso de los extractos sin MIA. Para el caso de los eluatos de NaOH, prácticamente todo el P sería intercambiable entre 1 min. y 1 día. Esto indica que un tratamiento de 200 mg kg<sup>-1</sup> de P es insuficiente para que el suelo pueda responder a las necesidades fosfóricas que puedan necesitar los cultivos.

El análisis estocástico del intercambio isotópico utilizando la MIA (Tabla 9) arroja como dato significativo los bajos valores del flujo neto de intercambio. Los valores de  $F_m$  en los eluatos de NaCl oscilaron entre 0 para E-0 (flujo nulo de nutriente entre la fase sólida y

**Tabla 9.** Análisis estocástico del intercambio isotópico en los eluatos de las membranas de resina de los suelos fertilizados.  $K_m$  ( $\text{min}^{-1}$ ),  $T_m$  (min),  $F_m$  ( $\text{mg kg}^{-1} \text{min}^{-1}$ ),  $C_pR = P$  reactivo ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ),  $C_pT = P$  total del extracto ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ),  $MIACl =$  membrana eluída con  $\text{NaCl}$  ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ),  $MIAOH =$  membrana eluída con  $\text{NaOH}$  ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ),  $MIAt = PR[\text{eluato NaCl} + \text{NaOH}$  ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )]. Las concentraciones empleadas para calcular el parámetro  $F$  se expresaron en  $\text{mg kg}^{-1} \text{min}^{-1}$ .

<i>Suelo</i>	<i>E-0</i>	<i>E-100</i>	<i>E-200</i>
n	0,61	0,60	0,55
r1/R	0,033	0,069	0,086
$k_m$	159	51	48
$T_m$	0,006	0,019	0,021
$F_{m-CpR}$	14,4	6,7	13,5
$F_{m-CpT}$	25,6	25,3	58,5
$F_{m-MIACl}$	0	1,4	4,6
$F_{m-MIAOH}$	22,9	13,0	22,6
$F_{m-MIAt}$	22,9	14,5	27,7
$F_{m-CpR}-F_{m-MIACl}$	14,4	5,3	8,9
$F_{m-CpR}-F_{m-MIAOH}$	-8,5	-6,3	-9,1
$F_{m-CpT}-F_{m-MIAt}$	2,7	10,8	30,8

acuosa del suelo) y  $4,6 \text{ mg kg}^{-1} \text{min}^{-1}$  que son indicativos de lo limitado que se encuentra el P en el suelo. En el caso de los eluatos de  $\text{NaOH}$  los datos son más elevados pero aún bajos comparados con la bibliografía (Fardeau et al., 1991; Frossard et al., 1995). Como señalamos anteriormente, Fardeau et al.(1991) sugiere que cuando los valores de  $E_{\text{min}}$  son inferiores a  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  y de  $F_m$  son inferiores a  $80 \text{ mg kg}^{-1} \text{min}^{-1}$  son indicativos de que el P es un factor limitante para el crecimiento de las plantas en este tipo de suelos como el estudiado.

#### 4. Conclusión

Los resultados ponen de manifiesto las dificultades del método clásico de la cinética de intercambio en la determinación del P lábil en Andosoles debido a la presencia de fracciones no reactivas del P frente al reactivo molíbdico en los extractos acuosos filtrados por  $0,025 \mu\text{m}$ . La presencia de Al y COD también indica la importancia que tanto el P orgánico como la posible presencia en disolución de complejos de P-Al-AF tienen en el contenido y dinámica del P lábil, así como en el proceso de intercambio isotópico que hace, desde el punto de vista analítico, la sobreestimación del parámetro  $E_{\text{min}}$ .



Debemos realizar una autocrítica con la aplicación de esta metodología a suelos con una elevada capacidad de retención de P, dado los bajos valores de concentración observados en disolución. Fardeau et al. (1994) indican que al comienzo de cualquier experimento de intercambio isotópico en estos casos tan desfavorables, la relación entre el  $^{32}\text{P}$  añadido y el  $^{31}\text{P}$  presente es de uno radiactivo por cada 2000 no radiactivo. Dado que el suelo no tiene preferencia por ninguno de estos isótopos, no hay razón para suponer una adsorción específica de  $^{32}\text{P}$  y por tanto en estos sistemas altamente reactivos, la concentración de ortofosfato libre permanece relativamente baja. Por ello se recomienda la preconcentración con resinas aniónicas antes de su determinación (Salcedo et al., 1991).

El uso de la MIA como agente extractante del P libre (radiactivo o no) en disolución una vez finalizado el proceso de intercambio, pone de manifiesto que:

- 1) Las extracciones sucesivas con NaCl y NaOH han permitido diferenciar varias fracciones de P.
- 2) Si se usa en primer lugar el NaCl, este se ha mostrado como un agente más selectivo a la hora de extraer la fracción lábil, obteniéndose unos valores de  $E_{\text{Imin}}$  de acuerdo con la elevada capacidad para fijar fosfato que presentan estos suelos. El flujo neto de transferencia desde la fase sólida a la acuosa del suelo ( $F_m$ ), calculada sobre la base anterior, también está en concordancia con las propiedades de estos suelos.
- 3) La presencia de C y Al, además de P, en los eluatos de NaOH da consistencia a la idea

de la existencia de complejos organominerales de P-Al-AF solubles en los extractos acuosos.

- 4) La radioactividad remanente en la MIA indica que existe una fracción de P que es resistente a la extracción sucesiva con estos eluyentes lo que pone de manifiesto que existe una fracción de P más compleja (de naturaleza orgánica o compuestos condensados inorgánicos solubles) que son muy afines a la matriz de la membrana.

El uso de la MIA en la cinética de intercambio isotópico abre nuevas posibilidades experimentales en el estudio del P lábil disponible para las plantas, así como los procesos de transferencia desde la fase sólida a la acuosa en Andosoles y suelos ándicos.

## 5. Referencias

- Amer, F.; Mahdi, S.; Alradi, A. 1969. Limitations in isotopic measurements of labile phosphate in soils. *Journal of Soil Science* 20, 91-100.
- Bartlett, R. J.; Ross, D. S. 1988. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. *Soil Science Society of America Journal* 52, 1191-1192.
- Barrow, N. J. 1978. The description of phosphate adsorption curves. *Journal of Soil Science* 29, 447-462.
- Barrow, N. J. 1979. The description of desorption of phosphate from soil. *Journal of Soil Science* 30, 259-270.
- Buehler, S.; Oberson, A.; Rao, I. M.; Friesen, D. K.; Frossard, E. 2002. Sequential phosphorus extraction of a  $^{33}\text{P}$ -labeled Oxisol under contrasting agricultural systems. *Soil Science Society of America Journal* 66, 868-877.

- Chapman, P. J.; Edwards, A. C.; Shand, C. A. 1997. The phosphorus composition of soil solutions and soil leachates: Influence of soil:solution ratio. *European Journal of Soil Science* 48, 703-710.
- Chardon, W. J.; Blaauw, D. 1998. Kinetic Freundlich equation applied to soils with a high residual phosphorus content. *Soil Science* 163, 30-35.
- Departamento de Edafología y Geología. 1984. Guía de Campo del Congreso Internacional de Suelos Volcánicos. Servicio de Publicaciones de Universidad de La Laguna, Tenerife.
- Domínguez, J.; Negrín, M. A.; Rodríguez, C. M. 2003. Evaluating soil sodium indices in soils of volcanic nature conducive or suppressive to Fusarium wilt of banana. *Soil Biology & Biochemistry* 35, 565-575.
- Fardeau J. C. 1981. Cinétique de Dilution Isotopique et Phosphore Assimilable des Sols. Thèse de doctorat d'état, Paris 6, 198p.
- Fardeau, J. C. 1993. Le phosphore assimilable des sols: sa représentation par un modèle fonctionnel à plusieurs compartiments. *Agronomie* 13, 317-331.
- Fardeau, J. C.; Jappé J. 1976. Nouvelle méthode de détermination du phosphore assimilable par les plantes: extrapolation des cinétiques de dilution isotopique. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences Paris* 282D, 1137-1140.
- Fardeau, J. C.; Jappé J. 1988. Valeurs caractéristiques des cinétiques de dilution isotopique des ions phosphate dans les systèmes sol-solution. En: Gachon, L. (Ed.), *Phosphore et Potassium dans les Relations Sol-Plante: Conséquences sur la Fertilisation*. INRA Editions, Paris, pp. 79-99.
- Fardeau, J. C.; Morel, C.; Boniface, R. 1991. Cinétiques de transfert des ions phosphate du sol vers la solution du sol: paramètres caractéristiques. *Agronomie* 11, 787-797.
- Fox, R. L. 1980. Soils with variable charge: agronomic and fertility aspects. En: Theng, B. K. G. (Ed.), *Soils with Variable Charge*, New Zealand Society of Soil Science, Palmerston North, pp. 195-224.
- Frossard, E.; Sinaj, S. 1997. The isotope exchange kinetic technique: a method to describe the availability of inorganic nutrients. *Applications to K, P, S and Zn. Isotopes in Environmental and Health Studies* 33, 61-77.
- Frossard, E.; Sinaj, S.; Dufour, P. 1996. Phosphorus in urban sewage sludges as assessed by isotopic exchange. *Soil Science Society of America Journal* 60, 179-184.
- Frossard, E.; Fardeau, J. C.; Brossard, M.; Morel, J. L. 1994. Soil isotopically exchangeable phosphorus: a comparison between E and L values. *Soil Science Society of America Journal* 58, 846-851.
- Frossard, E.; Brossard, M.; Hedley, J. M.; Metherell, A. 1995. Reactions controlling the cycling of P in soils. En: Tiessen, H. (Ed.) *Phosphorus cycling in terrestrial and aquatic ecosystems: A global perspective*, SCOPE 54, John Wiley, New York, pp. 107-137.
- Frossard, E.; Feller, C.; Tiessen, H.; Stewart, J. W. B.; Fardeau, J. C.; Morel, J. L. 1993. Can an isotopic method allow for the determination of the phosphate-fixing capacity of soils? *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 24, 367-377.
- Hamon, R. E.; McLaughlin, M. J. 2002. Interferences in the determination of isotopically exchangeable P in soils and a method to minimize them. *Australian Journal of Soil Research* 40, 1-15.

- Haygarth, P. M.; Warwick, M. S.; House, W. A. 1997. Size distribution of colloidal molybdate reactive phosphorus in river waters and soil solution. *Water Research* 31, 439-448.
- Hedley, M.J.; Stewart, J. W. B.; Chauhan, B. S. 1982. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal* 46, 970-976.
- Hendricks, S. B.; Dean, L. A. 1947. Basics concepts of soil and fertilizer studies with radioactive phosphorus. *Soil Science Society of America Proceedings* 12, 18-100.
- Hens, M.; Merckx, R. 2001. Functional characterization of colloidal phosphorus species in soil solution of sandy soils. *Environmental Science and Technology* 35, 453-500.
- Holford, I. C. R. 1997. Soil phosphorus: Its measurement, and its uptake by plants. *Australian Journal of Soil Research* 35, 227-239.
- Jansen, B.; Nierop, K. G. J.; Verstraten, J. M. 2002. Influence of pH and metal/carbon ratios on soluble organic complexation of Fe(II), Fe(III) and Al in soil solutions determined by diffusive gradients in thin films. *Analytica Chimica Acta* 454, 259-270.
- John, M. K. 1970. Colorimetric determination of phosphorus in soil and plant materials with ascorbic acid. *Soil Science* 109, 214-220.
- Kudeyarova, A. 1991. Ability of phosphate to replace organic compounds in soil organo-mineral compounds. *Eurasian Journal of Soil Science (Pochvovediye)* 31, 31-44.
- Larsen, S. 1967. Soil Phosphorus. *Advances in Agronomy* 19, 151-210.
- Maertens, M.; Thijs, A.; Smolders, E.; Degryse, F.; Cong, P. T.; Merckx, R. 2003. An anion resin membrane technique to overcome detection limits of isotopically exchanged P in P-sorbing soils. *European Journal of Soil Science* 55, 63-69.
- Masson, P.; Morel, C.; Martin, E.; Oberson, A.; Friesen, D. 2001. Comparison of soluble P in water extracts determined by ion chromatography, colorimetric and ICP techniques in ppb range. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 33, 2241-2253.
- Morel, C. 2001. The effects of soil solution P and time on the transfer of phosphate ions in soils from the IMPHOS European Network. En: Johnston, A. E.; Ehlert, P. A. I.; Kueke, M.; Amar, B.; Jaggard, K. W.; Morel, C. (Eds), *The Effect of Phosphate Fertilizer Management Strategies on Soil Phosphorus Status and Crop Yields in Some European Countries*. Actes Editions, Rabat, pp. 103-122.
- Morel, C.; Plenchette, C. 1994. Is the isotopically exchangeable P of a loamy soil the available P to growing roots? *Plant & Soil* 158, 287-297.
- Morel, C.; Torrent, J. 1997. Sensitivity of isotopically exchangeable phosphate in soil suspensions to the supporting solution. *Soil Science Society of America Journal* 61, 1044-1052.
- Morel, C.; Tunney, H.; Plénet, D.; Pellerin, S. 2000. Transfer of phosphate ion between soil and solution. *Perspectives in soil testing*. *Journal of Environmental Quality* 29, 50-59.
- Murphy, J.; Riley, J. P. 1962. A modified single method for the determination of phosphates in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27, 31-36.
- Nair, K. P. P. 1996. The buffering power of plant nutrients and effects on availability. *Advances in Agronomy* 57, 237-287.
- Nierop, K. G. J.; Jansen, B.; Verstraten, J. M. 2002. Dissolved organic matter, aluminium and iron interactions, precipitation induced by

- metal/carbon ratio, pH and competition. *Science of the Total Environment* 300, 201-211.
- Oberson, A.; Friesen, D. K.; Rao, I. M.; Bühler, S.; Frossard, E. 2001. Phosphorus transformations in an Oxisol under contrasting land-use systems: the role of the soil microbial biomass. *Plant and Soils* 237, 197-210.
- Oehl, F.; Oberson, A.; Sinaj, S.; Frossard, E. 2001. Organic phosphorus mineralization studies using isotopic dilution techniques. *Soil Science Society of America Journal* 65, 780-787.
- Olsen, S. R.; Khasawneh, F. E.. 1980. Use and limitations of physico-chemical criteria for assessing the status of phosphorus in soils. En: Dinauer, R. C. (Ed.), *The Role of Phosphorus in Agriculture*, ASA, CSSA, y SSSA, Madison, pp. 361-410.
- Pierzynski, G. M. 1991. The chemistry and mineralogy of phosphorus in excessively fertilized soils. *Critical Reviews in Environmental Control* 21, 265-295.
- Russell, R. S.; Rickson, J. B.; Adams, S. N. 1954. Isotope equilibria between phosphates in soil and their significance in the assessment of fertility by tracer methods. *Journal of Soil Science* 5, 85-105.
- Salcedo, I. H.; Bertino, F.; Sampaio, E. V. S. B. 1991. Reactivity of phosphorus in northeastern Brazilian soils assessed by isotopic dilution. *Soil Science Society of America Journal* 55, 140-145.
- Seip, H. M.; Muller, L.; Naas, A. 1984. Aluminium speciation: comparison of two spectrophotometry analytical methods and observed concentrations in some acidic aquatic systems in southern Norway. *Water, Air & Soil Pollution* 23, 81-95.
- Shoji, S.; Takahashi, T. 2002. Environmental and agricultural significance of volcanic ash soils. *Global Environmental Research* 6, 113-135.
- Sinaj, S.; Mächler, F.; Frossard, E.; Fäisse, C.; Oberson, A.; Morel, C. 1998. Interferences of colloidal particles in the determination of orthophosphate concentrations in soil water extracts. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 29, 1091-1105.
- Steffens, D. 1994. Phosphorus release kinetics and extractable phosphorus after long-term fertilization. *Soil Science Society of America Journal* 58, 1702-1708.
- Talibudeen, O. 1957. Isotopically exchangeable phosphorus in soils. II. Factors influencing the estimation of "labile" phosphorus. *Journal of Soil Science* 8, 86-96.
- Tran, T. S.; Fardeau, J. C.; Giroux, M. 1988. Effects of soil properties on plant-available P determined by the isotopic dilution  $P^{32}$  method. *Soil Science Society of America Journal* 52, 1382-1390.
- van Veldhoeven, P. P.; Mannaerts, G. 1987. Inorganic and organic phosphate measurements in the nanomolar range. *Analytical Biochemistry* 161, 45-48.
- Wada, K. 1995. Role of aluminium and iron in the accumulation of organic soils with variable charge. En: Huang, P. M.; Berthelin, J.; Bollag, J. M.; McGill, W. B.; Page, A. L. (Eds.), *Environmental Impact of Soil Components Interactions*, Lewis Publishers, Boca Ratón, pp. 47-58.
- Weaver, R. M.; Syers, J. K.; Jackson, M. L. 1968. Determination of silica in citrate-bicarbonate-dithionite extracts of soils. *Soil Science Society of America Proceeding* 32, 497-501.
- Wolf, A. M.; Baker, D. E.; Pionke, H. B. 1986. The measurement of labile phosphorus by the isotopic dilution and anion resin methods. *Soil Science* 141, 60-70.

## CAPÍTULO III.4:

### ***DESORCIÓN DE FÓSFORO DISPONIBLE EN SUELOS DE ORIGEN VOLCÁNICO MEDIANTE EL USO DE RESINAS DE INTERCAMBIO ANIÓNICO.***

## 1. Introducción

Las calibraciones usuales que relacionan el P extraíble con el rendimiento de los cultivos y los requerimientos de fertilización de P no parecen ser los más adecuados para suelos de carga variable (Fox, 1980). Un método alternativo es el método de la resina de intercambio aniónico que ha sido ampliamente utilizado como método de rutina para suelos ricos en oxihidróxidos de Brasil (van Raij, 1997). Los Andosoles y suelos ándicos presentan muchos problemas cuando se intenta determinar el P disponible con extractantes químicos debido a la alta solubilidad que presentan sus componentes principales: minerales de ordenación de corto alcance de Al-, Fe-, y Si- y compuestos organominerales [humus-Al(Fe)] los cuales constituyen el principal sumidero de P en estos suelos de elevada capacidad para fijar P. Por otro lado, la extracción de P con membranas de resinas de intercambio aniónico (MIA) parece constituirse como un procedimiento prometedor en este tipo de suelos (Cooperband y Logan, 1994).

Dado que el mecanismo de actuación de las resinas de intercambio aniónico con el suelo es la de simular la toma de los iones fosfato del suelo por las plantas (Hedley et al., 1982) que, a su vez, está vinculado a los procesos de desorción del macronutriente desde las superficies reactivas a la disolución del suelo, el análisis de los procesos de desorción de fosfato en suelos de carga variable como los Andosoles y suelos con características ándicas constituyen un objetivo

primordial de estudio debido a la importancia de la reacción reversible de sorción del P en procesos agronómicos de uso sostenible de la fertilización fosfatada y medioambientales, debido a los problemas de eutrofización de las aguas asociados al exceso de concentración de P en las aguas de escorrentía (Sharpley et al., 2000).

### *1.1. Procesos de sorción del P en las superficies sorbentes de P (óxidos, minerales de arcilla, carbonatos y materia orgánica) del suelo*

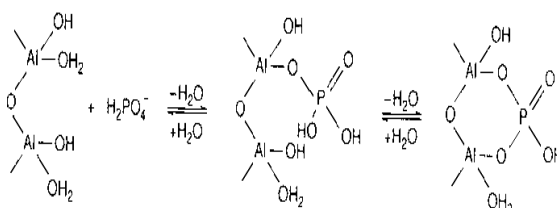
Es un hecho incuestionable que la concentración de P en la disolución del suelo no sigue las reglas que conforman un simple equilibrio de precipitación-disolución (Wolt, 1994). Los principales procesos que controlan la concentración de P en disolución en los suelos son la adsorción y desorción que transcurren con la participación de los diferentes constituyentes del suelo. Como gran parte de las especies de P en la disolución del suelo están cargadas negativamente, los sorbentes de P serán aquellos constituyentes del suelo que presentan cargas positivas. Entre ellos, y dada su importancia en suelos de naturaleza volcánica, tenemos compuestos de carga variable que contienen grupos hidroxilos (óxidos de Al y Fe), carboxilos (materia orgánica) y silanoles (minerales de arcilla).

#### *1.1.1. Sorción sobre óxidos de Al y Fe*

Muchos factores del suelo influyen sobre la sorción del P. Entre ellos destacan la naturaleza y cantidad de los componentes del suelo, así como los óxidos e hidróxidos de Al y Fe, la arcilla, la materia orgánica, el pH del sistema y el electrolito de fondo (su concentración y la valencia del catión base) (Mulder y Cresser, 1994). Debido a su elevado punto cero de carga (ZPC), los óxidos metálicos [término genérico considerado aquí para designar óxidos, oxihidróxidos e hidróxidos, tal y como proponen Schwertmann y Taylor (1989)] poseen cargas positivas en el rango de pH de los suelos. Estos compuestos, bien formando pequeños cristales o minerales de corto alcance, poseen una elevada superficie específica, razón por la cual su reactividad como sorbentes es muy elevada (Parfitt, 1978; Norrish y Roser, 1983; Schwertmann y Taylor, 1989), jugando un papel fundamental en el proceso de adsorción de P en muchos suelos, tanto aquellos situados en zonas tropicales (ricos en óxidos) como los calcáreos (Matar et al., 1992; Samadi y Gilkes, 1998; Rahmatullah y Torrent, 2000). Al ser minerales de carga variable, su capacidad para adsorber aniones como el P se incrementa cuando el pH disminuye debido al aumento de la carga positiva de estos minerales como consecuencia de su mayor protonación a pH bajos (Parfitt, 1978; Barrow, 1984; Quang et al., 1996; Strauss et al., 1997). Esto significa que si consideramos solo el proceso de adsorción de iones P sobre los óxidos de Al y Fe, al disminuir el pH estos iones son retenidos con una mayor intensidad que se traduce en una

disminución de la movilidad del P inorgánico (Jones y Brassington, 1998; Hissinger, 2001).

La sorción de P se ha explicado a través de una reacción de cambio de ligando sobre las superficies ricas en óxidos de Al(Fe) por el intercambio de  $\text{OH}^-$  por el ión fosfato (Breeuwsma, 1973; van Riemsdijk y Lyklema, 1980):



con formación de un enlace covalente entre el ión metálico y el fosfato. El P inorgánico se adsorbe sobre estos óxidos en forma de un complejo de esfera interna (Goldberg y Sposito, 1985) en el que la coordinación se realiza en lugares específicos de estos óxidos, no existiendo moléculas de agua entre la superficie y el ión fosfato.

Durante la primera etapa de la reacción, el P se une a un ión  $\text{Al}^{3+}$  a través de un enlace Al-O-P, siendo en esta etapa todavía lábil. En una segunda etapa se forma una estructura en anillo con dos iones Al que hace que la capacidad de desorción del P disminuya en las superficies reactivas con lo que el fosfato se encuentra menos disponible. Este proceso se denomina quimisorción: la adsorción de P a los componentes del suelo transcurre a través de un proceso en superficie en dos dimensiones; bajo elevadas concentraciones de P o largos periodos de tiempo lo anterior podría significar que la sorción incluiría algún proceso de

precipitación con la formación de una nueva fase sólida (van der Zee y van Riemsdijk 1988). La sorción de P sobre estos óxidos consistiría, entonces, en un proceso continuo secuencial de adsorción y precipitación transcurriendo a través de dos mecanismos, uno relativamente rápido, proceso de adsorción relativamente reversible (Breeuwsma, 1973; van Riemsdijk y Lyklema, 1980a y b), y otro relativamente lento, prácticamente irreversible (van der Zee y van Riemsdijk, 1988), siendo muy difícil distinguir entre ambos.

Se considera que el mecanismo de adsorción reversible (proceso rápido) transcurre con un tiempo de reacción de 1 día, mientras que la reacción lenta que conlleva un proceso de difusión reactiva del P a través de la fase sólida del suelo o a través de los microporos de los óxidos de Al (Fe) seguida con toda probabilidad, por procesos de precipitación y/o adsorción en el interior de los agregados (van Riemsdijk y Lyklema 1980a y b; Barrow, 1983; van Riemsdijk et al., 1984; Madrid y De Arabarri, 1985; Willet et al., 1988). En suelos no carbonatados, la fracción total de P sorbido ha sido interpretada en términos de una suma entre el P adsorbido reversiblemente y el P enlazado cuasi-irreversiblemente (van der Zee et al., 1987; van der Zee y van Riemsdijk, 1988). El empleo de tiras de papel impregnadas con óxido de Fe se ha propuesto como procedimiento para determinar la cantidad de P adsorbido reversiblemente (FeO-P) (van der Zee et al., 1987). La extracción con oxalato amónico ácido (Schwertmann, 1964) se ha utilizado tanto para determinar la fracción total de P

adsorbido (Pox) así como los óxidos amorfos de Al y Fe [(Al+Fe)ox]. La suma de estos óxidos metálicos cuantificarían la cantidad de sorción total del P inorgánico en suelos ricos en componentes activos (Beek, 1979; Loganathan et al., 1987; van der Zee y van Riemsdijk, 1988; Sanyal et al., 1993). La importancia de la reacción reversible del P con la fase sólida es considerada de interés tanto desde el punto de vista agrícola como medioambiental. Debido a la limitada disponibilidad de P para las plantas en Andosoles y suelos con características ándicas hace que el estudio de este proceso pueda ayudar a comprender los mecanismos para mantener una óptima fertilidad del suelo para la producción sostenible de los cultivos.

#### *1.1.2. Características del proceso de desorción de fosfato*

Los suelos con una elevada capacidad tampón liberan su P a la disolución del suelo lentamente, a través de la reacción lenta de desorción de P por los coloides del suelo (Barrow y Shaw 1975). Sin embargo la liberación de P desde el suelo también transcurre además de por la desorción de P de las superficies activas, por la disolución de minerales y la mineralización de P orgánico. En cualquier caso, centraremos nuestro análisis sobre los procesos de desorción.

Al igual que la sorción, la desorción también parece ocurrir a través de un mecanismo que incluiría el intercambio de ligando con el OH<sup>-</sup>. Sin embargo, la desorción de P sobre las superficies activas de suelo



constituye un proceso mucho más lento que la sorción (combinación de adsorción y precipitación) (Börling, 2003). Gran parte del P adsorbido no es fácilmente desorbible, especialmente cuando se ha formado la estructura en anillo. La oclusión del P en los óxidos de Al y Fe también previenen la desorción (Smeck, 1985).

La desorción del P vía intercambio de ligando puede verse beneficiada por una sensible disminución de los iones fosfato en la disolución del suelo y por un aumento de aniones competidores que podrían desplazar el equilibrio de adsorción-desorción hacia este último proceso (Hinsinger, 2001). De todas maneras, numerosos trabajos han puesto de manifiesto que las superficies de óxidos de Al y Fe, así como otros sorbentes del suelo como los minerales de arcilla, tienen una fuerte afinidad por los iones fosfato en comparación con otros ligandos inorgánicos (como el silicato, el sulfato o el bicarbonato) u orgánicos (aniones carboxilato) competidores del P. Nagarajah et al. (1968) demuestran que la afinidad por las superficies kaolínicas de los aniones disminuye siguiendo el siguiente orden: fosfato > citrato > bicarbonato. Estos autores pusieron de manifiesto que tanto el citrato como el bicarbonato podrían desorber algo de fosfato. Investigando el efecto de los ligandos sobre la desorción de P en el rango milimolar de concentración, Kafkafi et al. (1988) demuestran que los iones bicarbonato podrían desorber mucho más P que el citrato de la montmorillonita, aunque sería menos efectivo que el citrato para desorber P desde la kaolinita. La reactividad del bicarbonato

tendría, en principio, mucha más incidencia en suelos neutros o alcalinos, incluidos los carbonatados (influencia decisiva del comportamiento de los equilibrios bicarbonato-CO<sub>2</sub>) que en los suelos de nuestro estudio cuyo rango de pH es inferior a la neutralidad.

Tal y como hemos venido apuntando a lo largo de este análisis, los procesos de adsorción del P controlan fuertemente el P en la disolución del suelo especialmente en horizontes con elevadas cantidades de sesquióxidos (pe.: horizontes B) (Mulder y Cresser, 1994). La disponibilidad del P en estos horizontes depende de la estabilidad de los complejos superficiales Al(Fe)O-P y de la presencia de ligandos orgánicos que puedan desplazar el P. Fox et al. (1990) demuestran que tanto la liberación del P inorgánico como la del Al en un horizonte spódico aumenta con la presencia de un ácido orgánico simple que forma complejos estables con el Al.

Por otra parte, Jones y Brassington (1998) demuestran que, dentro de los carboxilatos más comunes, el oxalato y el citrato presentan una mayor capacidad de adsorción y afinidad por los componentes activos del suelo y por un tipo de óxido de Fe sintético (ferrihidrita) aunque los iones fosfato siempre presentaban, desde el punto de vista energético, la mayor fuerza de adsorción por las superficies estudiadas. Estos autores concluyen que solo a elevadas concentraciones de estos ligandos competidores podrían desorberse iones P de forma significativa. Stauton y Leprince (1996), trabajando con concentraciones de aniones orgánicos en el rango de 1 mM [concentración muy superior a los valores de referencia dados

por Jones (1998) para estos ligandos en el suelo y en la rizosfera], encontraron que la relación entre P soluble y P adsorbido aumentó 2,5 veces con el citrato, aunque para otros carboxilatos (oxalato, fumarato y acetato) este aumento fue mucho más moderado. Kirk (1999) reportó un mayor efecto del citrato al trabajar en un rango de concentraciones entre 0,1 a 2,5 mM. Sin embargo, tal y como pone de manifiesto el autor, el efecto del citrato (y cualquier otro anión orgánico complejante) sobre la movilidad del P inorgánico del suelo parece transcurrir a través de ciertos mecanismos que, a su vez, parecen influir sobre la desorción del P vía intercambio de ligando (pe.: complejación del Al y el Fe; Earl et al., 1979). Gerke et al. (2000a y b) muestran un incremento concomitante de la concentración de los cationes metálicos (Al y Fe) y el P en la disolución del suelo con la adsorción del anión citrato; aunque este incremento no fue tan importante con los aniones malato y oxalato, fue muy superior en comparación con el anión oxaloacetato.

Por otra parte es necesario considerar la importancia que tiene la difusión en la desorción del fosfato. Para que exista una renovación del P de la disolución del suelo de cara a la absorción por las plantas, debe ocurrir una reacción inicial rápida de desorción del P adsorbido sobre la superficie que conforman los óxidos de Al y Fe (van der Zee et al., 1987). La disminución del P adsorbido en superficie podría paliarse mediante la desorción del P enlazado en el interior de los óxidos de Al(Fe), seguido de una difusión del P de las capas externas de los agregados

(Barrow, 1983). Debido a que la difusión desde el interior de los agregados es lenta, este P solo se transformará en disponible solo a muy largo plazo. La importancia de la difusión desde el interior de los agregados como etapa limitante en la transferencia de materia de los solutos reactivos entre los lugares de sorción en el interior de los sorbentes porosos y la disolución se ha estudiado con diferentes metales (Trivedi y Axe, 2000; Lin y Wu, 2001) y con compuestos orgánicos (Wu y Gschwend, 1986; Rijnaarts et al., 1990). Por tanto este mecanismo parece ser muy importante en el control de la biodisponibilidad y transporte de varios solutos reactivos como el P, en el suelo. La difusión desde el interior de los agregados también debería considerarse en aquellos modelos que intenten modelizar procesos de desorción de estos solutos a largo plazo en el suelo (Koopmans et al., 2004).

### *1.1.3. Uso de resinas de intercambio aniónico en la cuantificación del fosfato disponible*

El empleo de las resinas de intercambio aniónico constituyó un avance metodológico importante en la cuantificación del P lábil del suelo respecto al uso de extractantes químicos (Amer et al., 1955), siendo considerada la extracción por las resinas como uno de los mejores métodos para la estimación del P disponible por la planta (Bowman et al., 1978; Sibbensen, 1978; Bache e Ireland, 1980; Sibbensen, 1983; Schoenau y Huang, 1991; Cooperband y Logan, 1994). Ello se debe a que

las resinas aniónicas simulan la forma de actuar de las raíces de las plantas (Sibbensen, 1978). La cantidad de P sorbido por la resina depende solamente de la cantidad de P desorbido o solubilizado de la matriz del suelo y no de las propiedades de la propia resina (Palma y Fassbender, 1970; Krauser y Ramlal, 1987). Los iones fosfato, procedentes de las partículas del suelo, pasan a la disolución donde son absorbidos por las resinas que remueven continuamente estos iones de la disolución para evitar que se alcance el equilibrio iónico entre la fase sólida y líquida. Debido a este modo de acción, las resinas granulares aniónicas de tipo base fuerte, las más empleadas en el análisis edáfico de rutina, son independientes del tipo de suelo estudiado.

La extracción con este tipo de resinas granulares se considera un método más eficaz que la extracción con bicarbonato o agua debido a su bajo coste, simplicidad y elevada correlación con la cantidad de P exportada por la planta. Sin embargo, algunos autores la han considerado como poco adecuada para la caracterización precisa del P lábil, ya que no da cuenta de mecanismos implicados como el proceso de difusión (Yang et al., 1991; Abrams y Jarrell, 1992).

A pesar de estas propiedades, las resinas han sido poco utilizadas en análisis agronómicos para recomendaciones sobre fertilización. Esto se debe a la dificultad para separar las resinas de la suspensión del suelo después de la extracción. Sibbensen (1977) recurre a la utilización de bolsas de nylon para facilitar el proceso de separación. Sin embargo, el tiempo empleado y el esfuerzo realizado en su fabricación hacen que

este método sea poco atractivo para determinaciones rutinarias de laboratorio. Sin embargo, las resinas se han empleado con éxito en la estimación de flujo de nutrientes en suelos (Skogley y Dobermann, 1996; Lehmann et al., 1999; Lehmann et al., 2001).

Aunque las resinas aniónicas en forma de membranas (MIA) han estado disponibles desde hace mucho tiempo, han recibido poca atención por parte de los químicos del suelo y sólo en los últimos quince años ha comenzado a generalizarse su uso. Saunders (1964) fue el primero en utilizar una tira de membrana para extraer P del suelo. La MIA simula la acción de las raíces de las plantas ya que absorbe continuamente nutrientes de la disolución (Yang et al., 1991; Tran et al., 1992), estimando tanto la concentración en disolución de esos nutrientes como la velocidad de difusión de los mismos en el suelo (Abrams y Jarrell, 1992). Debido a esto, la MIA parece reflejar los cambios en la concentración de los nutrientes en la disolución del suelo cuya dinámica físico-química depende de los factores bióticos y abióticos del suelo (Cooperband y Logan, 1994). Muchos trabajos ponen de manifiesto que esta técnica posee un potencial superior como indicador de disponibilidad de nutrientes del suelo que la extracción química clásica (Schoenau y Huang, 1991; Qian et al., 1992; Ziadi et al., 2001).

Con respecto al fosfato, la MIA se ha utilizado en la cuantificación del P disponible (Abrams y Jarrell, 1992), considerándole como una medida tanto del P soluble como del P fácilmente desorbible (Cooperband et al., 1999), empleándosele, además, en la determinación *in situ* de los cambios del P lábil del suelo

(Cooperband y Logan, 1994; Huang y Schoenau, 1996; Cooperband et al., 1999). Los valores de P determinados por la MIA se han empleado para predecir el movimiento potencial del P por efecto de los procesos erosivos que tienen lugar en el suelo y en las aguas de escorrentía. En este sentido, Gale et al. (2000) encuentran que el P asociado a la MIA presenta una estrecha correlación con la aplicación de residuos animales al suelo y con el P disponible determinado por el método de Olsen.

Las membranas ofrecen como ventaja su estructura plana, permitiendo un área superficial constante y un mejor contacto con el suelo (Cooperband y Logran, 1994), pudiendo ser insertadas en el suelo con una mínima modificación del terreno circundante. La mayor virtud del método de la membrana radica en la facilidad con que el intercambiador puede ser separado de la matriz del suelo (Saunders, 1964). Por último señalar que las MIA se han empleado recientemente en la determinación de P isotópicamente intercambiable cuya concentración en disolución se aproxima a los límites de detección del método colorimétrico en suelos con una elevada capacidad de retención de P (Maertens et al., 2004).

#### *1.1.4. Estudio de liberación de fosfato empleando resinas de intercambio iónico*

Tal y como hemos indicado, los mecanismos de liberación de P y las reacciones de sorción con las partículas del suelo son complejas, si consideramos todos los tipos de agentes adsorbentes y las numerosas expresiones cinéticas que han sido empleadas

para describir estos procesos. Se han realizado numerosos estudios sobre la cinética de desorción de P en suelos y minerales de arcilla empleando resinas de intercambio aniónico (Evans y Jurinak, 1976), tubos de membrana de diálisis (Lookman et al., 1995) y métodos de enriquecimiento de P en serie (Lookman et al., 1996). En estos trabajos se han empleado como modelos que relacionan el tiempo con la liberación de P la cinética de primer orden, la ecuación de Elovich y la ecuación de difusión parabólica. También se han empleado ecuaciones modificadas que relacionan las propiedades del suelo con las constantes asociadas a dichas ecuaciones (Sharpley, 1983; Vadas y Sims, 2002). Los estudios de liberación de P han mostrado que la desorción es habitualmente rápida en los estadios iniciales, seguida de una liberación más lenta. Este comportamiento bifásico se ha atribuido a las diferentes fracciones de P que poseen diferentes estabilidades y/o velocidades de disolución.

El análisis anterior nos lleva a concluir que el P desorbido en un tiempo determinado constituye un buen índice de disponibilidad de P en el suelo (Tran et al., 1992; Raven y Hossner, 1994) mientras que el P extraído por las resinas de intercambio aniónico está directamente relacionado con el P absorbido por las plantas y la producción de materia seca (Delgado y Torrent, 1997). En este sentido, algunos trabajos, principalmente aquellos que utilizan suelos de zonas templadas, han unificado ambos criterios y han estudiado la cinética de toma de P del suelo (cinética de liberación o desorción de fosfato) mediante

resinas de intercambio aniónico, aunque las interpretaciones de estos estudios son todavía motivo de discusión.

Amer et al. (1955) consideraron que la adsorción de P por las resinas aniónicas desde la disolución del suelo podía describirse mediante dos o tres etapas simultáneas cuya cinética se puede considerar de primer orden, aunque Griffin y Jurinak (1974) indicaron que estas etapas estaban asociadas a pseudocinéticas de primer orden. Vaidyanathan y Talibudden (1970) demostraron que la velocidad de toma de P por resinas de intercambio iónico en algunos suelos británicos estaba limitada por la dispersión interparticular, una idea rechazada posteriormente por Bache e Ireland (1980) quienes indicaron que la adsorción de P por resinas de intercambio aniónico, bien en forma cloruro o en forma bicarbonato, no constituía una reacción controlada a través de una difusión interparticular en otros suelos británicos. Dalal (1974) concluye con una interpretación no mecanicista de estas cinéticas en algunos tipos de suelos tropicales pues la expresión de la ecuación de velocidad parece seguir una función del tipo  $t^{n/m}$ . Soldano y Boyd (1953) indicaron que la velocidad de adsorción de P por las resinas de intercambio aniónico en una disolución libre de electrolitos estaba controlada por varios procesos simultáneos de difusión pelicular o cinéticas químicas de primer orden en superficie. En este sentido, es bien conocido el hecho de que la difusión del P está gobernada por los procesos bióticos y abióticos que tienen lugar en el suelo (Frossard et al., 2000); así elevados

contenidos de C y una elevada actividad microbiana explica la mayor velocidad de difusión del P en suelos arcillosos en comparación con otros suelos de textura más gruesa (Bissonnette et al., 2001; Zheng et al., 2001; Morel, 2002)

Por otra parte, Yang y Skogley (1992), empleando bolsas de nylon con resinas, concluyeron que la difusión parece ser la etapa limitante de la velocidad pero no pudieron distinguir explícitamente la naturaleza de la limitación difusional. De todas formas, las evidencias parecen indicar que los modelos basados en mecanismos de difusión explican mejor las cinéticas y los cambios energéticos asociados a la liberación de P mediante el empleo de mezclas de resinas aniónicas y catiónicas, estando controlada la reacción de intercambio iónico por la difusión interparticular (Agbenin y van Raij, 2001). Siddique y Robinson (2004), después de siete extracciones sucesivas con mezclas de resinas aniónicas y catiónicas, concluyeron que la fase rápida del proceso representaba la desorción del P más lábil, siendo el resto de las fracciones menos móviles y de más difícil liberación.

Con respecto a las MIA, se ha observado que los valores de P obtenidos también son sensibles a los procesos de difusión (Zheng et al., 2003). Por otra parte, ciertos autores han puesto de manifiesto que el contenido de arcilla en el suelo parece ejercer cierta influencia sobre los cambios en el fósforo liberado, empleando membranas de intercambio en un Humaquepts que había recibido fertilización fosfatada de origen

mineral (Simard et al., 1991; Zheng et al., 2003). Por último, poner de manifiesto que ensayos biológicos realizados con cebada (*Hordeum vulgare* L.) y soja (*Glycine max* L.) indican que parece existir una buena correlación entre los valores de iones P liberados por el suelo y absorbidos por las MIA con la toma de P por parte de las plantas (Schoenau y Huang, 1991; Tran y N'dayegamiye, 1995; Zheng et al., 2003).

En esta experiencia hemos empleado el método de la resina para acceder a la cuantificación del P disponible, lábil y fácilmente desorbible, siguiendo el concepto de Cooperband et al. (1999), y de otros elementos como S, Al, Fe, Si y C orgánico, tanto en los eluatos como en los sobrenadantes de resina, en una serie de Andosoles naturales y fertilizados. Con este fin planteamos los siguientes aspectos experimentales:

- 1) Se han empleado dos tipos de resinas aniónicas granulares, una básica fuerte (Dowex) y otra débilmente alcalina (Merck), y un tipo de membrana de intercambio aniónico (Ionics) con el fin de compararlas dadas las diferencias que desde el punto de vista cinético existen entre ellas (DeSilva, 1999).
- 2) Por otro lado, para determinar si la adherencia de las partículas del suelo a las membranas de intercambio aniónico se podría considerar como una contaminación, en este trabajo el P disponible fue determinado empleando MIA en dos Andosoles tratados con diferentes niveles de P en un ensayo

biológico de invernadero. En los eluatos de resina se determinaron Al, Fe, Si y CO así como las diferentes fracciones de P con el fin de encontrar una posible relación entre ellos.

- 3) Como una de las ventajas de la membrana de resinas intercambiadoras de aniones (MIA) es la capacidad del experimentador para controlar la superficie de contacto con el suelo a través del número de membranas empleadas, nos propusimos investigar como este parámetro podría influir en las cantidades extraídas de P y en el resto de elementos asociados.
- 4) Por último, las MIA fueron empleadas en el estudio de la desorción o liberación de P del suelo en función del tiempo de agitación continua de la suspensión de suelo para, por un lado, evitar posibles fenómenos de readsorción de P en la fase sólida durante el proceso como el observado por Freese et al. (1995) en cinéticas de desorción de P y, por otro, para evitar el efecto perturbador que podía ejercer cuando en una serie de suspensiones de suelo, procedentes de la fracción <2 mm (suelo total) y de diferentes fracciones granulométricas (empleando resinas de intercambio catiónico como agente dispersante), se coloca una membrana de resina en el interior de una membrana de diálisis de 10000 Da. En este caso, la MIA simula la acción de las raíces para secuestrar el P de la disolución del suelo (Cooperband y Logan, 1994) pudiendo constituir un

Tabla 1. Resumen de los experimentos realizados con los diferentes tipos de intercambiadores aniónicos.

Experimento	Forma Resina	Tipo	Resina/Suelo	Muestras de suelo	Elución	Ensayo Biológico	Tiempo de extracción	Fracción
1	a) Granular Dowex	Base fuerte (bicarbonato)	1 g/4 g	29 muestras (15 forestales y 14 cultivadas)	NaHCO <sub>3</sub> 0,5M	No	16 h	Total
	b) Granular-Merck	Base débil (bicarbonato)	1 g/4 g		NaHCO <sub>3</sub> 0,5 M			
	c) Membrana de intercambio aniónico (MIA)	Base fuerte (cloruro)	800 mm <sup>2</sup> /1 g (1 MIA)		NaCl 1M			
2	MIA	Base fuerte (cloruro)	800 mm <sup>2</sup> /1 g (1 MIA)	2 suelos representativos sometidos a 4 tratamientos de fertilización	Secuencial:		16 h	Total
					a) NaHCO <sub>3</sub> 0,5 M	b) NaCl 1M		
3	MIA	Base fuerte (cloruro)	800 mm <sup>2</sup> (1 MIA)	5 muestras (3 forestales y 2 suelos representativos sometidos a 4 tratamientos de fertilización)	Secuencial:		16 h	Total
			2400 mm <sup>2</sup> (3 MIA)		a) NaHCO <sub>3</sub> 0,5 M	No		
			4000 mm <sup>2</sup> (5 MIA)		b) NaCl 1M			
4	MIA+Membrana de diálisis (10000Da)	Base fuerte (cloruro)	Secuencial	3 muestras forestales y 1 muestra sometida a 3 tratamientos de fertilización	NaHCO <sub>3</sub> 0,5M	No	Variable	a) total b) arcilla (<2µm) c) arcilla (<0,1µm)

potente absorbente del P liberado desde la fase sólida a la soluble.

En la Tabla 1 hemos realizado un resumen de los experimentos realizados.

## 2. Material y métodos

### 2.1. Suelos

Suelos forestales: se han estudiado diferentes tipos de Andosoles de Canarias: alofánicos (perfiles: Bona Camino y La Esperanza), órganominerales (perfiles: Las Lajas y Garajonay) y vítricos con diferente grado de evolución (perfiles: Chío, Izaña y Portillo). Los dos últimos perfiles han sido descritos por Fernández Caldas et al. (1975); el resto se encuentra en la “Guía de Campo” del Congreso Internacional de Suelos Volcánicos (Departamento de Edafología. Universidad de La Laguna, 1984).

### Suelos cultivados:

a) Muestras V. Corresponden a suelos procedentes de terrazas de la zona de medianías alta del Norte de Tenerife. Se trata de Andosoles, en general alofánicos y de carácter ácido.

b) Muestras P. Terrazas de la zona alta del sur de Tenerife con suelos pumíticos con pH alcalino.

c) Dos de los suelos forestales (horizontes A de los perfiles La Esperanza y Karting) derivados de material volcánico (Hapludands y Ustalfs respectivamente), tamizadas por 2 mm, que fueron fertilizadas con cuatro niveles de P: 0 (control), 50, 100 y 200 mg de P/kg de suelo

mediante tratamiento con una disolución nutritiva de fosfato monopotásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) y puestos bajo cultivo de maíz (*Zea mays* L.), tal y como se describe en el anejo II, con el fin de corroborar si existe correspondencia entre el rendimiento esperado con el cultivo y la extracción de P por parte de la MIA.

Las muestras procedentes de las terrazas cultivadas se han tomado a una profundidad de 0 a 30cm.

### 2.2. Preparación de las resinas

Se emplearon los siguientes tipos de resinas de intercambio aniónico:

- |            |   |  |
|------------|---|--|
| Granulares | } | <p>a) Resina MERCK cambiadora de iones II (cambiador de iones débilmente básica).</p> <p>b) Resina DOWEX 1X8 fuertemente básica.</p> |
|------------|---|--|

MIA: IONICS tipo 204-U-386 alcalina fuerte.

En la Tabla 2 se resumen las características físicas y químicas de cada una de ellas.

#### *i.- Resinas granulares*

Para la preparación de las resinas se siguieron los siguientes pasos:

- 1) Lavados iniciales: las resinas se sometieron a lavados con agua destilada en agitación continua con el fin de eliminar cualquier impureza coloreada, así como



**Tabla 2.** Características más importantes de las resinas empleadas.

Características	Dowex	Merck	MIA Ionics
Tipo	Geliforme	Geliforme	Membrana
Copolímero	Estireno-DVB	Estireno-DVB	Vinilo
Reticulación (%)	8	5	-
Grupo Funcional	$\sim \text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	$\sim \text{N}^+(\text{R})_3$ (poliamidas)*	$\sim \text{N}^+(\text{CH}_3)_3$
Contraión	$\text{Cl}^-$	Base libre ( $\text{OH}^-$ )	$\text{Cl}^-$
Color	Crema	Ocre	Blanca
Forma	Esférica	Esférica	Plana
Capacidad de Cambio (meq/g)	3.3	5.5	8.7
Temperatura máxima de trabajo ( $^{\circ}\text{C}$ )	80	100	-
Intervalo de pH	1-14	1-9	1-14
Tamaño Granular (mm)	0.10-0.25	0.3-0.9	-
Humedad (%)	39-80	45-55	46
Densidad Aparente (g/l)	700	670	-

\* Aminas [ $\text{R}\sim\text{N}(\text{R}')_2$ ] primarias, secundarias o terciarias que se encuentran parcialmente ionizadas debido a su carácter básico [ $\text{R}\sim\text{N}^+\text{H}(\text{R}')_2\text{OH}^-$ ]

como partículas ligeras adheridas a las mismas.

desionizada y guardadas en nevera (aprox.  $4^{\circ}\text{C}$ ) para su posterior utilización.

2) Conversión de ambas resinas a la forma iónica requerida: para la preparación de las resinas se siguió el método de Sibbesen (1977). Se prepararon bolsas individuales de tela de polipropileno (nylon), con un tamaño de malla de  $300\ \mu\text{m}$ , en las cuales se introdujo 1g de resina aniónica en forma bicarbonato. Para saturarlas, cada bolsa de resina fue puesta en contacto con una disolución de  $\text{NaHCO}_3$  0,5 M en agitación rotatoria continua durante 24 h. Una vez finalizado este proceso, las bolsas se guardaron en envases de plástico con agua

3) Extracción y análisis: las extracciones se realizaron en envases de polipropileno. En estos envases se añadió 4,0 g de suelo seco al aire, junto a una bolsa de resina y 100 ml de agua desionizada. El sistema se sometió a agitación durante 16 h a 40 rpm y  $20^{\circ}\text{C}$ . Una vez finalizado el proceso, las bolsas fueron retiradas y lavadas con agua destilada a presión para eliminar las partículas de suelo adheridas. Cada una de estas bolsas se colocaron en nuevos envases de plástico que contenían 50 ml de  $\text{NaHCO}_3$  0,5M, agitándose el sistema durante 30 min. Una vez finalizado este proceso, los eluatos fueron filtrados para

su posterior análisis. Por otro lado, las suspensiones sobrenadantes fueron centrifugadas a 2000g durante 15 min. y luego filtradas por 0,45  $\mu\text{m}$ . Las disoluciones resultantes se analizaron como si se tratasen de extractos acuosos, determinándose P total (PTsob), S-SO<sub>4</sub> y COD, además de un fraccionamiento clásico del P (PIsob y POsob).

ii.- *Membranas de intercambio aniónico (MIA)*

- 1) Preparación de las membranas: las propiedades químicas y mecánicas de este tipo de resinas parecen ser óptimas para su agitación con las partículas de suelo. Las membranas se comercializan en forma de láminas las cuales se cortaron en tiras de 40 mm de largo por 20 mm de ancho de tal manera que cada tira tuviese una superficie reactiva de 800 mm<sup>2</sup> y una capacidad de sorción de P aproximadamente igual a 175 mg P por 800 mm<sup>2</sup> de membrana o 350 mg P/g de resina.
- 2) Conversión de las MIA a forma Cl: las tiras de membranas fueron saturadas con Cl debido a la relativa baja afinidad de las MIA por el Cl de tal manera que pueda ser fácilmente desplazado por otros aniones como el ortofosfato (Cooperband y Logan, 1994). Las tiras se colocaron en recipientes de plástico que contenían 15 ml de una disolución de NaCl 1M, dejándose en contacto y en agitación continua durante 30 min. para posteriormente lavarlas con agua desionizada antes de su uso.

- 3) Extracción y análisis: una tira de MIA en forma cloruro se añadió a un tubo de PVC con 40 ml de agua y 1 g de suelo (<2mm). Los tubos se sometieron a un proceso de agitación continua durante 16 h a 25°C. Finalizado el proceso, la tira, después de retirarla de la suspensión, se lavó reiteradamente con agua destilada para eliminar las partículas del suelo adheridas. Con carácter general, las MIA fueron eluidas con 40 ml de NaCl 1M durante 30 min. En un segundo experimento, las MIA fueron eluidas secuencialmente con: (i) 40 ml de NaCl 1M (30 min.) y (ii) 40 ml de NaHCO<sub>3</sub> 0,5M (30 min.).
- 4) Efecto del número de MIA empleadas y la relación agua:suelo (w:s): la experiencia anterior se repitió empleando 1, 3 y 5 MIA o empleando relaciones w:s de 40:1, 75:1 y 150:1 en presencia de una MIA con el fin de observar el efecto de estos parámetros sobre las cantidades de P y de otros elementos extraídos.

2.3. *Extracción secuencial de P y otros elementos asociados mediante membranas de diálisis y MIA como agente receptor*

Suspensiones procedentes de las fracciones suelo total y arcilla de las muestras estudiadas se sometieron a extracciones secuenciales con MIA (2 h por secuencia) a través de una membrana de diálisis. Los sacos para dializar se fabricaron a partir de tubos de diálisis Spectrapor 6 con una masa molecular de paso

de 10000 Da; previamente fueron lavado un mínimo de 24 h en HNO<sub>3</sub> al 1% y luego enjuagadas con agua destilada. Un saco con 50 ml de agua destilada, conteniendo una MIA, se sumergió en 500 ml de suspensión, en agitación continua, sustituyéndose por otro a las 2, 4, 8, 22, 24 y 26 h (en el caso de la muestra La Esperanza A se realizaron medidas adicionales a las 28, 30, 46 y 48h). El último saco se retiró a las 96 h, considerándose este tiempo como el necesario para alcanzar el estado estacionario (Agbenin y van Raij, 2001).

Posteriormente, los sacos fueron lavados con agua destilada extrayéndose la MIA. En esta se determinaron Al, Fe, P, S, Si y CO empleando NaHCO<sub>3</sub> 0,5M (30 min.) como agente eluyente. En las disoluciones del suelo procedentes de las suspensiones también se determinaron P, S, CO, Al, Si y Fe asociados a fracciones mayores a 10000 Da. La fracción de P y S determinada fue la activa ante sus correspondientes agentes reactivos (P y S reactivos).

Empleando el método descrito por Bartoli et al. (1991) las muestras de suelo fueron fraccionadas en fracción arcilla (<2µm), limo (2-50µm), arena fina (50-200µm) y arena gruesa (200-2000µm). Diez gramos de suelo tamizado (<2mm) se sometieron a agitación continua a 40 rpm durante 2 h con 200 ml de agua destilada. La fracción arena fue separada mediante tamizado en húmedo. La fracción 0-50 µm fue sometida a un tratamiento dispersivo con 100 ml de resina catiónica (Na) IR 77 Amberlite con 200 ml de agua destilada. Mediante sedimentación, extracción con pipeta

de Robinson y centrifugación se separaron las fracciones arcilla (0-2µm) y limo (2-50µm). Posteriormente, parte de las suspensiones de la fracción arcilla fueron sometidas a ultracentrifugación a 30000g y 50000g a 4°C antes de introducir las membranas de diálisis con la MIA. La fracción arcilla de la muestra LL A se sometió a fraccionamiento submicrónico en flujo continuo (aumento de la masa de las partículas por aceleración) con el fin de obtener la fracción <0,1 µm (Rouiller et al., 1972).

La experiencia se realizó por duplicado, siempre que la variabilidad en los resultados no excediese del 5%. En algunos casos fue necesario realizar una tercera repetición con el fin de obtener resultados consistentes.

La puesta a punto de esta metodología se realizó en el Centre de Pedologie Biologique de Nancy (Francia) bajo la dirección del Dr. F. Bartoli.

#### 2.4. Técnicas analíticas

El P reactivo en las resinas (Cl-P o Bi-P dependiendo del tipo de resina) y en las suspensiones sobrenadantes de los suelos (P-sob) se determinaron como la fracción de P que reacciona directamente con iones molibdato (Murphy y Riley, 1962), mientras que el P inorgánico (PI) se determinó mediante colorimetría después de tratamiento de los eluatos y suspensiones con carbón activo; por último, el P total en las suspensiones se determinó mediante hidrólisis en autoclave con K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (Hedley et al., 1982). Con respecto al sulfato reactivo (S-Cl o S-Bi), este fue

determinado mediante turbidimetría una vez precipitado con cloruro de bario cristalino en medio acético (Blanchar et al., 1965; Santelli et al., 1995).

Las concentraciones de fósforo reactivo en los eluatos y P reactivo y total en las suspensiones de suelos fueron determinadas mediante colorimetría en forma de un complejo fosfomolibdico cuyo máximo de absorción se encuentra localizado a una longitud de onda de 882 nm. El carbono orgánico (CO) fue determinado mediante la medida de la pérdida de color por un complejo de Mn(III)-pirofosfato reducido por el CO en presencia de ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Bartlett y Ross, 1988). Las concentraciones de Al, Fe y Si se determinaron por espectrometría de absorción atómica (Perkin Elmer 3100).

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Caracterización inicial de los eluatos de las diferentes resinas empleadas

##### 3.1.1. Variación del pH en la suspensión sobrenadante de las resinas

El pH de la suspensión sobrenadante aumentó o disminuyó respecto al pH del agua desionizada empleada (pH≈6) en función del tipo de resina utilizada y el tipo de suelo (Tablas 3, 4 y 5). Así en las suspensiones de suelo de resina Dowex y MIA (ambas alcalinas fuertes), el pH disminuyó una media de dos unidades para la primera y entre dos y tres unidades para la segunda, mientras que en el caso de la resina Merck (alcalina débil), el aumento fue de dos

unidades para el conjunto de todos los suelos. Esto parece indicar que el mecanismo de desorción de aniones desde la fase sólida hacia la resina parece ser distinto dependiendo del tipo de resina utilizada.

Las propiedades intrínsecas de cada tipo de resina podrían estar detrás de esta variación de pH en las suspensiones resultantes (Tabla 2). Los grupos funcionales (amonio cuaternario) de las resinas aniónicas fuertes (Dowex y MIA-Ionics) permanecen ionizados en un amplio rango de pH, mientras que, los grupos activos (aminas) de las resinas débilmente alcalinas (Merck) son fuertemente dependientes del pH del medio ya que su actividad y su capacidad de cambio iónico disminuyen cuando el pH aumenta, inactivándose a valores por encima de 9 (Merck, 1986), lo cual no parece ser nuestro caso. Aunque la capacidad de intercambio podría disminuir en esta resina por efecto del pH, la saturación de las posiciones de cambio iónico no se ha debido producir pues los contenidos en fosfato y sulfato que han sido adsorbidos por la resina han sido inferiores a 1 mmol/g resina; parece que ha ocurrido lo mismo tanto para la resina Dowex como para la MIA. A título orientativo, señalar que la capacidad de intercambio iónico para la resina Dowex es de 3,3 mmol/g resina (Serva, 2004), para la MIA es de 8,7 mmol/g (Ionics, 1987), mientras que para la Merck es de 5,5 mmol/g (Merck, 1986).

Por último señalar que las MIA recuperadas de las diferentes suspensiones presentaban un color oscuro que permanecía una vez lavadas y eluidas con NaCl lo que podría ser indicativo de

una posible interacción entre los coloides del suelo y las membranas de resina.

### 3.1.2. Fósforo y sulfato extraídos por las resinas

Las Tablas 3, 4 y 5 dan cuenta de las cantidades de fosfato y S-sulfato extraídos por el conjunto de las resinas empleadas. En un primer análisis de los datos, se observa que el reparto de las cantidades totales de P y S extraídas (resinas + soluble en las suspensiones de los suelos) fue uniforme entre las dos fases. Esto parece indicar que tras 16 h de extracción el sistema trifásico (resina:agua:suelo) ha alcanzado el estado estacionario.

El P-resina o P-MIA reactivo (Bi-P, para las resinas Merck y Dowex, o Cl-P en el caso de la MIA) y el S-resina o el S-MIA reactivo (Bi-S o Cl-S siguiendo la misma nomenclatura que para el P) constituyeron algo más del 50% del P y el S desorbido por los suelos durante la extracción; sin embargo, las cantidades extraídas fueron diferentes según el tipo de resina utilizada:

#### i.- Resina Dowex y MIA:

Hemos unificado la discusión para ambas resinas pues su comportamiento en el conjunto de suelos tendió a ser similar (Tablas 3 y 4) dado su tipo común (intercambiadoras de aniones básica fuerte). Tanto el Bi-P (Dowex) como el Cl-P (MIA) constituyeron más del 90% del P reactivo total extraído en los suelos sobrefertilizados del sur (muestras S y P); en los suelos ácidos fertilizados del norte (muestras V), constituyeron el 65% del total, mientras que en los suelos naturales variaron desde el 75% (Izaña A) al 22% (LL A).

Las cantidades de S extraídas parecen no presentar una tendencia definida en función de los suelos estudiados. El valor máximo fue del 70% de S total reactivo en los suelos naturales alofánicos (perfiles LE y BC), mientras que fue inferior al 40% en el caso de los horizontes A órganominerales (mínimo LL A). En el caso de los suelos cultivados, las cantidades extraídas variaron entre un 40 y un 70% en el caso de las muestras V y entre un 40 y un 90% en el caso de las muestras del sur de Tenerife (S y P).

#### ii.- Resina Merck:

En los suelos sobrefertilizados del sur, el Cl-P varió entre un 30 y un 90% del P total extraído, mientras que en el caso de las muestras V esta variación alcanzó el 75% del total. En el caso de los suelos naturales el Cl-P varió desde el 30% al 90% del P total extraído: así el perfil LE alcanzó el valor más alto de extracción con un 80%, mientras que el valor más bajo fue el horizonte Bw3 de Bona Camino.

El Cl-S fue el 90% del S extraído en el caso de LE, mientras que en el resto de suelos naturales varió desde un 25% (PT Bw) al 60% (BC Bw3). En las muestras V el Cl-S constituyó el 60% del sulfato extraído, mientras que en las muestras S y P varió entre el 40 y el 60%.

#### iii.- Comparación entre resinas:

No se encontró ningún tipo de correlación entre las cantidades de P y S extraídas por la resina Merck con respecto a las extraídas por la resina Dowex y la MIA; en líneas generales, se observa que la primera extrae entre dos y tres veces más P que las segundas, excepto en los

Tabla 3. Cantidades de P y S extraídos por la resina Dowex y fraccionamiento del P en la suspensión sobrenadante (muestras V: cultivadas).

Muestra	pH	Bl-P	PRsob	PTsob	PIsob	POsob	PTex	Bl-S	Ssob	COsob
V-3	3,8	33,5	12,1	17,6	8,3	9,3	51,1	1939	1912	105
V-4	3,3	74,4	22,5	34,0	16,1	17,8	108	1879	2602	157
V-6	3,5	18,7	9,0	12,8	6,0	6,8	31,5	1384	1477	180
V-7	3,5	19,2	11,7	17,0	8,0	9,0	36,2	1262	1345	192
V-13	4,3	17,2	5,0	6,5	3,0	3,5	23,7	1401	748	89,5
V-18	3,8	44,9	10,9	15,8	7,4	8,3	60,7	2462	896	123
LE A1	4,5	7,4	5,4	7,1	3,3	3,8	14,5	251	91,8	51,4
LE BW2	4,8	6,0	4,3	5,4	2,5	2,9	11,4	288	161	22,7
LE Bw/C	4,9	11,8	20,3	30,5	14,5	16,0	42,3	743	212	51,3
LL A1	4,3	1,5	4,3	5,4	2,5	2,9	6,9	50,6	308	10,4
LL Bw	3,9	3,8	16,1	23,9	11,3	12,6	27,7	115	125	81,7
CH Bw/C	4,3	33,0	14,1	20,8	9,8	10,9	53,8	129	144	111
GJ A1	3,8	35,4	15,0	22,2	10,5	11,7	57,6	181	191	134
IZ A1	4,5	30,6	7,3	10,1	4,7	5,4	40,7	155	120	122
IZ A/B	4,4	22,2	11,4	16,5	7,8	8,7	38,7	52,0	187	63,1
BC A1	4,5	6,8	5,6	7,4	3,5	4,0	14,3	164	186	252
BC Bw3	4,5	8,5	5,0	6,5	3,0	3,5	15,0	486	181	414
LL A11	4,2	7,3	12,8	18,7	8,9	9,9	26,0	90,3	306	181
LL A12	4,1	4,7	2,4	4,8	1,1	3,7	9,5	79,6	173	142
PT A	4,4	16,1	6,9	9,5	4,4	5,0	25,5	86,0	160	204

**Tabla 3 (cont.).** Cantidades de P y S extraídos por la resina Dowex y fraccionamiento del P en la suspensión sobrenadante (muestras S, P: cultivadas)\*.

Muestra	pH	Bi-P	PRsob	PTsob	PIsob	POsob	PTex	Bi-S	Ssob	COsob
PTBw	4,4	19,1	24,0	36,3	17,3	19,1	55,5	82,8	113	145
S-1	4,3	559	9,9	14,2	6,7	7,5	573	1415	566	73,9
S-2	4,4	146	1,5	2,5	0,4	2,1	149	1383	397	13,7
S-3	4,3	351	19,3	28,9	13,7	15,2	380	1009	923	12,6
S-4	3,9	30,2	0,4	0,9	0,3	0,6	31,1	1288	843	13,5
S-5	4,1	80,7	1,9	1,6	0,7	0,9	82,3	847	756	10,1
S-6	4,3	30,4	1,6	1,2	0,5	0,7	31,6	978	703	11,9
P-1	3,8	350	35,8	54,8	26,1	28,7	405	1212	1353	11,8
P-2	3,8	539	16,8	25,0	11,9	13,1	564	937	486	62,8
ESM-F**	0,07	2,9	1,7	2,6	1,3	1,3	4,6	48,8	16,1	26,7
ESM-C**	0,09	51,2	2,6	3,9	1,9	2,0	53,8	115	158	17,3

\* Sufijos: Bi=en resina (eluyente bicarbonato), sob=sobrenadante, Tsob=total sobrenadante, Isob=inorgánico (reactivo frente al molibdato), Osob=orgánico sobrenadante

\*\* Error estándar de la media (C: muestras cultivadas; F: muestras forestales)

**Tabla 4.** Cantidades de P y S extraídos por la MIA Iónicos y fraccionamiento del P en la suspensión sobrenadante (muestras V: cultivadas).

Muestra	pH	Cl-P	PRsob	PTsob	PIsob	POsob	PTex	Cl-S	Ssob	COsob
V-3	4,3	39,7	8,3	12,3	2,3	10,0	52,0	1439	1650	120
V-4	3,9	79,9	11,7	13,8	2,2	11,6	93,7	1255	2150	165
V-6	4,2	27,6	4,2	5,7	l.d.	5,7	33,3	924	1015	199
V-7	4,2	28,9	7,3	10,1	1,3	8,8	39,0	969	945	208
V-13	5,0	25,2	4,1	5,9	l.d.	5,9	31,1	1111	615	100
V-18	4,5	52,3	5,3	6,7	l.d.	6,7	59,0	2025	701	144
LE A1	5,2	8,7	2,9	5,1	l.d.	5,1	13,8	181	71,5	81,5
LE BW2	5,4	7,1	2,2	5,0	l.d.	5,0	12,1	235	148	42,9
LE Bw/C	5,5	13,9	11,3	13,9	1,2	12,7	27,8	629	188	66,3
LL A1	4,9	4,7	2,8	5,2	l.d.	5,2	9,9	48,5	277	64,4
LL Bw	4,5	6,4	7,6	8,6	l.d.	8,6	15,0	103	102	91,1
CH Bw/C	4,9	37,9	6,8	11,9	l.d.	11,9	49,8	117	114	143
GJ A1	4,5	40,6	8,2	13,6	1,6	12,0	54,2	167	189	141
IZ A1	5,1	38,3	5,6	10,8	l.d.	10,8	49,1	122	105	139
IZ A/B	5,0	24,5	6,2	9,8	1,3	8,5	34,3	39,1	154	77,7
BC A1	5,1	10,1	2,3	5,8	l.d.	5,8	15,9	154	150	302
BC Bw3	5,1	12,8	3,1	5,7	l.d.	5,7	18,5	415	133	477
LL A11	4,8	9,5	6,0	10,3	l.d.	10,3	19,8	88,5	255	202
LL A12	4,8	7,7	3,1	5,1	l.d.	5,1	12,8	69,9	124	166
PT A	5,1	22,6	3,0	5,4	l.d.	5,4	28,0	72,5	124	241



**Tabla 4 (cont.).** Cantidades de P y S extraídos por la MIA Iónicas y fraccionamiento del P en la suspensión sobrenadante (muestras S, P: cultivadas)\*.

Muestra	pH	Cl-P	PRsob	PTsob	PIsob	POsob	PTex	Cl-S	Ssob	COsob
PT Bw	5,2	25,4	10,2	13,6	1,3	12,3	39,0	77,4	93,2	166
S-1	4,9	581	5,6	8,4	l.d.	8,4	589	1152	560	90,2
S-2	5,1	176	3,9	6,3	l.d.	6,3	182	1138	401	19,9
S-3	4,9	364	11,6	16,2	3,1	13,1	380	915	850	15,8
S-4	4,5	38,5	2,5	3,9	l.d.	3,9	42,4	988	804	19,5
S-5	4,7	91,2	1,6	3,3	l.d.	3,3	94,5	774	726	14,1
S-6	4,9	37,6	1,2	2,9	l.d.	2,9	40,5	798	640	15,1
P-1	4,4	389	20,3	23,8	l.d.	19,9	413	1150	1300	13,5
P-2	4,5	568	8,7	10,1	l.d.	8,5	578	899	502	77,3
ESM-F**	0,07	3,3	0,76	0,91	0,16	0,75	3,9	40,9	14,9	30,2
ESM-C**	0,10	51,1	1,4	1,6	0,37	1,2	55,8	85,6	129	19,3

\* Suffijos: Cl=en MIA (eluyente cloruro), sob=sobrenadante, Tsob=total sobrenadante, Isob=inorgánico (reactivo frente al molibdato), Osob=orgánico sobrenadante

\*\* Error estándar de la media (C: muestras cultivadas; F: muestras forestales); l.d.: límite de detección

Tabla 5. Cantidades de P y S extraídos por la resina Merck y fraccionamiento del P en la suspensión sobrenadante (muestras V: cultivadas).

Muestra	pH	Bi-P	PRsob	PTsob	PIsob	POsob	PTex	Bi-S	Ssob	COsob
V-3	7,8	172	12,2	33,5	8,8	24,8	205	1030	286	181
V-4	7,8	271	32,9	94,6	23,3	71,3	366	1126	546	203
V-6	7,8	86,0	9,4	21,6	6,2	15,4	108	271	183	257
V-7	7,5	80,2	15,4	38,8	12,3	26,4	119	497	284	271
V-13	7,8	57,2	8,4	20,0	5,8	14,3	77,2	666	340	115
V-18	7,6	143	15,7	41,1	10,2	30,8	184	663	401	231
LE A1	8,2	37,8	0,8	3,2	0,6	2,6	41,0	1251	110	104
LE BW2	8,3	39,8	1,8	7,2	1,4	5,9	47,0	1149	112	60,2
LE Bw/C	8,1	38,6	1,9	7,6	1,5	6,1	46,2	1427	136	113
LL A1	7,9	33,4	2,7	9,6	2,0	7,6	43,0	327	317	206
LL Bw	7,9	24,5	4,4	13,3	4,3	9,0	37,8	237	501	131
CH Bw/C	8,3	42,7	1,3	5,8	1,0	4,8	48,5	122	80,8	194
GJ A1	8,0	27,8	1,9	8,3	1,2	7,0	36,1	122	254	250
IZ A1	8,1	40,1	4,0	12,8	3,0	9,7	52,9	176	173	203
IZ A/B	8,1	34,1	7,1	20,5	5,3	15,2	54,6	195	231	148
BC A1	7,8	21,3	2,8	9,8	2,3	7,5	31,1	307	216	467
BC Bw3	7,6	32,0	27,6	80,2	21,2	59,0	112	559	274	891
LL A11	7,9	30,8	2,2	10,2	1,7	8,5	41,0	343	361	267
LL A12	7,8	29,1	1,4	9,7	1,1	8,7	38,8	252	294	216
PT A	7,7	35,4	7,9	22,6	5,9	16,7	58,0	221	122	315

**Tabla 5 (cont.).** Cantidades de P y S extraídos por la resina Merek y fraccionamiento del P en la suspensión sobrenadante (muestras S, P: cultivadas)\*.

Muestra	pH	Bi-P	PRsob	PTsob	PIsob	POsob	PTex	Bi-S	Ssob	COsob
mg kg <sup>-1</sup>										
PT Bw	7,6	78,9	11,1	28,8	9,3	19,5	108	181	472	240
S-1	8,0	192	259	413	175	237,4	605	336	277	120
S-2	8,3	278	17,3	45,3	13,8	31,5	323	486	287	12,3
S-3	8,5	299	30,3	87,7	20,2	67,6	387	341	345	43,2
S-4	8,1	74,4	1,9	11,2	1,1	10,2	85,6	221	133	70,5
S-5	8,4	157	8,5	27,5	7,3	20,2	184	125	118	51,9
S-6	8,4	79,2	8,2	21,6	7,8	13,8	101	188	175	70,9
P-1	8,0	970	101	177	80,3	96,3	1147	169	268	43,4
P-2	8,3	1145	133	267	101	165,4	1412	180	182	150
ESM-F**	0,06	3,4	1,8	4,9	1,4	3,5	6,3	114	33,5	52,2
ESM-C**	0,09	90,4	19,3	31,2	13,5	17,9	110	85,3	30,6	23,1

\* Suflijos: Bi= en resina (eluyente bicarbonato), sob=sobrenadante, Tsob=total sobrenadante, Isob=inorgánico (reactivo frente al molibdato), Osob=orgánico sobrenadante

\*\* Error estándar de la media (C: muestras cultivadas; F: muestras forestales)

suelos GJ A y en S-1 donde ocurre lo contrario, aunque sin duplicar a la Merck.

Sin embargo, se observa que para el caso del sulfato, la resina Dowex y la MIA extraen entre dos y tres veces más que la resina Merck en los suelos cultivados, mientras que en los naturales ocurre lo contrario (excepto muestra GJ A). Esto parece indicar que los mecanismos implicados en la desorción de P y S parecen ser diferentes dependiendo del tipo de resinas empleadas.

Por otro lado, las cantidades de P extraídas por las resinas Dowex y MIA presentan una correlación bastante estrecha tanto si:

i.- consideramos todos los suelos ( $R^2=0,998$ ,  $P<0,001$ ):

$$[\text{Bi} - \text{P}(\text{MIA})] = 1,05[\text{Bi} - \text{P}(\text{DOWEX})] + 4,93$$

ii.- consideramos los suelos forestales ( $R^2=0,975$ ,  $P<0,01$ ):

$$[\text{Bi} - \text{P}(\text{MIA})] = 1,11[\text{Bi} - \text{P}(\text{DOWEX})] + 2,11$$

iii.- solo consideramos las muestras cultivadas ( $R^2=0,998$ ;  $P<0,001$ ):

$$[\text{Bi} - \text{P}(\text{MIA})] = 1,04[\text{Bi} - \text{P}(\text{DOWEX})] + 8,01$$

Esto pone de manifiesto que los mecanismos implicados en la desorción parecen ser similares. Desde el punto de vista práctico, esto viene a indicar que la extracción de P y S con membranas de resina puede sustituir, por operatividad y facilidad de

regeneración, al método tradicional de las resinas granulares microporosas.

#### iv.- P y S en la suspensión sobrenadante:

En todas las suspensiones de resinas granulares y MIA, el PRsob (fracción reactiva) ha sido inferior al PTsob (fracción total) (Tablas 3, 4 y 5). Las cantidades de sulfato que permanecen en disolución (Ssob) siempre fueron muy superiores a las de cualquier fracción de fosfato siguiendo la misma pauta que los eluatos de los diferentes tipos de resinas. En la resina Merck la diferencia fue menos acusada en las muestras sobrefertilizadas S y P.

#### v.- Cationes asociados y contenido en carbono orgánico:

En los eluatos de resina granular no se detectaron, en ningún caso, Al, Si, Fe y CO. Sin embargo, en la suspensión sobrenadante la presencia de Al, Si y Fe elementos fue muy importante (Tabla 6). El contenido en Al, Si y Fe fue mayor en las suspensiones de la resina Merck que en las de la resina Dowex lo cual parece indicar que la primera resina ha actuado como un agente dispersante de los coloides del suelo más eficaz que la resina Dowex; esta afirmación se ve confirmada por el contenido en CO de estas suspensiones (Tablas 3 y 5) que duplican e incluso triplican el valor obtenido en los sobrenadantes de la resina Dowex. En el suelo alofánico (LE), no se detectaron cantidades apreciables de Al, mientras que el contenido en Fe fue relativamente bajo, aunque no así el de Si.

**Tabla 6.** Cantidades de Al, Si y Fe en equilibrio extraídos por las diferentes resinas (mg kg<sup>-1</sup>) en la suspensión sobrenadante (muestras V: cultivadas).

Muestra	DOWEX			MIA			MERCK		
	Al	Si	Fe	Al	Si	Fe	Al	Si	Fe
V-3	315	115	19,7	333	156	11,1	616	670	147
V-4	644	299	55,9	715	325	35,5	1804	2186	738
V-6	75,6	66,5	12,4	71,6	59,7	14,7	416	499	83
V-7	88,1	51,1	11,3	96,5	63,3	7,1	220	275	55
V-13	1.d.	49,7	12,6	5,1	40,6	13,9	11,0	192	192
V-18	129	101	11,1	115	90,5	15,1	599	654	132
LE A1	1.d.	11,3	5,7	1.d.	19,9	1.d.	1.d.	58,1	8,7
LE Bw2	1.d.	20,4	1.d.	1.d.	34,5	1.d.	1.d.	91,7	6,1
LE Bw/C	1.d.	12,4	1.d.	1.d.	10,2	1.d.	1.d.	64,4	1.d.
LL A1	119	127	91,5	128	157	81,9	473	612	211
LL Bw	579	333	222	601	299	198	2394	4544	1224
CH Bw/C	8,2	88,6	5,5	11,7	76,8	1.d.	53	159	13,2
GJ A1	88,6	128	39,7	101	108	41,3	391	336	120
IZ A1	77,3	100	37,7	79,5	120	49,7	285	259	85,4
IZ A/B	268	215	41,5	251	179	55,9	1444	1469	394
BC A1	47,6	88,7	38,1	61,3	78,5	30,7	228	183	97,4
BC Bw3	547	121	98,7	505	133	110	1191	569	292
LL A11	127	157	21,2	177	124	28,8	523	606	187
LL A12	201	195	24,7	245	215	37,6	682	751	223
PT A	7,1	101	5,0	12,1	98	1.d.	49,0	489	24,5

**Tabla 6 (cont.).** Cantidades de Al, Si y Fe en equilibrio extraídos por las diferentes resinas ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en la suspensión sobrenadante (muestras S, P: cultivadas).

Muestra	DOWEX			MIA			MERCK		
	Al	Si	Fe	Al	Si	Fe	Al	Si	Fe
PT Bw	328	321	84,2	349	295	70,5	1621	1701	567
S-1	179	288	24,6	158	303	16,4	948	1132	177
S-2	47,2	87,3	8,2	62,4	57,9	8,9	197	337	56,1
S-3	102	258	37,5	137	299	47,7	802	859	172
S-4	11,1	12,7	ND	19,0	7,7	1.d.	93,0	155	15,5
S-5	64,6	99,1	11,7	58,1	101	19,9	325	542	70,5
S-6	301	388	33,4	342	357	44,3	976	1443	198
P-1	128	241	21,3	159	294	29,7	617	977	147
P-2	55,4	55,3	5,0	61,6	33,3	1.d.	116	310	25,9
ESM-F*	49,6	25,3	15,1	49,1	22,8	14,0	187	296	82,4
ESM-C*	45,5	31,7	4,0	50,2	34,4	3,9	128	151	47,6

\* Error estándar de la media (C: muestras cultivadas; F: muestras forestales), 1.d.: límite de detección

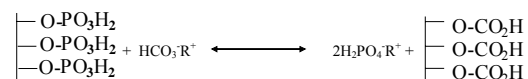
En los sobrenadantes de MIA (Tabla 6) se detectaron niveles elevados de Si, aunque siempre inferiores a 10 mg/l que se considera como límite a partir del cual este elemento interfiere en la determinación analítica del P<sup>3</sup>(American Public Health Association et al., 1995). En los sobrenadantes correspondientes, la tendencia fue similar a la observada para la resina Dowex.

#### vi.-Análisis de los resultados:

Tradicionalmente, se ha considerado por parte de diversos autores que la resina intercambiadora de aniones actúa como un sumidero o “sink” infinito para los iones que se desorben del suelo lo cual impide que la concentración de los mismos permanezca alta en disolución (Amer et al., 1955; Sibbesen, 1978; Somasiri et al., 1991). Sin embargo, a la vista de los resultados, en los Andosoles y el resto de suelos de carga variable, la resina parece constituir un falso sumidero debido al equilibrio que se establece en el sistema resina: agua:suelo. Barrow y Shaw (1977) indican que la resina no constituye un potente absorbente para el P pues las cantidades extraídas tienden a variar en función de la masa de resina empleada, el volumen de agua y el tiempo de extracción. En opinión de estos autores, sólo

después de muchas horas de agitación (<80h), la concentración de P en disolución llega a ser baja. Por otro lado, si suponemos que la resina es capaz de absorber todo el ortofosfato libre, podemos suponer, en una primera aproximación, que el fósforo que queda en la suspensión del suelo después del tratamiento con las resinas es orgánico u órganomineral soluble en medio acuoso y de difícil acceso para las resinas microporosas empleadas.

En el caso del S, el anión SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> parece estar más débilmente ligado a los coloides del suelo de lo que puede estarlo el fosfato; esto explicaría la diferencia entre ambos en las resinas. De todas maneras, siguiendo la misma pauta del fosfato, el S que queda en suspensión debería ser también de naturaleza orgánica u órganomineral. Esto parece indicar que en una primera etapa, la resina actúa como un sumidero rápido para las formas débilmente ligadas al complejo de cambio, produciendo un aumento en la velocidad de desorción de P y S desde el suelo, debido a la adsorción específica de iones HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> sobre la superficie de cambio de los coloides (Sibbesen, 1978), lo que provocaría la sustitución de los iones H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> por el HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el caso de las resinas Dowex y Merck (etapa I):



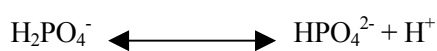
<sup>3</sup> En los sobrenadantes correspondientes a la resina Merck los valores de Si superaron este límite. La interferencia analítica en la determinación colorimétrica del P pensamos que no es dramática en este caso ya que según la edición online del Standard Methods (2005) y en términos de P, 100 mg l<sup>-1</sup> de Si (10 veces superior al valor considerado como límite) aumenta en una media de 0,025 mg l<sup>-1</sup> de P las cantidades obtenidas del macronutriente. Nuestros datos de Si en disolución son inferiores a esta concentración de referencia.

para el caso de la MIA, la adsorción en los coloides del Cl<sup>-</sup> no es del todo claro.

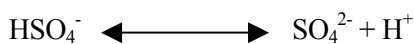
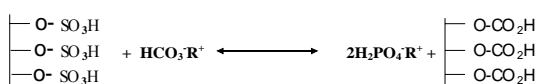
Sin embargo, en suelos de carga variable tanto el fosfato como el sulfato se encuentran

fuertemente retenidos por los compuestos activos de Fe y Al. La simple competencia entre el ión  $\text{HCO}_3^-$  o el ión  $\text{Cl}^-$  y los iones  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  por estos compuestos activos no parece explicar por sí solo las cantidades liberadas de ambos iones. La presencia de CO, Al y Fe, así como los cambios de pH en las suspensiones de los suelos parecen sugerir otros mecanismos, a parte del reseñado, que explique esta desorción.

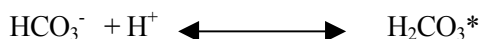
En el caso de la resina Dowex y la MIA (fuertemente básicas) podría ocurrir la etapa (I) en una primera fase. Sin embargo, Taylor y Ellis (1978), sugieren una desprotonación de la especie  $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ , previa a la adsorción por la resina:



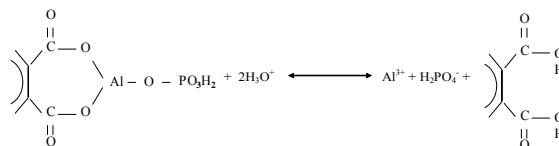
la hidrólisis del  $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ , permitiría explicar la disminución de dos unidades de pH en las suspensiones de equilibrio. Para el S las etapas serían similares:



En el caso de las suspensiones de la resina Dowex, al disminuir el pH, el  $\text{HCO}_3^-$  que sale de la resina y entra en contacto con la disolución sufriría un proceso de hidrólisis:



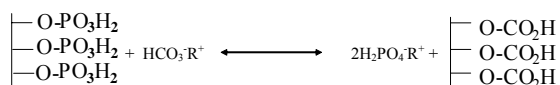
y por tanto la etapa (I) dejaría de ser la controlante del proceso, aumentando la adsorción al disminuir el pH. En cualquier caso y debido a este aumento de la acidez, la solubilización de los minerales tipo variscita y alunita se vería mucho más restringida y por tanto estas especies no contribuirían de forma significativa a los contenidos de P y S desorbidos. Sin embargo los contenidos en CO, Al y Fe parece sugerir la existencia de compuestos orgánicos de P (o S) o bien complejos ternarios del tipo: humus-Al(Fe)-P(S) que liberarían P (o S) a pH cercanos a 4 (Gerke, 1992):



posteriormente los iones  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  liberados se hidrolizarían con lo que se mantendría el pH relativamente bajo para que la hidrólisis continúe. El sulfato podría sufrir una reacción de hidrólisis similar al fosfato (Marcano-Martínez y McBride, 1989).

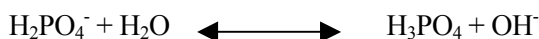
En el caso de la resina Merck, el intercambio entre los iones fosfato y sulfato provenientes de la etapa (I) hacia la resina podría ocurrir mediante el siguiente mecanismo:

a) Etapa (I):



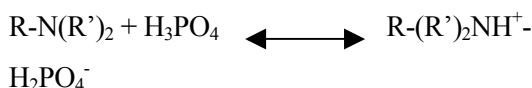
b) Hidrólisis de la especie  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ :



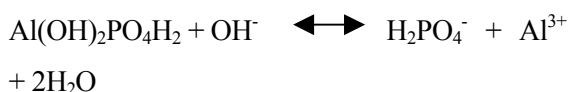


lo cual explicaría el aumento del pH en los sobrenadantes.

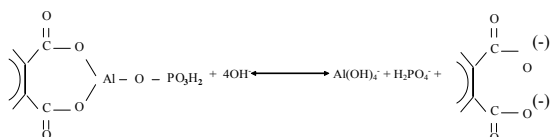
c) Difusión hacia la resina:



Al aumentar el pH, podrían disolverse fosfatos y sulfatos de Al y Fe tipo variscita o Alunita. Para el primero:



y se hidrolizarían los posibles complejos ternarios existentes (Gerke, 1992):



Nuestros resultados parecen apuntar que la dinámica físico-química de las especies que contienen sulfato y fosfato en Andosoles y otros suelos con características ándicas parecen ser similares. La competencia que parece establecerse entre ambos aniones por la resina, los cambios de acidez en las suspensiones resultantes y los contenidos de ambos elementos, así como de otros elementos asociados, Al y Fe, cuya solubilidad puede deberse, en parte, a compuestos orgánicos u órgano minerales solubles presentes en los sobrenadantes de resina. La materia orgánica soluble parece estar

jugando un papel preponderante en la dinámica de la disolución del suelo en relación con ambos elementos y, por ende, en su disponibilidad.

Por otro lado, aunque los mecanismos aquí reseñados pudieran explicar los resultados obtenidos, el color que presentaron las MIA después de los sucesivos lavados y la regeneración de las membranas con NaCl 1M nos hizo sospechar de la presencia de coloides orgánicos e inorgánicos en las mismas. Es por ello que nuestro interés, a partir de este punto, consistió en estudiar diferentes variables que pudieran influir sobre la extracción de P, y posiblemente por extensión sobre el S, por la MIA por ser este un método, desde el punto de vista operacional, mucho más sencillo que las clásicas resinas intercambiadoras de aniones.

### 3.2. Extracción secuencial del P en suelos de un ensayo biológico por membranas de intercambio aniónico

En la Tabla 7 se muestran los elementos y las fracciones de P detectadas en los eluatos de Cl- y Bi- procedentes de la MIA en los dos suelos fertilizados estudiados. En los eluatos de Cl-MIA solo se detectó P, Fe y Si. Las Tablas 8 y 9 muestran las concentraciones para los dos suelos estudiados. El fósforo recuperado en cada tratamiento por la MIA en las diferentes fracciones de P se muestra en la Fig. 1 para el suelo fertilizado La Esperanza. Las fracciones de fósforo encontradas en este suelo presentaron una elevada correlación (Fig. 2). Por otra parte, el Al, Fe, CO y las

**Tabla 7.** Características de los eluatos de MIA procedentes de las eluciones secuenciales.

Eluatos-Cl	Eluatos-Bi
P, Si, Fe	P, P <sub>c</sub> , Al, Si, Fe, CO

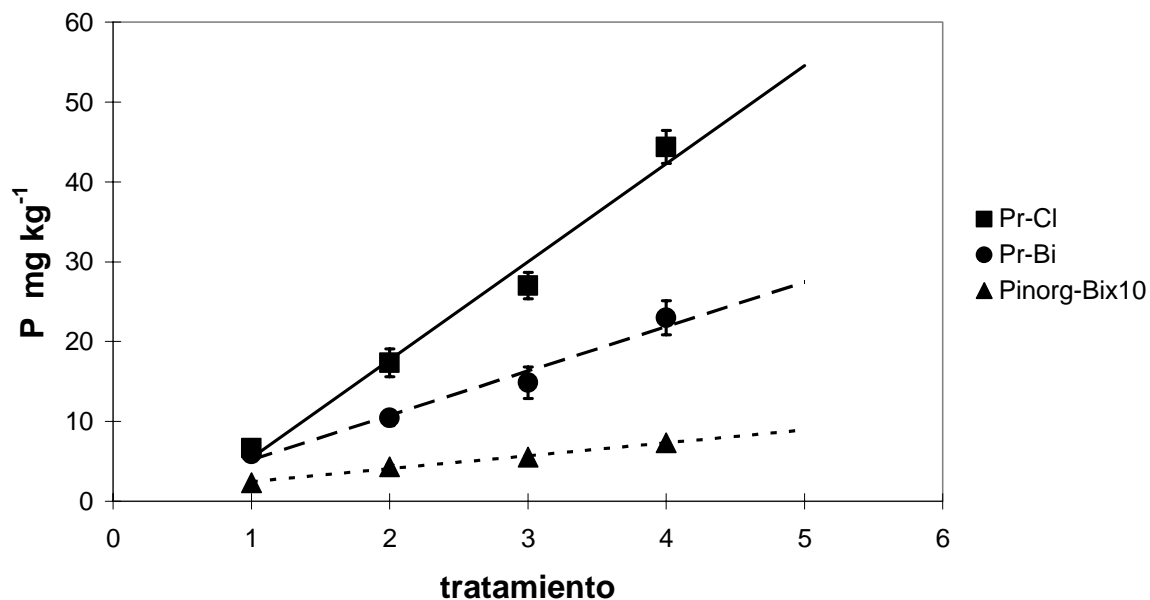
**Tabla 8.** Fraccionamiento del P en los eluatos de MIA (Cl- y -Bi-) para el suelo La Esperanza A (media±ESM).

Tratamiento	mg kg <sup>-1</sup>									
	Cl-P	Cl-Fe	Cl-Si	Bi-P	Bi-P <sub>c</sub>	Bi-CO	Bi-Al	Bi-Fe	Bi-Si	
1	6,4±0,7	9,8±0,3	613±42	5,7±0,6	0,22±0,04	10,1±1,1	14,9±0,5	9,3±0,3	74,7±7,8	
2	17,4±1,8	15,8±0,5	650±29	10,4±0,9	0,43±0,03	27,0±2,4	22,4±1,4	14,2±0,5	70,5±6,2	
3	27,0±1,7	22,1±0,4	617±26	14,9±2,0	0,56±0,02	59,2±7,9	29,1±3,2	17,9±0,4	75,8±6,7	
4	44,3±2,0	29,0±0,4	623±18	23,0±2,1	0,73±0,02	103±10	40,9±1,8	22,1±0,8	81,8±4,5	

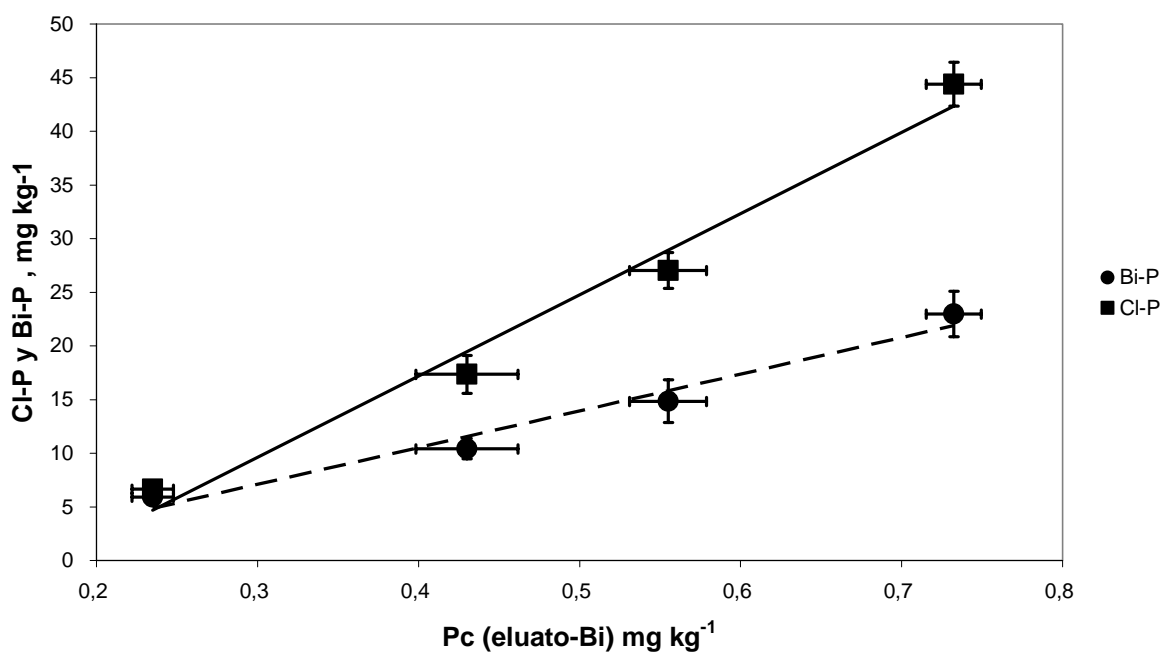
**Tabla 9.** Fraccionamiento del P en los eluatos de MIA (Cl- y -Bi-) para el suelo Karting A (media±ESM).

Tratamiento	mg kg <sup>-1</sup>									
	Cl-P	Cl-Fe	Cl-Si	Bi-P	Bi-Pc	Bi-CO	Bi-Al	Bi-Fe	Bi-Si	
1	11,8±0,9	7,2±0,5	814±50	16,6±0,9	0,33±0,02	29,7±1,6	23,2±1,3	10,5±0,5	118±3	
2	22,3±0,7	13,9±0,6	880±22	21,2±0,8	0,65±0,03	55,0±2,0	32,3±1,9	18,5±0,7	127±9	
3	40,0±1,1	19,7±0,6	845±38	31,0±2,0	0,96±0,02	111±7	42,5±2,3	25,9±0,5	122±8	
4	58,0±1,4	25,8±0,4	867±42	40,0±1,1	1,32±0,05	192±6	52,6±1,5	29,0±0,7	124±5	

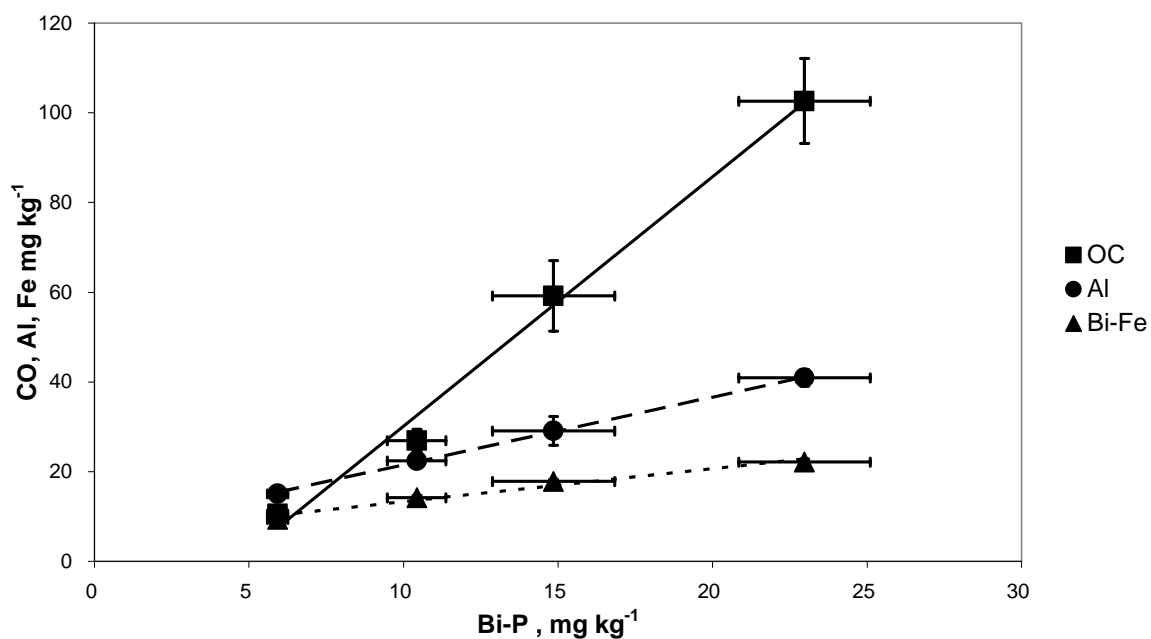
**Figura 1.** Influencia de los tratamientos de P sobre las fracciones de P obtenidas en los eluatos. Las barras de error constituyen el error estándar de la media (Pinorg-Bix10 = Bi-Pc).



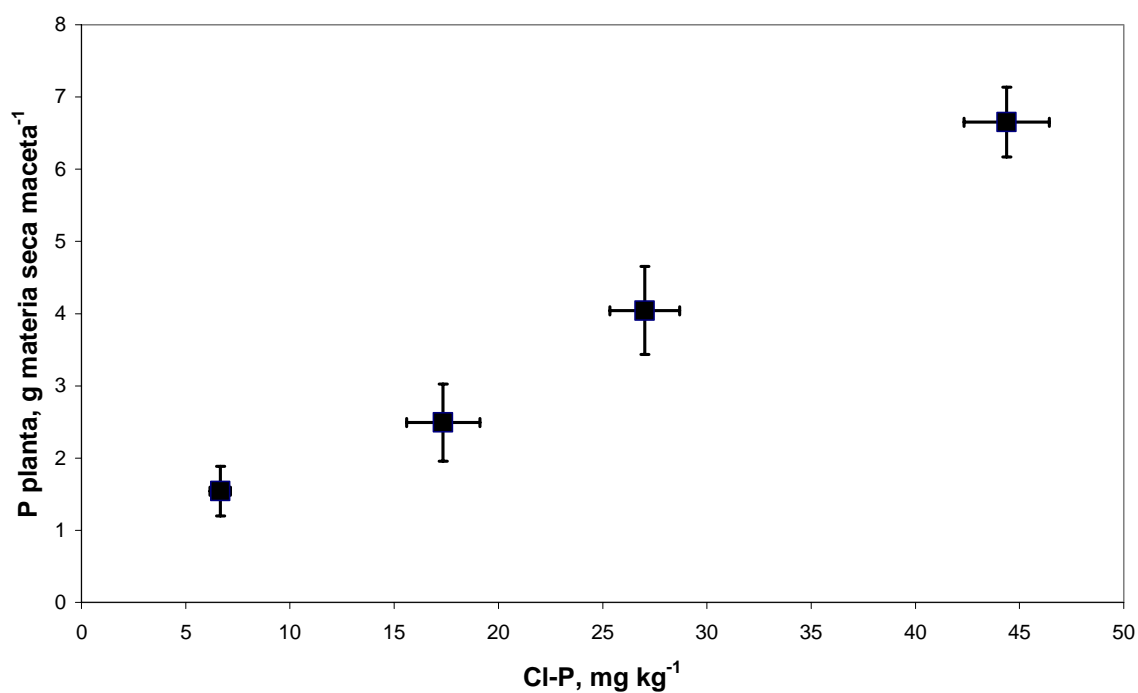
**Figura 2.** Relaciones entre las fracciones de P en los eluatos del suelo La Esperanza A (medias±SD).



**Figura 3.** Relaciones entre CO, Al y Fe en los eluatos de bicarbonato del suelo La Esperanza A (media $\pm$ SD).



**Figura 4.** Rendimiento del cultivo frente al P en los eluatos de cloruro para el suelo La Esperanza A.



fracciones de P en este suelo también estaban correlacionadas (Fig. 3).

La fracción CI-P también estuvo correlacionada con el rendimiento del cultivo de maíz obtenido al finalizar el ensayo (Fig. 4). Es importante hacer hincapié que para el más elevado de los tratamientos (E-250), el P siguió siendo factor limitante para el crecimiento de la planta en ambos suelos. Esto no es sorprendente ya que los Andosoles pueden responder ante P añadido hasta niveles superiores a  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  (Parfitt, 1989). Por otro lado, el P inorgánico extraído por la MIA (Bi-Pc) fue consistente con la baja intensidad de P y la respuesta a la planta al macronutriente.

La buena reproducibilidad observada para cada tanda de cuatro réplicas, junto con las correlaciones observadas entre las fracciones de P y Al(Fe) y CO, sugiere que la adherencia de las partículas del suelo a las MIA podría no considerarse como una contaminación en el sentido de una adherencia aleatoria. Por tanto, el mecanismo de desorción de fosfato implicado para la extracción de P por la MIA para este tipo de suelos, puede que no se explique simplemente a través de una reacción de intercambio aniónico.

El fósforo ha debido ser absorbido por la membrana en forma de complejos del tipo humus-Al(Fe)-P (donde P = P inorgánico u orgánico) que podría haber sido formado por la reacción del P inorgánico añadido al suelo con compuestos comunes presentes en los Andosoles como los del tipo humus-Al(Fe)-OH [a humus-Al(Fe)-P]. Estos complejos los hemos sugerido como presentes en la disolución del suelo para el

perfil La Esperanza en el capítulo dedicado al método Olsen. La reacción de los complejos de P con unidades de alofanos o sus productos de despolimerización (hidroxialuminatos) también podría ser consistente con la composición de los compuestos absorbidos por la membrana.

El efecto de la fuerza iónica y el pH de los eluyentes podrían haber inducido la hidrólisis y la solubilización de los complejos adsorbidos por la MIA, aunque se necesitaría tener más información para discutir los mecanismos implicados.

A pesar de que el uso de la MIA para estudios del P en este tipo de suelos parece tener algunas limitaciones, este método podría ayudar a comprender su dinámica en estos sistemas de Al(Fe) altamente reactivos.

### *3.3. Variación del P extraído con el número de MIA empleadas y con la relación w:s*

La variación del número de membranas de resina en el sistema provocó un aumento en las cantidades de P extraídas en los suelos estudiados (Tabla 10), aunque en ningún caso estas cantidades superaron la capacidad de absorción de una de las MIA para el fosfato. La misma tendencia fue observada cuando se aumentó la relación w:s empleando una sola MIA (Tabla 11). Por otro lado, no pareció existir diferencias importantes entre el P reactivo disuelto (PR) (Tabla 12) y el P en la MIA extraíble con NaCl (CI-P) para w:s = 30 l  $\text{kg}^{-1}$  (Tabla 11). La diferencia entre ambos parámetros incrementó con la dilución (Tablas

**Tabla 10.** Fraccionamiento del P en los eluatos (Cl- y Bi-) para cada tratamiento con MIA (media±ESM; I.d.: límite detección).

Suelos	MIA	Cl-P	Cl-Fe	Cl-Si	Bi-P	Bi-Pc	Bi-CO	Bi-Al	Bi-Fe	Bi-Si
LL-A	1	5,7±0,5	I.d.	326±33	9,9±0,6	0,35±0,02	22,5±1,8	20,0±1,1	7,4±0,5	55,8±5,0
	3	18,4±1,1	2,5±0,4	517±48	13,2±1,5	0,73±0,08	51,3±3,8	45,1±3,9	15,8±0,9	88,7±6,3
	5	29,6±1,8	5,8±0,9	722±64	17,7±1,5	0,95±0,07	88,5±7,3	79,2±4,9	25,6±1,7	114±11
LE-A	1	8,4±0,7	I.d.	481±43	3,9±0,5	0,15±0,02	7,7±1,1	13,7±0,9	2,9±0,4	59,8±6,1
	3	21,1±1,8	3,9±0,7	664±59	6,9±0,8	0,33±0,05	19,8±0,2	33,4±1,5	6,2±1,3	92,5±8,7
	5	42,6±3,1	8,9±0,5	995±97	9,3±1,2	0,57±0,05	44,5±2,9	66,5±3,4	18,6±2,1	189±16
LE-Bw/C	1	14,7±1,5	I.d.	225±21	2,4±0,6	0,19±0,02	5,5±0,3	13,5±0,9	4,6±0,7	33,1±1,9
	3	28,3±1,3	2,9±0,3	395±34	4,2±0,9	0,44±0,03	12,4±0,1	28,0±2,5	10,5±1,1	61,3±3,8
	5	51,0±2,9	6,2±0,7	625±58	6,6±0,9	0,63±0,05	31,5±2,5	56,4±4,8	21,4±1,9	115±10
LE-0	1	6,4±0,7	9,8±0,3	681±59	5,7±0,6	0,22±0,04	10,1±1,1	14,9±0,5	9,3±0,3	74,7±7,8
	3	22,7±2,2	16,7±0,9	1000±91,3	12,8±0,7	0,48±0,03	27,7±1,7	33,6±2,8	16,7±0,9	115±10
	5	49,5±3,8	28,9±1,8	1137±114	28,7±1,8	1,01±0,06	54,9±4,1	51,2±4,7	28,5±1,9	227±19
LE-50	1	17,4±1,8	15,8±0,5	715±69	10,4±0,9	0,43±0,03	27,0±2,4	22,4±1,4	14,2±0,5	70,5±6,2
	3	39,2±2,9	36,4±2,1	1010±100	24,7±2,1	0,88±0,03	59,1±4,8	42,8±2,8	26,7±2,0	129±10
	5	83,9±4,1	67,8±4,9	1411±133	39,7±2,7	1,15±0,07	104±9	78,0±5,4	49,1±3,8	233±19
LE-100	1	27,0±1,7	22,1±0,4	686±62	14,9±2,0	0,56±0,02	59,2±7,9	31,7±3,2	17,9±1,4	75,8±6,7
	3	54,1±3,4	37,8±1,8	920±86	33,7±2,1	1,05±0,07	109±11	61,7±5,8	35,1±2,5	119±12
	5	99,8±7,9	59,7±2,9	1126±115	51,4±4,9	1,73±0,09	169±14	99,8±8,9	59,7±4,9	229±18

**Tabla 10 (cont).** Fraccionamiento del P en los eluatos (Cl- y -Bi-) de los suelos estudiados para cada tratamiento con MIA (media±ESM).

Suelos	MIA	Cl-P	Cl-Fe	Cl-Si	Bi-P	Bi-Pc	Bi-CO	Bi-Al	Bi-Fe	Bi-Si
LE-200	1	44,3±2,0	29,0±1,4	705±68	23,0±2,1	0,73±0,02	103±10	41,0±1,8	22,1±0,8	81,8±7,5
	3	87,9±9,9	42,3±3,0	957±91	49,1±3,5	1,22±0,09	199±14	75,5±5,6	51,2±2,0	158±12
	5	163±10	68,8±5,2	1268±115	77,4±5,9	2,54±0,18	275±24	125±10	77,9±5,1	277±19
K-0	1	11,8±0,9	7,2±0,5	305±30	16,6±0,9	0,33±0,02	29,7±1,6	23,2±1,3	10,5±0,5	118±10
	3	25,2±2,2	16,5±1,5	431±34	20,7±1,2	0,77±0,09	59,2±4,0	39,6±3,0	24,3±1,0	230±19
	5	40,1±3,2	22,9±1,5	458±43	29,3±1,9	1,78±0,12	89,7±5,9	58,7±3,9	36,6±3,1	291±27
K-50	1	22,3±1,7	13,9±0,6	335±30	21,2±0,8	0,65±0,03	55,0±4,0	32,4±1,9	18,5±0,7	226±19
	3	39,7±1,5	24,5±1,0	469±26	27,4±1,8	1,59±0,21	102±8,9	52,7±4,0	41,7±2,9	298±19
	5	64,8±3,3	42,7±2,3	617±57	39,8±2,5	4,09±0,29	204±15	88,5±5,9	66,1±5,0	501±39
K-100	1	29,2±1,1	25,9±0,9	623±58	31,0±2,0	0,96±0,02	111±7,0	82,0±7,3	62,5±5,5	122±11
	3	62,3±4,2	59,5±3,9	848±77	42,7±3,1	2,17±0,38	239±17	179±16	169±15	294±17
	5	85,0±10	88,4±6,8	978±92	59,3±3,9	5,09±0,49	399±25	267±24	255±23	503±31
K-200	1	49,3±3,4	29,0±1,7	906±82	40,0±1,1	1,32±0,05	192±14	118±12	93,0±8,7	124±11
	3	99,2±7,9	56,9±4,9	1237±117	61,2±3,3	3,33±0,45	388±24	273±25	236±22	409±38
	5	115±11	102±9,4	1328±128	70,4±5,2	7,89±0,80	598±33	351±28	251±24	453±44



**Tabla 11.** Fraccionamiento del P en los eluatos (Cl- y Bi-) para cada relación w:s y con una MIA (media±ESM; l.d.: límite detección).

Suelos	w:s	Cl-P	Cl-Fe	Cl-Si	Bi-P	Bi-Pc	Bi-CO	Bi-Al	Bi-Fe	Bi-Si
mg kg <sup>-1</sup>										
LL-A	30	5,8±0,7	l.d.	277±29	9,9±0,6	0,35±0,02	22,5±1,8	22,4±1,1	7,4±0,6	55,8±5,0
	75	25,0±1,1	2,9±0,3	607±53	31,5±1,1	1,29±0,09	91,1±6,3	50,5±4,3	26,1±1,8	125±10
	150	40,6±3,9	6,9±0,7	704±69	75,3±4,8	3,77±0,54	195±12	84,7±7,8	53,3±3,4	329±27
LE-A	30	8,4±0,5	l.d.	426±39	3,9±0,5	0,15±0,02	7,7±1,1	15,7±0,9	2,9±0,4	59,8±6,1
	75	24,7±1,8	5,2±0,9	648±59	12,0±0,9	0,89±0,25	30,2±2,9	37,6±2,2	12,3±1,2	105±11
	150	63,8±5,2	12,4±1,0	965±81	51,4±2,9	2,07±0,85	91,0±6,1	70,1±5,1	64,0±5,7	221±21
LE-Bw/C	30	14,7±1,1	l.d.	174±11	2,4±0,6	0,19±0,02	5,5±0,3	14,8±1,1	4,6±0,7	33,1±1,9
	75	46,8±2,9	3,7±0,5	528±51	16,3±1,4	0,77±0,07	39,4±2,1	32,1±2,0	20,5±1,9	83,4±5,5
	150	106±10	9,0±0,6	784±73	54,0±2,7	1,79±0,25	91,5±5,9	76,3±5,6	75,0±6,9	180±17
LE-0	30	6,3±0,9	9,8±0,3	607±58	5,7±0,6	0,22±0,04	10,1±1,1	14,9±0,5	9,3±0,9	74,7±7,8
	75	33,1±2,0	22,1±1,3	1070±99	19,2±1,2	1,55±0,10	47,1±4,0	44,2±3,9	25,1±2,2	198±17
	150	52,5±4,9	39,2±2,2	1171±115	42,7±3,1	2,49±0,19	92,1±7,7	72,5±6,9	42,3±4,1	324±29
LE-50	30	25,9±1,8	24,9±2,5	623±60	10,4±0,9	0,43±0,03	27,0±2,4	29,2±2,4	14,2±0,5	70,5±6,2
	75	53,8±4,7	42,4±2,7	870±85	34,2±2,8	1,78±0,07	77,4±6,5	46,7±4,4	25,5±2,9	182±16
	150	129±9,6	70,4±4,9	1407±129	61,3±4,2	3,01±0,19	189±14	97,1±9,2	67,6±5,1	398±31
LE-100	30	26,4±1,7	22,1±1,3	607±56	14,9±2,0	0,56±0,02	59,2±7,9	28,7±2,5	17,9±1,4	75,8±6,7
	75	83,5±6,7	47,9±3,0	1299±105	44,4±3,2	1,59±0,11	198±17	82,3±7,8	68,2±5,9	194±16
	150	115±10	61,6±5,7	1311±120	63,7±5,5	5,33±0,27	315±25	95,9±8,1	77,7±6,8	498±39

**Tabla 11 (cont).** Fraccionamiento del P en los eluatos (Cl- y -Bi-) de los suelos estudiados para cada relación w:s y con una MIA (media±ESM).

Suelos	w:s	Cl-P	Cl-Fe	Cl-Si	Bi-P	Bi-Pc	Bi-CO	Bi-Al	Bi-Fe	Bi-Si
mg kg <sup>-1</sup>										
LE-200	30	83,4±2,0	51,8±5,0	623±64	23,0±2,1	0,73±0,02	103±10	64,7±5,8	29,0±1,8	81,8±7,5
	75	118±10	63,1±5,3	1032±99	54,2±4,9	3,82±0,29	222±19	95,7±8,0	56,8±4,2	209±19
	150	168±15	91,6±8,1	1385±125	94,0±7,1	8,40±0,68	405±37	130±11	69,7±5,4	489±39
K-0	30	11,8±0,9	7,2±0,5	814±70	16,6±1,2	0,33±0,02	29,7±1,6	23,2±1,3	10,5±0,5	118±10
	75	45,8±4,2	37,1±2,8	1436±135	40,9±3,2	1,71±0,19	98,7±7,2	68,5±5,8	32,5±3,0	445±44
	150	70,1±6,4	89,1±7,5	1703±165	69,4±5,5	3,45±0,29	180±15	95,9±9,1	40,9±4,0	698±61
K-50	30	22,9±1,7	13,9±0,6	893±72	21,2±0,8	0,65±0,03	55,0±4,0	32,7±2,8	18,5±0,7	127±9
	75	70,1±3,7	37,4±3,1	1587±143	42,7±4,0	3,24±0,30	168±12	82,3±7,9	56,7±4,2	525±44
	150	101±8,9	79,0±7,3	1736±157	74,4±7,1	6,02±0,51	309±26	116±11	76,7±6,9	815±71
K-100	30	40,7±1,1	19,7±0,6	854±78	31,0±2,0	0,96±0,02	111±7,0	42,5±2,3	24,8±1,9	122±8
	75	124±10	63,7±4,1	1869±161	67,3±5,2	6,22±0,48	337±28	107±9,5	59,3±5,1	600±58
	150	195±19	109±9,9	2147±194	119±9,9	10,8±0,98	608±51	148±15	127±12	955±86
K-200	30	98,9±3,4	25,8±0,4	1361±122	40,0±1,1	1,32±0,05	192±14	74,5±6,5	51,9±4,7	124±5
	75	187±12	77,5±5,7	2075±190	88,5±6,7	8,55±0,75	427±38	133±11	82,0±7,9	713±51
	150	298±21	125±11	2859±268	157±14	14,1±1,17	801±67	212±19	183±17	1007±94

**Tabla 12.** Fósforo reactivo (PR) en función de la relación w:s (sin MIA) en los suelos del experimento (2) (media±ESM).

w:s (l kg <sup>-1</sup> ) Suelo	PR (mg kg <sup>-1</sup> )			(Cl-P+Bi-P) en MIA (mg kg <sup>-1</sup> )		
	30	75	150	30	75	150
LL A	6,1±0,8	16,9±1,1	39,5±2,7	15,7	56,5	116
LE A	7,9±0,7	23,1±1,8	44,2±3,8	12,3	36,7	115
LE Bw/C	15,1±1,0	43,7±2,7	81,3±7,4	17,1	63,1	161
LE-0	6,0±0,7	19,3±1,4	37,9±3,0	12,0	52,3	95,2
LE-50	19,1±1,4	57,8±3,4	109±10	36,3	88,0	191
LE-100	28,7±2,0	70,6±5,8	139±12	41,3	128	179
LE-200	42,7±2,9	104±8,7	202±19	106	172	262
K-0	10,6±1,1	30,7±2,2	61,5±5,2	28,4	86,7	140
K-50	20,2±1,9	50,1±3,7	97,8±8,1	44,1	113	176
K-100	41,6±2,5	109±11	202±18	71,7	192	314
K-200	56,4±4,3	129±11	250±22	139	276	455

11 y 12) a favor de Cl-P. Si, por otra parte, consideramos la suma total de P extraíble por la MIA (Cl-P+Bi-P) observamos como la diferencia entre PR y (Cl-P+Bi-P)-MIA es considerable (Tabla 12). Este efecto lo hemos asociado al poder dispersivo del agua al incrementar la relación w:s sumado al propio efecto que ejerce la membrana de resina sobre el suelo.

El fenómeno de dispersión se pone en evidencia cuando observamos un incremento relativo en el error estándar de la media al comparar el efecto del número de MIA frente a la relación w:s en la extracción del P por el NaCl; el error tiende a ser mayor (y por tanto la variabilidad de los datos) por efecto de la relación w:s que por efecto del número de MIA. De todas maneras, sería necesario realizar un estudio complementario que

verifique si el poder dispersivo de las membranas aumenta al incrementar significativamente el número de ellas en los tipos de suelos aquí estudiados.

Por otro lado, el aumento de las cantidades de P encontradas debido a las variaciones experimentales bajo las cuales se realizó la extracción, también fue observado en el caso de las suspensiones sobrenadantes (Tablas 13 y 14). Las cantidades totales de P extraídas del suelo ( $\Sigma P$ ) superan con creces los valores de P obtenidos por otros métodos como el Olsen y el acuoso, analizados en capítulos precedentes. Esto parece indicar que la desorción de la matriz del suelo, inducida por la dispersión del sistema, parece constituirse en el principal mecanismo de actuación de la membrana.

Tanto con el aumento del número de MIA como con la relación w:s, el incremento del P

**Tabla 13.** Cantidades de P, carbono orgánico (CO), Al, Fe y Si en las suspensiones sobrenadantes en función del número de membranas (media±ESM).

Suelos	Nº MIA	mg kg <sup>-1</sup>									
		PRsob	PTsob	PIsob	POsob	ΣP*	CO	Al	Fe	Si	
LL-A	1	2,8±0,3	5,2±0,4	l.d.	5,2	17,8	64,4±5,8	128±11	81,9±6,4	157±12	
	3	7,2±0,5	10,1±0,9	0,33±0,05	9,8	41,7	127±11	199±17	118±10	197±14	
	5	11,7±1,0	17,6±1,3	0,85±0,07	16,7	64,9	262±20	271±22	156±14	243±19	
LE-A	1	2,9±0,3	5,1±0,5	l.d.	5,1	18,4	81,5±7,3	l.d.	l.d.	19,9±1,3	
	3	5,8±0,4	8,9±0,7	0,31±0,02	8,6	36,9	199±15	3,4±0,1	1,2±0,2	42,1±3,2	
	5	9,3±0,7	13,7±1,1	0,97±0,06	12,8	65,6	259±22	9,7±0,5	1,8±0,2	89,0±5,4	
LE-Bw/C	1	11,3±0,9	13,9±1,1	1,2±0,1	12,7	31,0	66,3±5,3	l.d.	l.d.	10,2±0,8	
	3	22,5±1,7	29,7±2,0	4,9±0,3	24,8	61,2	149±11	3,7±0,2	1,5±0,1	33,9±2,9	
	5	39,6±4,0	50,1±3,6	8,6±0,6	41,5	108	317±28	6,9±0,4	3,9±0,2	77,1±6,8	
LE-0	1	4,2±0,2	6,0±0,7	l.d.	6,0	18,1	60,1±5,0	l.d.	l.d.	13,1±0,1	
	3	7,9±0,5	11,7±1,0	0,72±0,34	10,0	47,2	102±8,7	3,9±0,2	1,3±0,2	31,7±2,2	
	5	14,2±0,9	19,7±1,7	2,0±0,2	17,7	97,9	179±12	8,7±0,4	1,5±0,4	77,9±5,1	
LE-50	1	6,9±0,4	8,9±0,6	0,60±0,04	8,3	36,7	77,0±5,4	5,3±0,3	1,7±0,2	19,5±1,6	
	3	11,4±0,9	15,2±1,1	1,5±0,2	13,7	79,1	120±10	10,3±0,8	2,5±0,2	44,7±3,6	
	5	23,0±1,8	30,7±2,3	4,9±0,5	25,8	139	204±17	19,7±1,1	6,4±0,4	92,3±9,0	
LE-100	1	10,0±0,7	14,9±1,1	2,6±0,3	12,3	51,9	59,2±4,9	9,7±0,7	2,9±0,2	25,1±1,8	
	3	19,7±1,2	25,1±2,0	5,7±0,4	19,4	113	109±11	21,2±1,8	7,1±0,5	61,5±4,7	
	5	44,3±3,1	54,9±4,7	9,9±0,8	45,0	195	169±14	41,1±2,7	16,2±1,1	133±10	

\*ΣP = Ptsob + (Cl-P+Bi-P) en MIA; l.d.: límite de detección

**Tabla 13 (cont).** Cantidades de P, CO, Al, Fe y Si en las suspensiones sobrenadantes en función del número de membranas (media±ESM)

Suelos	Nº MIA	PRsob	PTsob	PIsob	POsob	$\Sigma P^*$	CO	Al	Fe	Si
LE-200	1	22,4±1,6	29,4±2,1	4,7±0,4	24,7	96,7	85,4±7,9	16,4±1,2	6,3±0,4	56,7±3,3
	3	34,1±2,8	44,7±3,8	9,2±0,6	35,5	212	199±16	38,5±2,9	18,5±1,3	99,6±7,6
	5	63,2±5,0	79,1±5,9	15,3±1,0	63,8	319	283±21	84,8±7,1	33,0±2,4	192±16
K-0	1	6,3±0,3	11,2±0,9	l.d.	11,2	39,6	29,7±2,1	l.d.	l.d.	22,6±1,6
	3	10,7±0,9	19,8±1,5	1,1±0,1	18,7	64,2	61,2±5,2	6,2±0,4	2,4±0,2	57,5±4,2
	5	18,1±1,1	31,4±2,9	3,4±0,2	27,0	101	97,8±8,2	18,0±1,2	3,5±0,4	92,4±7,6
K-50	1	11,7±0,4	8,9±0,6	0,99±0,07	7,9	52,4	58,3±4,4	9,7±0,6	3,1±0,3	25,8±2,0
	3	24,7±0,9	15,2±1,1	2,7±0,2	12,5	82,3	107±10	19,0±1,4	9,2±0,6	57,6±4,3
	5	41,5±3,1	30,7±2,3	6,6±0,3	24,1	136	216±19	31,9±2,2	14,1±1,0	123±11
K-100	1	24,3±1,9	34,1±1,1	3,9±0,2	30,2	105	91,6±8,7	17,1±1,1	6,7±0,5	47,3±1,8
	3	58,3±3,7	72,6±2,0	9,4±0,8	63,2	193	193±16	39,4±2,9	14,4±1,5	87,9±6,3
	5	89,5±6,4	102±4,7	16,2±1,3	86,2	280	306±22	68,6±5,2	37,7±3,0	189±15
K-200	1	35,2±2,3	59,2±4,0	6,5±0,5	52,7	157	133±11	27,1±2,1	12,3±1,1	61,7±5,3
	3	76,3±5,5	96,3±7,3	17,4±1,4	68,9	253	288±24	57,2±4,6	26,1±1,7	111±10
	5	111±10	139±11	28,7±3,0	110	399	472±36	99,7±7,5	49,4±3,7	274±19

\* $\Sigma P$  = Ptsob + (Cl-P+Bi-P) en MIA; l.d.: límite de detección

**Tabla 14.** Cantidades de P, carbono orgánico disuelto (CO), Al, Fe y Si en las suspensiones sobrenadantes en función de la relación w:s (media±E.S.M)

Suelos	w:s	PRsob	PTsob	PIsob	POsob	$\Sigma P^*$	CO	Al	Fe	Si
LL-A	30	1,7±0,3	7,4±0,4	I.d.	7,4	23,0	81,2±4,7	108±11	61,1±4,9	197±16
	75	5,4±0,4	16,4±0,9	0,48±0,05	15,9	70,7	154±12	177±15	98,6±8,6	247±21
	150	10,1±0,8	29,4±1,3	0,97±0,08	28,4	152	297±24	265±24	166±13	303±26
LE-A	30	1,7±0,2	5,1±0,5	I.d.	5,1	17,4	67,3±7,0	I.d.	I.d.	21,1±2,0
	75	4,5±0,5	8,9±0,7	0,42±0,03	8,5	45,7	147±15	5,8±0,3	1,9±0,2	84,3±5,7
	150	11,6±1,0	13,7±1,1	1,1±0,1	12,6	128	279±26	13,9±0,5	3,1±0,2	133,7±11
LE-Bw/C	30	7,7±0,6	13,9±1,1	1,1±0,1	12,8	31,0	61,4±5,0	I.d.	I.d.	19,7±0,9
	75	19,5±1,5	29,7±2,0	3,9±0,3	25,8	88,8	158±15	9,6±0,7	3,7±0,4	55,7±4,9
	150	44,5±3,1	50,1±3,6	9,9±0,7	40,2	197	300±28	15,9±1,2	9,8±0,6	151±12
LE-0	30	2,1±0,2	6,0±0,7	I.d.	6,0	18,1	69,7±5,7	I.d.	I.d.	23,7±0,2
	75	4,8±0,5	11,7±1,0	0,99±0,62	10,7	60,8	122±8,5	5,9±0,4	1,8±0,2	67,2±5,0
	150	9,0±0,7	19,7±1,7	2,7±0,3	17,0	122	239±20	12,1±1,0	6,5±0,5	116±10
LE-50	30	5,2±0,4	8,9±0,6	0,69±0,05	8,2	36,7	97,0±6,8	7,4±0,5	2,2±0,2	39,7±2,8
	75	8,9±0,7	15,2±1,1	2,5±0,3	12,7	118	155±13	15,7±1,2	5,5±0,3	87,6±7,5
	150	18,0±1,5	30,7±2,3	6,4±0,5	24,3	221	301±24	28,5±2,1	16,3±1,4	133±11
LE-100	30	7,4±0,6	14,9±1,1	1,8±0,1	13,1	56,8	112±10	17,4±1,4	5,0±0,4	51,4±4,8
	75	14,1±1,1	25,1±2,0	7,4±0,6	17,7	151	199±15	38,5±3,9	11,7±0,9	111±9,1
	150	31,6±2,4	54,9±4,7	12,3±1,0	42,6	237	349±29	86,0±7,3	27,4±2,1	207±19

\* $\Sigma P = P_{\text{tsob}} + (Cl-P+Bi-P)$  en MIA; I.d.: límite de detección

**Tabla 14 (cont).** Cantidades de P, carbono orgánico disuelto (CO), Al, Fe y Si en las suspensiones sobrenadantes en función de la relación w:s (media±ESM)

Suelos	w:s	PRsob	PTsob	PIsob	POsob	$\Sigma P^*$	CO	Al	Fe	Si
LE-200	30	19,7±1,6	33,7±3,1	4,1±0,4	29,6	111	104±9,9	26,7±2,2	9,7±0,8	76,4±3,3
	75	26,7±2,3	57,1±4,3	11,8±0,6	45,3	224	229±20	59,7±5,5	25,1±2,1	168±12
	150	58,3±4,7	98,4±7,6	26,5±1,0	71,9	425	477±38	137±10	57,4±4,7	297±26
K-0	30	9,7±0,8	19,7±1,4	0,39±0,02	19,3	48,1	46,9±3,7	2,8±0,2	0,95±0,05	46,9±3,6
	75	17,6±1,3	38,7±2,5	2,5±0,2	36,2	125	92,8±8,4	11,0±1,0	4,6±0,3	98,9±7,2
	150	39,5±2,7	54,7±4,1	6,9±0,5	47,8	214	198±15	27,5±2,1	11,3±1,0	173±15
K-50	30	21,5±1,4	39,5±3,1	2,9±0,7	36,6	65,0	99,2±8,4	15,6±1,4	9,5±0,8	77,6±6,0
	75	49,6±4,1	65,1±5,1	8,1±0,7	57,0	141	185±16	33,7±2,6	20,1±1,7	133±11
	150	92,5±9,8	110±10	19,0±1,1	91,0	269	312±29	59,6±4,8	30,6±2,6	297±24
K-100	30	38,7±4,6	55,4±4,1	5,7±0,4	49,7	126	169±14	29,7±2,0	15,1±1,1	99,1±8,6
	75	77,2±6,5	96,7±8,7	12,7±1,3	84,5	273	301±24	65,3±5,8	37,3±2,7	188±17
	150	118±13	133±12	28,5±1,9	104	476	488±39	103±9,8	69,4±5,8	355±30
K-200	30	57,4±4,7	77,6±4,0	9,7±0,8	67,9	176	203±18	44,2±3,8	21,6±1,9	117±10
	75	101±8,5	129±11	26,9±2,7	102	370	457±39	98,6±8,1	58,0±4,1	239±22
	150	189±15	229±21	49,8±4,0	179	635	818±62	147±12	81,7±7,2	525±48

\* $\Sigma P = P_{\text{tsob}} + (Cl-P+Bi-P)$  en MIA

extraído estuvo acompañado por un aumento concomitante de las cantidades de CO, Al, Si y Fe extraíbles de las MIA por el  $\text{NaHCO}_3$ , pues en los eluatos de NaCl solo se detectó P, Fe y Si (Tablas 10 y 11); el Fe se detectó en los suelos forestales a partir del uso de tres MIA. Este resultado, similar al epígrafe anterior, podría justificarse si consideramos el efecto que la fuerza iónica, aportada por la disolución salina, ejerce sobre las formas en que estos elementos se encuentran en las membranas provocando la reorganización de las especies presentes. Así, por ejemplo, es bien conocido el efecto que la fuerza iónica del medio ejerce sobre las transiciones conformacionales de la materia orgánica que parece estar relacionadas con el aumento de la solubilidad de esta cuando la fuerza iónica del medio disminuye (Evans, 1985). Considerando este hecho, el contenido de P en los eluatos de bicarbonato debería proceder de aquellos iones fosfatos liberados de la matriz orgánica u organomineral presentes en las MIA tal y como hemos expresado en el epígrafe anterior. El análisis de los datos procedentes de los eluatos de  $\text{NaHCO}_3$  con carbón activo parece confirmar la idea anterior pues no se detectaron en ellos cantidades algunas de P, CO, Al y Fe. Esto parece indicar una íntima relación entre estos componentes, asociados estos últimos a las superficies activas de los suelos de naturaleza volcánica. Los modelos que intentan explicar las reacciones del fosfato en los suelos indican la importancia que los adsorbentes reactivos como la alofana, la ferrihidrita y los

complejos Al-humus tienen en estos mecanismos (Parfitt, 1989).

Nuestros resultados vuelven a poner de manifiesto que el P debería estar absorbido en la MIA en forma de partículas Al(Fe)-CO asociadas a complejos ternarios del tipo P-Al(Fe)-humus, sin descartar otro tipo de asociaciones como el humus-P y P orgánico. En el caso de los suelos fertilizados, al presentar la misma tendencia que los naturales, parece confirmar que el P inorgánico añadido desplaza al orgánico y organomineral nativo de las superficies de sorción de la fase sólida quedando este último, desde el punto de vista físico-químico, débilmente ligado a la matriz del suelo lo que haría que este P estuviese mucho más disponible para los agentes extractantes. Por otra parte, Nanzyo et al. (1992) han puesto de manifiesto que la dispersión de las arcillas alofánicas por aplicación de fertilizantes fosfatados sugiere que el desarrollo de cargas positivas en suelos volcánicos ricos en alofanas se encuentre bloqueado por la fertilización dada la sorción del fosfato en los sitios de carga positiva. El efecto de la dispersión de las arcillas podría explicar los mayores contenidos en Si obtenidos en las muestras fertilizadas LE respecto a la homóloga forestal LE A.

Las relaciones molares P/CO, P/Al, P/Fe y P/Si en función del número de membranas y de la relación w:s se presentan en las Tablas 15 y 16 respectivamente. En el primer caso, se observa como las relaciones P/CO, P/Al y P/Fe disminuyen en todos los suelos excepto en el caso del suelo fertilizado LE que



**Tabla 15.** Relaciones molares ( $\text{mol mol}^{-1}$ ) entre el P y el CO, Al, Fe y Si extraídos (Cl+Bi-) por las membranas en función del número de MIA empleadas.

Suelos	MIA	P/CO			P/Al			P/Fe			P/Si		
		1	3	5	1	3	5	1	3	5	1	3	5
LL A		0,27	0,24	0,21	0,68	0,61	0,52	3,81	3,12	2,72	0,043	0,055	0,059
LE A		0,62	0,55	0,45	0,78	0,73	0,68	7,66	5,01	3,41	0,023	0,038	0,047
LE Bw/C		1,20	1,01	0,71	1,10	1,01	0,89	6,72	4,38	3,77	0,068	0,074	0,083
LE-0		0,46	0,50	0,55	0,71	0,92	1,33	1,14	1,92	2,46	0,016	0,032	0,062
LE-50		0,40	0,42	0,46	1,08	1,30	1,38	1,67	1,83	1,91	0,035	0,057	0,079
LE-100		0,27	0,31	0,35	1,15	1,24	1,32	1,89	2,18	2,29	0,055	0,086	0,121
LE-200		0,25	0,27	0,34	1,43	1,58	1,68	2,38	2,65	2,96	0,086	0,129	0,171
K-0		0,37	0,30	0,25	1,07	1,01	0,86	2,90	2,03	1,76	0,060	0,063	0,066
K-50		0,31	0,25	0,20	1,17	1,11	1,03	2,43	1,83	1,74	0,070	0,079	0,085
K-100		0,21	0,17	0,14	0,64	0,51	0,47	1,23	0,83	0,76	0,073	0,083	0,088
K-200		0,18	0,16	0,12	0,66	0,51	0,46	1,32	0,99	0,95	0,078	0,088	0,094

**Tabla 16.** Relaciones molares ( $\text{mol mol}^{-1}$ ) entre el P y el CO, Al, Fe y Si extraídos (Cl+Bi-) por las membranas en función de la relación w:s ( $\text{l kg}^{-1}$ ).

Suelos	W:s	P/CO			P/Al			P/Fe			P/Si		
		30	75	150	30	75	150	30	75	150	30	75	150
LL A		0,27	0,24	0,23	0,61	0,98	1,19	3,81	3,51	3,48	0,043	0,070	0,101
LE A		0,62	0,47	0,49	0,68	0,85	1,42	7,66	3,78	2,72	0,023	0,044	0,088
LE Bw/C		1,20	0,62	0,58	1,01	1,71	1,83	6,72	4,72	3,46	0,074	0,093	0,151
LE-0		0,46	0,43	0,40	0,71	1,03	1,14	1,14	2,00	2,11	0,016	0,037	0,058
LE-50		0,52	0,44	0,39	1,08	1,64	1,71	1,67	2,34	2,49	0,035	0,079	0,095
LE-100		0,27	0,25	0,22	1,25	1,35	1,63	1,89	1,99	2,32	0,055	0,077	0,089
LE-200		0,40	0,30	0,25	1,43	1,58	1,76	2,38	2,59	2,93	0,086	0,120	0,126
K-0		0,37	0,34	0,30	1,07	1,10	1,27	2,90	2,24	1,94	0,028	0,042	0,052
K-50		0,31	0,26	0,22	1,17	1,19	1,32	2,43	2,17	2,05	0,039	0,048	0,062
K-100		0,25	0,22	0,20	1,46	1,57	1,86	2,91	2,81	2,41	0,066	0,070	0,091
K-200		0,28	0,25	0,22	1,62	1,81	1,87	3,23	3,12	2,67	0,084	0,089	0,106

ocurre lo contrario. La disminución de las diferentes relaciones podría indicar un aumento de las formas coloidales de Al y Fe extraíbles por las membranas en estos suelos, aunque para el caso de la muestra fertilizada E este comportamiento podría estar asociado a la aportación de formas de P, asociadas al Al y Fe, resistentes a los procesos de solubilidad-desorción asociados a la extracción por la MIA y cuyos equilibrios podrían verse modificados por el incremento en el número de membranas; sin embargo, cuando comparamos la muestra E-0 con su equivalente forestal (LE A) observamos un comportamiento antagónico entre ambas que puede señalar una sensibilidad de los Andosoles hacia los procesos bajo los cuales se realiza la fertilización del suelo que conllevaría la modificación de los procesos físico-químicos que controlan la liberación del P del suelo.

Con respecto a las relaciones w:s, los resultados de las relaciones molares indican que P/CO y P/Fe disminuyen con la dilución, aumentando las relaciones P/Al, P/Fe de la muestra E fertilizada y P/Si (Tabla 16). Esto parece poner de manifiesto que a medida que aumenta la dilución, el control del aporte de P a la fase acuosa podría provenir tanto por la solubilidad de minerales aluminicos del tipo variscita como por la aportación de complejos Al(Fe)-humus, fundamentalmente de naturaleza fúlvica, asociados al P tal como quedó de manifiesto en el capítulo dedicado a la extracción de P con agua. Tanto la fracción mineral como estos complejos ternarios con una masa molecular

relativamente baja podrían contribuir decisivamente a los contenidos de P encontrados en las membranas.

De todas maneras, los resultados parecen estar directamente relacionados con el aumento de las cantidades de Si encontradas tanto en los eluatos como en los sobrenadantes a medida que varía el número de MIA o la relación w:s; esto indica un aumento del grado de dispersión en el sistema. Este efecto dispersivo podría no solo explicar la liberación de P: el aumento del CO, Al y Fe extraídos podría ser consecuencia de este fenómeno el cual también estaría vinculado al incremento observado tanto en el P sobrenadante como en el resto de elementos estudiados (Tablas 13 y 14). La dispersión favorecería la liberación de formas orgánicas complejas de P, no extraíbles desde las suspensiones por las membranas, posiblemente del tipo AH-P o bien estructuras orgánicas de P de elevada masa molecular; esto estaría avalado por el aumento del CO en los sobrenadantes. Por otro lado, los contenidos en Al y Fe en las suspensiones fueron inferiores a los encontrados en los eluatos de las MIA lo que nos permitiría reafirmar la idea expresada anteriormente de que las formas órganominerales de Al y Fe fueron mayoritariamente extraídas por las membranas y que los posibles complejos ternarios de humus-Al(Fe)-P estarían asociados a la fracción fúlvica de la materia orgánica del suelo, quedando las formas más complejas relacionadas con los ácidos húmicos en el sobrenadante.

Sin embargo, tampoco son descartables los cambios de conformación que la materia orgánica soluble pueda sufrir durante el proceso de extracción con el aumento en el número de MIA o por disminución de la fuerza iónica del medio al aumentar w:s; este hecho podría provocar la ruptura de la matriz orgánica asociada a los agregados del suelo que induciría a la liberación concomitante de formas de P y de CO de masa molecular menor asociadas al Al y Fe y potencialmente extraíbles por las MIA. Esta liberación podría ser tanto mayor, cuanto mayor fuese la dispersión del sistema.

Estos resultados ponen de manifiesto la sensibilidad de estos suelos a las condiciones bajo las cuales se realiza el proceso de extracción y que parece condicionar los valores de P disponible obtenidos que sirven de referencia en la recomendación de enmiendas fosfóricas para Andosoles y suelos con características ándicas. Nuestros resultados indican que el método secuencial de caracterización de las formas químicas del P extraíbles de Hedley et al. (1982) no parece ser el más adecuado para nuestros suelos dadas las diferentes asociaciones encontradas solo con el empleo de MIA que, en principio, no corresponderían a las formas lábiles de P que prevé la definición que para esta fracción dan estos autores en su estudio metodológico.

#### *3.4. Extracción secuencial de P y otros elementos por MIA a través de membranas de diálisis*

##### *3.4.1. Consideraciones iniciales*

Las cantidades de P, Al, Fe, S, Si y CO acumuladas después de 96 h de extracción secuencial se detallan en la Tabla 17. En la Tabla 18 se recogen los datos de la fracción superior a 10000 Da. Para el primer caso se observa como las cantidades extraídas de estos elementos son importantes, variando de la misma manera, independientemente de que se trate de la fracción total del suelo o de la fracción arcilla, en cualquiera de sus variantes de centrifugación, e incluso en la fracción inferior a 0,1 $\mu$ m de las Lajas A. Las cantidades de estos mismos elementos que persisten en suspensión una vez finalizado el proceso y de tamaño superior a 10000 Da también son importantes. Todo esto parece sugerir una transferencia desde la fase sólida de material a medida que se sustituye la membrana de resina que parece provocar perturbaciones en el equilibrio físico-químico del sistema que respondería mediante la liberación de más material desde la fase sólida para alcanzar nuevamente el estado de equilibrio. Téngase en cuenta que en los experimentos de diálisis los volúmenes de las disoluciones en el interior y el exterior del saco de diálisis está prefijada de antemano (finito y en agitación) por lo que la transferencia desde la disolución del suelo solo depende del tamaño de poro de la membrana de diálisis y del gradiente de concentraciones (flujo de materia) que se establece dado el menor potencial químico existente en el interior de la membrana.

**Tabla 17.** Cantidades acumuladas de P, carbono orgánico disuelto (CO), Al, Fe, Si y S extraídas por la MIA después de 96 h de extracción secuencial (media de dos observaciones) ( $\mu\text{mol MIA}^{-1}$  y  $\text{mg kg}^{-1}$  de suelo respectivamente).

Suelo (Tratamiento)	P	CO	Al	Fe	Si	S				
BC Bw	3,1	137	54,6	149	7,5	43,4	1106	3110	10,1	34,6
LE A	7,3	295	67,7	185	10,0	57,0	1001	2820	16,4	55,8
LE A (Arc 1° ext)	6,1	202	57,9	158	8,3	47,5	173	486	14,7	49,8
LE A (Arc 2° ext)	5,8	137	42,7	118	3,6	21,4	121	340	14,1	47,1
LE A (30000g)	1,8	23,0	7,0	20,3	2,2	13,6	77,4	229	8,4	28,1
LE A (50000g 4°C)	1,1	14,5	5,0	15,7	1,6	10,2	77,4	229	6,6	22,4
LE-50	19,5	245	41,1	113	5,4	32,3	957	2698	21,3	69,2
LE-50 (30000g)	1,5	13,9	5,0	14,2	1,3	9,5	73,8	211	12,2	41,1
LE-50 (50000g 4°C)	1,3	13,7	4,3	12,3	1,1	8,5	72,9	206	11,8	38,6
LE-200	30,8	408	68,8	189	10,3	58,6	1229	3451	26,7	86,9
LE-200 (30000g)	3,0	10,2	17,3	48,3	2,4	14,8	79,0	218	17,3	56,2
LE-200 (50000g 4°C)	0,5	8,6	5,3	15,9	1,3	8,6	74,2	209	13,5	44,7
LE Bw	4,7	248	50,9	140	4,9	28,3	1096	3073	16,3	53,6
LE Bw (30000g)	2,3	14,9	8,8	24,4	1,4	9,2	119	337	11,7	38,5
LE Bw (50000g 4°C)	1,5	16,7	7,4	20,6	0,8	5,0	112	317	9,2	31,2
LL A	14,9	428	61,9	170	9,1	52,7	1133	3178	9,4	32,4
LL A (30000g)	4,8	22,2	26,6	21,6	1,9	12,1	103	290	7,1	23,8
LL A (50000g 4°C)	3,4	21,2	25,5	16,8	1,7	10,6	93,4	263	6,3	21,7
LL A (< 0,1 $\mu\text{m}$ )	3,9	17,6	21,1	11,7	1,4	9,2	36,0	102	5,5	19,3

**Tabla 18.** Cantidades de P, carbono orgánico disuelto (CO), Al, Fe, Si y S en la disolución del suelo resultante después de 96 h de extracción secuencial (media de dos observaciones) ( $\text{mg kg}^{-1}$  de suelo).

Suelo (Tratamiento)	P	CO	Al	Fe	Si	S
BC Bw	9,7	233	72,3	30,4	1123	65,2
LE A	19,8	170	44,7	24,3	989	89,9
LE A (Arc 1° ext)	12,6	120	41,5	21,6	455	79,7
LE A (Arc 2° ext)	10,2	107	37,8	20,6	416	70,1
LE A (30000g)	9,9	28,7	27,7	17,9	346	44,5
LE A (50000g 4°C)	6,2	24,2	19,6	15,6	301	33,1
LE-50	40,1	198	43,1	37,2	1002	99,7
LE-50 (30000g)	15,6	30,2	22,9	21,3	334	62,5
LE-50 (50000g 4°C)	11,0	21,7	16,2	18,5	287	54,3
LE-200	52,3	277	58,7	51,3	1435	133
LE-200 (30000g)	21,1	44,3	44,5	31,6	422	79,7
LE-200 (50000g 4°C)	14,9	33,0	32,7	22,5	379	58,3
LE Bw	11,0	177	39,8	35,5	1776	88,4
LE Bw (30000g)	5,1	33,5	30,7	17,9	189	59,6
LE Bw (50000g 4°C)	5,0	27,1	22,4	14,3	158	50,2
LL A	60,1	335	66,3	52,3	1078	65,8
LL A (30000g)	7,2	44,7	23,4	27,3	154	60,2
LL A (50000g 4°C)	5,1	36,6	14,1	19,2	119	57,6
LL A (< 0,1 $\mu\text{m}$ )	5,0	30,2	13,4	15,8	85	33,7

### 3.4.2. Ecuaciones cinéticas empleadas en el estudio de la desorción de nutrientes

#### 1) Sistemas suelo-resina-disolución

La cantidad de un nutriente que se desorbe del suelo y que es transportado desde la disolución del suelo a una resina que actúa como absorbente y que se encuentra a una distancia dada durante un tiempo prefijado,

satisface la siguiente ecuación de continuidad:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \nabla \mathbf{J} = \text{div} \mathbf{J} \quad (1)$$

donde  $\mathbf{J}$  es el flujo del nutriente en cuestión ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Debido al efecto de la absorción del nutriente por la resina se establece un gradiente negativo de concentración con la distancia desde el absorbente ( $-\nabla C$ ). Si

suponemos que el nutriente es movilizado a la resina mediante difusión, los parámetros asociados al proceso difusivo vendrían determinados por la primera ley de Fick:

$$\mathbf{J} = -D\nabla C = -D\text{grad}C \quad (2)$$

donde  $D$  es el coeficiente de difusión ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ). Si consideramos que el transporte se realiza de forma unidireccional, las ecuaciones (1) y (2) se transforman en:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial \mathbf{J}}{\partial x} \quad (3)$$

$$\mathbf{J} = -D \frac{\partial C}{\partial x}$$

Para sistemas suelo-resina-disolución, la absorción desde el suelo de un nutriente como el P por resinas de intercambio iónico se encuentra limitado por la difusión o por las reacciones de intercambio. Para Boyd et al. (1947) y Helfferich (1962) las etapas limitantes del proceso serían la difusión de los nutrientes a través de la película líquida interfacial entre los dos intercambiadores (difusión pelicular) o la difusión a través del interior de las partículas de resina (difusión particular). Si estos procesos controlan la velocidad de transferencia, esta se puede describir mediante la expresión descrita por Agbenin y van Raij (1999), desarrollada inicialmente por Boyd et al. (1947):

$$dQ/dt = k_d(Q_\infty - Q) \quad (4)$$

donde  $k_d$  es la constante aparente de velocidad de difusión,  $Q$  es la cantidad de nutriente absorbido por la resina en un tiempo  $t$  y  $Q_\infty$  constituye la absorción cuando el sistema alcanza el equilibrio. En el caso del P, la bibliografía indica que para la absorción del macronutriente por las resinas de intercambio iónico que obedece la ec. (4) no se excluye la reacción de intercambio aniónico como etapa limitante del proceso pues sigue una expresión equivalente derivada de la ley de acción de masas (Agbenin y van Raij, 2001).

Por otra parte, Boyd et al. (1947) y Helfferich (1962) desarrollaron las ecuaciones cinéticas correspondientes a las etapas limitantes del proceso difusivo:

a) Difusión pelicular:

$$-\ln(1 - Q_t/Q_\infty) = kt \quad (5)$$

expresión similar para el caso de que la reacción de intercambio también fuese etapa que controlase el proceso.

b) Difusión particular (6):

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{n=\infty} \left[ (1/n^2) \exp(-D\pi^2 n^2 t/r^2) \right]$$

donde  $Q_t$  es la cantidad de nutriente absorbido por la resina ( $\text{mol m}^{-2}$ ) para un tiempo  $t$ ,  $Q_\infty$  es la cantidad de en el equilibrio (estado estacionario),  $n$  es un número natural que varía desde 0 a  $\infty$ ,  $r$  es el radio de las partículas de resina y  $k$  es una constante

cinética. Si representamos  $-\ln(1 - Q_t/Q_\infty)$  vs.  $t$  y obtenemos una línea recta, la velocidad de absorción desde la disolución del suelo estaría controlada por la difusión pelicular o por la velocidad actual de intercambio iónico. Si la velocidad de acumulación estuviese controlada por la difusión particular, la gráfica  $Q_t/Q_\infty$  vs.  $Bt$  (donde  $B = D\pi^2/r^2$ ) se ajustaría a una curva exponencial que, para un valor de  $r$  conocido, podríamos obtener un valor medio para  $D$ . Sin embargo, se hace necesaria la búsqueda de una solución numérica para esta expresión debido a las series infinitas que origina (Agbenin y van Raij, 2001); para partículas esféricas la solución numérica de la ec. (6) obliga a que el valor de  $Bt$  se determine por interpolación para cada valor experimental de  $Q_t/Q_\infty$ .

Bajo nuestras condiciones experimentales que no obedecen exactamente a un modelo en el que el flujo de materia tienda a converger hacia el interior de una esfera, tal y como se deriva de la ec. (6) (más se aproxima a un flujo paralelo de materia que desde el suelo es transportado hacia la membrana de diálisis), el tiempo de reacción no es elevado ( $t < 150$  h) razón por la cual podemos utilizar una aproximación parabólica a la solución de la ley de Fick (Aharoni y Sparks, 1991; Aharoni et al., 1991; Agbenin y van Raij, 2001):

$$Q_t/Q_\infty = kat^{1/2} \quad (7)$$

## **2) Expresiones empleadas para cinéticas de desorción de nutrientes:**

Existen muchas ecuaciones que han permitido estudiar durante décadas la cinética de los fenómenos químicos del suelo (Sparks, 1989; Sparks, 2000). Un importante número de ellas han permitido evaluar la dependencia con el tiempo de los fenómenos estudiados empleando para ello los coeficientes de correlación y los errores estándar como índices de evaluación de los datos experimentales. En este análisis citaremos cinco (Galadina y Silvertooth, 1998; Chiou y Li, 2002):

a) Ecuación modificada de Freundlich:

$$\ln(Q_t) = \ln(a) + b \ln(t) \quad (8)$$

donde  $Q_t$  es la cantidad de nutriente liberado,  $a$  y  $b$  son constantes siendo esta última positiva y menor que 1, y  $t$  es el tiempo. Esta ecuación se considera empírica, excepto para el caso en que  $b = 0,5$  en la que se hace indistinguible de la ecuación parabólica de difusión.

b) Ecuación de Elovich:

$$Q_t = a + b \ln(t) \quad (9)$$

donde  $a$  y  $b$  son constantes. La ecuación de Elovich también es considerada como una expresión empírica. De acuerdo con Havlin y Westfall (1985) esta formulación de la ecuación de Elovich es correcta para describir tiempos de reacción acumulativos inferiores a 1000 h; para tiempos superiores se debe

añadir al término neperiano la constante  $t_0$  (Aharoni et al., 1991).

c) Ecuación parabólica de difusión:

$$Q_t = a + bt^{1/2} \quad (10)$$

d) Ecuación cinética lineal de primer orden:

$$-\ln(1 - Q_t/Q_\infty) = k_1t \quad (11)$$

donde  $Q_\infty$  es la cantidad de nutriente que se desorbe cuando el sistema alcanza el equilibrio y  $k_1$  es la constante de velocidad de la ecuación de primer orden. Esta expresión es similar a la ec. (5) para la difusión pelicular.

e) Ecuación cinética de segundo orden:

Sigue el mismo principio que el modelo de primer orden:

$$Q_\infty \left( \frac{Q_\infty}{Q} - 1 \right) = \frac{1}{k_2t} \quad (12)$$

El ajuste de cada una de estas ecuaciones con la dependencia temporal de la liberación del nutriente o elemento desde el suelo es evaluado a través de los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) y el error estándar de estimación (ES): el mejor ajuste corresponderá al valor más elevado de  $R^2$  con el valor más bajo de ES (Galadina y Silvertooth, 1998; Agbenin y van Raij, 2001).

### **3) Consideraciones hacia el experimento:**

En la experiencia que aquí se muestra, la desorción de los diferentes elementos estudiados tanto desde la fracción suelo total como desde la fracción arcilla hacia la disolución del suelo y que luego son transferidos desde esta al interior de la membrana de diálisis (10000 Da) vendrá dada por el menor potencial químico existente en el interior de la bolsa de diálisis (reparto por tamaño de partículas) que origina un gradiente negativo de concentraciones desde el exterior. La MIA actuaría como un absorbente rápido, reforzando el gradiente de concentraciones que, por difusión a través del saco de diálisis, se establece entre la MIA, el suelo y la disolución que provocaría la inmovilización permanente en la MIA de las especies lábiles; para ello, partimos de la hipótesis de que la concentración en el interior del saco de diálisis de aquellos elementos afines a la MIA debe ser nulo al alcanzar el sistema el estado estacionario. Cada cambio de MIA tendría como propósito romper el equilibrio que se alcanzaría en condiciones normales entre el interior y el exterior del saco de diálisis, pues el elevado tamaño de poro empleado favorece el que el sistema alcance rápidamente el estado estacionario (Kokubo y Sakai, 1998). Este sistema experimental simularía a un reactor de membrana (en agitación continua) en el que el proceso químico de extracción y de separación se realizaría en la misma unidad y en el que la MIA absorbe las especies extraídas con el fin de que el posible equilibrio que se estableciese no limite el rendimiento del proceso.



Desde el punto de vista *sensu stricto*, nuestro procedimiento experimental no corresponde a una cinética clásica de desorción, equivalente a un reactor químico discontinuo (tipo batch); sin embargo y dado que el proceso se realiza en agitación continua, con extracción secuencial de las especies asociadas al P (incluidas las de aquellos elementos que forman especies aniónicas) y acumulativa (con una misma muestra obtenemos todos los puntos secuenciales ya que solo se cambia el saco de diálisis con la MIA para un tiempo de agitación  $t$ ) consideramos de sumo interés el análisis de los datos y su posible ajuste a diferentes expresiones cinéticas que nos permitiese ahondar en los mecanismos de desorción del fosfato y del resto de elementos estudiados.

Por otro lado, la extracción por parte de la MIA también podría describirse en función del número de extracciones empleando la ecuación empleada por Siddique y Robinson (2004):

$$Q_t = at^b \quad (13)$$

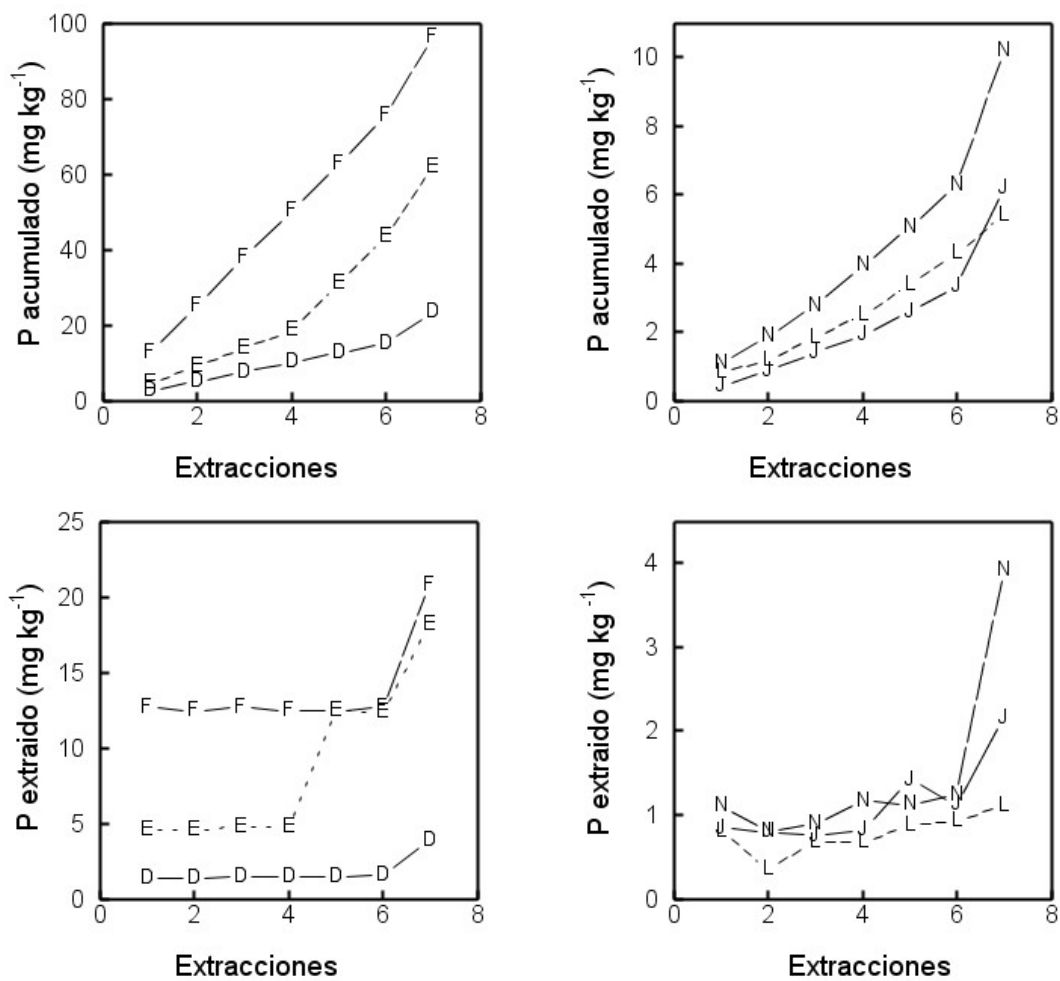
similar a la empleada por Sharpley (1996), donde  $Q$  representa la cantidad de nutriente liberado, la constante  $a$  la cantidad del mismo obtenida mediante una sola extracción y la constante  $b$  la velocidad de nutriente liberado por extracción de MIA.

### 3.4.3. Curvas de liberación de P y del resto de elementos

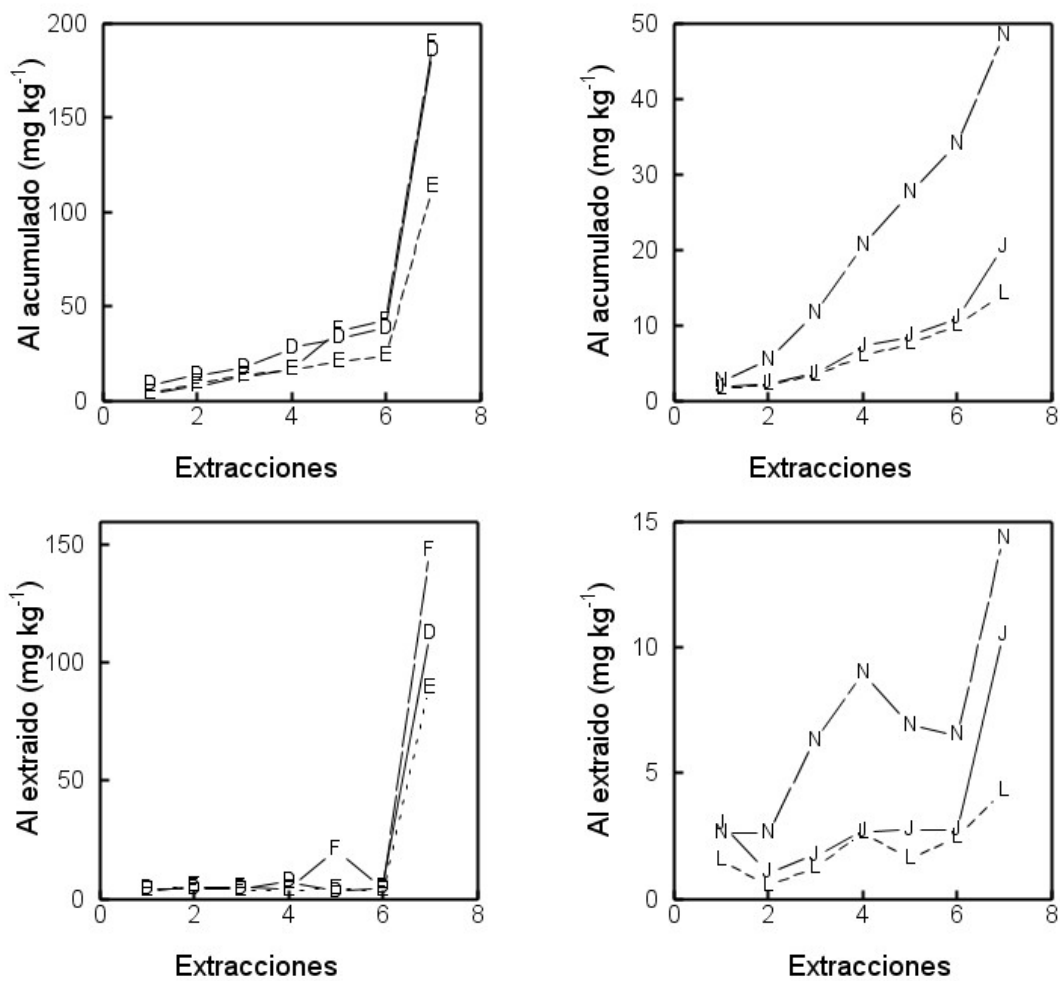
Durante las siete extracciones secuenciales con la MIA se observa como los valores de P y del resto de elementos estudiados (Al, Si, Fe y CO) se mantienen relativamente constante durante las seis primeras extracciones (tiempo de agitación del sistema hasta esa extracción: 26 h) para luego aumentar en la séptima extracción una vez alcanzadas las 96 h de agitación continua (Figuras 5, 6, 7, 8 y 9). Si en vez de considerar el número de extracciones consideramos el tiempo en el que el sistema estuvo en agitación, observamos como la cantidad acumulada de los elementos estudiados parece depender del equilibrio químico que tiene lugar en el sistema en vez de un control cinético de la reacción de liberación (Figuras desde la 10 a la 19). Esto significa que el proceso no sigue un tipo de cinética particular y que por tanto los parámetros de velocidad asociados a los diferentes modelos cinéticos analizados para la liberación del fosfato no pueden ser determinados bajo nuestras condiciones experimentales.

En un segundo análisis exploratorio de los resultados, estos no parecen coincidir con los de otros autores que emplean extracciones sucesivas con mezclas de resinas aniónicas y catiónicas realizadas en un proceso discontinuo de extracción de P; así Siddique y Robinson (2004) encuentran en suelos enmendados con lodos y estiércol que la velocidad de liberación de P es muy rápida para las primeras extracciones, seguida por una liberación mucho más lenta. Los resultados de estos autores se encuentran en

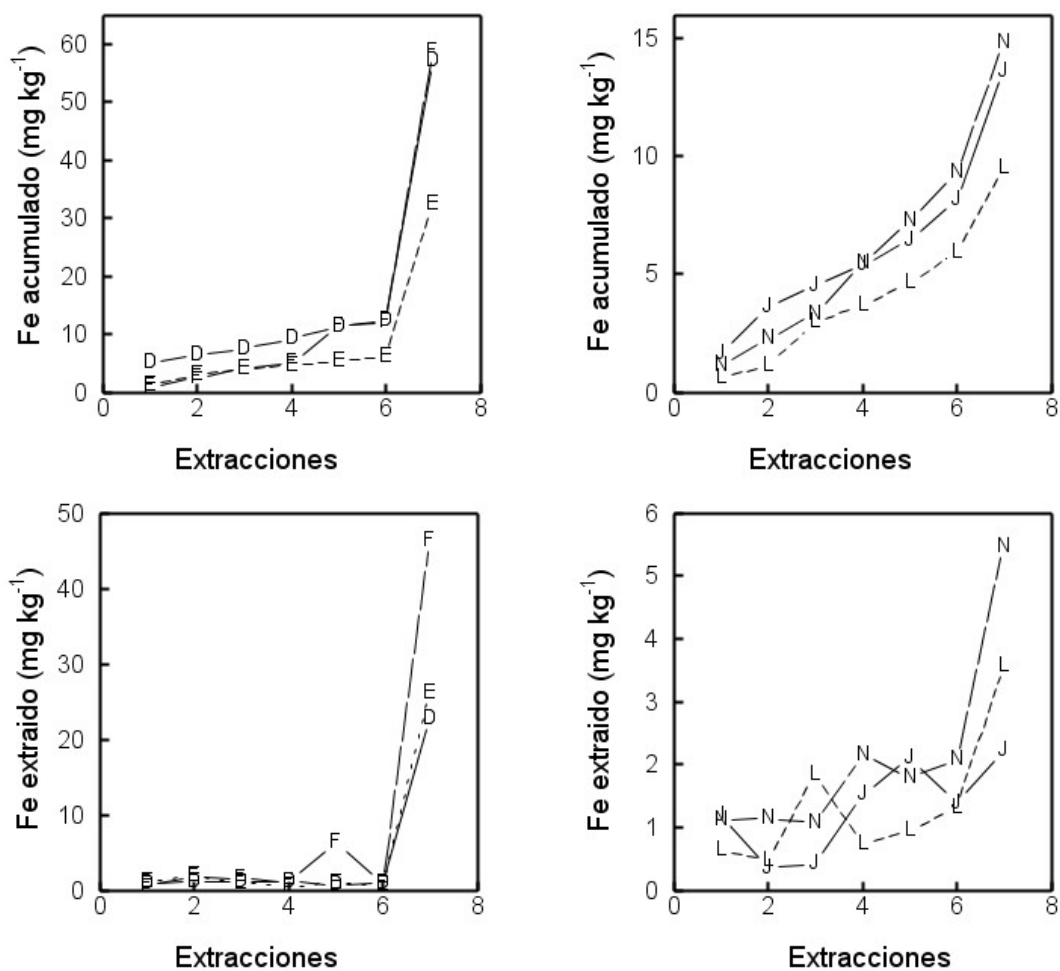
**Figura 5.** Fósforo acumulado durante cada período de extracción y P liberado del suelo durante cada una de las siete extracciones sucesivas con MIA en muestras de suelos seleccionadas. Clave de muestras: D= LE A; E= LE-50; F= LE-200; J= LE A (30000g); L= LE-50 (30000g); N= LE-200 (30000g).



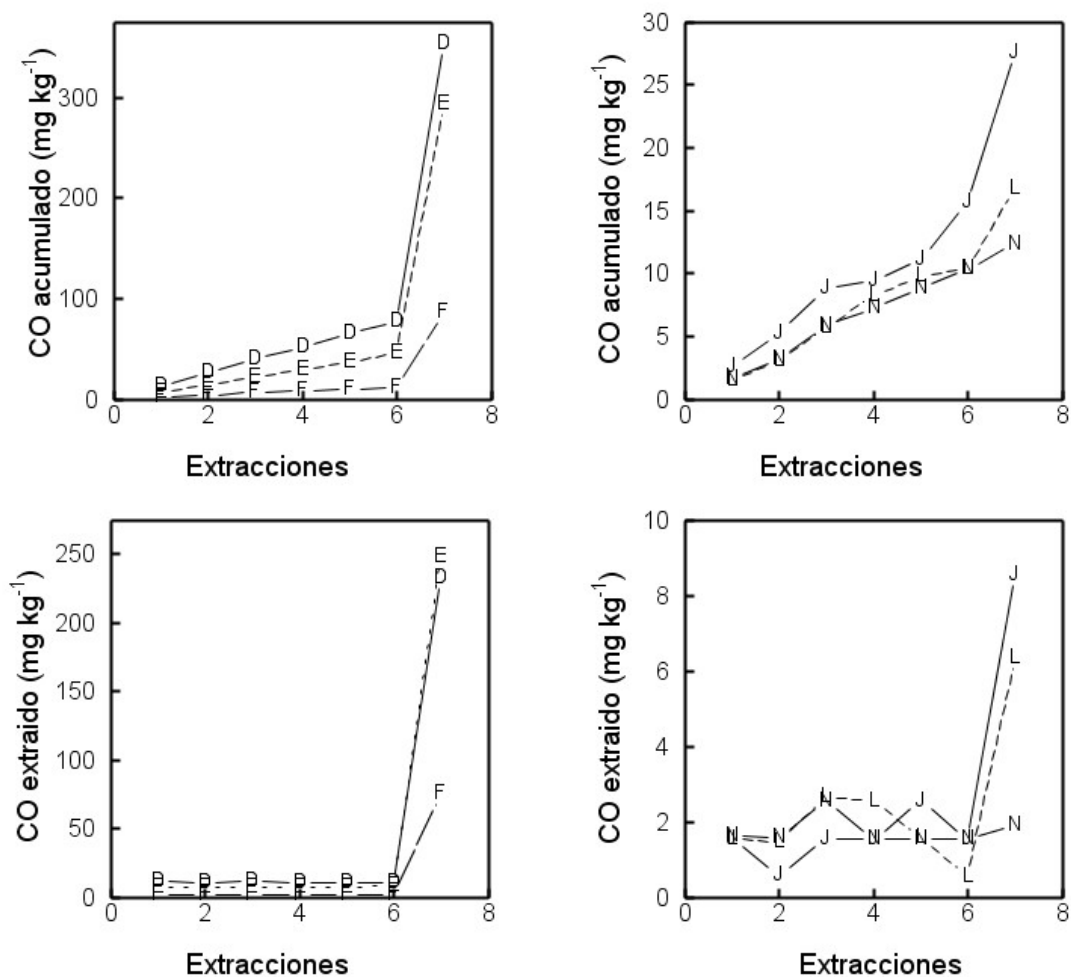
**Figura 6.** Aluminio acumulado durante cada período de extracción y Al liberado del suelo durante cada una de las siete extracciones sucesivas con MIA en muestras de suelos seleccionadas. Para clave de muestras, ver Fig. 5



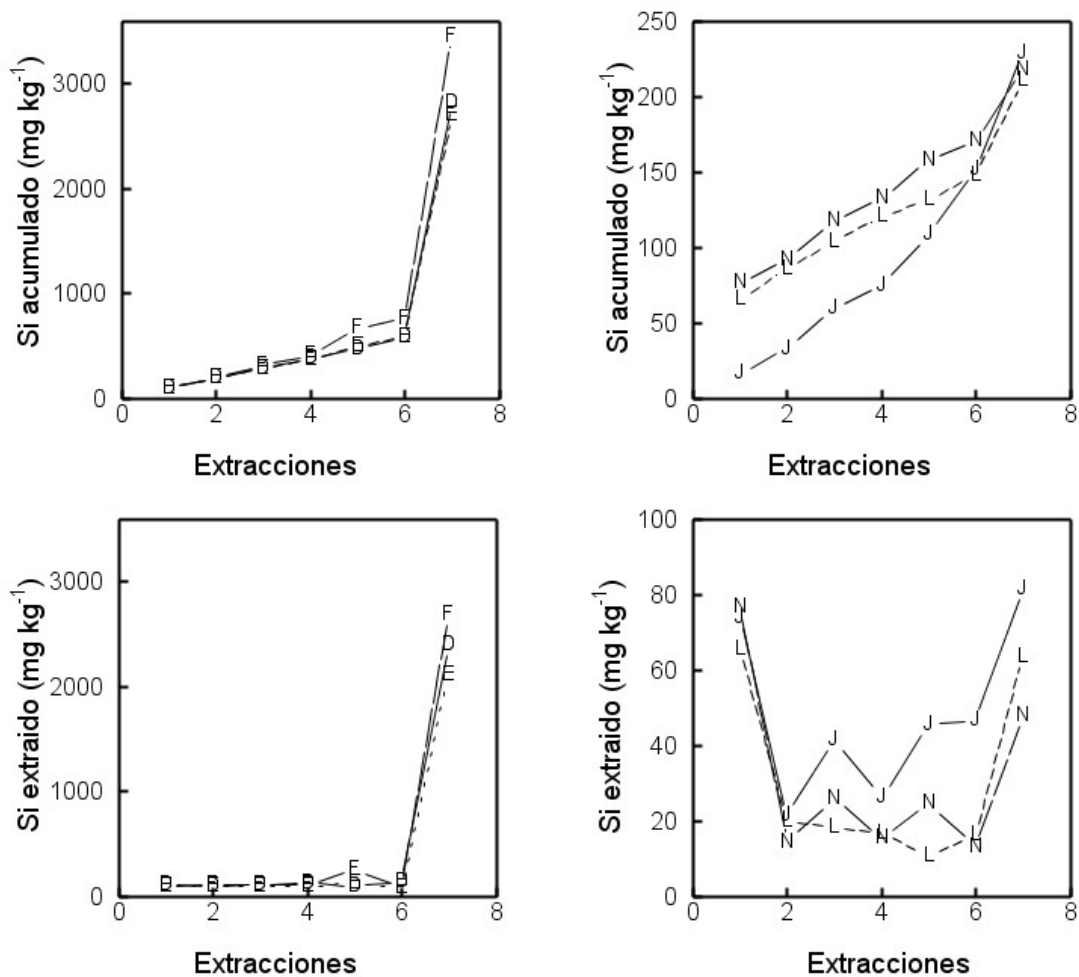
**Figura 7.** Hierro acumulado durante cada período de extracción y Fe liberado del suelo durante cada una de las siete extracciones sucesivas con MIA en muestras de suelos seleccionadas. Para clave de muestras, ver Fig. 5



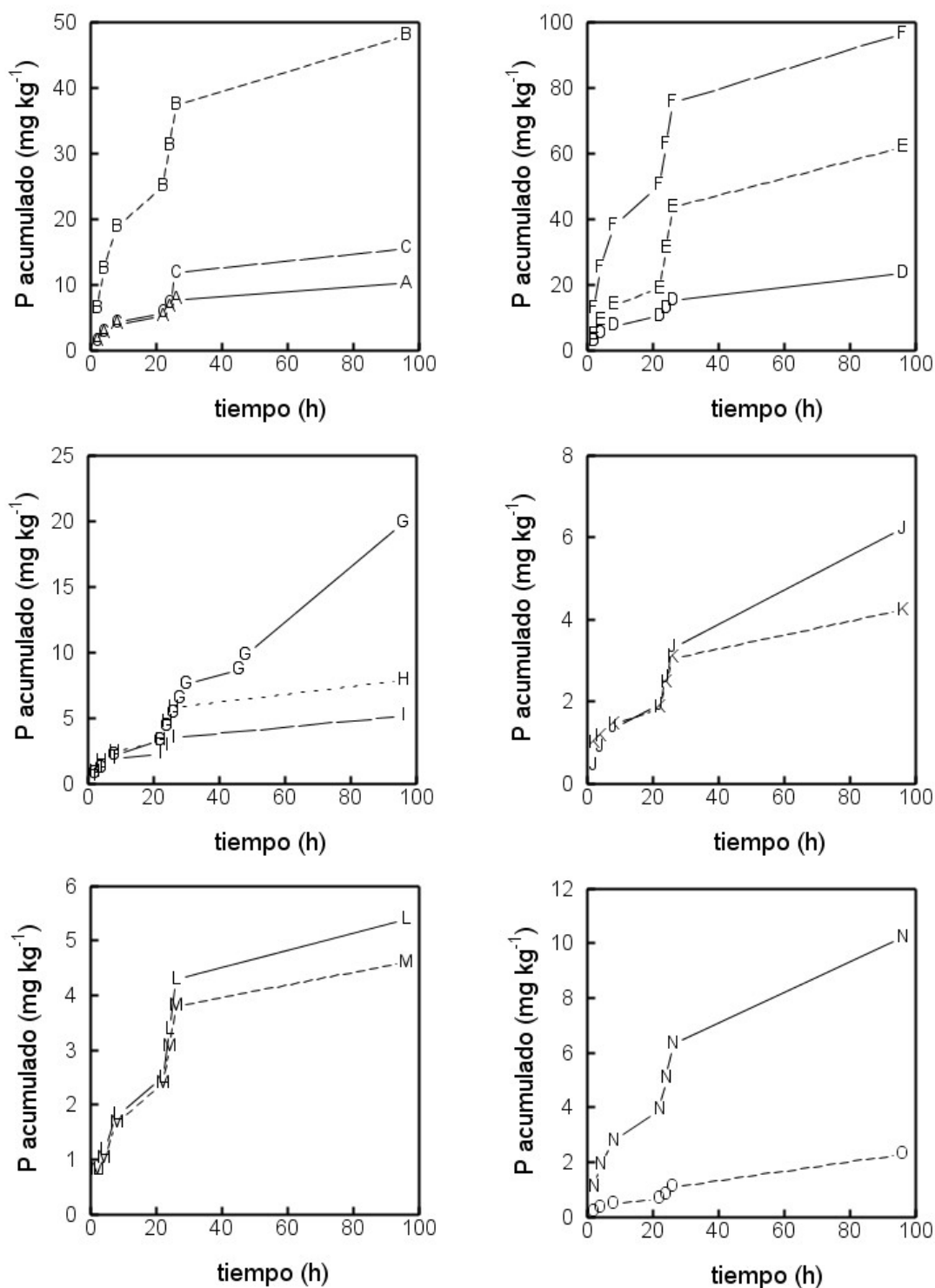
**Figura 8.** Carbono orgánico (CO) acumulado durante cada período de extracción y CO liberado del suelo durante cada una de las siete extracciones sucesivas con MIA en muestras de suelos seleccionadas. Para clave de muestras, ver Fig. 5



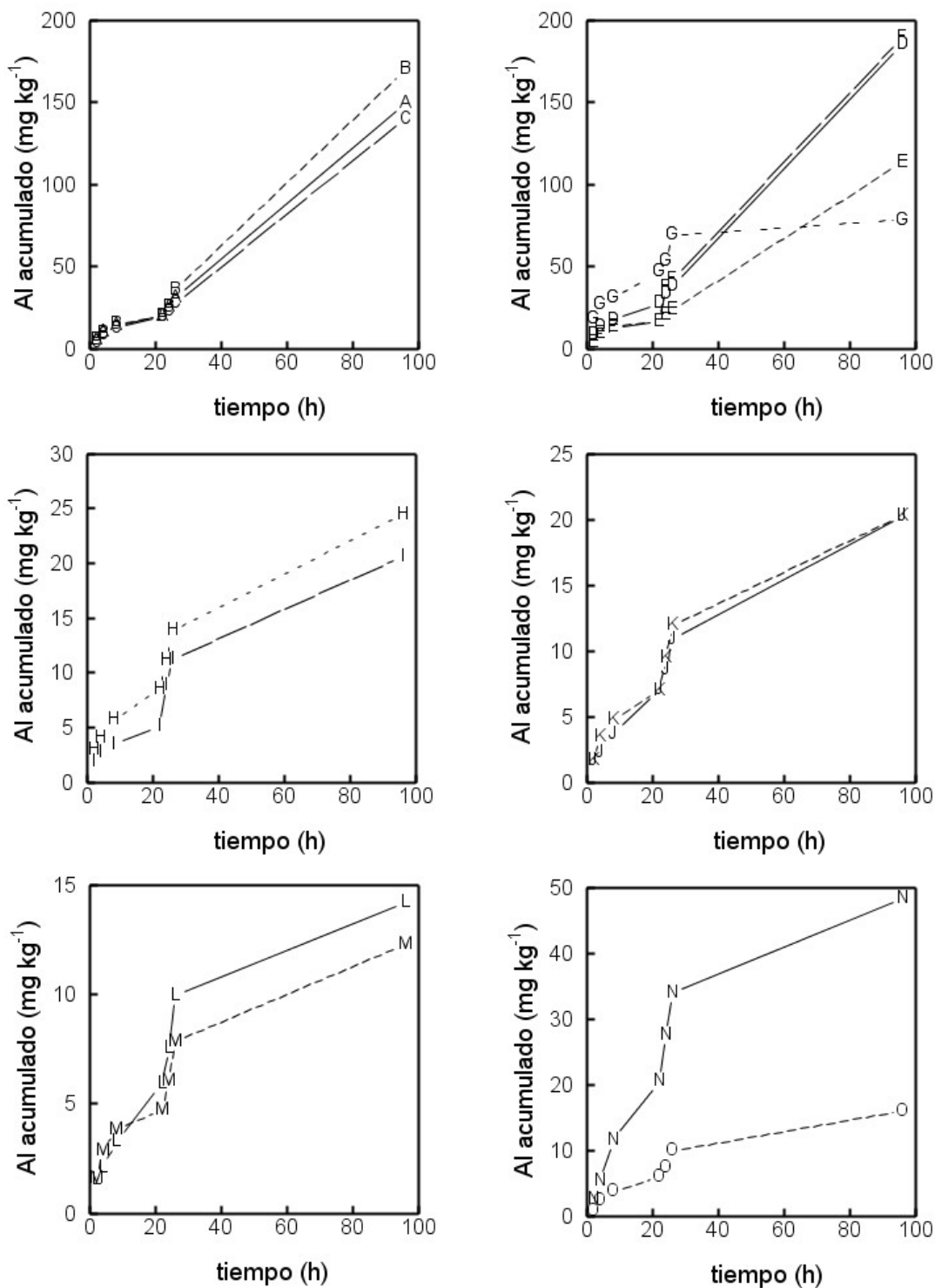
**Figura 9.** Silicio acumulado durante cada período de extracción y Si liberado del suelo durante cada una de las siete extracciones sucesivas con MIA en muestras de suelos seleccionadas. Para clave de muestras, ver Fig. 5



**Figura 10.** Dependencia temporal de la adsorción total de P por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo. Clave de muestras: A= BC Bw; B= LL A; C= LE Bw; D= LE A; E= LE-50; F= LE-200; G= LE A (arc 1° ext.); H= LE Bw (30000g); I= LE Bw (50000g, 4°C); J= LE A (30000g); K= LE A (50000g, 4°C); L= LE-50 (30000g); M= LE-50 (50000g, 4°C); N= LE-200 (30000g); O= LE-200 (50000g, 4°C).

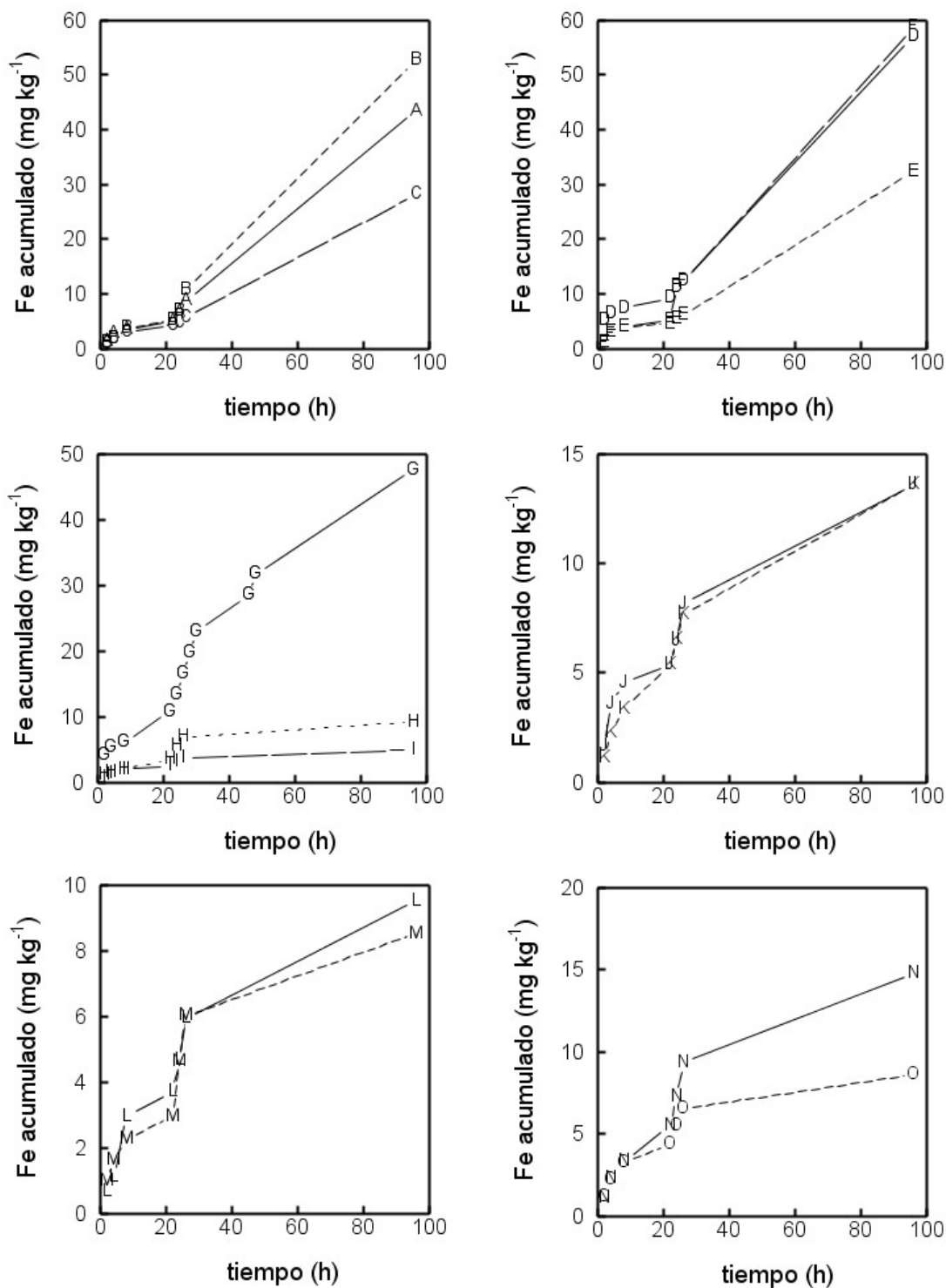


**Figura 11.** Dependencia temporal de la adsorción total de Al por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo. Para clave de muestras ver Fig. 10.

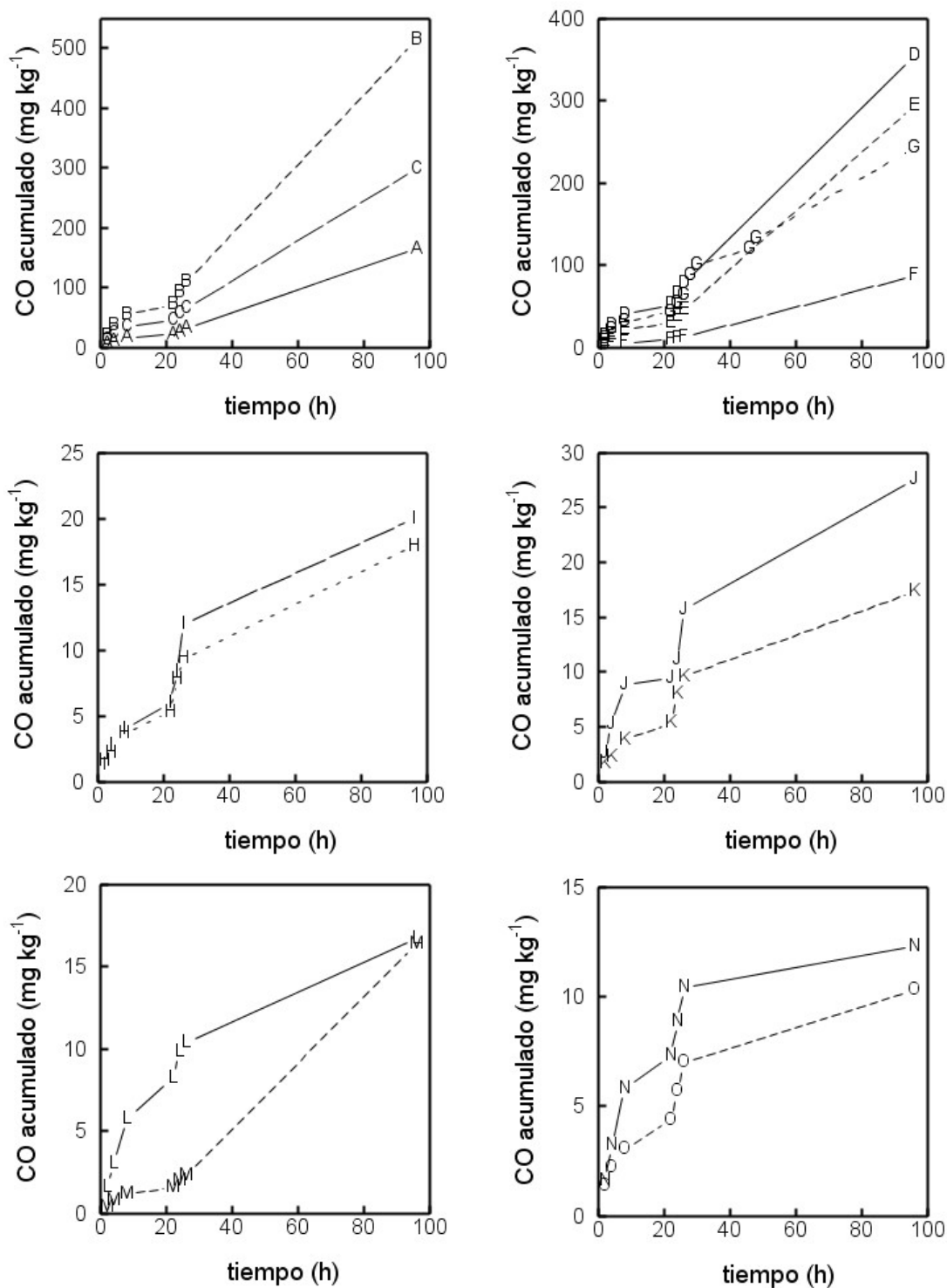




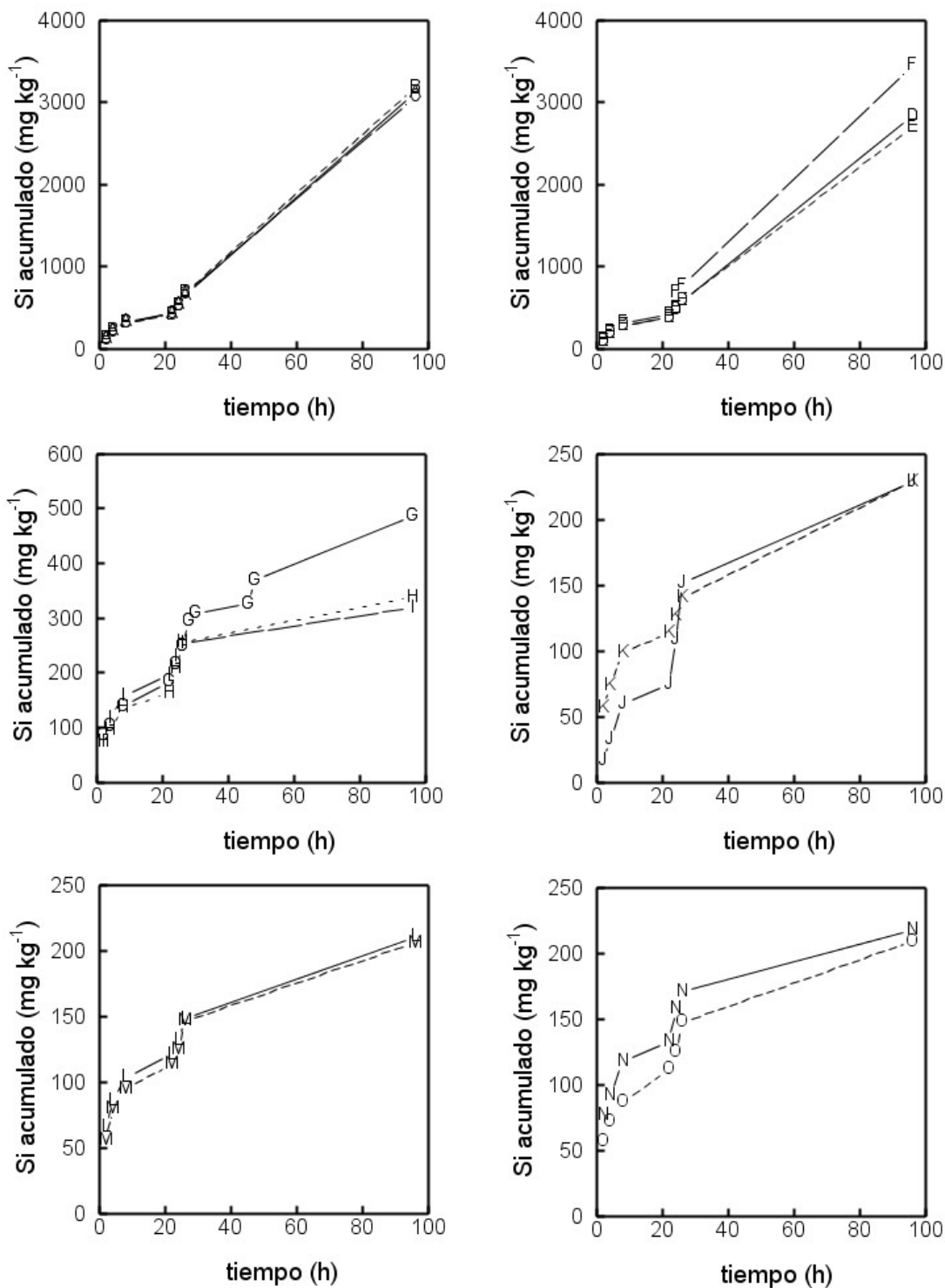
**Figura 12.** Dependencia temporal de la adsorción total de Fe por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo. Para clave de muestras ver Fig. 10.



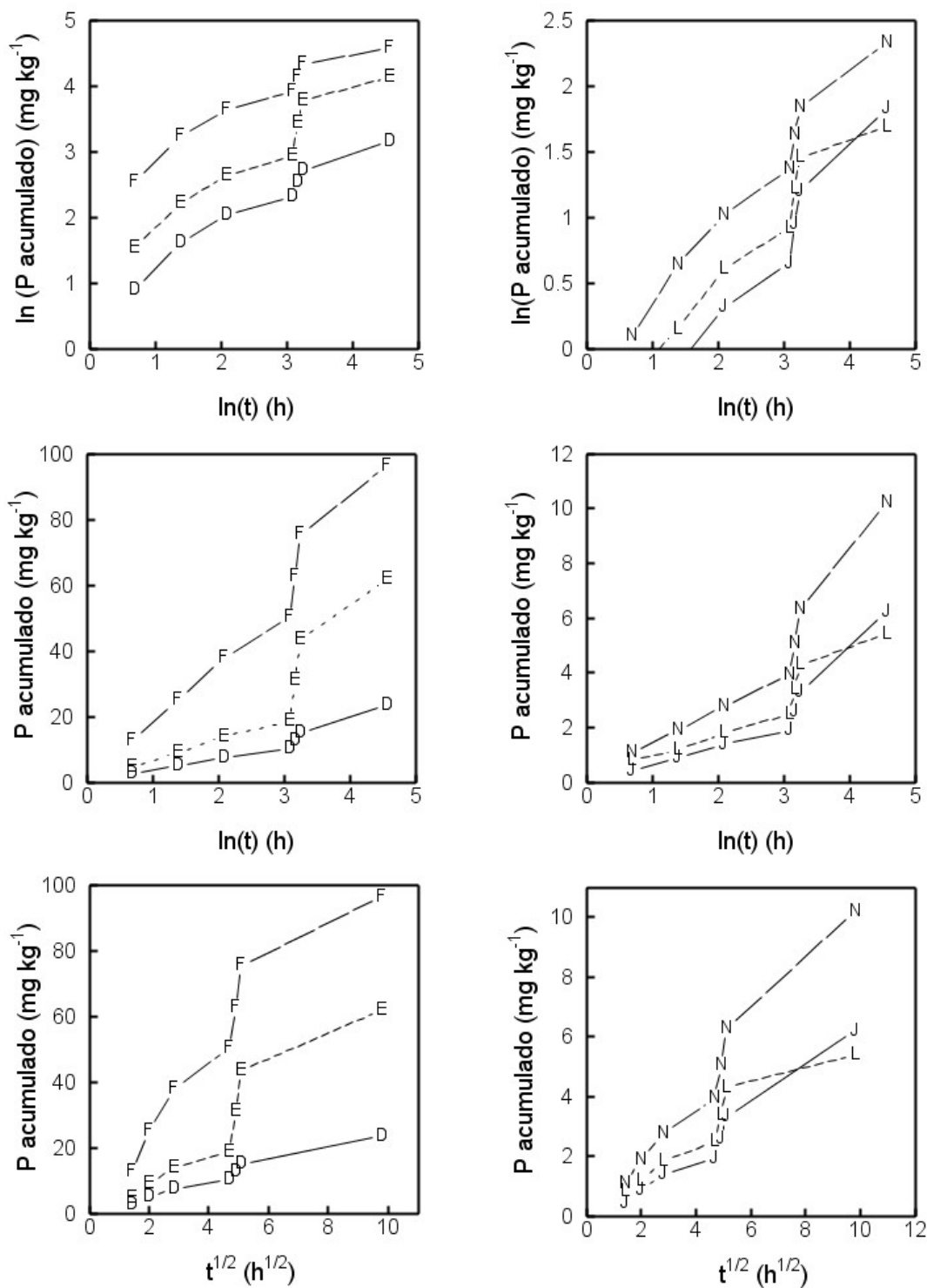
**Figura 13.** Dependencia temporal de la adsorción total de CO por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo. Para clave de muestras ver Fig. 10



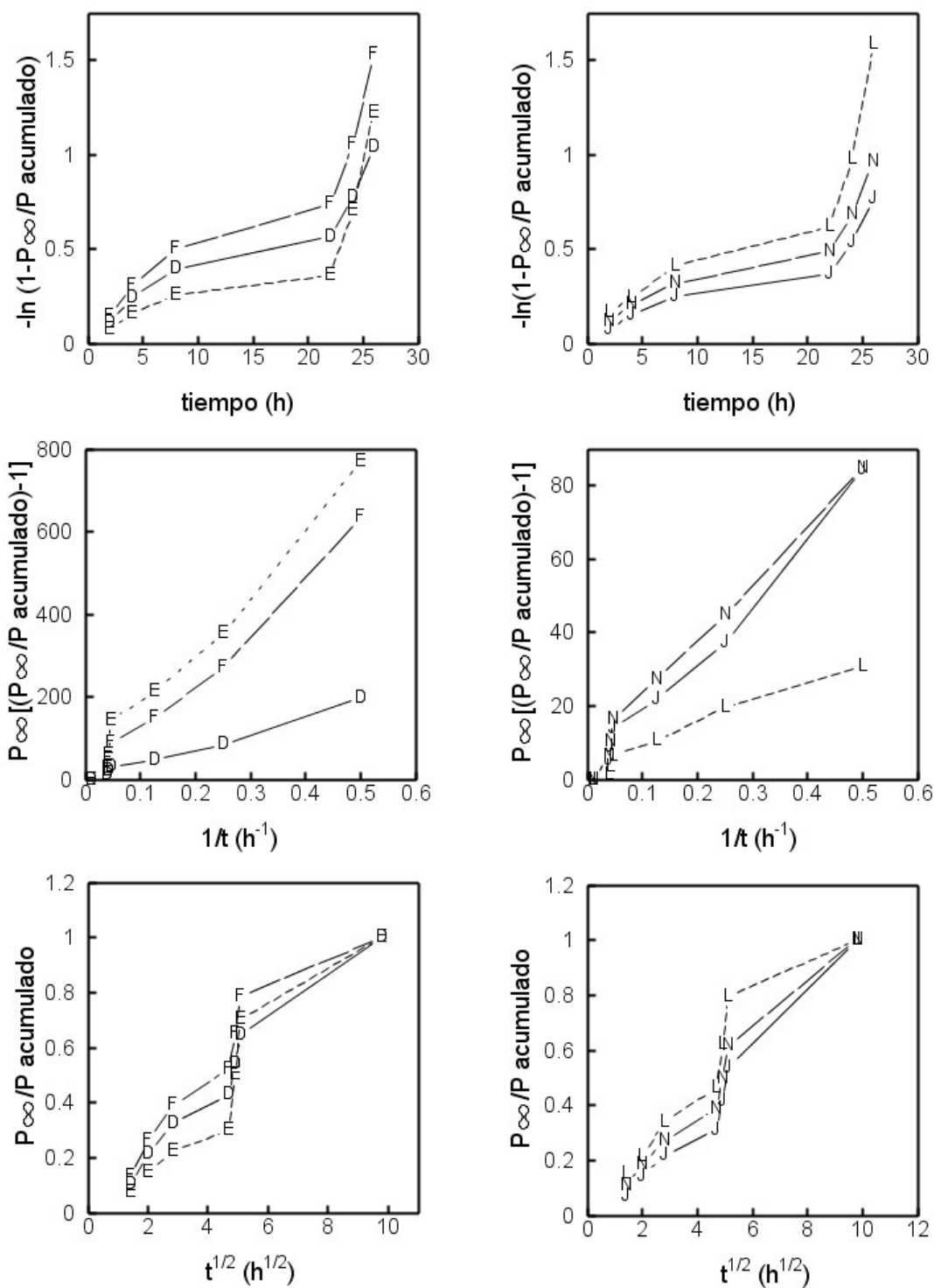
**Figura 14.** Dependencia temporal de la adsorción total de Si por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo. Para clave de muestras ver Fig. 10



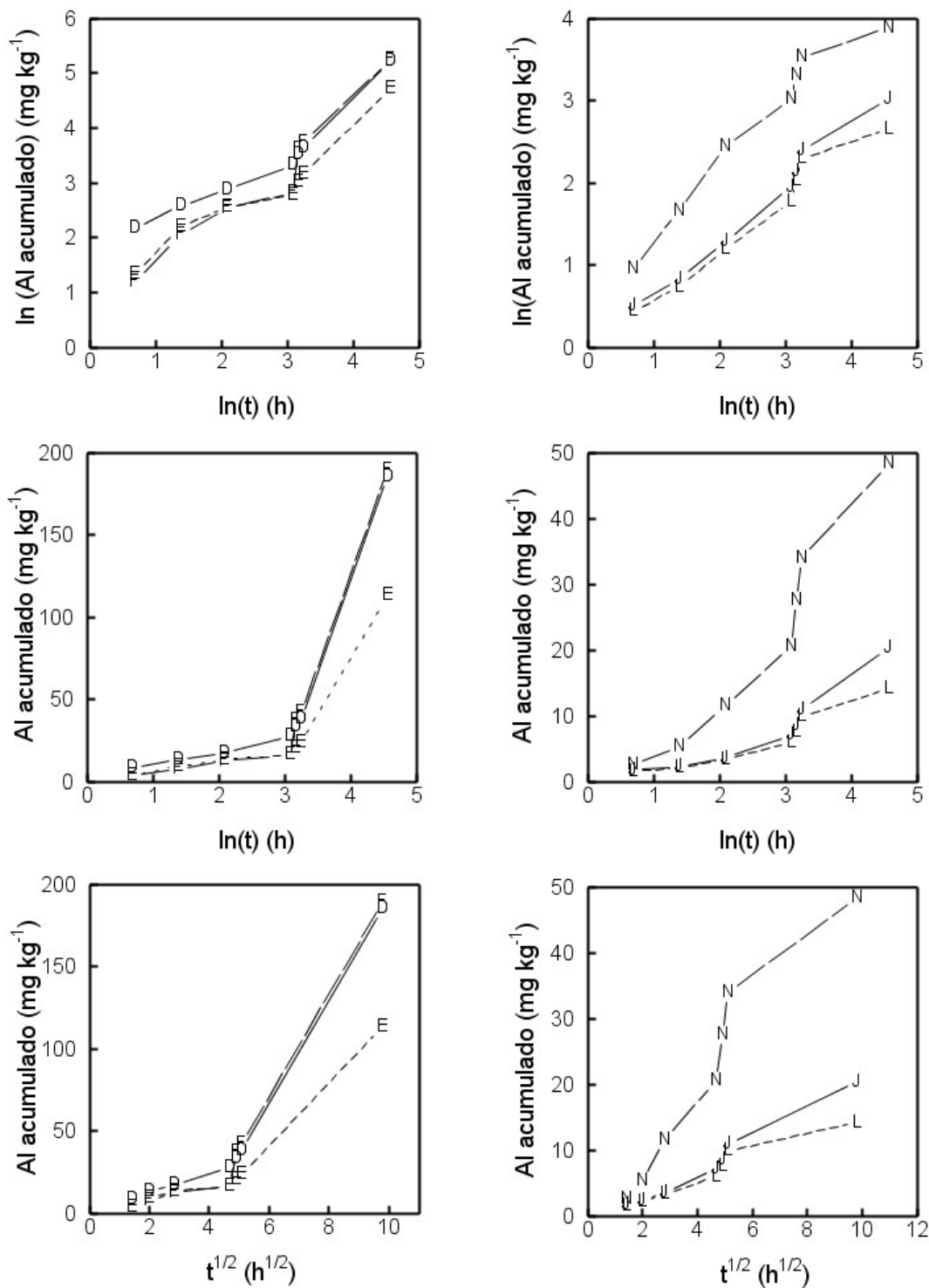
**Figura 15.** Dependencia temporal de la adsorción total de P por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto. Para clave de muestras ver Fig. 10



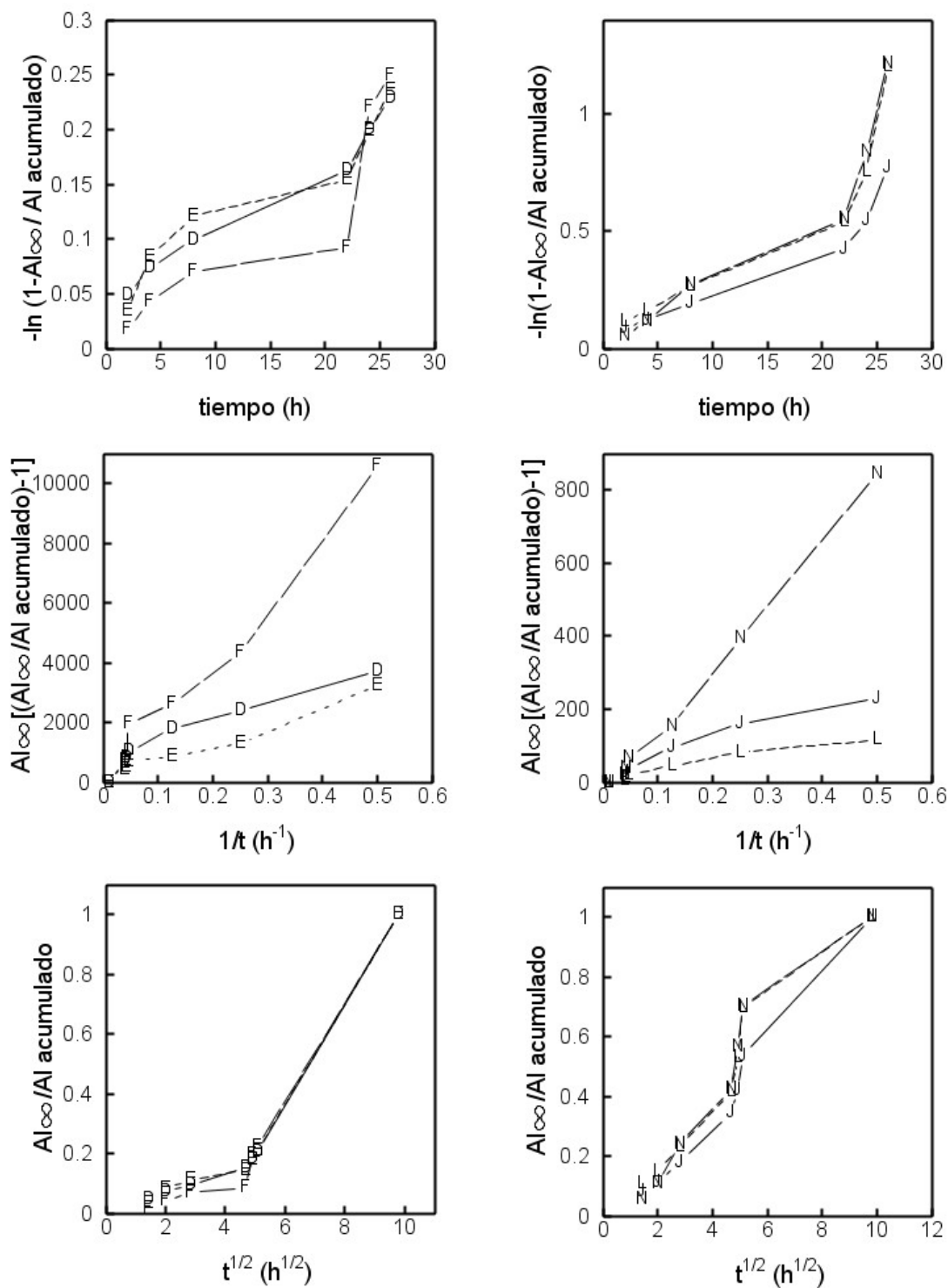
**Figura 15 (cont.).** Dependencia temporal de la adsorción total de P por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto. Para clave de muestras ver Fig. 10



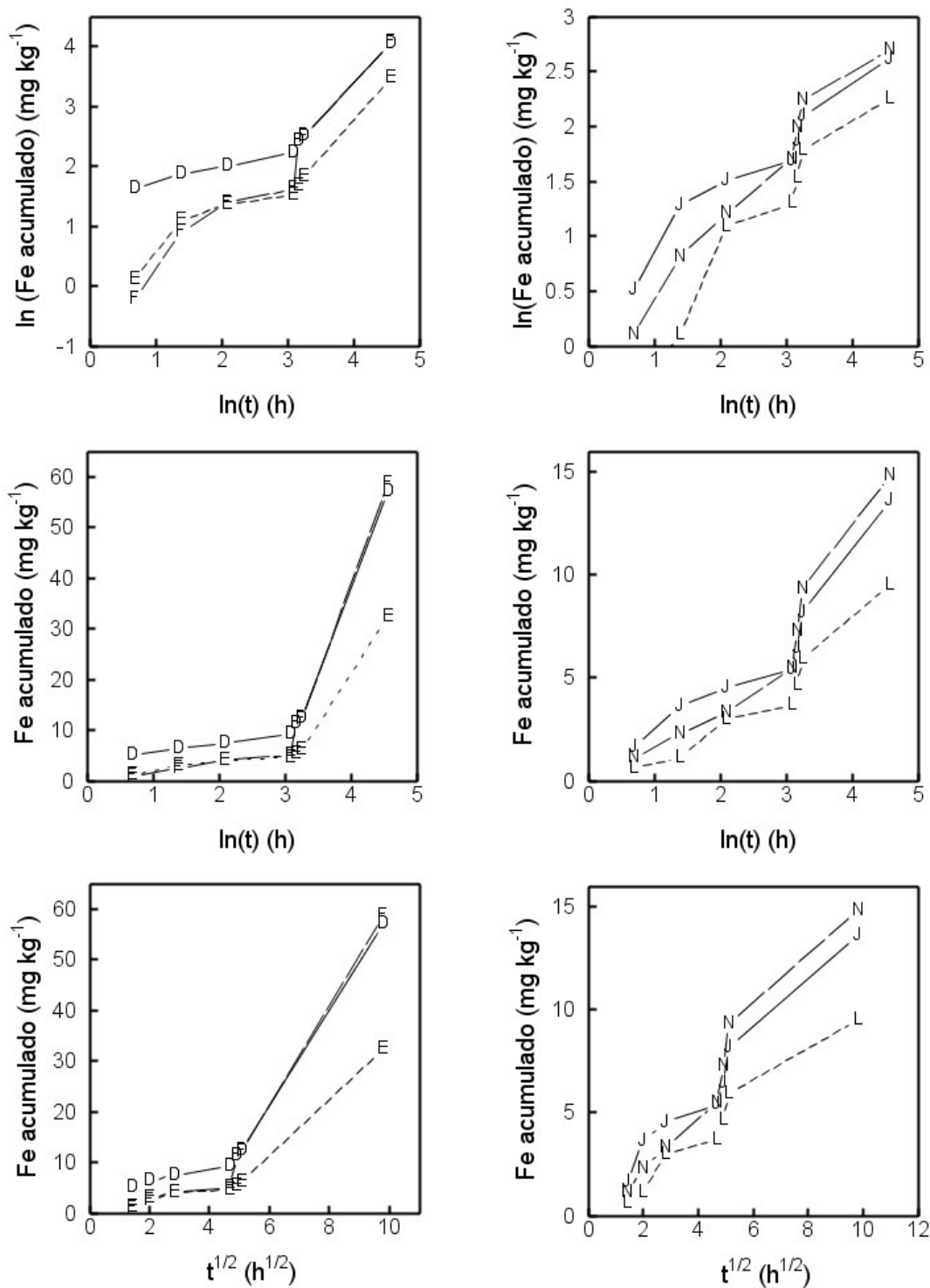
**Figura 16.** Dependencia temporal de la adsorción total de Al por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto. Para clave de muestras ver Fig. 10



**Figura 16 (cont.).** Dependencia temporal de la adsorción total de P por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto. Para clave de muestras ver Fig. 10

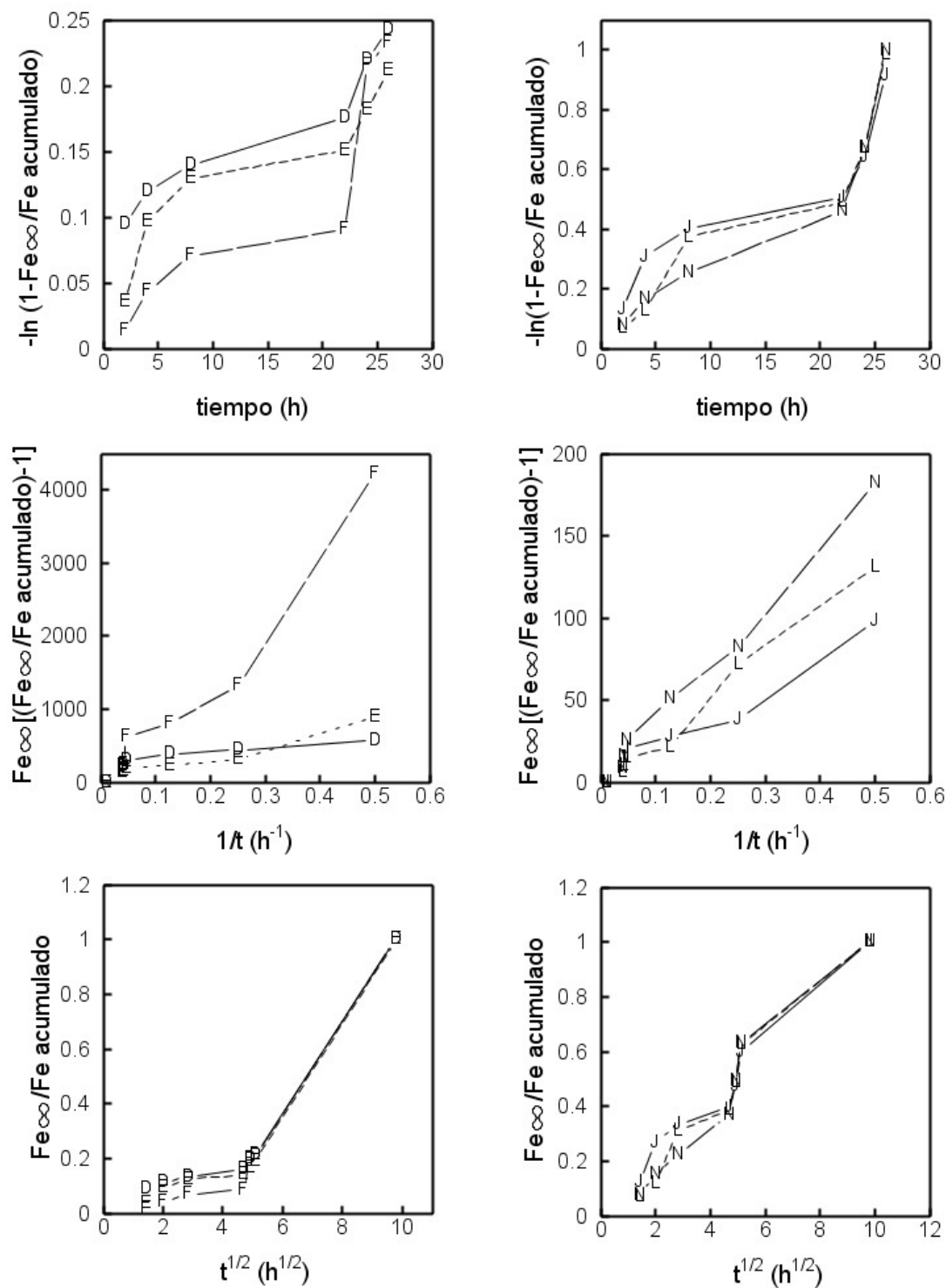


**Figura 17.** Dependencia temporal de la adsorción total de Fe por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto. Para clave de muestras ver Fig. 10

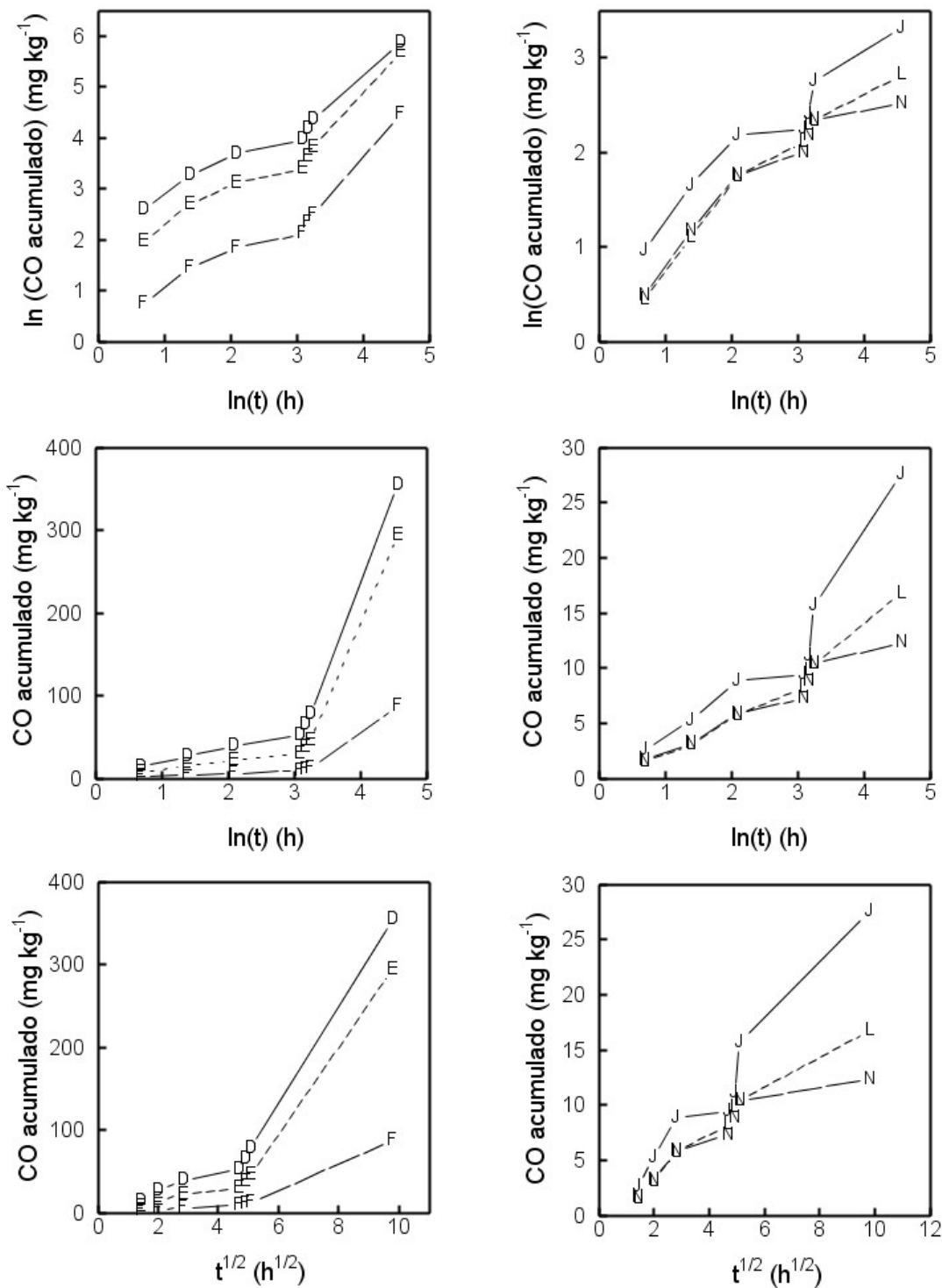




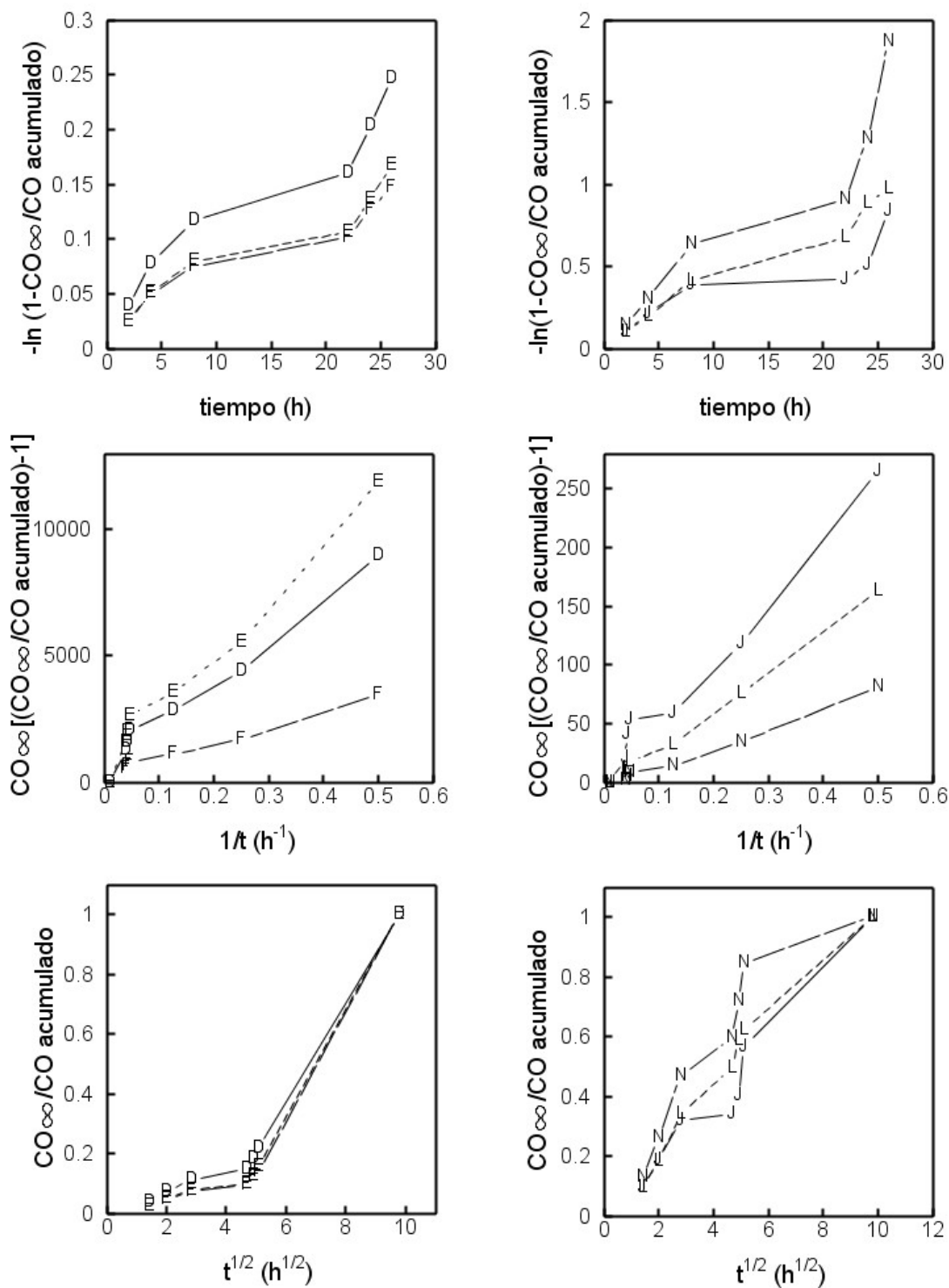
**Figura 17 (cont.).** Dependencia temporal de la adsorción total de P por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto. Para clave de muestras ver Fig. 10



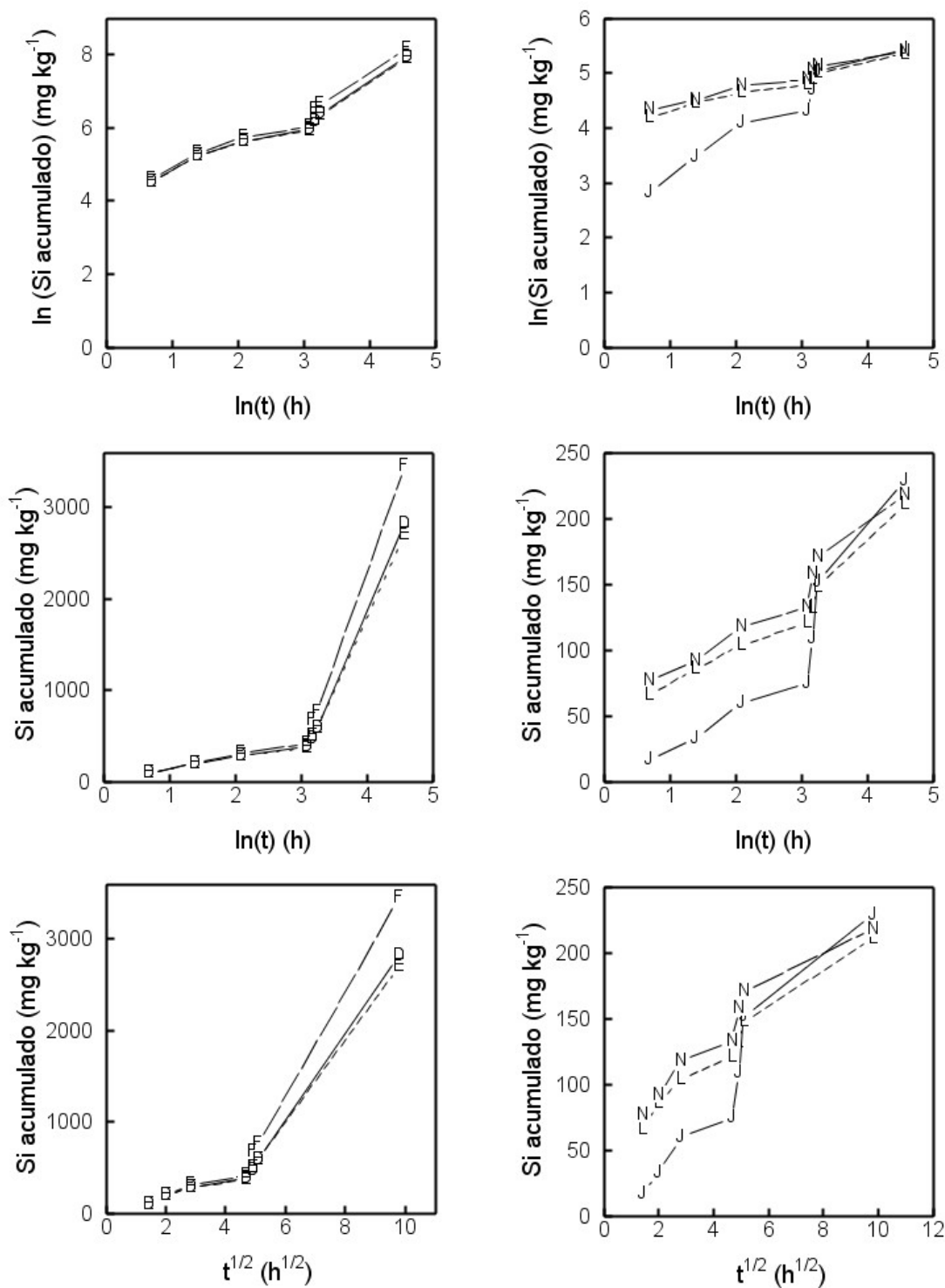
**Figura 18.** Dependencia temporal de la adsorción total de CO por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto. Para clave de muestras ver Fig. 10



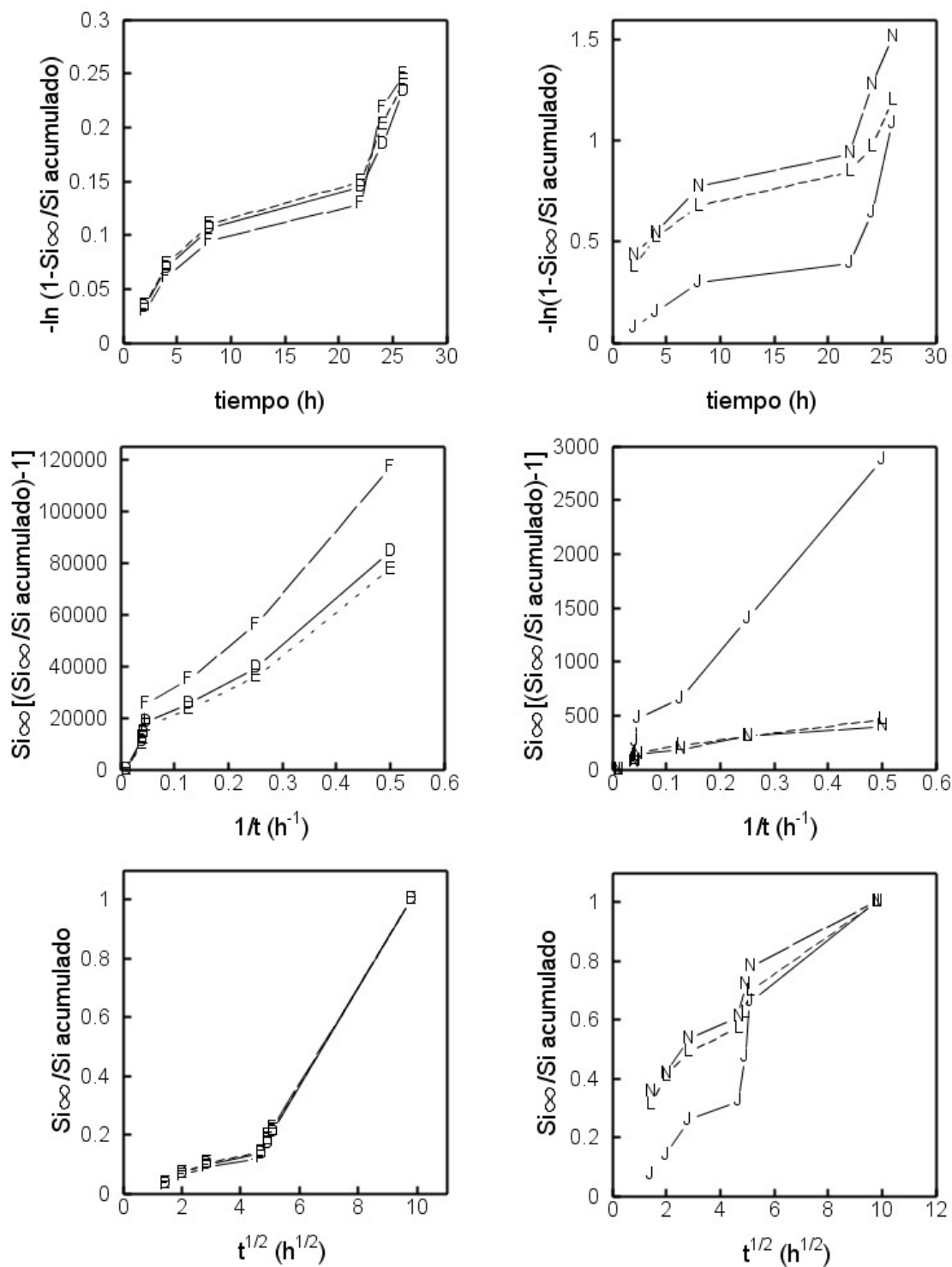
**Figura 18 (cont.).** Dependencia temporal de la adsorción total de CO por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto. Para clave de muestras ver Fig. 10



**Figura 19.** Dependencia temporal de la adsorción total de Si por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto. Para clave de muestras ver Fig. 10



**Figura 19 (cont.).** Dependencia temporal de la adsorción total de P por las siete MIA empleadas durante las 96 h de agitación continua del sistema agua-suelo, empleando diferentes modelos cinéticos explicados en el texto. Para clave de muestras ver Fig. 10



**Tabla 19.** Relaciones molares entre los diferentes elementos encontrados en los eluatos después de seis extracciones sucesivas con MIA

Suelo (tratamiento)	P/Al	P/Fe	P/Si	C/Al	C/Fe	C/Si	Al/Si	C/P
B Bw	0,23	1,78	0,01	24,0	190	1,11	0,05	104
LEA	0,32	1,72	0,02	43,7	232	3,23	0,08	133
LE A (Arc 1° ext)	0,007	0,92	0,07	0,20	23,0	0,13	0,90	47,5
LE A (Arc 2° ext)	0,007	0,40	0,06	0,85	51,0	8,30	0,80	136
LE A (30000g)	0,08	0,67	0,004	2,50	22,4	0,12	0,05	29,7
LE A (50000g 4°C)	0,11	1,22	0,007	1,98	22,3	0,12	0,06	20,4
LE-50	1,13	8,34	0,05	40,6	295	1,82	0,05	32,8
LE-50 (30000g)	0,13	2,10	0,006	2,50	38,5	0,12	0,05	24,7
LE-50 (50000g 4°C)	0,17	1,58	0,008	2,80	26,8	0,13	0,05	18,0
LE-200	2,40	17,1	0,10	10,2	73,4	0,44	0,05	32,8
LE-200 (30000g)	0,03	0,25	0,002	1,62	12,9	0,08	0,05	46,0
LE-200 (50000g 4°C)	0,14	2,14	0,01	0,78	12,0	0,07	0,14	5,4
LE Bw	0,30	2,86	0,01	57,6	557	2,48	0,04	177
LE Bw (30000g)	0,13	1,39	0,007	1,41	15,8	0,08	0,05	11,5
LE Bw (50000g 4°C)	0,08	0,87	0,004	0	0	0	0,05	0
LL A	1,08	9,14	0,05	82,0	698	4,00	0,05	75,3

consonancia con los obtenidos por Lookman et al. (1995), Sharpley (1996) y Toor y Bahl (1999). La reacción inicial rápida representaría la desorción del P más lábil, mientras que las fases más lentas representarían la desorción de especies de P menos móviles (Kuo y Lotse, 1974; Toor y Bahl, 1999). Siddique y Robinson (2004) ponen de manifiesto que el P liberado parece depender de la fuente de P, especialmente durante la primera extracción, siendo la liberación del macronutriente prácticamente inexistente después de seis extracciones con respecto a los elevados valores obtenidos para la primera.

De todas maneras es necesario hacer mención que durante las seis primeras extracciones secuenciales, la cantidad de P retirada del sistema por la MIA en cualquiera de sus formas, siempre con un tamaño inferior a 10000 Da, parece seguir una cinética de orden 0 (velocidad constante) incrementándose la cantidad liberada por el suelo en la séptima extracción que abarca un total de 70 h de agitación del sistema sin cambio de MIA (desde las primeras 26 h de agitación del sistema hasta las 96 h) lo que parece sugerir que la desorción de fosfato en este tipo de suelos no puede describirse simplemente mediante una fase rápida de liberación, seguida de una segunda fase mucho más lenta; parece más bien que el suelo, al no llegar a un umbral mínimo en el grado de saturación en formas químicas fácilmente disponibles de P para que la reacción rápida pueda transcurrir (Siddique y Robinson, 2004), tienda a liberar el P que se encuentra asociado al resto de elementos con los que interacciona, mucho menos disponible,

ya que las tendencias frente al número de extracciones y al tiempo de agitación parecen ser las mismas.

Nuestros resultados parecen indicar que la naturaleza de las asociaciones entre los diferentes elementos estudiados juega un papel preponderante. En la Tabla 19 se presentan las relaciones atómicas medias entre los diferentes elementos encontrados en los eluatos de MIA después de seis extracciones secuenciales (26 h de agitación continuada del sistema y liberación casi constante de P). Si consideramos los dos tipos de Andosoles, alofánicos (La Esperanza) y órganominerales (Las Lajas), observamos cómo los valores obtenidos para las seis primeras extracciones secuenciales se corresponden con aquellos que los diferencian (especie de huella digital para estos suelos). Así, los valores acumulados para el Al representaron entre el 0,05 y el 0,2% del Al extraíble con oxalato para el Andosol alofánico y para el órganomineral respectivamente.

Las relaciones atómicas obtenidas son compatibles con las asociaciones del tipo AF-P-Al(Fe) e incluso formas asociadas al Si, con carácter aniónico, que podrían ser adsorbidas por la MIA. Estas asociaciones tendrían un tamaño de partícula inferior a 10000 Da impuesto por la membrana de diálisis. La relativa constancia de los valores encontrados para cada una de las extracciones provoca que la cantidad de estos elementos aumente con el tiempo de extracción y que, al cabo de 96 h de agitación continua, el sistema siga liberándolos a pesar de retirar parte de estos elementos durante las seis primeras extracciones; esto

lleva a pensar que los procesos de liberación o desorción del fosfato, asociado a la fracción activa del Al y Fe, parezcan depender, en los suelos ándicos, de los equilibrios físico-químicos que se originan en las condiciones bajo las cuales se realiza la extracción. La extrema sensibilidad de estos suelos a las condiciones experimentales contribuye a que los valores de asimilabilidad tengan un alto grado de incertidumbre y que no correspondan a los encontrados en ensayos de campo.

#### 4. Referencias

- Abrams, M. M.; Jarrell, W. M. 1992. Bioavailability indices for phosphorus using exchange resin-impregnated membranes. *Soil Science Society of America Journal* 56, 1532–1537.
- Agbenin, J. O.; van Raij, B. 2001. Kinetics and energetics of phosphate release from tropical soils determined by mixed ion-exchange resins. *Soil Science Society of America Journal* 65, 1108-1114.
- Aharoni, C.; Sparks, D. L. 1991. Kinetics of soil chemical reactions-A theoretical treatment. En: Sparks, D. L.; Suárez, D. L. (Eds.), *Rates of Chemical Processes*. Soil Science Society of America Special Publications No. 27, Las Vegas, pp. 1-18.
- Aharoni, C.; Sparks, D. L.; Levinson, S.; Ravina, I. 1991. Kinetics of soil chemical reactions: relationships between empirical equations and diffusion models. *Soil Science Society of America Journal* 55, 1307-1312.
- Amer, F. D.; Bouldin, D. R.; Black, C. A.; Duke, F. R. 1955. Characterization of soil phosphorus by anion exchange resin adsorption and  $^{32}\text{P}$  equilibration. *Plant and Soil* 6, 391–408.
- American Public Health Association; Water Environment Federation; American Water Works Association. 1995. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (19th ed.), Washington, DC.
- American Public Health Association; Water Environment Federation; American Water Works Association. 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Disponible en: [www.standardmethods.org](http://www.standardmethods.org) (acceso 2 de mayo de 2005).
- Bache, B. W.; Ireland, C. 1980. Desorption of phosphate from soils using anion exchange resins. *Journal of Soil Science* 31, 297–306.
- Barrow, N. J. 1983. A mechanistic model for describing the sorption and desorption of phosphate by soil. *Journal of Soil Science* 34, 733–750.
- Barrow, N. J. 1984. Modelling effects of pH on phosphate sorption by soils. *Journal of Soil Science* 35, 283–297.
- Barrow, N. J.; Shaw, T. C. 1975. The slow reactions between soil and anions: 2. Effect of time and temperature on the decrease in phosphate concentration in the soil solution. *Soil Science* 119, 167–177.
- Barrow, N. J.; Shaw, T. C. 1977. Factors affecting the amounts of phosphate extracted from soil by anion exchange resin. *Geoderma* 18, 309-323.
- Bartlett, R. J.; Ross, D. S. 1988. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. *Soil Science Society of America Journal* 52, 1191-1192.
- Bartoli, F.; Burtin, G.; Herbillon, A. J. 1991. Disaggregation and clay dispersion of Oxisols: Na-resin, a recommended methodology. *Geoderma* 49, 301–317.
- Beek, J. 1979. Phosphate retention by soil in relation to waste disposal. Ph.D. thesis. Agriculture University, Wageningen, Holanda.



- Bissonnette, N.; Angers, D. A.; Simard, R. R.; Lafond J. 2001. Interactive effects of management practices on water-stable aggregation and organic matter of a silty clay in eastern Canada. *Canadian Journal of Soil Science* 81, 545–551.
- Blanchar, R. W.; Gevagere, H. M.; Caldwell, A. C. 1965. Sulphur in plant material digestion with nitric and perchelonia acids. *Soil Science Society of America Proceedings* 29, 71-72.
- Börling, K. 2003. Phosphorus sorption, accumulation and leaching. Ph.D. thesis, Dept. of Soil Sciences, SLU. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Agraria* vol. 428. Disponible en: [http://diss-epsilon.slu.se/archive/00000379/01/Agraria\\_428.pdf](http://diss-epsilon.slu.se/archive/00000379/01/Agraria_428.pdf) (acceso 15/02/2005).
- Bowman, R. A.; Olsen, S. R.; Watanabe, F. S. 1978. Greenhouse evaluation of residual phosphate by four phosphorus methods in neutral and calcareous soils. *Soil Science Society of America Journal* 42, 451-454.
- Boyd, G. E.; Adamson, A. W.; Myers, L. S. 1947. The exchange adsorption of ions from aqueous solutions by zeolites: II. Kinetics. *Journal of America Chemical Society* 69, 2836-2848.
- Breeuwsma, A. 1973. Adsorption of ions on hematite ( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Ph.D. thesis, Agriculture University., Wageningen, Holanda.
- Chiou, M. S.; Li, H. Y. 2002. Equilibrium and kinetic modelling of adsorption of reactive dye on cross-linked chitosan beads. *Journal of Hazardous Materials (B93)*, 233-248.
- Cooperband, L. R.; Gales, P. M. Comerford, N. B. 1999. Refinement of the anion exchange membranes method for soluble phosphorus measurement. *Soil Science Society of America Journal* 63, 58–64.
- Cooperband, L. R.; Logan, T. J. 1994. Measuring *in situ* changes in labile soil P using anion exchange membranes. *Soil Science Society of America Journal* 58, 109-114.
- Dalal, R. C. 1974. Desorption of phosphate by anion exchange resin. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 5, 531–538.
- Delgado, A.; Torrent, J. 1997. Phosphate-rich soils in the European Union: Estimating total plant-available phosphorus. *European Journal of Agronomy* 6, 205–214.
- Departamento de Edafología y Geología. 1984. Guía de Campo del Congreso Internacional de Suelos Volcánicos. Servicio de Publicaciones de Universidad de La Laguna, Tenerife.
- Desilva, J. 1999. Essentials of ion Exchange. Paper presented at the 25<sup>th</sup> Annual WQA Conference. 5 p. Disponible en: <http://www.resintech.com/Content/TechArticles/Essential%20of%20Ion%20Exchange.pdf> (acceso: 15/02/2005).
- Earl, K. D.; Syers, J. K.; McLaughlin, J. R. 1979. Origin of citrate, tartrate, and acetate on phosphate sorption by soils and synthetic gels. *Soil Science Society of America Journal* 43, 674–678.
- Evans, Jr A. 1985. The adsorption of inorganic phosphate by a sandy soil as influenced by dissolved organic compounds. *Soil Science* 140, 251-255.
- Evans, R. L.; Jurinak, J. J. 1976. Kinetics of phosphate release from a desert soil. *Soil Science* 121 205–211.
- Fox, R. L. 1980. Soils with variable charge: agronomic and fertility aspects. En: Theng, B. K. G. (Ed.), *Soils with Variable Charge*, New Zealand Society of Soil Science, Palmerston North, pp. 195-224.
- Fox, T. R.; Comerford, N. B.; McFee, W. W. 1990. Phosphorus and aluminum release from a spodic horizon mediated by organic acids. *Soil Science Society of America Journal* 54, 1763-1767.

- Freese, D.; Lookman, R.; Merckx, R.; van Riemsdijk, W. H. 1995. New method for assessment of long-term phosphate desorption from soils. *Soil Science Society of America Journal* 59, 1295–1300.
- Frossard, E.; Condron, L. M.; Oberson, A.; Sinaj, S.; Fardeau, J. C. 2000. Processes governing phosphorus availability in temperate soils. *Journal of Environmental Quality* 29, 15–23.
- Galadima, A.; Silvertooth, J. C. 1998. Mathematical models of potassium release kinetics for Sonora desert soils of Arizona. En: College of Agriculture, University of Arizona (Ed.), Cotton: A College of Agriculture Report. Disponible en: <http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1006/az10068f.html> (acceso 15/03/2005).
- Gale, P. M.; Mullen, M. D.; Cieslik, C.; Tyler, D. D.; Duck, B. N.; Kirchner, M.; McClure, J. 2000. Phosphorus distribution and availability in response to dairy manure applications. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31, 553–565.
- Gerke, J.; Beissner, L.; Römer, W. 2000a. The quantitative effect of chemical phosphate mobilization by carboxylate anions on P uptake by a single root. I. The basic concept and determination of soil parameters. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163, 207–212.
- Gerke, J.; Beissner, L.; Römer, W. 2000b. The quantitative effect of chemical phosphate mobilization by carboxylate anions on P uptake by a single root. II. The importance of soil and plant parameters for uptake of mobilized P. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163, 213–219.
- Goldberg, S.; Sposito, G. 1985. On the mechanism of specific phosphate adsorption by hydroxylated mineral surfaces: A review. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 16, 801–821.
- Griffin, R. A.; Jurinak, J. J. 1974. Kinetics of phosphate interactions with calcite. *Soil Science Society of America Proceedings* 38, 75–79.
- Havlin, J. L.; Westfall, D. G. 1985. Potassium release kinetics and plant response in calcareous soils. *Soil Science Society of America Journal* 49, 371–376.
- Hedley, M.J.; Stewart, J. W. B.; Chauhan, B. S. 1982. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal* 46, 970–976.
- Hedley, M.J.; Stewart, J. W. B.; Chauhan, B. S. 1982. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal* 46, 970–976.
- Helferich, F. G. 1962. *Ion Exchange*. McGraw-Hill Book Co., Nueva York.
- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil* 237, 173–195.
- Huang, W. Z.; Schoenau, J. J. 1996. Forms, amounts and distribution of carbon, nitrogen, phosphorus, and sulphur in a boreal aspen forest soil. *Canadian Journal of Soil Science* 76, 373–385.
- Ionics, 1987. Properties and characteristics of anion transfer membranes type 204-U-386. Bulletin AR 204.3-A. Ionics, Watermelon, MA.
- Jones, D. L. 1998. Organic acids in the rhizosphere—a critical review. *Plant and Soil* 205, 25–44.
- Jones, D. L.; Brassington, D. S. 1998. Sorption of organic acids in acid soils and its implications in the rhizosphere. *European Journal of Soil Science* 49, 447–455.
- Kafkafi, U.; Bar-Yosef, B.; Rosenberg, R.; Sposito, G. 1988. Phosphorus adsorption by kaolinite and montmorillonite: II. Organic anion competition.

- Soil Science Society of America Journal 52, 1585–1589.
- Kirk, G. J. D. 1999. A model of phosphate solubilization by organic anion excretion from plant roots. *European Journal of Soil Science* 50, 369–378.
- Kokubo, K.; Sakai, K. 1998. Evaluation of dialysis membranes using a tortuous pore model. *American Institute of Chemical Engineering Journal* 44, 2607-2619.
- Koopmans, G. F.; Chardon, W. J.; de Willigen, P.; van Riemsdijk, W. H. 2004. Phosphorus desorption dynamics in soil and the link to a dynamic concept of bioavailability. *Journal of Environmental Quality* 33, 1393-1402.
- Krause, H. H.; Ramlal, D. 1987. In situ nutrient extraction by resin from forested, clear-cut and site-prepared soil. *Canadian Journal of Soil Science* 67, 943-952.
- Kuo, S.; Lotse, E. G. 1974. Kinetics of phosphate adsorption and desorption by lake sediments. *Soil Science Society of America Proceeding* 38, 50–54.
- Lehmann, J.; Kaiser, K. Peter, I. 2001. Exchange resin cores for the estimation of nutrient fluxes in highly permeable tropical soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164, 57–64.
- Lehmann, J.; Weigl, D.; Peter, I; Droppelmann, K.; Gebauer, G.; Goldbach, H.; Zech, W. 1999. Nutrient interactions of alley-cropped Sorghum bicolor and Acacia saligna in a runoff irrigation system in Northern Kenya. *Plant and Soil* 210, 249-262.
- Lin, T. F.; Wu, J. K. 2001. Adsorption of arsenite and arsenate within activated alumina grains: Equilibrium and kinetics. *Water Research* 35, 2049–2057.
- Loganathan, P.; Isirimah, N. O.; Nwachuku D. A. 1987. Phosphorus sorption by Ultisols and Inceptisols of the Niger delta in southern Nigeria. *Soil Science* 144, 330–338.
- Lookman, R.; Vandeweert, N.; Merckx, R.; Vlassak, K. 1995. Geostatistical assessment of the regional distribution of phosphate sorption capacity parameters ( $Fe_{ox}$  and  $Al_{ox}$ ) in northern Belgium. *Geoderma* 66, 285 - 296.
- Lookman, R.; Jansen, K.; Merckx, R.; Vlassak, K. 1996. Relationship between soil properties and phosphate saturation parameters, a transect study in northern Belgium. *Geoderma* 69, 265-274.
- Lookman, R.; Vandeweert, N.; Merckx, R.; Vlassak, K. 1995. Geostatistical assessment of the regional distribution of phosphate sorption capacity parameters ( $Fe_{ox}$  and  $Al_{ox}$ ) in northern Belgium. *Geoderma* 66, 285–296.
- Madrid, L.; de Arambarri, P. 1985. Adsorption of phosphate by two iron oxides in relation to their porosity. *Journal of Soil Science* 36, 523–530.
- Maertens, M.; Thijs, A.; Smolders, E.; Degryse, F.; Cong, P. T.; Merckx, R. 2003. An anion resin membrane technique to overcome detection limits of isotopically exchanged P in P-sorbing soils. *European Journal of Soil Science* 55, 63-69.
- Marcano-Martinez, E.; McBride, M. B. 1989. Calcium and sulphate retention by two oxisols of the Brazilian cerrado. *Soil Science Society of America Journal* 53, 63-69.
- Matar, A.; Torrent, J.; Ryan, J. 1992. Soil and fertilizer phosphorus and crop responses in the dryland Mediterranean zone. *Advances in Soil Science* 18, 81–146.
- Merck, 1986. Intercambiadores de iones y resinas adsorbentes. E. Merck, 23 p. Alemania.
- Morel, C. 2002. Caractérisation de la phytodisponibilité du P du sol par la modélisation du transfert des ions phosphate entre le sol et la solution. Document présenté pour obtenir l'habilitation à diriger des recherches. INPL-

- ENSAIA Nancy. 80 p. Disponible en: [www.bordeaux.inra.fr/tcem](http://www.bordeaux.inra.fr/tcem) (acceso: 15/02/2005).
- Mulder, J.; Cresser, M. S. 1994. Soil and soil solution chemistry. En: Moldan, B.; Cerny, J. (Eds.), *Biogeochemistry of Small Catchments: A Tool for Environmental Research*, SCOPE Report Vol. 51, John Willey & Sons, Chichester, England, 410 p. Disponible en: <http://www.icsu-scope.org/downloadpubs/scope51/chapter05.htm> (acceso 14/02/2005).
- Murphy, J.; Riley, J. P. 1962. A modified single method for the determination of phosphates in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27, 31-36.
- Nagarajah, S.; Posner, A. M.; Quirk, J. P. 1968. Desorption of phosphate from kaolinite by citrate and bicarbonate. *Soil Science Society of America Proceedings* 32, 507-510.
- Nanzyo, M.; Taniguchi, Y.; Akiyama, Y. (1992). Chemical factor affecting the development of mobile P in cultivated soils. *Research Outcomes* 272, 8-12.
- Norrish, K.; Rosser, H. 1983 Mineral phosphate. En: CSIRO (Ed.), *Soils: an Australian viewpoint*. Academic Press, London, pp. 335-361.
- Parfitt, R. L. 1978. Anion Absorption by Soils and Soil Materials. *Advances in Agronomy* 30, 1-50.
- Parfitt, R. L. 1989. Phosphate reactions with natural allophane, ferrihydrite, and goethite. *Journal of Soil Science* 40, 359-369.
- Qian, P.; Schoenau, J. J.; Huang, W. Z. 1992. Use of ion exchange membranes in routine soil testing. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 23, 1791-1804.
- Quang, V. D.; Thai, V. C.; Linh, T. T. T.; Dufey, J. E. 1996. Phosphorus sorption in soils of the Mekong Delta (Vietnam) as described by the binary Langmuir equation. *European Journal of Soil Science* 47, 113-123.
- Rahmatullah; Torrent J. 2000. Phosphorus dynamics and uptake by wheat in a model calcite-ferrihydrite system. *Soil Science* 165, 803-812.
- Raven, K. P.; Hossner, L. R. 1994. Soil phosphorus desorption kinetics and its relationship with plant growth. *Soil Science Society of America Journal* 58, 416-423.
- Rijnaarts, H. H. M.; Bachmann, A.; Jumelet, J. C.; Zehnder, A. J. B. 1990. Effect of desorption and intraparticle mass transfer on the aerobic biomineralization of  $\alpha$ -hexachlorocyclohexane in a contaminated calcareous soil. *Environmental Science and Technology* 24, 1349-1354.
- Rouiller, J.; Burtin, G.; Souchier, B. 1972. La dispersion des sols dans l'analyse granulométrique, méthode utilisant les résines échangeuses d'ion. *Bulletin ENSAIA, Tome XIV, fas. II, Nancy*.
- Samadi A.; Gilkes, R. J. 1998. Forms of phosphorus in virgin and fertilised calcareous soils of Western Australia. *Australian Journal of Soil Research* 36, 585-601.
- Santelli, R. E.; Salgado Lopes, P. R.; Leme Santelli, R. C.; De Luca Rebello Wagener, A. 1995. Turbidimetric determination of sulphate in waters employing flow injection and lead sulphate formation, *Analytica Chimica Acta* 300, 149-153.
- Sanyal, S. K.; de Datta, S. K.; Chan, P. Y. 1993. Phosphate sorption-desorption behaviour of some acidic soils of south and southeast Asia. *Soil Science Society of America Journal* 57, 937-945.
- Saunders, W. M. H. 1964. Extraction of soil phosphate by anion exchange membrane. *New Zealand Journal of Agriculture Research* 7, 427-431.
- Schoenau, J. J.; Huang, W. Z. 1991. Anion exchange membrane, water, and sodium

- bicarbonate extraction as soil tests for phosphorus. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 22, 465–492.
- Schwertmann, U. 1964. Differenzierung der Eisenoxide des Bodens durch Extraktion mit Ammoniumoxalat-Lösung. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 105:194–202.
- Schwertmann, U.; Taylor, R. M. 1989. Iron oxides. En: Dixon, J. B.; Weed, S. B. (Eds.) *Minerals in Soil Environments*. ASA y SSSA, Madison, pp. 379–438.
- Serva, 2004. Ion Exchange Media: DOWEX®. Disponible en: <http://www.serva.de/products/knowledge/071118.s.html> (acceso 15/02/2005).
- Sharpley, A. N. 1983. Effect of soil properties on the kinetics of phosphorus desorption. *Soil Science Society of America Journal* 47, 462–467.
- Sharpley, A. N. 1996. Availability of residual phosphorus in manured soils. *Soil Science Society of America Journal* 60, 1459–1466.
- Sharpley, A.; Foy, B.; Withers, P. 2000. Practical and innovative measures for the control of agricultural phosphorus losses to water: An overview. *Journal of Environmental Quality* 29, 1-9.
- Sibbesen, E. 1977. A simple ion exchange resin procedure for extracting plant-available elements from soil. *Plant and Soil* 46, 665–669.
- Sibbesen, E. 1978. An investigation of the anion-exchange resin method for soil phosphate extraction. *Plant and Soil* 50, 305–321.
- Sibbesen, E. 1983. Phosphate soil tests and their suitability to assess the phosphate status of the soil. *Journal of Science of Food and Agriculture* 34, 1368-1372.
- Siddique, M. T.; Robinson, J. S. 2004. Differences in phosphorus retention and release in soils amended with animal manures and sewage sludge. *Soil Science Society of America Journal* 68, 1421-1428.
- Simard, R. R.; Tran, T. R.; Zizka, J. 1991. Strontium chloride-citric acid extraction evaluated as a soil-testing procedure for phosphorus. *Soil Science Society of America Journal* 55, 414–421.
- Skogley, E. O.; Dobermann, A. 1996. Synthetic ion-exchange resins: Soil and environmental studies. *Journal of Environmental Quality* 25, 13-24.
- Smeck, N. E. 1985. Phosphorus dynamics in soils and landscapes. *Geoderma* 36, 185-199.
- Soldano, B. A.; Boyd, G. E. 1953. Self-diffusion in strong-base anion exchangers. *Journal of American Chemical Society* 75, 6099–6104.
- Staunton S and Leprince F 1996 Effect of pH and some organic anions on the solubility of soil phosphate: implications for P bioavailability. *European Journal Soil Science* 47, 231–239.
- Strauss, R.; Brümmer, G. W.; Barrow, N. J. 1997. Effects of cristallinity of goethite: II. Rates of sorption and desorption of phosphate. *European Journal of Soil Science* 48, 101–114.
- Taylor, R. W.; Ellis, B. W. 1978. A mechanism of phosphate adsorption on soil and anion exchange resin surfaces. *Soil Science Society of America Journal* 42, 432–436.
- Toor, G. S.; Bahl, G. S. 1999. Kinetics of phosphate desorption from different soils as influenced by application of poultry manure and fertilizer phosphorus and its uptake by soybean. *Bioresource Technology* 69, 117–121.
- Tran, T. S., Simard, R. R.; Fardeau, J. C. 1992. A comparison of four resin extractions and <sup>32</sup>P isotopic exchange for the assessment of plant-available P. *Canadian Journal of Soil Science* 72, 281–294.

- Tran, T. S.; N'dayegamiye, A. 1995. Long-term effects of fertilizers and manure application on the forms and availability of soil phosphorus. *Canadian Journal of Soil Science* 75, 281–285.
- Trivedi, P.; Axe, L.. 2000. Modelling Cd and Zn sorption to hydrous metal oxides. *Environmental Science and Technology* 34, 2215–2223.
- Vadas, P. A.; Sims, J. T. 2002. Predicting phosphorus desorption from Mid-Atlantic Coastal Plain soils. *Soil Science Society of America Journal* 66, 623–631.
- Vaidyanathan, L. V.; Talibudeen, O. 1970. Rate processes in the desorption of phosphate from soils. *Journal of Soil Science* 21, 173–183.
- van der Zee, S. E. A. T. M.; Fokkink, L. G. J.; van Riemsdijk, W. H. 1987. A new technique for assessment of reversibly adsorbed phosphate. *Soil Science Society of America Journal* 51, 599–604.
- van der Zee, S. E. A. T. M.; van Riemsdijk, W. H. 1988. Model for long-term phosphate reaction kinetics in soil. *Journal Environmental Quality* 17, 35–41.
- van Raij, B. 1997. Bioavailable tests: alternative to standard extractions. En: *International Soil and Plant Analysis Symposium, Plenary Session Papers and Poster Session Abstracts*, Minneapolis, V(1), pp. 131–145.
- van Riemsdijk, W. H.; Boumans, L. J. M.; de Haan, F. A. M. 1984. Phosphate sorption by soils: I. A model for phosphate reaction with metal-oxides in soil. *Soil Science Society of America Journal* 48, 537–541.
- van Riemsdijk, W. H.; Lyklema, J. 1980a. The reaction of phosphate with aluminum hydroxide in relation with phosphate bonding in soils. *Colloids Surface* 1, 33–44.
- van Riemsdijk, W. H.; Lyklema, J. 1980b. Reaction of phosphate with gibbsite ( $\text{Al}(\text{OH})_3$ ) beyond the adsorption maximum. *Journal Colloid Interface Science* 76, 55–66.
- Willett, I. R.; Chartres, C. J.; Nguyen, T. T. 1988. Migration of phosphate into aggregated particles of ferrihydrite. *Journal of Soil Science* 39, 275–282.
- Wolt, J. D. 1994. *Soil Solution Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Wu, S. C.; Gschwend, P. M. 1986. Sorption kinetics of hydrophobic organic compounds to natural sediments and soils. *Environmental Science and Technology* 20, 717–725.
- Yang, J. E.; Skogley, E. O.; Schaff, B. E. 1991. Nutrient flux to mixed-bed ion exchange resin: Temperature effects. *Soil Science Society of America Journal* 55, 762–767.
- Zheng, Z.; Simard, R. R.; Lafond, J.; Parent, L. E. 2001. Changes in phosphorus fractions of a Humic Gleysol as influenced by cropping systems and nutrient sources. *Canadian Journal of Soil Science* 81, 175–183.
- Zheng, Z.; Simard, R. R.; Parent, L. E. 2003. Anion exchange and Mehlich-III phosphorus in humaquepts varying in clay content. *Soil Science Society of America Journal* 67, 1287–1295.
- Ziadi, N.; Simard, R. R.; Tran, T. S.; Allard, G. 2001. Soil-available phosphorus as evaluated by desorption techniques and chemical extractions. *Canadian Journal of Soil Science* 81, 167–194.

## CAPÍTULO IV

ANEJOS:

***CALIBRADO DE P DISPONIBLE Y  
ENSAYOS BIOLÓGICOS EN SUELOS  
VOLCÁNICOS CON ELEVADA  
CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE  
FOSFATO***

ANEJO 1:

***CAMBIOS EN LAS FRACCIONES DE P EN  
UN ANDISOL, INDUCIDOS POR LA  
INFECCIÓN DE MICORRIZAS  
ARBUSCULARES EN CULTIVOS DE  
TAGASASTE (*Chamaecytisus proliferus*  
ssp. *proliferus* var. *Palmensis*).***



## 1. Introducción

Los hongos micorrizógenos arbusculares forman parte de seres simbióticos obligados a una perenne asociación con las raíces de una planta vascular a la que colonizan y a los fenómenos ecológicos que ocurren en el suelo debido al micelio externo que se forma al hacer de puente entre las raíces y el suelo circundante (Toro et al., 1997). Estos hongos son motivo de atención ya que se consideran parte fundamental de los ecosistemas agrícolas pues originan un incremento espectacular de la superficie de las raíces en las plantas infectadas (Smith y Read, 1997), provocando un aumento en el contenido de macro y micronutrientes en las plantas micorrizadas (Clark y Zeto, 1996) que, por razones que aún se desconocen, ocurre incluso a niveles bajos de fósforo y pH (Lesica y Antibus, 1990; León et al., 2004).

Uno de los efectos más dramáticos de la infección con el hongo micorrizógeno sobre la planta hospedadora es el incremento de la toma de P (Koide, 1991) debido principalmente a la capacidad de la micorriza para absorber P del suelo y transferirlo a las raíces del hospedador (Asimi et al., 1980). De todas maneras y aunque existen muchos trabajos que han intentado explicar el mecanismo a través del cual la micorriza arbuscular (AM) interviene en la nutrición de P por la planta, la pregunta relacionada a cerca de las formas de P que pueden tomar continúa sin contestar. Sin embargo, existen muchas evidencias circunstanciales que sugieren que los hongos micorrizógenos

arbusculares o la microflora que los acompaña, podrían ayudar a mejorar la disponibilidad del P del suelo mediante la solubilización de las formas inorgánicas de fósforo o mediante la hidrólisis de sus compuestos orgánicos (Hetrick, 1989).

Básicamente, se han empleado tres aproximaciones a través de las cuales se han tratado de identificar las fuentes de P en el suelo que son accesibles a las plantas micorrizadas y no micorrizadas (Bolan et al., 1984): (i) añadiendo al suelo P radioactivo ( $^{32}\text{P}$ ) con el fin de comparar las actividades específicas de crecimiento de las plantas control y micorrizadas sobre este sustrato marcado después de un corto tiempo de incubación (ii) comparando la toma de P por las plantas a partir de fuentes de P con diferentes solubilidades (iii) experimentos de fraccionamiento del P del suelo.

La conclusión más general y más ampliamente aceptada, sustentada sobre la base de estas aproximaciones, es la que nos indica que las plantas micorrizadas y control exploran los mismos compartimentos de P (formas o fracciones). Los resultados de experimentos con  $^{32}\text{P}$  han sido los que más apoyan esta afirmación. Sin embargo, algunos autores opinan que la interpretación de los resultados obtenidos con trazadores radiactivos es compleja y que puede llevar a falsas conclusiones (Bolan et al., 1984) lo que nos lleva a pensar que la idea anterior debe de ser tomada con ciertas reservas. El propósito de este estudio ha sido el de calibrar la sensibilidad del procedimiento del fraccionamiento de P desarrollado en esta

tesis doctoral en el capítulo dedicado al P Olsen para probar su utilidad en la investigación de las diferentes fracciones de P que las plantas AM pueden usar.

## 2. Material y métodos

Se siguió un completo diseño experimental factorial 3x5 con diez réplicas para estudiar la curva de respuesta del *Chamaecytisus proliferus* ssp. *proliferus* var. *palmensis* (tagasaste) a cinco niveles de P y a dos micorrizas arbusculares, *Glomus mosseae* YV-135 (LMSS, aislada en Rothampsted, UK) y *Glomus intraradices* (LINR, aislada en el NW de España, de un Cambisols húmico). También se incluyó en el estudio un control no micorrizado (CTRL).

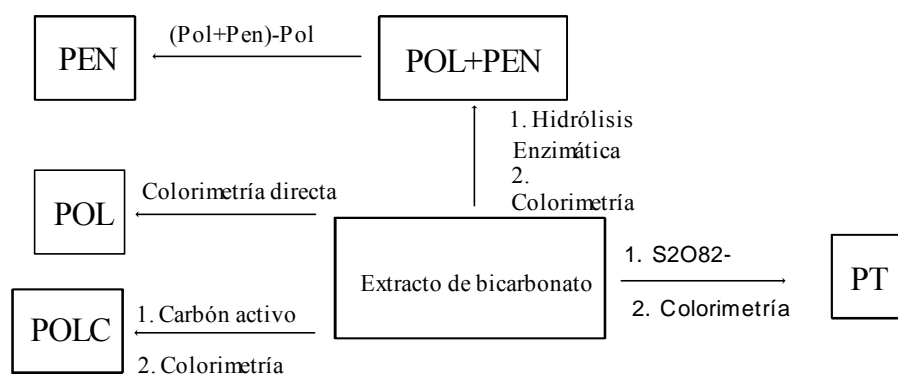
El tagasaste es un endemismo leñoso de la familia de las fabáceas (*Fabaceae*) de las Islas Canarias siendo la planta forrajera más importante de la flora local. Actualmente esta especie se cultiva extensamente no sólo en Canarias, también en Nueva Zelanda y Australia tiene un gran valor como forrajera y su utilidad se extiende hasta en programas de conservación de suelos (Francisco-Ortega et al., 1991). Según la bibliografía consultada, los primeros trabajos sobre el estado de micorrización de esta especie fueron realizados por Vinuesa et al. (1996; 1998).

En las Islas Canarias, alrededor del 50% de los cultivos de Tagasaste se desarrollan sobre suelos de naturaleza volcánica, fundamentalmente Andosoles. Para este estudio, hemos seleccionado un Andosol

representativo (La Esperanza A, Typic Hapludands) para realizar el experimento y que presenta un bajo contenido en P Olsen (3,6 mg P kg<sup>-1</sup> suelo). Se tomaron los primeros 25 cm del horizonte A que presentaba un alto contenido en materia orgánica (aproximadamente 20%). Después de esterilizarlo con vapor, el suelo se incubó durante un mes en bolsas plásticas, removiéndolo diariamente, con 0, 25, 50, 100 y 160 mg P kg<sup>-1</sup> suelo (en forma de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>); estos tratamientos se señalan como P0, P1, P2, P3, P4 respectivamente.

Las semillas (colección del ICIA de Valle Guerra, Tenerife), después de escarificarlas, se germinaron sobre un lecho de cenizas volcánicas esterilizadas con vapor y al que se le extendió una fina capa de la bacteria *Bradyrhizobium* (BTA-1), obtenida a partir de los nódulos de tagasaste (Vinuesa et al., 1998). Dos semanas más tarde, los plantones se seleccionaron y fueron trasplantados a macetas de 1,4 l que contenían el suelo incubado. En ese momento, cada unidad experimental recibió el inóculo saturado con AMF (Haas y Krikun, 1985), una suspensión de BTA-1 y un extracto microbiano de suelo con el inóculo micorrizado.

Las plantas se distribuyeron en bloques al azar y bajo condiciones controladas en invernadero de luz natural, temperatura y humedad en el ICIA. El desarrollo del cultivo se prolongó durante 4,5 meses en los que el suelo se regó con agua destilada. Cada semana le fue aplicada una disolución nutritiva libre de N y P, aunque durante el



**Figura 1.** Esquema procedimental del fraccionamiento del P. POL: P en el extracto de  $\text{HCO}_3^-$  determinado por colorimetría directa. Este incluye, en principio, tanto compuestos inorgánicos como orgánicos "lábil" del P; POLC: contenido en P del extracto de  $\text{HCO}_3^-$  después de su tratamiento con carbón activo para remover la mayor parte del P orgánico; PEN: P hidrolizable por la enzima fosfatasa, potencial fuente de P biodisponible; PT: contenido de P total en los extractos de  $\text{HCO}_3^-$  medido colorimétricamente después de digestión (autoclave) con  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5N.

primer mes esta disolución contenía, además, 2 mM de  $\text{KNO}_3$ , como fuente de N.

Inmediatamente después de arrancar las plantas de las macetas, el sustrato fue secado y tamizado por 2 mm. Los extractos de bicarbonato se obtuvieron siguiendo el método descrito por Olsen et al. (1954), libre de carbón activo. El fraccionamiento del extracto de bicarbonato se realizó de acuerdo con el procedimiento propuesto en el capítulo III.1 que se resume en la Fig. 1..

Para determinar el P hidrolizable por la enzima fosfatasa (Pen), se tomaron 5 ml del extracto al que se le añadieron 2 ml de fosfatasa ácida al 0,1% y tamponada a pH 6 con tampón universal modificado, incubándose la suspensión durante 90 min a 37°C. La actividad de la fosfatasa ácida de los extractos de bicarbonato se midió como la cantidad (mg) de p-nitrofenol (PNP) liberado

del complejo PNP-fosfato por ml de extractante y una hora de incubación.

También se obtuvieron para cada unidad experimental, extractos acuosos con una relación w:s de 3:1. El P determinado en estos extractos (Pw3) son indicativos de una medida del parámetro intensidad, es decir, nos proporcionaría un valor de P inmediatamente biodisponible presente en la disolución del suelo.

El análisis estadístico se realizó en seis réplicas seleccionadas por tratamiento con el fin de analizar paramétricamente el crecimiento de las plantas.

### 3. Resultados y discusión

De los resultados obtenidos se desprende que ha debido existir interacciones

**Tabla 1.** Valores de P extraíble con bicarbonato POL ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) antes y después del cultivo (medias $\pm$ ESM)

Nivel de P	Antes	Después	
		CTRL.	LINR
P0	3,6 $\pm$ 0,3	12,0 $\pm$ 0,4	12,3 $\pm$ 0,5
P2	9,9 $\pm$ 0,5	16,1 $\pm$ 0,4	17,1 $\pm$ 0,6
P3	17,5 $\pm$ 0,6	25,5 $\pm$ 0,6	24,2 $\pm$ 0,6

estadísticamente significativas entre la fertilización fosfatada y los tratamientos del suelo con micorrizas arbusculares. Después de 60 días de cultivo, la mayor dependencia relativa hacia la micorrización correspondió a las plantas inoculadas con LINR, a un nivel P2 de fertilización. LINR se mostró como el hongo más eficiente para todos los niveles de P. Los porcentajes de longitud de raíz colonizada (RMD) por LINR, medida como 100 raíces/puntos de intersección en la rejilla para cada réplica (Haas y Krikun, 1985) (92,6 $\pm$ 7,3 para P0 y 86,8 $\pm$ 4,8 para P2,  $\pm$  desviación estándar), fue también significativamente más elevada que para LMSS en todos los niveles de P. Al final del experimento el mayor RMD le correspondió a las plantas inoculadas con LINR a nivel de P0 (RMD<sup>P0</sup>=67%, RMD<sup>P2</sup>=47%), disminuyendo gradualmente cuando se incrementa la dosis de P añadido.

El fraccionamiento de los extractos de bicarbonato se realizó solo en los suelos procedentes de las macetas con las plantas control (CTRL) y las micorrizadas con LINR para los niveles críticos P0 y P2. Como se observa en la Tabla 1, existió un incremento importante en los valores del

POL al final del experimento con respecto a los valores iniciales (antes de plantar y después del cultivo). No existieron diferencias estadísticamente significativas en los valores de POL para los tratamientos micorrizados y control a cualquier nivel de P.

Se encontró, por otra parte, una tendencia paralela entre POLC y Pw3 para ambos niveles de P (Tabla 2). Se observó una disminución de ambos parámetros en el nivel P0 para el tratamiento con micorrizas con respecto a los controles. Este hecho se puede atribuir a las bajas concentraciones de P inorgánico presente en ambos extractos lo cual hace suponer que para estos niveles, la exploración de las raíces simbióticas ha sido mucho más intensa. Cualquiera de los mecanismos clásicos que explican el incremento de la toma del P lábil por las plantas micorrizadas podría dar cuenta de esta observación, la cual, en principio, no es sorprendente (Hetrick, 1989; Bolan, 1991). Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por Sainz y Arines (1988a) que detectaron disminuciones significativas en diferentes

**Tabla 2.** Valores de POLC, PW3 y PEN (mg kg<sup>-1</sup>) para los niveles P0 y P2.

Nivel de P	Tratamiento	POLC	PW3	PEN
P0	CRTL	8,2 a	0,58 a	1,7 a
	LINR	6,7 b	0,32 b	0,4 a
P2	CRTL	5,7 a	0,43 a	21,1 a
	LINR	9,8 b	0,54 b	16,5 b

En cada columna, los valores medios seguidos por una misma letra no son significativamente diferentes para  $P \leq 0,001$ . Para abreviaturas ver Fig. 1.

fracciones de P inorgánico en tratamientos con inóculos de AMF respecto al control. Estos experimentos se realizaron con plantas de trébol cultivadas en macetas con un cambisol húmico, suelo que fue sometido a un fraccionamiento clásico para el P. Por otro lado, se detectó la tendencia inversa en el nivel P2 donde las macetas con plantas micorrizadas presentaban, con un nivel de significación estadística elevada, mayores valores de POLC y Pw3 que las macetas control (Tabla 2).

Si consideramos estos últimos datos, conjuntamente con la fracción hidrolizable por la enzima fosfatasa (PEN), cuyos valores fueron significativamente mucho más bajos en las plantas micorrizadas que en los controles en el nivel P2 (Tabla 2), entonces podríamos inducir que las plantas infectadas con micorrizas podrían explorar la fracción orgánica del P más intensamente que las plantas no micorrizadas. Estos resultados estarían en concordancia con los encontrados con Joner y Jakobsen (1994) quienes dan cuenta de un incremento, dependiente de la AMF de partida, de la toma de <sup>32</sup>P de la

materia orgánica marcada con P respecto a las muestras control, durante su mineralización. Por otra parte, Sainz y Arines (1988b) no pudieron detectar diferencias estadísticamente significativas en el compartimiento de P orgánico en las macetas micorrizadas y control siguiendo un procedimiento de fraccionamiento clásico. Es interesante resaltar el hecho de que el incremento de la exploración del P orgánico ocurrió solo en los niveles P2 de las plantas micorrizadas por LINR que corresponde al nivel de P óptimo para el desarrollo del fenotipo simbiótico bajo nuestras condiciones experimentales.

Este P podría ser liberado por la mayor eficiencia en la mineralización del P por parte de la microbiota micorrizosférica, o por sus hifas (Bolan, 1991). La actividad fosfatásica de los extractos de bicarbonato fue mucho mayor en las unidades experimentales micorrizadas que en los controles, pero esta tendencia no fue estadísticamente significativa tanto en P0 como en P2. Las raíces micorrizadas podrían tomar de forma más eficiente este P mineralizado

recientemente evitando que los materiales amorfos de las superficies reactivas de estos suelos fijen rápidamente el P liberado. La aparente mayor actividad mineralizadora asociada a las macetas micorrizadas podría explicar los mayores valores de POLC y Pw3 en este tratamiento con respecto a los controles.

El compartimiento de P orgánico extraíble con bicarbonato correspondió, aproximadamente, con el 50% del P total extraído (ver Capítulo III.1). Este dato es similar a los de otros suelos ándicos de Canarias estudiados en esta memoria de tesis doctoral; sin embargo, los altos porcentajes de P orgánico degradable por la enzima fosfatasa indican que esta fracción es una fuente directa muy importante de P biodisponible en este tipo de suelos. Esto muestra cuán importante son los programas de inoculación, no solo para seleccionar aquellos inóculos capaces de hacer más accesible a las plantas las múltiples fuentes de P presentes en el suelo, sino también para que la disolución del suelo alcance niveles adecuados de P para una óptima función simbiótica de la cual va a depender el aislamiento del hongo (Habte y Fox, 1993; Jøner y Jakobsen, 1994).

Para ayudar a explotar e incrementar la sensibilidad de este procedimiento de fraccionamiento, proponemos su uso para analizar pequeños volúmenes de suelo de cámaras de hifas de sistemas de cultivo compartimentalizados. El crecimiento de plantas micotróficas bajo estas condiciones de cultivo, aportando diferentes dosis y

formas químicas de P (incluyendo un óptimo nivel de P para el funcionamiento de la micorriza) debería arrojar más luz a la todavía oscura y controversial cuestión de eficacia de las plantas colonizadas por AM para explorar las formas de P presentes en el suelo, máxime en suelos con elevada retención de fosfato como los Andosoles.

#### 4. Referencias

- Asimi, S.; Gianinazzi-Pearson, V.; Gianinazzi, S. 1980. Influence of increasing soil phosphorus levels on interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizae and Rhizobium in soybeans. *Canadian Journal of Botany* 58, 2200-2205.
- Bolan, N. S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant & Soil* 134, 189-207.
- Bolan, N. S.; Robson, A. D.; Barrow, J.; Aylmore, L. A. G. 1984. Specific activity in mycorrhizal and non-mycorrhizal plants in relation to the availability of phosphorus to plant. *Soil Biology & Biochemistry* 16, 229-304.
- Clark, R. B.; Zeto, S. K. 1996. Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 1495-1503.
- Francisco-Ortega, J.; Fernández-Galván, M.; Santos-Guerra, A. 1991. A literature survey (1696-1991) on the fodder shrubs tagasaste and escobon (*Chamaecytisus proliferus* Link sensu lato) (Fabaceae:Genisteae). *New Zealand Journal of Agriculture Research* 34, 471-488.
- Haas, J. H.; Krikun, J. 1985. Efficacy of endomycorrhizal-fungus isolates and inoculum

- quantities required for growth response. *New Phytologists* 100, 613-621.
- Habte, M.; Fox, R. L. 1993. Effectiveness of VAM fungi in nonsterile soils before and after optimization of P in soil solution. *Plant & Soil* 151, 219-226.
- Hetrick, B. A. D. 1989. Acquisition of phosphorus by VA mycorrhizal fungi and the growth response of their host plant. En: Boddy, L.; Marchant, R.; Reid, R. J. (Eds.), *Nitrogen, Phosphorus and Sulphur Utilization in Fungi*, Cambridge University press, New York, pp. 205-226.
- Joner, E. J.; Jakobsen, I. 1994. Contribution of two arbuscular mycorrhizal fungi to P uptake by cucumber (*Cucumis sativus* L.) from  $^{32}\text{P}$ -labelled organic matter during mineralization in soil. *Plant & Soil* 163, 203-209.
- Koide, R.T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytologist* 117, 365-386.
- León, G.; Carreón, Y.; Martínez, M. 2004. Efectividad e infectividad de la micorriza arbuscular en plantas de Chile (*Capsicum annum* L. var. *Tampiqueña*), bajo condiciones de invernadero. *Biológicas (México)* 6, 9-17.
- Lesica, P.; Antibus, R. 1990. The occurrence of mycorrhizae in vascular epiphytes of two Costa Rican Rain Forest. *Biotropica* 22, 250-258.
- Olsen, S. R.; Cole, C. V.; Watanabe, F. S. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Department of Agriculture Circular 939. Washington.
- Sainz, M. J.; Arines, J. 1988a. P absorbed from soil by mycorrhizal red clover plants as affected by soluble P fertilization. *Soil Biology & Biochemistry* 20, 61-67.
- Sainz, M. J.; Arines, J. 1988b. Effect of indigenous and introduced vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and phosphorus uptake of *Trifolium pratense* and on inorganic phosphorus fractions in a cambisol. *Biology & Fertility of Soils* 6, 55-60.
- Smith, S. E.; Read, D. J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. 2nd. Ed. Academic Press, Inc. USA.
- Toro, M.; Azcón, R.; Barea, J. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhizae development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability ( $^{32}\text{P}$ ) and nutrient cycling. *Applied and Environmental Microbiology*, 4408-4412.
- Vinuesa, P.; Rademaker, J. L. W.; de Bruijn, F. J.; Werner, D. 1998. Genotypic characterization of *Bradyrhizobium* strains nodulating endemic woody legumes of the Canary Islands by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of genes encoding 16S rRNA (16S rDNA) and 16S-23S rDNA intergenic spacers, repetitive extragenic palindromic PCR genomic fingerprinting, and partial 16S rDNA sequencing. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 2096-2104.
- Vinuesa-Fleischmann, P.; Negrín, M. A.; Jaizme-Vega, M. C.; Hernández-Moreno, J. M. 1996. Arbuscular mycorrhizal tagasaste plants mediated transformations on the P pools in an Andisol. En: Azcón-Aguila, C.; Barea, J. M. (Eds.), *Proceedings of the 4<sup>th</sup> European Symposium on Mycorrhizas*, Office for Official Publications of the European Communities, Bruselas, pp. 599-602.

ANEJO 2:

***CALIBRADO DE P DISPONIBLE EN  
SUELOS CON ALTA CAPACIDAD DE  
RETENCIÓN POR LOS MÉTODOS DE  
LA MEMBRANA DE INTERCAMBIO  
IÓNICO Y OLSEN EN MAÍZ (*Zea mays*  
L.).***



## 1. Introducción

A diferencia de los suelos de carga permanente cuyo comportamiento viene dado por los filosilicatos y minerales de arcilla presentes en su estructura, los suelos de carga variable se caracterizan por tener una capacidad de cambio catiónico que depende esencialmente de su pH y del nivel salino que le rodea, de su capacidad de intercambio aniónico (específica y no específica), a su microagregación estructural muy desarrollada y las propiedades biológicas particulares que presentan.

Las características que identifican a estos suelos frente al resto hacen necesaria una metodología *ad hoc* en lo referente a su uso, manejo y conservación. Mientras que en países típicamente volcánicos como Japón y Nueva Zelanda se ha desarrollado desde hace mucho tiempo una metodología específica para este tipo de suelos, en las Islas Canarias se siguen empleando los métodos oficiales clásicos de análisis de suelos que conllevan muchos problemas de interpretación cuando los modelos que los sustentan son aplicados a nuestros suelos.

La elevada capacidad de retención de fosfato que caracteriza a los suelos de carga variable hace posible que en zonas intertropicales, por ejemplo, se necesiten más de 1000 kg P Ha<sup>-1</sup> para alcanzar una producción satisfactoria (Parfitt, 1989). En el caso de los Andosoles y otros suelos con características ándicas de Canarias este parámetro se constituye en un factor

determinante para el desarrollo de políticas sostenibles en el desarrollo agrícola de estos suelos.

Por otra parte, desde hace mucho tiempo se considera que las calibraciones habituales que relacionan el P extraíble con los rendimientos esperados y las necesidades de fertilización no son adecuadas para los suelos de carga variable (Fox, 1980). En la mayoría de los ensayos, los datos de suministro de P parecen ser los óptimos, atendiendo a la definición clásica de fertilización adecuada de un cultivo en función del agente extractante empleado (pe. ver Pierzynskii, 1991), cuando en realidad existe una marcada deficiencia. Esta aparente anomalía puede explicarse en el caso de los Andosoles, esencialmente por los siguientes aspectos:

- a) La citada capacidad de retención de fosfato.
- b) La cantidad de P retenido puede ser considerable (en términos absolutos), pero pequeña en relación con la capacidad de retención del suelo. La baja saturación de P se traduciría, entonces, en una baja solubilidad del macronutriente.
- c) La absorción de P por las plantas está estrechamente relacionada con su solubilidad.

De todas maneras, tal y como ha indicado Hernández-Pérez (1991), estos aspectos que caracterizan a la dinámica del P en los suelos de carga variable no

implican que necesariamente el elemento se encuentre inmovilizado, por lo que es importante, para el estudio de las necesidades de fertilización en este tipo de suelos, el proceso de reversibilidad del fosfato retenido en función de los diferentes componentes del suelo y, en especial, por los compuestos activos de Al y Fe, tanto de naturaleza inorgánica como organomineral.

### *1.1. Métodos de calibrado del P disponible*

El calibrado del suelo se ha considerado como una herramienta útil en el diagnóstico de la asimilabilidad-disponibilidad del fosfato por las plantas. Los métodos de determinación del P disponible propuestos por Bray (Bray y Kurtz, 1945), Mehlich (Mehlich, 1984) y Olsen (Olsen et al., 1954) han sido, con pocas o ninguna modificación, los más empleados en los métodos oficiales de análisis de suelos. Las reacciones químicas que se establecen entre los constituyentes del suelo y los agentes químicos encargados de extraer el P pueden explicar la diferencia en la adecuación de los métodos rutinarios de extracción en función de la tipología de los suelos. Así, el P Bray se ha considerado eficaz para los suelos neutros o ácidos pero parece subestimar el P disponible para las plantas en algunos suelos con elevados valores de pH o afectados por procesos de carbonatación (Sen Tran et al., 1990; Mallarino, 1997). Este resultado se ha explicado a través de una neutralización

parcial de la disolución ácida extractante por el  $\text{CaCO}_3$  y/o precipitación del fluoruro por el Ca disuelto (Smith et al., 1957; Fixen y Grove, 1990). Mallarino (2003) comparó los valores de P determinados tanto por el método colorimétrico clásico como por espectrofotometría de plasma inducido (ICP) en suelos de Iowa (EEUU) que englobaban un amplio rango de pH sobre los que se realizó un ensayo biológico con maíz. Aunque los valores de P Mehlich determinados por el método del ICP fueron superiores a los obtenidos por el método colorimétrico, ambos fueron igualmente efectivos en su capacidad para predecir la respuesta del cultivo a los tratamientos de P en todos los suelos, independientemente de su pH y niveles de C orgánico. Otros autores han observado, además, que el método del ICP mide más P en extractos de suelo o agua que la determinación colorimétrica (Hylander et al., 1995; Masson et al., 2001; Nathan et al., 2002). El método Olsen y tanto las versiones colorimétricas como de ICP del método Mehlich constituyen los métodos recomendados en estos suelos, aunque sólo el método Bray sólo se recomienda para suelos con  $\text{pH} < 7,3$  (Sawyer et al., 2002).

Los métodos de adsorción química, basados en reacciones de sorción-desorción de P, se han propuesto como alternativa a la disolución de P del suelo con agentes químicos. Uno de ellos es el método de la resina de intercambio iónico. Las investigaciones realizadas con ellas para la determinación del P disponible (Fernandes

y Coutinho, 1997; Nuernberg et al., 1998; Fernandes et al., 1999; Mallarino y Atia, 2005) han mostrado que las interrelaciones entre métodos o entre el P extraído y los índices de asimilabilidad (disponibilidad) del P por la planta se ven afectados por las propiedades del suelo (pH del suelo, tamaño de partícula, mineralogía y materia orgánica), no siendo posible llegar a conclusiones generales cuando se contrastan suelos de diferentes regiones. Rubaek y Sibbesen (1995) encuentran rangos de valores similares para el método Olsen y el método de la resina en suelos sometidos a diferentes tratamientos de P y a lo largo de diferentes períodos de tiempo, aunque la extracción con resina tiende a dar valores un poco más elevados. Atia y Mallarino (2002) encontraron correlaciones lineales cerradas entre el P del suelo determinado por los métodos de Olsen, Mehlich y membranas de intercambio aniónico (MIA) en suelos calcáreos y no calcáreos con diferentes historiales de fertilización o de aplicación de residuos. Ensayos biológicos en los que se determinaron cantidades de P tomadas por plantas de maíz y soja [*Glycine max* (L.) Merr.] (rendimiento del grano no determinado) mostraron que los métodos anteriores presentaban correlaciones similares entre ellos y con la toma de P por las plantas, aunque existieron diferencias estadísticas cuando se compararon datos de suelos de distintas procedencias.

En Canarias el método de P lábil o disponible del que se posee una mayor

información en los laboratorios de nuestra región es el de Olsen, y de cuyo estudio hemos dedicado un capítulo en esta tesis doctoral, aunque en los últimos años se han introducido nuevos métodos como el método del absorbente o sumidero infinito de tiras de papel impregnadas con Fe (Hernández-Pérez, 1991) o el método de las membranas de intercambio iónico (Martínez-Costa, 1996).

El objetivo de este estudio ha consistido en la calibración del método Olsen y MIA en dos suelos de carga variable y elevada capacidad de retención para el fosfato con la respuesta del maíz a su fertilización fosfórica hasta 1500 mg P kg<sup>-1</sup> suelo y la comparación entre ellos. Partimos para ello de los ensayos biológicos realizados por Pérez Suárez (1995) y Martínez Costa (1996) que constituyeron los primeros informes de calibrado de P en suelos de carga variable de Canarias.

## 2. Material y métodos

Los suelos naturales y cultivados de Canarias utilizados en este estudio han sido descritos en los capítulos precedentes. Los suelos seleccionados para el ensayo biológico (Martínez Costa, 1996) fueron los denominados La Esperanza (Andosol) y Karting (fersialítico) de características físicas y químicas algo diferentes que coinciden en su elevada capacidad de retención de fosfato.

El ensayo consistió en el cultivo de plantas de maíz (*Zea mays* L.) sobre los suelos citados anteriormente y a los que se les aplicó dosis crecientes de P: 0 (testigo), 250, 500, 1000 y 1500 mg de P kg<sup>-1</sup> de suelo. El ensayo se realizó siguiendo las directrices indicadas por Martínez Costa (1996) en un invernadero tipo holandés de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agrícola de la Universidad de La Laguna.

Las determinaciones analíticas del P de los suelos correspondieron a las fracciones reactivas del método Olsen (POL) y soluble en agua (relación w:s 75:1, PR), mientras que para el método de la MIA (membrana en forma Cl) corresponde a la de los eluatos de cloruro (Cl-P) (véase la metodología específica para cada uno de los métodos de extracción en los capítulos III.1, III.2 y III.4 respectivamente). Una vez realizado el ensayo biológico, se evaluó el P en los suelos por los métodos de Olsen y MIA como se indicó anteriormente.

El P en la planta (parte aérea –hoja y pseudotallo- y raíz, material seco y molido en cada tratamiento y repetición) se determinó por colorimetría, usando el método del vanadato-molibdato (Kuo, 1996), en una disolución procedente de la digestión en medio clorhídrico 6M del material vegetal calcinado (Chapman y Pratt, 1961).

### **3. Resultados y discusión: *Evaluación del P en los suelos al final del ensayo biológico***

#### **3.1. Fósforo Olsen**

El contenido de POL en las muestras de suelos originales fue de 26±1 mg P kg<sup>-1</sup> en el caso de La Esperanza y de 31±2 mg P kg<sup>-1</sup> para la muestra Karting, mientras que el valor de PR fue de 2,8±0,1 mg P kg<sup>-1</sup> para el primer suelo y de 9,9±0,5 mg P kg<sup>-1</sup> para el segundo.

Los valores medios de POL en los suelos una vez finalizado el cultivo oscilaron entre los 11,6 mg P kg<sup>-1</sup> en el caso de la muestra testigo y los 253 mg P kg<sup>-1</sup> en la dosis superior de P (1500 mg P kg<sup>-1</sup>) para el suelo Karting, mientras que en La Esperanza estos los valores oscilaron entre los 3,2 mg P kg<sup>-1</sup> y los 144 mg P kg<sup>-1</sup> respectivamente (Tabla 1).

En ambos suelos, las cantidades de P extraídas con el método Olsen fueron pequeñas en comparación con el tratamiento aplicado a los suelos, de forma llamativa en el caso de La Esperanza, lo que nos indica que los resultados estarían directamente asociados a la elevada fijación de fosfato de los suelos; este hecho podría verse potenciado por las extremas condiciones de temperatura y humedad a las que fueron sometidas las muestras en el invernadero (Wild, 1992), además de la pérdida de este elemento por las cantidades importadas por la propia planta. Estos mismos factores parecen que fueron los causantes de que el valor del POL disminuyera notablemente en comparación con el valor obtenido para cada suelo al inicio de la experiencia.

**Tabla 1.** Valores medios de POL y Cl-P en función del tratamiento aplicado a los suelos ( $\pm$ desviación estándar).

SUELO	TRATAMIENTO (mg kg <sup>-1</sup> )	POL (mg kg <sup>-1</sup> )	Cl-P (mg kg <sup>-1</sup> )
Esperanza	0	3,24 $\pm$ 0,45	25,2 $\pm$ 4,3
	250	30,7 $\pm$ 8,9	69,9 $\pm$ 8,8
	500	51,1 $\pm$ 11,9	117 $\pm$ 9
	1000	92,0 $\pm$ 15,9	232 $\pm$ 11
	1500	144 $\pm$ 28	440 $\pm$ 14
Karting	0	11,6 $\pm$ 3,2	7,84 $\pm$ 1,02
	250	57,3 $\pm$ 11,2	50,7 $\pm$ 3,8
	500	119 $\pm$ 12	112 $\pm$ 6
	1000	213 $\pm$ 17	219 $\pm$ 8
	1500	253 $\pm$ 32	453 $\pm$ 9

Señalar que los valores de POL en la muestra Karting fueron superiores a los que presentó La Esperanza. Esto puede ser debido a la mayor capacidad de adsorción para el fosfato que presenta las superficies activas de este último suelo. De todas maneras, Pérez Suárez (1995) en su ensayo biológico a tasas de fertilización de los suelos más bajas que las empleadas en nuestro caso (hasta 200 mg P kg<sup>-1</sup>), puso de manifiesto que los Andosoles como La Esperanza tienden a presentar una baja respuesta a la extracción con bicarbonato.

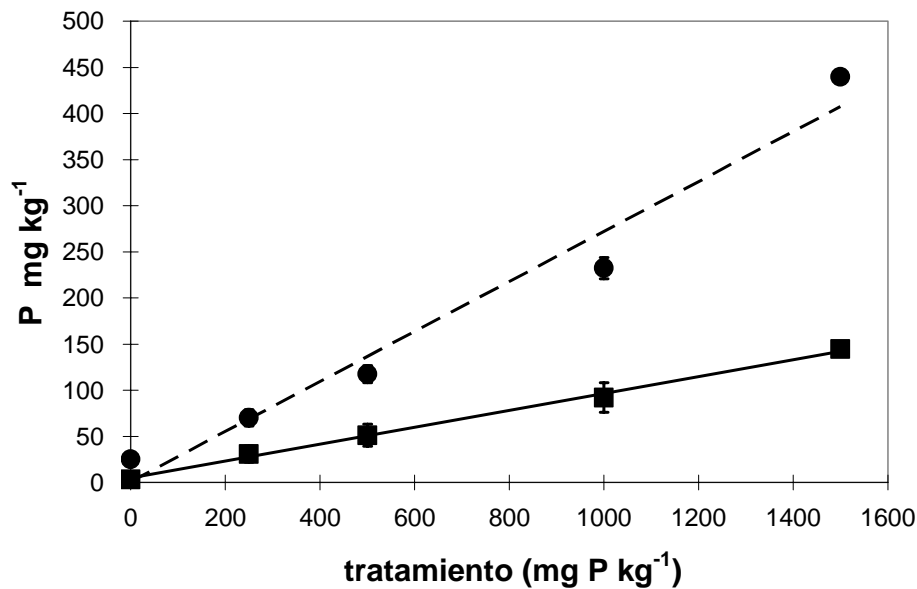
### 3.2. Fósforo extraído por MIA

Los valores de P extraídos por la MIA oscilaron entre los 7,8 mg P kg<sup>-1</sup> y los 453 mg P kg<sup>-1</sup> para el suelo Karting y entre los 25 mg P kg<sup>-1</sup> y los 440 mg P kg<sup>-1</sup> en el suelo La Esperanza. Estos valores son igualmente

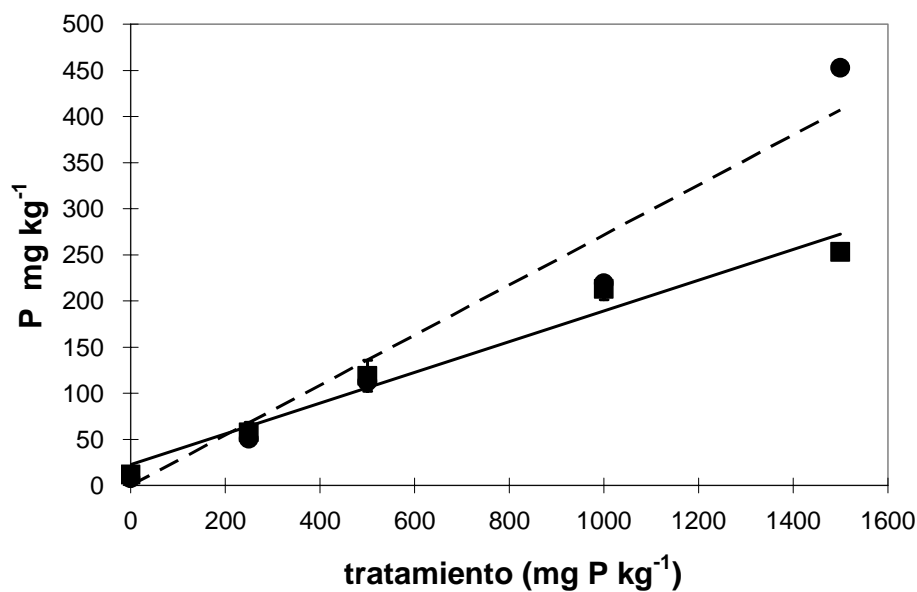
bajos comparados con la cantidad de P aportada en los tratamientos (Tabla 1).

Si comparamos los valores de POL con los de Cl-P podemos observar como para el suelo Karting las diferencias no fueron importantes, con excepción del tratamiento 1500 mg P kg<sup>-1</sup> en el que el valor de Cl-P fue notablemente superior al POL ( $p \leq 0,05$ ) mientras que en la muestra testigo ocurrió lo contrario. Sin embargo, en la muestra La Esperanza los valores de POL son, en cualquier caso, muy bajos en relación con los valores de Cl-P para todos los tratamientos. Este hecho podría ser imputado a la aplicación inicial de sulfato, realizada para intentar compensar en los tratamientos más bajos el exceso de potasio en las dosis más altas, que haya podido producir una sobreestimación del contenido

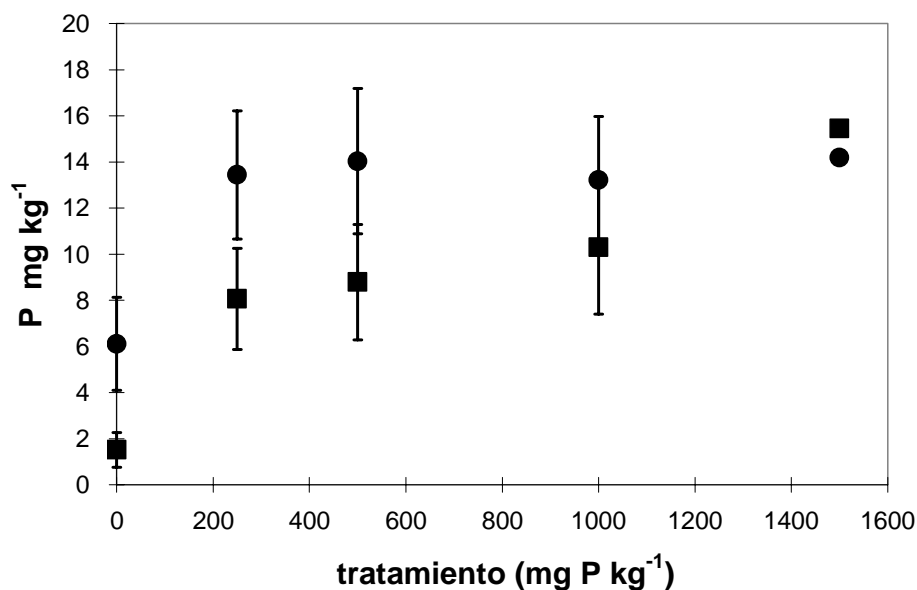
**Figura 1.** Rectas de regresión del POL (■) y Cl-P (●) frente a los tratamientos con P en la muestra Esperanza



**Figura 2.** Rectas de regresión del POL (■) y Cl-P (●) frente a los tratamientos con P en la muestra Karting



**Figura 3.** Absorción de P por las plantas frente a los tratamientos con P en las muestras Karting (●) y Esperanza (■)



del P disponible por el método MIA en este suelo; este hecho tendría consecuencias importantes sobre las recomendaciones de fertilización de suelos en el caso de aplicar este método en zonas donde las enmiendas con yeso sean frecuentes.

Por último, se destaca el hecho de que la dispersión de los resultados obtenidos con el método MIA fue menor que para el método Olsen tal y como se infiere al comparar las desviaciones estándar de ambos métodos (Tabla 1).

### 3.3. Calibrado del P por ambos métodos

Como se observa en las Fig. 1 y 2, el P disponible determinado tanto por el método Olsen como por el de la MIA presentan una buena correlación respecto a los tratamientos aplicados en ambos suelos (Tabla 2). Sin embargo, en el caso de la MIA, el punto correspondiente a la dosis máxima (1500 mg P

kg<sup>-1</sup>) adquiere un valor bastante superior al resto que hace que la función de regresión tienda a la exponencialidad. En el caso del método Olsen esta tendencia no se produce lo que parece indicar que este método queda saturado a altas concentraciones de P en el suelo.

Excluyendo de las rectas de regresión el punto de comportamiento anómalo del suelo Karting observamos que cuando comparamos las cantidades de P extraídas por ambos métodos, estas tienden a ser similares para cada tratamiento, manteniendo entre ellos una relación prácticamente igual a la 1:1.

Teniendo en cuenta lo anterior y atendiendo a los parámetros de crecimiento, en especial, a la producción de materia seca y a la absorción de P por las plantas (Fig. 3), así como a la buena correlación existente entre el rendimiento del cultivo con los métodos de extracción de P empleados, se consideró como

adecuada la aplicación de una dosis de P para un crecimiento óptimo de las plantas que oscilase entre los 250 y los 500 mg P kg<sup>-1</sup> en ambos suelos, con lo que podríamos tomar como valores críticos de P disponible para el POL y el Cl-P los siguientes:

- Andosol (Olsen): 45 mg P kg<sup>-1</sup>
- Andosol (MIA): 100 mg P kg<sup>-1</sup>
- Suelo fersialítico (ambos): 100 mg P kg<sup>-1</sup>

Estos valores son muy superiores a los considerados como adecuados para los cultivos en la mayoría de los suelos.

#### 4. Referencias

- Pierzynski, G. M. 1991. The chemistry and mineralogy of phosphorus in excessively fertilized soils. *Critical Reviews in Environmental Control* 21, 265-295.
- Hernández-Pérez, A. 1991. Aplicación de las Técnicas de Disolución Selectiva y Retención de Fosfato en la Caracterización de Fe y Al Activos en Suelos Volcánicos. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de La Laguna, Tenerife.
- Bray, R. H.; Kurtz, L. T. 1945. Determination of total organic and available form of phosphorus in soil. *Soil Science* 59, 39-45.
- Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of the Mehlich 2 extractant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 15, 1409-1416.
- Olsen, S. R.; Cole, C. V.; Watanabe, F. S. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Department of Agriculture Circular 939. Washington.
- Sen Tran, T.; Giroux, M.; Guibeault, J.; Audesse, P. 1990. Evaluation of M3 extractant to estimate the available P in Quebec soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 21, 1-28.
- Mallarino, A.P. 1997. Interpretation of soil phosphorus tests for corn in soils with varying pH and calcium carbonate content. *Journal of Production Agriculture* 10, 163-167.
- Mallarino, A. P.; Atia, A. M. 2005. Correlation of a resin membrane soil phosphorus test with corn yield and routine soil tests. *Soil Science Society of America Journal* 69, 266-272.
- Smith, F.W.; Ellis, B. G.; Grova, J. 1957. Use of acid-fluoride solutions for the extraction of available phosphorus in calcareous soils and in soils to which rock phosphate has been added. *Soil Science Society of America Proceeding* 21, 400-404.
- Fixen, P. E.; Grove, J. H. 1990. Testing soils for phosphorus. En: Westerman, R. L. (Ed.), *Soil Testing and Plant Analysis*, pp. 141-180. Book Series No. 3., Soil Science Society of America, Madison, USA, pp. 141-180.
- Hylander, L.D.; Svensson, H. I. Siman, G. 1995. Comparison of different methods for determination of phosphorus in calcium chloride extracts for prediction of availability to plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 26, 913-925.
- Masson, P.; Martin, E.; Oberson, A.; Friesen, D. 2001. Comparison of soluble P in soil water extracts determined by ion chromatography, colorimetric, and inductively coupled plasma techniques in PPB range. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 32, 2241-2253.
- Nathan, M.V.; Mallarino, A.; Eliason, R.; Miller, R. 2002. ICP vs. colorimetric determination of Mehlich III extractable phosphorus. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 33, 2432.



- Sawyer, J.E.; Mallarino, A.; Killorn, R.; Barnhart, S. K. 2002. General guide for crop nutrient recommendations in Iowa. Publ. Pm-1688 (Rev.). Iowa State Univ. Extension. Ames, IA.
- Fernandes, M. L.; Coutinho, J. 1997. Anion and cation exchange resin membrane to assess the phosphorus status of some Portuguese soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 28, 483–495.
- Nuernberg, N. J.; Leal, J. E.; Sumner, M. E. 1998. Evaluation of an anion-exchange membrane for extracting plant available phosphorus in soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 29, 467–479.
- Fernandes, M. L. V.; Indiaty, R.; Coutinho, J.; Buondonno, A. 1999. Soil properties affecting phosphorus extraction from Portuguese soils by conventional and innovative methods. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 30, 921–936.
- Rubaek, G. H.; Sibbesen, E. 1993. Resin extraction of labile, soil organic phosphorus. *Journal of Soil Science* 44, 467–478.
- Atia, A. M.; Mallarino, A. P. 2002. Agronomic and environmental phosphorus testing for soils receiving swine manure. *Soil Science Society of America Journal* 66, 1696–1705.
- Pérez Suárez, J. J. 1995. Ensayo de Calibrado de Fósforo en Suelos Volcánicos con Alta Retención de Fosfatos. Trabajo de Fin de Carrera. EUITA de la Universidad de La Laguna, Tenerife.
- Martínez Costa, P. 1996. Calibrado de Fósforo en Suelos Volcánicos de Alta Retención por los Métodos de Olsen y de las Resinas Aniónicas en Maíz. Trabajo de Fin de Carrera. EUITA de la Universidad de La Laguna, Tenerife.
- Wild, A. 1992. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. Editorial Mundi-Prensa, Madrid.

## CAPÍTULO V:

### ***CONCLUSIONES GENERALES***

El estudio de los diferentes métodos de extracción del P disponible aplicados a suelos volcánicos como los Andosoles y otros suelos de carga variable de Canarias, nos ha permitido acceder a los diferentes comportamientos que presentan estos suelos y que inciden sobre la certidumbre de los datos del P disponible o lábil en este tipo de suelos dada las características de las formas de P que son extraídas. Los procesos asociados a los equilibrios de solubilidad y a la reversibilidad de los procesos de sorción-desorción de las superficies reactivas parecen sufrir modificaciones con los procesos analíticos de extracción, favoreciendo la movilidad de este elemento desde la fase sólida, sobredimensionándose los contenidos en su fracción lábil, entrando en contradicción con una de las principales características de los Andosoles: sus elevadas capacidades de retención para el fosfato.

### 1. Método Olsen y extractos acuosos

El método Olsen del que los laboratorios de nuestra región poseen una enorme cantidad de datos se presenta como un método que, a diferencia de su aplicación en otra tipología de suelos, ofrece una enorme variabilidad de las cantidades extraídas debido a la temperatura de centrifugación como al tipo de filtrado, asociado al tipo de material que es extraído por el reactivo alcalino. Las asociaciones organominerales y las alofánicas vinculadas al P, así como la materia orgánica soluble, se convierten en árbitros de las cantidades de P extraídas en este tipo de suelos. Nuestros

resultados ponen de relieve que las asociaciones AH-Al(Fe)-P o AH-Al(Fe)-PO podrían ser componentes importantes en estos extractos. Estas asociaciones podrían explicar la efectividad de la enzima fosfatasa para liberar P de la matriz orgánica soluble en bicarbonato y su potencialidad como una herramienta útil que nos indicaría parte del P potencialmente biodisponible por las plantas. Los valores de P microbiano ponen de manifiesto la influencia que los agentes biológicos pueden tener en los mecanismos de movilización o inmovilización del P disponible en este tipo de suelos. Nuestros datos cuestionan, dadas las diferentes fracciones encontradas, el fraccionamiento clásico de P orgánico e inorgánico asociado a la extracción Olsen que, dada la complejidad de las asociaciones, no podemos considerarlas como lábiles, débilmente adsorbidos siguiendo la clasificación de Hedley et al. (1982), ni de fácil disponibilidad para las plantas debido a la dificultad que supone el transformarlas en disponibles.

Los resultados de la extracción con agua muestran la constancia de los valores en disolución del P liberado desde el suelo con el aumento de la relación w:s. La relativa constancia del pH de las suspensiones, la disminución del C orgánico disuelto con la relación w:s, la presencia de P particulado asociado al tipo de filtrado realizado y la presencia de una importante cantidad de P hidrolizable por la enzima fosfatasa indican que concurren varios mecanismos que influyen en la solubilidad del fosfato. Nuestros resultados ponen de manifiesto que la

solubilidad (disolución) de los fosfatos de Al(Fe) y el reparto de P orgánico (fundamentalmente de naturaleza fúlvica) entre las fases sólida y líquida del suelo podrían ser los mecanismos principales que expliquen el comportamiento de la liberación de P desde el suelo al agua en Andosoles y suelos con carácter ándico. Esto reafirma la hipótesis de que la principal fuente de P en Andosoles (órganominerales y alofánicos) son los fosfatos de Al(Fe) y los complejos de P-Al(Fe)-humus los cuales parecen influir sobre el reparto del P entre el suelo y la disolución. La solubilidad de estos compuestos parece depender del pH del suelo y de la fuerza iónica del medio.

## 2. Intercambio isotópico

El método de intercambio isotópico, propuesto como medida del P lábil “verdadero” del suelo, pone de manifiesto en Andosoles y suelos con carácter ándico que las fracciones activas de Al y Fe así como sus asociaciones con la materia orgánica, modifican los parámetros cinéticos [ $r(1)/R$  y  $n$ ] del proceso de intercambio isotópico del P, encontrándose contradicciones entre estos datos y aquellos procedentes de las diferentes fracciones intercambiables calculadas a partir del modelo compartimental de Fardeau (1993): los suelos presentarían valores de P disponible sin deficiencias aparentes según los parámetros cinéticos estudiados a pesar de la elevada capacidad de retención de estos suelos. El análisis compartimental ( $E_{1min}$ ) indica que nos encontramos con valores inferiores al considerado como límite para clasificar al

suelo como deficiente en P ( $<5 \text{ mg kg}^{-1}$ ), limitando su disponibilidad a las primeras 24 h de intercambio. La elevada radiactividad remanente, unida a la presencia en los extractos de C orgánico y Al, parece indicar la existencia de intercambio de P radiactivo en disolución con las formas solubles órganominerales del P presentes en fase acuosa. Esto pone en tela de juicio la aplicación de la definición de P lábil como el intercambiado isotópicamente en Andosoles. De todas maneras, tenemos que tener precaución con los errores de certidumbre en la determinación analítica del P reactivo (en algunos casos cercanos al límite de detección), la presencia de Si y la contribución de la materia inorgánica y orgánica coloidal a los valores del parámetro  $C_p$ . Por otra parte, el uso de la MIA como agente extractante del P libre liberado por el suelo (radiactivo o no) puso de manifiesto que:

- 1) Las extracciones sucesivas con NaCl y NaOH permiten diferenciar diferentes fracciones de P.
- 2) El NaCl se ha mostrado como un agente más selectivo a la hora de extraer la fracción lábil, obteniéndose unos valores de  $E_{1min}$  acordes con la elevada capacidad para fijar fosfato que presentan estos suelos. El flujo neto de transferencia desde la fase sólida a la acuosa del suelo ( $F_m$ ) también está en concordancia con las propiedades de estos suelos.
- 3) La presencia de C y Al, además de P, en los eluatos de NaOH da consistencia a la idea de la existencia de complejos

órganominerales de P-Al-AF solubles en los extractos acuosos.

- 4) La radioactividad remanente en la resina indica que existe una fracción de P que es resistente a la extracción sucesiva con estos dos eluyentes lo que pone de manifiesto que existe una fracción de P más compleja (de naturaleza orgánica o compuestos condensados inorgánicos solubles) que son muy afines a la matriz de la membrana.

### 3. Resinas de intercambio aniónico

Comparando tres tipos de resinas, observamos la capacidad de las mismas para dispersar el suelo, con la liberación concomitante de cantidades importantes de P y S que se reparten entre las resinas y las suspensiones remanentes de los suelos estudiados. Los mecanismos implicados ponen en evidencia la capacidad de las resinas para dispersar el suelo debido a la presencia de asociaciones órganominerales de P y S [complejos AH-Al(Fe)-P(S)], cuya solubilidad parece estar afectada por los equilibrios químicos que se establecen durante el proceso de extracción, y el contenido en Si presente en las suspensiones sobrenadantes.

Por otra parte, el color que presentan las MIA después de los sucesivos lavados y de su regeneración con NaCl 1M nos hace sospechar de la presencia de coloides orgánicos e inorgánicos en las mismas. La buena reproducibilidad en la extracción secuencial con Cl y bicarbonato, junto con las correlaciones observadas entre las fracciones de P y Al(Fe) y CO, sugieren que la adherencia

de las partículas del suelo a las MIA podría no considerarse como una contaminación en el sentido de una adherencia aleatoria. Por tanto, el mecanismo de desorción de fosfato implicado para la extracción de P por la MIA para este tipo de suelos es probable que no se explique simplemente a través de una reacción de intercambio aniónico.

Por otra parte, el aumento de las cantidades de P extraídas de los suelos (tanto los extraíbles por las membranas como el que permanece remanente en disolución) bien con el aumento del número de MIA o con el aumento de la relación w:s empleando una sola MIA, así como la del resto de los elementos destacando de forma especial el Si, estaría asociado a fenómenos dispersivos del suelo. Un aumento de la dispersión por incremento de las cantidades de agua utilizada o por el aumento del número de MIA parece provocar la liberación de formas complejas de P asociadas a la materia orgánica, además de la contribución de las formas minerales de P (variscita y strengita) y los complejos ternarios órganominerales de naturaleza fúlvica, provocada por la desagregación del suelo. Este último fenómeno estaría relacionado con la disminución de la fuerza iónica del medio debido al aumento de las relaciones w:s o por el número de MIA añadidas que incrementa la superficie de contacto e intercambio con el suelo. Estos resultados ponen de manifiesto la sensibilidad de los Andosoles y suelos ándicos en general a las condiciones bajo las cuales se realiza el proceso de extracción y que parece condicionar los valores de P disponible obtenidos.

La liberación de P por las diferentes fracciones granulométricas (suelo total, arcilla y arcilla ultracentrifugada) mediante agitación continua de las suspensiones hasta 96h y extracción secuencial con MIA, aislada de las suspensiones por un tubo de diálisis de 10000 Da, muestra que después de siete extracciones sucesivas existe una transferencia de materia desde la fase sólida (P, Al, Fe, C y Si). Esto se podría explicar por las perturbaciones del sistema en su equilibrio físico-químico al ser sustituida una MIA por otra, la fase sólida respondería con la liberación de más materia para alcanzar nuevamente el estado de equilibrio.

Las relaciones atómicas obtenidas en el experimento son compatibles con las asociaciones del tipo AH-P-Al(Fe) e incluso formas asociadas al Si, con carácter aniónico, que pueden ser captadas por la MIA. Estas asociaciones tendrían un tamaño inferior a 10000 Da impuesto por la membrana de diálisis. La relativa constancia de los valores de P encontrados para cada una de las extracciones y que al cabo de 96 h de agitación continua, el sistema siga liberándolo lleva a pensar que los procesos de liberación o desorción del fosfato parecen depender en suelos ácidos de los equilibrios físico-químicos que se originan en las condiciones bajo las cuales se realiza la extracción. La extrema sensibilidad de estos suelos a las condiciones experimentales contribuye a que los valores de disponibilidad (asimilabilidad) tengan un alto grado de incertidumbre y que no se correspondan a los encontrados en ensayos de campo.

Al comparar métodos de determinación de P disponible de rutina (Olsen, soluble y MIA) observamos que la precisión y reproducibilidad del método de la MIA hace de este procedimiento, a pesar de sus limitaciones, una potente herramienta para acceder a comprender la dinámica del P lábil y potencialmente disponible en estos sistemas de Al(Fe) altamente reactivos.

Por último señalar que la extracción secuencial con MIA sugiere procesos de desagregación en estos suelos, de elevada estabilidad estructural, que merecen ser investigados.

#### **4. Interpretación del calibrado de P**

El calibrado de P en suelos de carga variable con elevada capacidad de retención ponen de manifiesto que:

- a) El fraccionamiento de extractos de bicarbonato permite estudiar las formas de P que pueden ser exploradas por la micorriza arbuscular para favorecer la nutrición fosfórica de las plantas de las que son simbioses, como el tagasaste.
- b) Los altos porcentajes de P orgánico degradable por la enzima fosfatasa que presentaron estos extractos indican que esta fracción constituye una fuente muy importante de P potencialmente biodisponible en este tipo de suelos, permitiendo estudiar cómo las plantas micorrizadas pueden explorar la fracción orgánica del P, movilizándola.
- c) Las extracciones de P, tanto por el método Olsen como por el método de MIA, en un

- ensayo biológico con maíz a dosis elevadas de P (hasta 1500 mg P kg<sup>-1</sup> suelo), presentan una correlación elevada con respecto a las dosis aplicadas.
- d) En el caso del Andosol (La Esperanza) la extracción de P con MIA fue mucho más efectiva que con bicarbonato, aunque para el suelo fersialítico (Karting) las cantidades extraídas fueron prácticamente iguales.
- e) En líneas generales, la precisión y la reproducibilidad de las MIA fue siempre superior al del método Olsen.
- El fraccionamiento del P en extractos de suelos dado por Hedley et al. (1982), y sus sucesivas modificaciones, no es el adecuado en este tipo de suelos dada las diferentes fracciones o especies de P que se obtienen con procedimientos de extracción “blandos” como los empleados en este trabajo.
  - La dificultad de utilizar un método específico en la determinación del P disponible para suelos de carga variable como los Andosoles y suelos ándicos, radica en su reactividad, en las características físico-químicas de las superficies activas y en la dinámica de la materia orgánica. Esto requiere una profunda revisión del concepto de disponibilidad del P que contemple las íntimas relaciones superficie-disolución que tienen lugar durante la movilización del nutriente en estos suelos y que permita desarrollar una metodología *ad hoc*, compatible con un correcto calibrado entre el P extraído y los rendimientos en los cultivos, así como en la determinación de las necesidades de fertilización fosfórica que posibilite la conservación de estos suelos mediante un uso racional y sostenible de los mismos.

## 5. Consideraciones finales

Los resultados obtenidos, junto con los ensayos de calibrado, contribuyen a explicar los elevados valores del denominado “P disponible” (por cualquiera de los métodos utilizados: Olsen, acuoso y resina) en relación con el crecimiento óptimo de los cultivos en los siguientes términos:

- 1.- La íntima relación observada entre P, Al(Fe) y materia orgánica tanto en fase sólida como en disolución determina una concentración de P libre relativamente baja.
- 2.- La solubilidad de análogos amorfos de fosfatos tipo variscita y strengita, unido a la elevada superficie específica de estos suelos, determina la capacidad de saturación de P en Andosoles y suelos ándicos.

Desde el punto de vista analítico resaltamos dos conclusiones que afectan fundamentalmente al proceso de extracción del P en estos suelos: