

**Colección
Gestión
Ambiental**

**Indicadores de salud
y calidad de suelos en
cuencas hidricas de
Bogotá D.C.**

Autor
Laura Emilia Ceron Rincon



Catalogación en la fuente: Biblioteca Universidad EAN

Indicadores de salud y calidad de suelos en cuencas hídricas en Bogotá

[Recurso electrónico] / Laura Emilia Cerón Rincón. -- Bogotá : Universidad EAN, 2012. -- (Colección de Ciencias Básicas)

71 p.

ISBN: 978-958-756-197-5

1. Indicadores de salud 2. Calidad de los suelos 3. Monitoreo de recursos

614 CDD 21



Edición

Dirección Gestión del Conocimiento

Revisor Estilo
Jhony Caicedo

Diagramación
Alicia Casas

Publicado por Ediciones EAN 2013.
Todos los derechos reservados.
ISBN: 978-958-756-197-5

© Universidad EAN, Carrera 11 No. 78-47 Bogotá D.C., Colombia, 2013
Prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin autorización de la Universidad EAN®

Producido en Colombia.



Contenido

Introducción.....	5
1. Marco teórico.....	7
2. Lugar de estudio problemáticas.....	11
3. Hipótesis.....	15
4. Objetivos.....	17
5. Lugar de estudio y muestreos (fase de campo).....	19
6. Tratamiento de las muestras y determinaciones enzimáticas (fase de laboratorio).....	25
7. Resultados de discusión.....	33
8. Conclusiones.....	49
9. Recomendaciones.....	51
Bibliografía.....	53
Anexos.....	59





INTRODUCCIÓN

El sistema hídrico de Bogotá D.C. está formado por más de 200 cuerpos de agua, entre quebradas y canales, que hacen parte del sistema de drenaje pluvial de la ciudad, entre las cuales se encuentran: las subcuencas de los ríos Salitre o Juan Amarillo, Fucha y Tunjuelo, además los humedales La Conejera, Juan Amarillo, Torca, Guaymaral, Jaboque, Techo, El Burro, La Vaca, Córdoba, Santa María del Lago, La Tibanica, Capellanía y El Meandro del Say y de la cuenca media del río Bogotá (EAAB). El Acuerdo 6 de 1990, el acuerdo 19 del 1994 y el acuerdo 27 de 1995 designan los humedales de Bogotá como Áreas Protegidas y Reservas Naturales. Los humedales son incluidos dentro de la categoría de ecosistemas estratégicos (Palacios *et al.*, 2003) al igual que de áreas verdes definiéndolas como: “ecosistemas estratégicos que están dentro del perímetro urbano, donde se destacan: El Sistema Hídrico, conformado por los cuerpos de agua (humedales, ríos, canales, lagos). Sin embargo, el crecimiento poblacional de la ciudad ha determinado un incremento progresivo de la intervención en el territorio, colocando sus aguas al servicio del crecimiento urbano.

Los humedales son ecosistemas intermedios entre el medio acuático y el terrestre, caracterizados por porciones húmedas, semi-húmedas y secas, de gran importancia dado que retienen el agua que en épocas de lluvias se puede generar en grandes cantidades, reservándolas para las temporadas secas, regulando los efectos perjudiciales de las crecientes de los ríos y de las inundaciones. Aún cuando los humedales ocupan sólo entre 4-6% de la superficie terrestre, ellos desempeñan un papel importante en el ciclo de carbono (Hernández, 2010) del planeta. La captación de carbono en humedales se realiza, en su mayoría, a través de las plantas que fijan el dióxido de carbono (CO₂) de la atmósfera y lo convierten a carbono orgánico. La saturación de agua en los suelos de humedales favorece la acumulación de carbono debido a que disminuye velocidad de descomposición de la materia orgánica formando turbas, pero es deseable que carbono capturado



se almacene en la biomasa y en la materia orgánica de los suelos por procesos de humificación. Los humedales también proporcionan hábitad a las especies vegetales y animales, típicos de los ambientes acuáticos porque en ellos se producen los nutrientes necesarios para la reproducción de aves, insectos, ranas, lagartijas, entre otros, además de ser el albergue transitorio de las aves que recorren países y continentes.

Los humedales de Bogotá, definidos desde los acuerdos municipales como Áreas Protegidas (Palacios et al., 2003) cuya permanencia depende del apoyo de la comunidad, principalmente aquella en área de influencia inmediata, ella se constituye en el mejor escenario para facilitar y garantizar el desarrollo de futuras acciones de manejo de los humedales. Sin embargo, aun no existe claridad frente al tipo de manejo que se le dará a los humedales (Palacios et al., 2003) pues en los contratos prevalecen aspectos que les da una integración más urbana que ecológica. Particularmente se destacan las obras de infraestructura física que buscan establecer parques 'ecológicos' como alamedas, ciclorutas, senderos peatonales, puentes, alumbrado público, sustracción de la vegetación del pantano. Estas obras ya se ejecutaron en el humedal de Santa María del Lago y están en proceso de ejecución en el humedal de Córdoba. El carácter de Áreas Protegidas que tienen los humedales y el hecho de pertenecer a la Estructura Ecológica Principal del Distrito, deberían ser razones suficientes para evitar convertirlos en parques urbanos (Castaño 2002) y que se continúe utilizándolos como parte del sistema de alcantarillado de la ciudad.





Marco teórico

Recientemente se le ha prestado atención a la conservación de las planicies inundables a lo largo de los ríos, dada su importancia en el mejoramiento de la calidad del agua y por la biodiversidad que soportan (Kang y Stanley, 2005) dado que, son pocos los estudios a nivel global y nacional que se han realizado en torno a la canalización de ríos y humedales y su impacto en los procesos de los ecosistemas y degradación de los recursos naturales. Dado esto este estudio es pionero a nivel nacional.

El suelo es recurso vital de cuya condición y funcionamiento depende la capacidad de funciones tan importantes como las de filtrar, amortiguar y transformar la materia, para proteger el ambiente y los nacimientos de agua de la contaminación (Doran et al., 1999; Doran y Zeiss, 2000, entre otras, funciones que incluyen procesos metabólicos microbianos implicados en la descomposición de materiales orgánicos y la detoxificación de xenobióticos, procesos donde la catálisis del suelo posee un papel fundamental. Para aproximarse al entendimiento los niveles de actividad microbiana responsables de de los procesos que implican biorremediación y degradación de contaminantes y xenobióticos y el estado de los ciclos de los nutrientes durante el desarrollo de tales procesos, se estudian las actividades enzimáticas del suelo porque, dentro de los procesos metabólicos que catalizan las enzimas del suelo se encuentran la descomposición de materiales orgánicos y la detoxificación de xenobióticos, son sensibles a los cambios generados por contaminación y están relacionadas directamente con otros factores



biológicos, químicos y físicos. Los suelos en general son el hábitat de muchos organismos que colectivamente contribuyen a una variedad de bienes y servicios derivados de este recurso (Kibblewhite et al., 2008) como las base de los principales servicios otorgados por el suelo: La transformación del carbono, El ciclado de nutrientes, Mantenimiento de la estructura y agregación del suelo y la regulación biológica de las poblaciones. Funciones que aportan a la transformación de residuos vegetales y la transformación de la materia orgánica que a su vez mantiene la detoxificación y la eliminación de desechos, como también regula la emisión de gases de invernadero, el mantenimiento de los ciclos hidrológicos y disponibilidad de agua para los organismos.

Con el desarrollo de la civilización los factores antropogénicos han tomado el papel principal en los cambios que pueden sufrir los ecosistemas por ello se requiere definir cómo y en qué intensidad los afectan, es así como las investigaciones en torno al tema hacen parte de los esfuerzos para enmarcar un uso sostenible que asegure la conservación del recurso suelo (Ceron y Melgarejo, 2005). Las principales causas de degradación y reducción de la productividad de los suelos están relacionadas directamente con manejos inadecuados como el cultivo intensivo sin rotación y la contaminación accidental o deliberada con desechos domésticos e industriales (Gianfreda et al., 2005). Para determinar el impacto de los contaminantes y el potencial remediador del ecosistema se hace necesario contar con medidas relacionadas con el estado metabólico de la comunidad, dado que la influencia de dichos contaminantes sobre las comunidades microbianas, así como en la capacidad de las mismas para utilizarlos como fuente de nutrientes, están relacionados y dependen de otras propiedades del suelo. Las actividades enzimáticas del suelo que se han sugerido como potenciales dentro del conjunto de indicadores, debido a su relación con la biología del suelo, ya que su presencia depende directamente de la continua liberación al ambiente llevada a cabo por los organismos que habitan en el ecosistema (Burns, 1982), además están relacionadas con funciones ecológicas como la producción de biomasa, la remediación de contaminantes y la conservación de ecosistemas. Las actividades enzimáticas pueden ser usadas como parte del conjunto de herramientas necesarias para asignar sostenibilidad, son de fácil determinación y responden



rápido al manejo del recurso (Dick y Tabatabai, 1992). Además se consideran indicadores rápidos y sensibles para medir el nivel de degradación de suelos en ecosistemas naturales y agrícolas, dado que son adecuados para medir el impacto por contaminación sobre la calidad de este recurso.

La actividad fosfatasa cataliza la hidrólisis de ésteres de fosfato, liberando los grupos fosfato que estén enlazados a sustratos más complejos como la materia orgánica del suelo, siendo así las responsables de la mineralización de el fósforo orgánico en forma de fósforo inorgánico el cual queda disponible para los requerimientos de microorganismos y plantas. Esta actividad se clasifica en ácida (pH 6.5) o alcalina (pH 11) según su pH óptimo. Las fosfatasas ácidas se derivan tanto de plantas como de microorganismos, mientras que las alcalinas se derivan principalmente de microorganismos. La actividad deshidrogenasa refleja el trabajo de un grupo de enzimas intracelulares que están presentes en la microbiota del suelo, estas hacen parte de las reacciones metabólicas involucradas en la transferencia oxidativa de energía y son consideradas un buen indicador de la actividad microbiana además de ser sensibles a la degradación del suelo también se ven afectadas por los cambios estacionales. Existen evidencias (Doi y Ranamukhaarachchi, 2009) para considerar la actividad deshidrogenasa como indicador de la condición de los suelos (degradación o rehabilitación) y de cambios estacionales de lluvias/sequías. Se ha demostrado la importancia de los productos ácidos y fenólicos liberados durante la hidrólisis microbiológica de sustancias que están presentes naturalmente (residuos vegetales y orgánicos) en los suelos y de compuestos sintéticos (residuos industriales y plaguicidas), en la formación de las sustancias húmicas (Perucci et al., 2000). Los productos fenólicos son generalmente inestables y están sujetos a la conversión oxidativa mediante reacciones abióticas o catalizadas por enzimas oxidativas, a quinonas las cuales polimerizan a macromoléculas semejantes al humus en presencia o ausencia de compuestos amino. Los compuestos fenólicos en el suelo se transforman por procesos oxidativos principalmente catalizados por fenolasas y peroxidasas producidas por la microbiota presente en el suelo.







Lugar de estudio problemática

En la localidad de Suba se encuentran algunos de los ecosistemas más importantes de la ciudad, como son los humedales de La Conejera, Juan Amarillo, Córdoba y Guaymaral. Este trabajo se desarrollo en el Sistema Córdoba - Juan Amarillo, el Humedal de Córdoba está funcionalmente relacionado con el Humedal Juan Amarillo (DAMA, 2010) dado que hace parte del mismo sistema biofísico. Su principal función del Humedal Juan Amarillo es de amortiguación, que consiste en la retención de gran parte de los sedimentos de la sub-cuenca del Humedal de Córdoba la que hace parte de la cuenca del Río Juan Amarillo.

El humedal Córdoba se encuentra localizado entre las calles 116 y 127 y entre las avenidas Córdoba y Boyacá. Tiene un área de 40.4 Ha (según la Resolución 003 de 1993 de la EAAB y la Política de Humedales del Distrito Capital). En al actualidad se encuentra fragmentado en 3 partes y está conectado con el “Parque Urbano Canal Córdoba” y “Parque Metropolitano Canal de loa Molinos”. Continúa al occidente con el lago del Club Choquenzá, Los Lagartos y el Humedal Tibabuyes, formando el **Sistema Córdoba – Juan Amarillo**. El primer cuerpo fue separado por la Avenida 127 y se encuentra al norte de esta (con área de 2,8 ha). El segundo cuerpo está separado por las avenidas 127 y Suba (área de 16,2 ha). El tercero se localiza entre las avenidas Suba y Boyacá (área de 21,4 ha).



Según el plan de manejo del Humedal Córdoba (DAMA, 2006) la problemática ambiental del Parque Ecológico Distrital humedal Córdoba que se identificó desde los componentes físico, ecológico, económico y sociocultural, como resultado de la caracterización del humedal y su área de influencia directa y las interacciones entre los diferentes componentes, se resume así: Compromiso de la Calidad de agua afectada por aportes de aguas residuales, existen cuatro vertimientos directos de aguas negras en el sector medio del humedal, ubicados frente al sector del barrio Niza Antigua y otros cuatro ubicados frente al barrio Pontevedra hacia la avenida Suba. El canal Molinos está altamente contaminado por aguas negras de conexiones erradas. En el año 1998, se realizaron análisis en sedimentos del humedal mostraron altos niveles de contaminación por mercurio (la fuente no fue determinada) con valores entre 185 y 506 mg Hg/kg, cuando en el medio natural no deberían pasar de 0,003 mgHg/kg (EEI/Hidromecánicas, 1998). Las formas orgánicas (metilicas) de los metales pesados, específicamente el mercurio, son solubles en agua y altamente tóxicas, siendo fácil su ingreso a los diferentes niveles tróficos del humedal, incluyendo al hombre si éste consume la fauna.

Estructuras hidráulicas deficientes originando restricciones al flujo de agua, desconexión hídrica y ecológica del humedal con la Estructura Ecológica Principal y acumulación de basuras y escombros en zonas del humedal. Pastoreo de animales, presencia de animales domésticos y otros depredadores. Desarrollo de usos no compatibles o permitidos al interior de la Zona de Manejo y Preservación Ambiental del humedal. Incompatibilidad de algunas actividades urbanas contiguas, respecto a las expectativas de conservación y manejo del humedal. Falta de control y vigilancia en el humedal. La presencia de conexiones erradas de aguas residuales en los Canales aferentes (Molinos y Córdoba), el humedal presenta como constante importantes niveles de contaminación. Además de la invasión de la zona de ronda por presencia de construcciones, así como de asentamientos temporales de habitantes de la calle. Depredación de la fauna silvestre por parte de perros y gatos (callejeros y domésticos) que atacan las aves, especialmente a las tinguas. Podas inadecuadas en las zonas de ronda, que generan pérdida de cobertura vegetal. Falta de conocimiento sobre la estructura y función del humedal. Dado lo anterior en el marco



del conflicto ambiental generado en torno a las intervenciones para la recuperación del humedal, se presentó una Acción Popular (No. 254 de 2000) dentro de la cual actualmente (DAMA, 2006) se realiza un ejercicio de concertación pública, entre el Distrito y la comunidad y existe una Resolución Defensorial (No. 018 de 2003) con lo que mejoraron algunas de las problemáticas del Humedal.

El humedal de Juan Amarillo, también llamado Laguna de Tibabuyes, se localiza al noroccidente del Distrito Capital, dentro del área inundable de los ríos Bogotá y **Juan Amarillo o Salitre**, los que junto al humedal forman parte de la estructura primaria del sistema hídrico de la ciudad, este fue declarado como Parque Ecológico Distrital de Humedal en 2004, es el humedal más grande que existe actualmente en la capital del país, cuenta con una extensión de 222,76 hectáreas.

En el **Río Juan Amarillo**, el humedal se comporta como una trampa de sedimentos están entrando 3400 mg/l de sólidos totales, de los cuales se han detectado a la salida 1320 mg/l, lo que quiere decir que en alguna parte del cauce o derivado de lo que rebosa del humedal, se están quedando 2170 mg/l, que equivalen al 62.2% de los sólidos transportados por el río. Adicionalmente las descargas de aguas de origen doméstico provenientes del barrio el Rosal de Suba que llegan al caño Juan Amarillo en la Calle 126 con Carrera 99 A - sector Aures.

Entre los años 60 y 70 se desvió del cauce del **Río Juan Amarillo**, mediante la construcción de un jarillón, lo cual contribuyó a su desecación y reducción de volumen de agua y a la reducción de la superficie del humedal, asociada al relleno y desecación del humedal para construcción de vivienda (barrios Santa Cecilia, Luis Carlos Galán y El Rincón) y vías (puente vehicular Barrio Santa Cecilia-calle ochenta). Todas las aguas negras de esta gran cuenca, que se inicia en los Cerros Orientales y de sus alrededores, van a parar al Juan Amarillo (DAMA, 2010). Muchos de los asentamientos subnormales, se muestran carentes de servicios de alcantarillado, evacuando sus aguas residuales directamente sobre el humedal. El sector del barrio Lisboa se encuentra por debajo del nivel de las aguas del humedal y bombea sus aguas negras hacia el humedal, permaneciendo los pozos sépticos a cielo abierto y convirtiéndose en la causa de que afectan



principalmente a la población infantil. En el estudio realizado por Daphnia para el DAMA en 1995, se encontró que el oxígeno disuelto presentaba valores inferiores a 2,5 mg O₂/l (valores no propicios para la biota) y la mayoría de valores de DQO fluctuaron entre 120 y 800 mg/l (valores relativamente altos). Los parámetros que muestran las concentraciones de acidez, alcalinidad total, cloruros, hierro total, conductividad, dureza y de los metales pesados, mercurio, plomo, cromo, selenio y arsénico, reflejan las características típicas de las aguas residuales domésticas.





Hipótesis

El suelo es recurso vital de cuya condición y funcionamiento depende la capacidad de filtrar, amortiguar y transformar la materia, para proteger el ambiente y los nacimientos de agua de la contaminación. Entonces las medidas de las actividades deshidrogenasa, o-difenolasa, fosfatasa ácida y alcalina, así como las fracciones activas de carbono de suelos y sedimentos del Sistema Córdoba - Juan Amarillo, pueden estar relacionadas con el estado de las cuencas, de modo que puedan servir como indicadores biológicos y bioquímicos de salud y calidad de suelos y sedimentos del Sistema, para el monitoreo de los recursos y diagnóstico de su contribución a la salud ambiental de la ciudad. Medidas que pueden servir para el desarrollo de un producto (kit diagnóstico) aplicable en campo.







Objetivos

General

Comparar el estado de dos cuencas urbanas del sistema hídrico de Bogotá D. C. a través de la estimación de algunos indicadores de salud y calidad de suelos, que puedan servir para el monitoreo de los recursos.

Específicos

- ❖ Determinar indicadores biológicos y bioquímicos (deshidrogenasa, o-difenolasa, fosfatasa ácida y alcalina) en suelos de dos cuencas urbanas de Bogotá D. C.
- ❖ Determinar las posibles correlaciones entre los indicadores biológicos y bioquímicos y las diferentes problemáticas encontradas en las cuencas.
- ❖ Elaborar un documento donde se ilustre detalladamente la determinación de fósforo disponible y formas de nitrógeno inorgánico en suelos de dos cuencas urbanas de Bogotá D. C. como medidas base para el desarrollo de un producto (kit diagnóstico) aplicable en campo.







Lugar de estudio y muestreos (fase de campo)

5.1

Diseño del muestreo

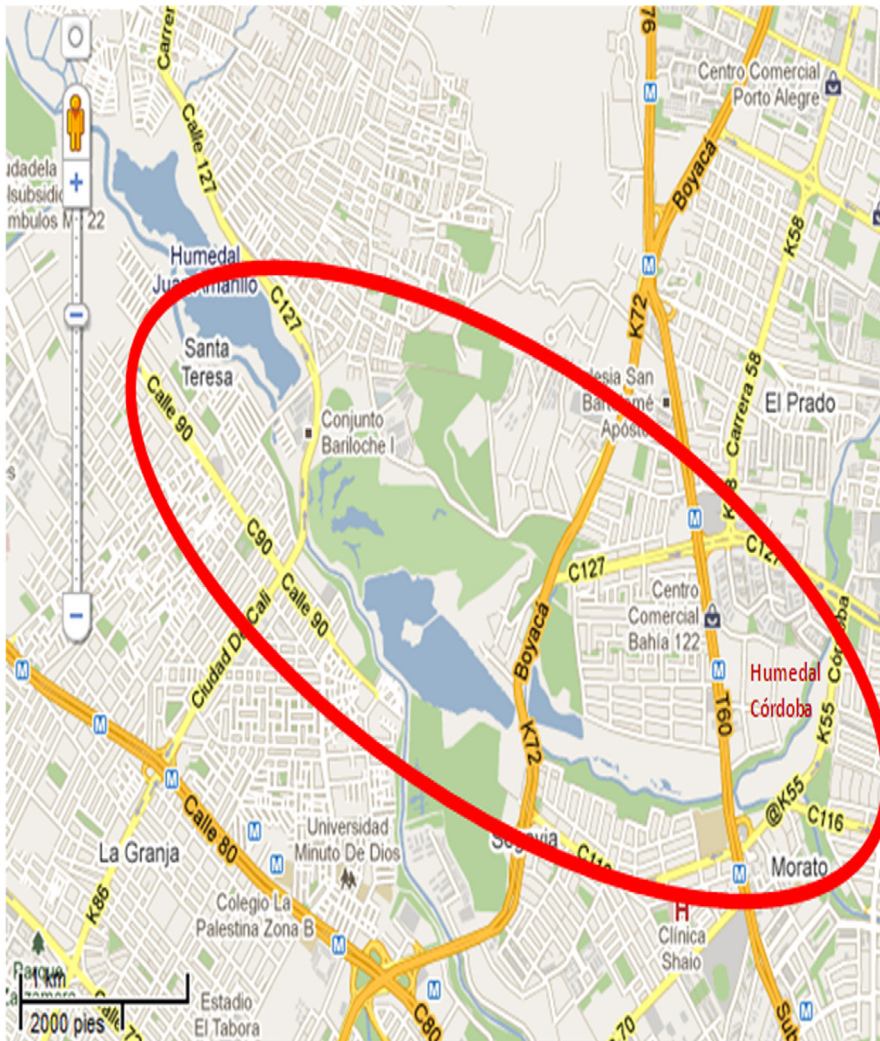
Se definieron dos lugares de estudio Sistema Humedal Córdoba - Juan Amarillo, donde se tomaron muestras de suelos y sedimentos haciendo un barrido del terreno en zigzag (9 puntos) para formar tres muestras compuestas por cada punto de muestreo.



5.2

Detalle de localización del punto de muestreo

Figura 1. Lugar de Estudio Sistema Humedal Córdoba - Juan Amarillo



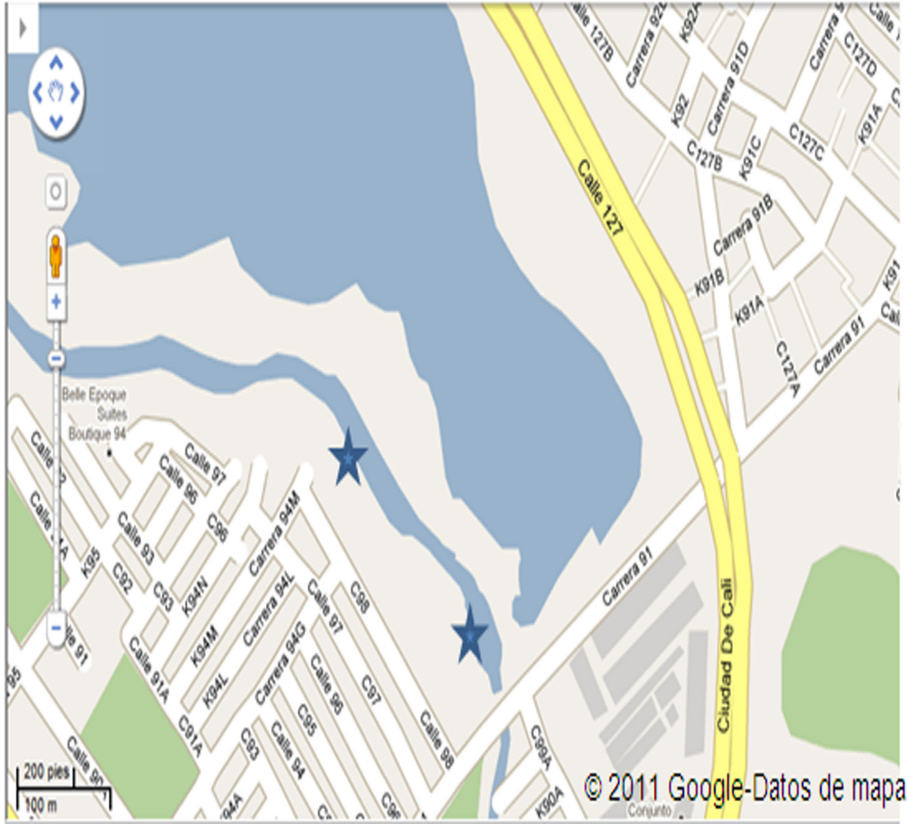
En el Humedal de Córdoba se tomaron muestras en el segundo y tercer sector del humedal (Figura 2) para un total de 5 puntos de muestreo: 3 puntos paralelo a la Avenida Córdoba entre calles 116 y 124 y en el tercer sector del humedal pasando la avenida Suba, paralelo a la calle 117 se tomaron 2 puntos entre las Carreras 70C y 70F.

Figura 2. Lugar de Estudio Humedal Córdoba. Los puntos de muestreo se indican con estrellas



Para el Río Juan Amarillo se tomaron muestras a la altura del Humedal Juan Amarillo (Figura 3) en 2 puntos de muestreo paralelo a la calle 98 entre las carreras 91 y 94L.

Figura 3. Lugar de Estudio Río Juan Amarillo a la altura del Humedal Juan Amarillo. Los puntos de muestreo se indican con estrellas



Las muestras de suelos a una profundidad entre 5 y 10 cm y los sedimentos se tomaron superficiales entre 0 a 5 cms, en cada lugar de muestreo se tomaron nueve muestras para formar tres muestras compuestas, las cuales después de la toma se transportaron al laboratorio (Laboratorio Hospedero Patógeno, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia), donde se pasaron por tamiz (1mm) para disgregarlas y homogeneizarlas y enseguida se almacenaron a -20oC. Posteriormente a las muestras recolectadas se les determinará las actividades enzimáticas (deshidrogenasa, o-difenolasa, fosfatasa ácida y alcalina) y las fracciones activas de carbono.







Tratamiento de las muestras y determinaciones enzimáticas (fase de laboratorio)

Las muestras de suelos a una profundidad entre 5 y 10 cm y los sedimentos se tomaron superficiales entre 0 a 5 cms, en cada lugar de muestreo se tomaron nueve muestras para formar tres muestras compuestas, las cuales después de la toma se transportaron en bolsas y refrigeradas hasta el laboratorio (Laboratorio Hospedero Patógeno, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia), donde se pasaron por tamiz (2mm) para disgregarlas y homogeneizarlas y enseguida se almacenaron a -20oC. Posteriormente a las muestras recolectadas se les determinaron: fracción de carbono activo, las actividades enzimáticas de los suelos: fosfatasa ácida (EC 3.1.3.2), fosfatasa alcalina (EC 3.1.3.1), deshidrogenasa (EC 1.1.1.1) y o-difenol oxidasa (EC 1.10.3.1). Se realizó determinación del contenido de agua de cada una de las muestra por diferencia de peso antes y después de secarlas en horno a 72oC por 48 horas.



6.1

Determinación de actividad fosfatasa ácida (EC 3.1.3.2) y alcalina (EC 3.1.3.1)

El ensayo enzimático se basa en la determinación de p -nitrofenol liberado por la enzima a partir de sustrato p -nitrofenilfosfato, que se incuba a con la muestra de suelo 1 h a 37°C a pH 6,5 para determinar fosfatasa ácida y a pH 11 para determinar fosfatasa alcalina correspondiente. El p -nitrofenol liberado por actividad se extrae en medio alcalino y se determina colorimétricamente a 400 nm. Las sustancias húmicas disueltas incrementan en medio alcalino y pueden interferir con la determinación de p -nitrofenol; por ello, se adiciona cloruro de calcio a las muestras para evitar dispersión de minerales de arcilla (Tabatabai, 1982; Eivazi F and Tabatabai 1977)

Protocolo

Tamizar suelo húmedo y pesar 0.5 g en 3 tubos. En 2 de los tubos o erlenmeyers (muestras) adicionar 0.8 mL de buffer de trabajo (pH 6,5 o pH 11) y 0.2 mL de solución de sustrato; al otro tubo adicionar solamente 0.8 mL de buffer de trabajo (control). Agitar vigorosamente y tapar; incubar por 1 hora a 37°C en shaker rotatorio. Después de incubar adicionar al tubo control 0.2 mL de solución sustrato. Adicionar tanto a muestras como a controles 0.2 mL de Cloruro de calcio 0.5 M y 0.8 mL de NaOH 0.5M. Centrifugar 4500 rpm por 5 min. Tomar sobrenadante y diluir 1:5 con buffer agua destilada. Medir absorbancia a 400nm contra blanco de reactivos.

Curva de Calibración: A partir de una solución Estándar de p -nitrofenol (10 μ mol/mL) SIGMA®, preparar patrones que contengan 0, 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; y 1 μ moles de p -nitrofenol en un volumen de 1mL. Luego de adicionado el NaOH 0.5M mezclar, centrifugar a 8000 rpm y tomar sobrenadante y diluir 1:5 con agua destilada. Medir absorbancia a 400 nm. La actividad fosfatasa se expresa en μ moles de p -nitrofenol por gramo de peso seco y tiempo de incubación, así: A la absorbancia



de cada muestra se le resta la de su respectivo control, este valor se interpola en la curva de calibración para obtener los μmoles de p -nitrofenol liberados por la actividad enzimática durante el tiempo de incubación.

6.2

Determinación de actividad deshidrogenasa (EC 1.1.1.1)

El ensayo enzimático se basa en la determinación de trifenil formazan TPF a partir de la reducción cloruro de trifenil tetrazolio TTC en los suelos, este último sirve como aceptor de electrones para varias deshidrogenasas (Casida et al., 1964). La medida de esta actividad enzimática en el suelo comprende distintos sistemas deshidrogenasas y su origen está en la oxidación biológica mediante procesos de deshidrogenación de diferentes compuestos orgánicos, que bajo condiciones aeróbicas se ligan a una cadena de transferencias o transporte de electrones acoplados a la síntesis de ATP, el cual tiene al oxígeno como aceptor final.

Protocolo

Tamizar suelo húmedo y pesar 0.5 g en 3 tubos. En 2 de los tubos o erlenmeyers (muestras) adicionar 1 mL solución de sustrato: cloruro de trifenil tetrazolio TTC al 1% en buffer Tris-HCl 100mM pH 7,8; al otro tubo adicionar solamente 1 mL de buffer Tris-HCl 100mM pH 7,8 (control). Agitar vigorosamente y tapar; incubar por 24 horas a 30°C en shaker rotatorio. Después de incubar adicionar a los tubos (muestras) 5mL de acetona. Después de incubar adicionar al tubo control 5mL de solución sustrato TTC al 1% en acetona. Agitar fuertemente tanto muestras como controles e incubarlos por 2 horas en oscuridad a temperatura ambiente, agitar por intervalos de 15 minutos. Centrifugar 4500 rpm por 5 min. Medir absorbancia a 546nm contra blanco de reactivos.

Curva de Calibración: A partir de solución Estándar de TPF (500 $\mu\text{g/mL}$) preparar patrones que contengan 0, 5, 10, 20, 30 y 40 μg de TPF en un



volumen de 1 mL, adicionar 5 mL de acetona. Medir absorbancia a 596 nm. La actividad deshidrogenasa se expresa en μg de TPF por gramo de peso seco y hora de incubación, así: A la absorbancia de cada muestra se le resta la de su respectivo control, este valor se interpola en la curva de calibración para obtener los μg de TPF formados por la actividad enzimática durante el tiempo de incubación.

6.3

Determinación de actividad o-difenol oxidasa (EC 1.10.3.1)

El problema más importante en el estudio de la oxidación de los compuestos fenólicos en los suelos, es la baja disponibilidad del sustrato oxidado causado por la sorción de los componentes de suelo en la interface con la catálisis enzimática, dado que se dan reacciones inmediatamente después del contacto del catecol con el suelo. Las quinonas formadas por la oxidación de compuestos fenólicos son altamente reactivas y capaces de formar varios productos de condensación especialmente en presencia de compuestos con grupos amino libres, este método se basa en la formación de compuestos rojos, a través de la desarrollo de la oxidación enzimática del catecol y posterior reacción con la prolina, usando la determinación espectrofotométrica de los compuestos rojos derivados de la reacción entre los productos derivados de la reacción enzimática y la prolina (Perucci *et al.*, 2000)

Protocolo

Tamizar suelo húmedo y pesar 1 g en 3 tubos. Preparar solución de reacción: 1.5mL de catecol 0,2M, con 1.5mL de prolina 0,2M y 2mL de buffer fosfatos 0.1M pH 6,5; oxigenar por 3 minutos. En 2 de los tubos o erlenmeyers (muestras) adicionar 3 mL de solución de reactivos, al otro tubo adicionar solamente buffer de trabajo (control). Agitar vigorosamente y tapar, incubar por 10 minutos a 30°C; al tiempo incubar por separado de la misma forma solución de reacción. Después de incubar adicionar al tubo control la solución de reacción que se incubó anteriormente. Transferir todos los tubos a baño de



hielo y adicionar 5mL de etanol. Centrifugar 4500 rpm por 5 min a 4°C. Medir absorbancia a 525nm contra blanco de reactivos.

Curva de Calibración: A partir de solución Estándar de catecol (10 mmol/mL) preparar patrones que contengan 0, 0.5, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3 y 0.35 μmol de catecol en un volumen de 3 mL (0.9 ml de prolina, 1.2mL de buffer fosfatos 0.1M pH 6,5 y se completa con agua), se deja oxidar por 1 hora en presencia de 1U polifenol oxidasa SIGMA®, posteriormente se adiciona 5mL de etanol. Medir absorbancia a 525 nm. La actividad o-difenol oxidasa se expresa en μmol de catecol oxidado por gramo de peso seco en 10 minutos de incubación, así: A la absorbancia de cada muestra se le resta la de su respectivo control, este valor se interpola en la curva de calibración para obtener los μmol de catecol oxidados por la actividad enzimática durante el tiempo de incubación.

6.4

Determinación de carbono activo en el suelo

El carbono orgánico (COS) naturalmente varía a través del paisaje, los tipos del suelo y zonas climáticas. Se caracteriza por altos niveles de C en formas recalcitrantes o humificadas. Pequeños cambios en el COS como resultado de manejo de los suelos son difíciles de medir, pero pueden tener efectos pronunciados sobre el comportamiento del suelo y los procesos microbianos. Sin embargo la detección de cambios en la fracción pequeña y relativamente lábil de COS, proporciona un indicador de una posible degradación o mejoramiento como consecuencia de prácticas de manejo. Dicha fracción es el combustible de la cadena alimenticia entonces posee una gran influencia en los ciclos de los nutrientes y en muchas de las propiedades biológicas de los suelos, por lo que se denomina una fracción activa a diferencia del carbono orgánico total el cual es fuente de un carbono pasivo o altamente recalcitrante. La fracción activa de carbono sirve como indicador de calidad sensible a los cambios inducidos por el manejo, incluye: el carbono microbiano, la materia orgánica particulada y los carbohidratos del suelo. El método (Blair *et al.*, 1995) se basa en la



determinación del C oxidable por permanganato de potasio (KMnO₄) modificado por Weil y colaboradores (2003).

Protocolo

Tamizar suelo húmedo y secar a temperatura ambiente durante 24 horas, tomar 5 g de suelo seco por triplicado y colocar en erlenmeyers de 250 mL. Preparar solución stock: solución de KMnO₄ 0.2M en CaCl₂ 1M (pH 7.2), ajustar el pH a 7.2 usando NaOH 0.1M, el pH de esta solución es importante para mantener la estabilidad de la misma por 6 meses, se debe guardar en botella oscura. Adicionar 20 mL de la solución stock y agitar a 200 rpm por 5 minutos. Inmediatamente adicionar 45 mL de agua destilada y centrifugar 4500 rpm por 5 min a 4°C. Medir absorbancia a 565nm contra blanco de reactivos.

Curva de Calibración: preparar soluciones estándar de KMnO₄ 0, 0.005M, 0,01M y 0,02M en CaCl₂ 1M (pH 7.2), tomar 5 mL de cada solución y adicionar 45 mL de agua destilada. Medir absorbancia a 565 nm contra el estándar 0. Se construye una curva de calibración de Absorbancia contra concentración de los estándares. La pérdida de color del reactivo es proporcional a la cantidad de carbono oxidable en los suelos. El cálculo del contenido de carbono activo se realiza así:

C activo (mg Kg⁻¹) = [0,02mol/L – (a + b X absorbancia)] X (900 mg C/mol) X (0,02 L sol /0,005 Kg de suelo seco)

Donde 0,02mol/L es la concentración inicial de la solución stock, a es el intercepto y b la pendiente de la curva de calibración, 900 mg es la cantidad de carbono (0,75 mol) oxidado por 1 mol de MnO₄⁻ que cambia de Mn⁷⁺ a Mn⁴⁺, 0,02 L es el volumen de la solución stock adicionada para la oxidación y 0,005 Kg es la cantidad de suelo usada en la determinación.



6.5**Determinación del pH del suelo**

Se realizó por suspensión del suelo en agua destilada en una relación 1:2.5.

6.6**Análisis estadísticos**

Se realizaron pruebas de análisis de varianza de una vía ($p < 0.05$) para comparar en efecto sobre las actividades enzimáticas y fracciones activas de carbono en los diferentes lugares de muestreo dentro del Humedal Córdoba y dentro el Río Juan Amarillo. Para los análisis que resultaron significativos, se determinaron las diferencias entre las medias por mínima diferencia significativa. Los análisis se realizaron utilizando el software estadístico SPSS 17.0.







Resultados y discusión

El pH de las muestras de agua y de los suelos aledaños tomadas en el **Sistema Córdoba - Juan Amarillo** se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. pH de muestras de agua y de suelo

LUGAR DE MUESTREO	pH DEL AGUA	pH DEL SUELO
Humedal Córdoba/ Calle 124	6,48	6,12
Humedal Córdoba/ Calle 117	7,42	6,48
Humedal Córdoba/ Calle 116	7,12	6,33
Humedal Córdoba/ Cra 70C	7,96	6,74
Humedal Córdoba/ Cra 70F	8,05	7,25
Rio Juan Amarillo/Cra 91	8,55	6,92
Rio Juan Amarillo/Cra 94 L	9,90	7,12

Se observó que a medida que el sistema está más intervenido incrementa el pH tanto en suelos y aguas, en el segundo sector del Humedal Córdoba se encuentra mas diversidad de vegetación acuática y terrestre arboles y arbustos, particularmente a la altura de la calles 124-117 en los suelos aledaños al humedal se encuentran arbustos de pino cuyas hojas en el suelo forman una capa de mantillo de agujas de pino, mientras que en el tercer sector donde se realizaron los muestreos se encuentran algunos arboles rodeados principalmente por los pastos “grama gruesa” (*Pennisetum clandestinum*). El pH determinado en las aguas y suelos del Rio Juan Amarillo evidencia las problemáticas del sector por un lado la modificación hidráulica del rio por la construcción de jarillones y por otra, la contaminación que sufre



el río por la adición de vertimientos domésticos, industriales fuentes relacionadas con la alta densidad de ocupación y producción urbana y otras como el pastoreo de animales.

7.1

Actividad Deshidrogenasa

Los resultados obtenidos en los suelos y sedimentos tomados en el Sistema Córdoba - Juan Amarillo para esta actividad (μg de TPF/g suelo seco $\cdot\text{h}$) se muestran en la grafica 1 (Humedal Córdoba) y 2 (Río Juan Amarillo) y los valores correspondientes en la tabla 2.

Grafica 1. (Izq) Actividad Deshidrogenasa en sedimentos y suelos aledaños al Humedal Córdoba. Grafica 2. (Der) Actividad Deshidrogenasa en sedimentos y suelos aledaños al Río Juan Amarillo. Las columnas corresponden al promedio de tres replicas y las barras a su desviación estándar.

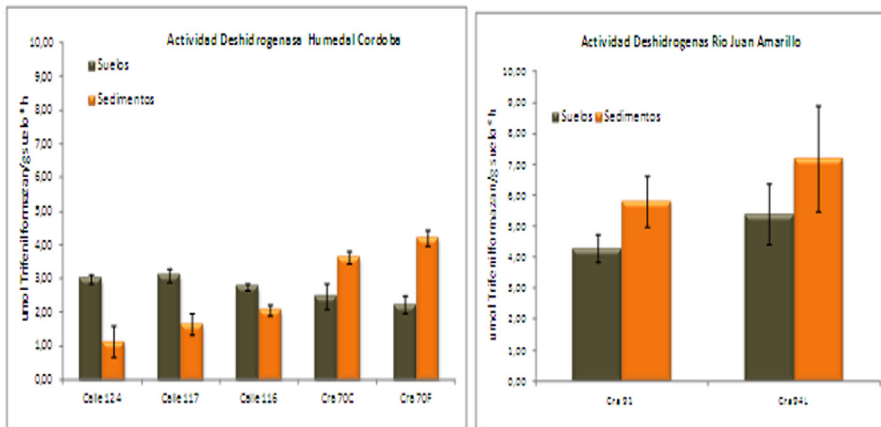


Tabla 2. Actividad Deshidrogenasa (μg de TPF/g suelo seco*h) valores promedio (3 réplicas)

Cordoba/Promedio	Calle 124	Calle 117	Calle 116	Cra. 70C	Cra.70F
Suelos	2,99	3,10	2,76	2,47	2,22
Sedimentos	1,13	1,66	2,08	3,63	4,21

Juan A/promedio	Cra. 91	Cra. 94L
Suelos	4,28	5,39
Sedimentos	5,79	7,19

Cordoba/Promedio	Calle 124	Calle 117	Calle 116	Cra. 70C	Cra.70F
Suelos	0,14	0,20	0,09	0,37	0,25
Sedimentos	0,46	0,30	0,16	0,17	0,23

Juan A/promedio	Cra. 91	Cra. 94L
Suelos	0,44	0,98
Sedimentos	0,82	1,71

Se encontró que la actividad deshidrogenas fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en los sedimentos tomados en el tercer sector del Humedal Córdoba (Cra 70C-70F) en relación con la misma evaluada en los sedimentos tomados en el segundo sector (Calle 124-116). No hubo diferencias significativas entre las medidas tomadas en los suelos aledaños al Humedal. En el segundo sector los suelos presentaron una actividad significativamente mayor en relación a la de los sedimentos tomados en el mismo lugar, mientras que en el tercer sector se observó lo contrario. No se encontraron diferencias significativas entre las medidas tomadas en las muestras de suelos y sedimentos colectados del río Juan Amarillo, pero dicha actividad es alrededor del doble frente a la misma determinación para el Humedal Córdoba, lo que se puede relacionar directamente con el incremento de pH en el sistema y las problemáticas que presenta el río Juan Amarillo. Esta actividad puede responder (Jezierska-Tys y Fr \square c, 2009) a incrementos en la concentración de amonio NH_4^+ y el pH, por la aplicación diaria de diferentes dosis de lodos residuales ricos en carbono y nitrógeno.



La variación de la actividad deshidrogenasa de los suelos refleja el estatus de degradación/rehabilitación de los terrenos (Doi y Ranamukhaarachchi, 2009) se ha encontrado correlación significativa con la disminución de la densidad y el aumento de la capacidad de campo, siendo un criterio para medir dicho estatus en los suelos. La actividad deshidrogenasa se considera como medida de la actividad microbiana y una técnica superior a las que involucran un umbral de observación, como por ejemplo los recuentos de un grupo microbiano objetivo por número más probable (Soares et al., 2006), además que dicha medida responde a los gradientes ambientales, sirviendo como una medida integrativa de la calidad de los suelos. Dado lo anterior, esta actividad es ampliamente aplicada (Maliszewska-Kordybuch y Smreczek, 2003) en pruebas ecotoxicológicas en suelos.

Se ha encontrado (Weaver et al., 2011) mas del doble de la actividad en humedales construidos frente a humedales naturales no disturbados, acompañada de una disminución en la diversidad microbiana un descenso en las poblaciones de hongos e incrementos en bacterias gran-positivas, también es un indicador sensible para medir toxicidad por metales pesados y contaminantes orgánicos (Gianfreda et al., 2005; Zhou et al., 2005; Wua et al, 2008; Peruzzi et al., 2011) junto con la actividad fosfatasa, así como otros parámetros como bacterias totales y respiración. La incorporación de lodos de aguas residuales urbanas tiene un efecto sobre la actividad microbiana por el incremento de nutrimentos, ellas contienen niveles apreciables de nitrógeno (amonio, nitritos nitratos), fósforo y micronutrientes como Fe, Cu y Zn, que pueden se eliminados al ser irrigados al suelo controladamente (Brzezińska et al., 2001) ya que, el suelo puede actuar como una especie de filtro natural (Chen et al., 2008). Sin embargo, altas dosis de dichos residuos también inhiben la actividad microbiana (Singh y Agrawal, 2008) dada la presencia de metales pesados y sustancias toxicas que deben ser considerados prioridad para su biorremediación, la presencia de dichas sustancias en los suelos lleva a las poblaciones lo habitan a estrés (Vieira et al., 2003) lo que se evidencia por el incremento la tazas metabólicas de (CO_2). Se ha observado inhibición de las actividades deshidrogenasa y fosfatasa acida en respuesta a la contaminación con metales pesados y se reporta (Carreira et al,



2008) y la recuperación de la mismas después de restauración de la vegetación en planicies inundables del río.

7.2

Actividad Fosfatasa alcalina

Los resultados obtenidos en los suelos y sedimentos tomados en el Sistema Córdoba - Juan Amarillo para esta actividad (μmol de p -nitrofenol/g suelo seco \cdot h) se muestran en la grafica 3 (Humedal Córdoba) y 4 (Rio Juan Amarillo) y los valores correspondientes en la tabla 3.

Grafica 3. (Izq) Actividad Fosfatasa Alcalina en sedimentos y suelos aledaños al Humedal Córdoba. Grafica 4. (Der) Actividad Fosfatasa Alcalina en sedimentos y suelos aledaños al Rio Juan Amarillo. Las columnas corresponden al promedio de tres replicas y las barras a su desviación estándar

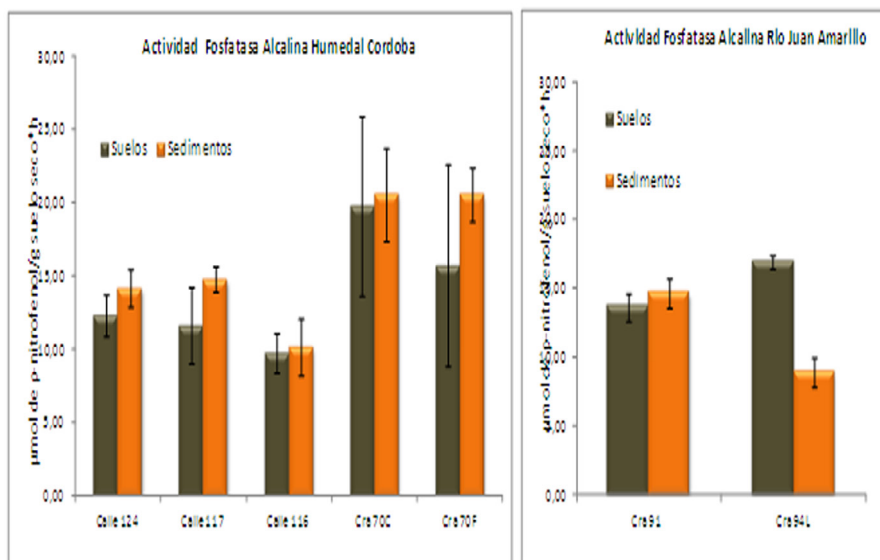


Tabla 3. Actividad Fosfatasa Alcalina ($\mu\text{mol de } \rho\text{-nitrofenol/g}$ suelo seco*h) Valores promedio (3 réplicas)

Cordoba/Promedio	Calle 124	Calle 117	Calle 116	Cra. 70C	Cra.70F
Suelos	12,34	11,63	9,75	19,78	15,73
Sedimentos	14,20	14,80	10,18	20,62	20,56

Juan A/promedio	Cra. 91	Cra. 94L
Suelos	13,68	16,95
Sedimentos	14,70	8,91

Cordoba/Desvest	Calle 124	Calle 117	Calle 116	Cra. 70C	Cra.70F
Suelos	1,42	2,64	1,35	6,09	6,89
Sedimentos	1,27	0,85	1,93	3,15	1,84

Juan A/Desvest.	Cra. 91	Cra. 94L
Suelos	0,98	0,48
Sedimentos	1,04	1,05

Se encontró que la actividad fosfatasa alcalina fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en los sedimentos tomados en el tercer sector del Humedal Córdoba, en relación con la misma evaluada en los sedimentos y suelos tomados en el segundo sector. En general no hubo diferencias significativas al comparar las medidas tomadas en los suelos aledaños al Humedal, solamente para las muestras de suelos tomadas en el en el tercer sector a la altura de la carrera 70C la actividad fue significativamente mayor frente a la encontrada en los suelos del segundo sector a la altura de la calle 116. En el Rio Juan Amarillo se encontró una actividad significativamente menor ($p < 0.05$) en los sedimentos tomados a la altura de la carrera 94L, frente a las demás determinaciones realizadas en este lugar. Se puede observar relación entre el incremento del pH en aguas y suelos y el incremento de la actividad, el pH es uno de los factores determinantes en la actividad microbiana (Güsewell y Freeman, 2005); las modificaciones que la urbanización han dado a los ecosistemas del sistema Córdoba-Juan Amarillo como la fragmentación del humedal, la disminución de vegetación en el tercer sector y la construcción del jarillón y la contaminación se pueden relacionar con el incremento en las actividades fosfatasa y deshidrogenasa. Se ha reportado que (Kang y



Stanley, 2005) la construcción de diques trae consigo modificaciones hidrológicas, cambios en la composición vegetal, cambios en la disponibilidad de agua y la química de los suelos inundables y por tanto cambios en la dinámica de la materia orgánica, factores que se pueden relacionar con incrementos significativo en las actividades deshidrogenasa, fosfatasa y glucosidasa.

7.3

Actividad Fosfatasa ácida

Los resultados obtenidos en los suelos y sedimentos tomados en el del Sistema Córdoba - Juan Amarillo para esta actividad (μmol de p -nitrofenol/g suelo seco \cdot h) se muestran en la grafica 5 (Humedal Córdoba) y 6 (Rio Juan Amarillo) y los valores correspondientes en la tabla 4.

Grafica 5. (Izq) Actividad Fosfatasa Acida en sedimentos y suelos aledaños al Humedal Córdoba. Grafica 6. (Der) Actividad Fosfatasa Acida en sedimentos y suelos aledaños al Rio Juan Amarillo. Las columnas corresponden al promedio de tres replicas y las barras a su desviación estándar

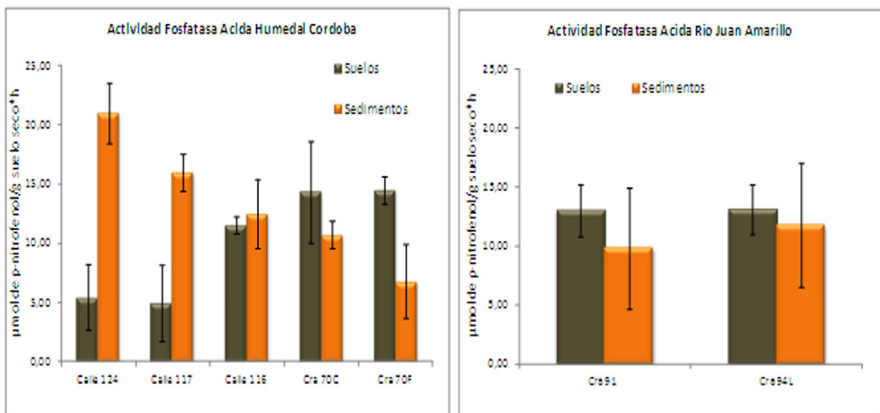


Tabla 4. Actividad Fosfatasa Acida ($\mu\text{mol de } \rho\text{-nitrofenol/g suelo seco} \cdot \text{h}$) Valores promedio (3 réplicas)

Cordoba/Promedio	Calle 124	Calle 117	Calle 116	Cra. 70C	Cra.70F
Suelos	5,44	4,92	11,52	14,32	14,46
Sedimentos	14,20	14,80	10,18	20,62	20,56

Juan A/promedio	Cra. 91	Cra. 94L
Suelos	12,99	13,10
Sedimentos	9,82	11,74

Cordoba/Desvest	Calle 124	Calle 117	Calle 116	Cra. 70C	Cra.70F
Suelos	2,75	3,25	0,71	4,30	1,16
Sedimentos	2,56	1,56	2,92	1,18	3,17

Juan A/Desvest.	Cra. 91	Cra. 94L
Suelos	2,16	2,13
Sedimentos	5,14	5,28

Se encontró que la actividad fosfatasa ácida fue significativamente la mayor ($p < 0.05$) en los sedimentos tomados en el segundo sector del Humedal Córdoba a la altura de las calle 124, frente a la misma determinada en los demás sedimentos del humedal. También la actividad encontrada en los sedimentos tomados a la altura de la calle 117 (segundo sector) fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que la de los sedimento tomados a la altura de la carrera 70F (tercer sector). Por el contrario, los suelos aledaños al humedal tomados a la altura de las calles 124 y 117 presentaron una actividad significativamente menor, frente a la de los demás suelos tomados en el humedal. No hubo diferencias significativas entre las medidas determinadas en los sedimentos y suelos del Rio Juan Amarillo y dicha actividad es similar a la encontrada en el tercer sector del humedal. La actividad fosfatasa en suelos esta dada por las enzimas microbianas (fosfatasa alcalina) y la enzimas excretadas por la raíces de las plantas (fosfatasa ácida), dicha actividad puede ser estimulada por el sustrato (Gressel y McColl, 2003) compuestos orgánicos de fósforo, aunque no se ha observado (Güsewell y Freeman, 2005) una relación directa con la limitación de fósforo. El comportamiento de la actividad estudiada en el sistema Córdoba-Juan Amarillo se puede atribuir a que por una parte el pH de



aguas y suelos es menor en el segundo sector del humedal frente al encontrado en el resto de la porción del sistema que se estudió y por otra, en los sedimentos del segundo sector se encuentra diversidad de vegetación acuática, que se pierde en el tercer sector debido a la fragmentación del humedal y en el río Juan amarillo encontramos la mayor afectación del sistema por las problemáticas mencionadas anteriormente. El tipo de vegetación incrementa la actividad, ya que se ha reportado (Gagnon et al., 2007; Yang et al., 2008) en investigaciones para evaluar la posible producción de enzimas por especies macrófitas en humedales construidos y su interacción con los contaminantes, que la densidad y actividad microbiana es mayor en presencia de dichas plantas y que es posible relacionar la actividad microbiana, el crecimiento vegetal y las tasas de remoción de materia orgánica. Dado que, en las superficies radiculares están presentes gran diversidad de bacterias aerobias y facultativas envueltas en biopelículas, se recomienda (Peruzzi et al., 2011) introducir diferentes especies de macrófitas acuáticas para incrementar la actividad microbiana y estudiar el efecto de la especie vegetal sobre la misma, por ejemplo para incrementar la eficiencia en humedales construidos para el tratamiento de lodos de aguas residuales y contaminación por metales pesados.

7.4

Actividad o-difenol oxidasa

Los resultados obtenidos en los suelos y sedimentos tomados en el Sistema Córdoba - Juan Amarillo para esta actividad ($\mu\text{mol catecol oxidado/g suelo seco}\cdot\text{h}$) se muestran en la grafica 7 (Humedal Córdoba) y 8 (Río Juan Amarillo) y los valores correspondientes en la tabla 5.



Grafica 7. (Izq) Actividad o-difenol oxidasa en suelos aledaños al Humedal Córdoba. Grafica 8. (Der) Actividad o-difenol oxidasa en suelos aledaños al Rio Juan Amarillo. Las columnas corresponden al promedio de tres replicas y las barras a su desviación estándar

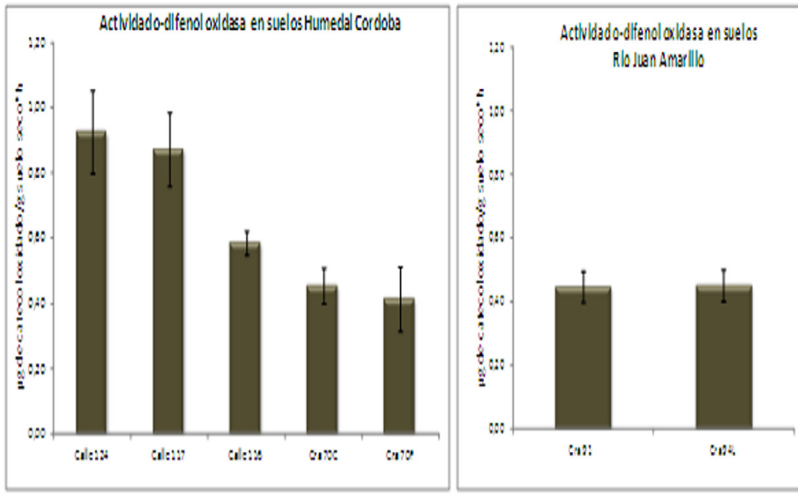


Tabla 5. Actividad o-difenol oxidasa (μg de catecol oxidado/g suelo seco*h) Valores promedio (3 réplicas)

	CÓRDOBA					JUAN AMARILLO	
	Calle 124	Calle 117	Calle 116	Cra 70C	Cra 70F	Cra 91	Cra 94L
Promedio	0,93	0,87	0,59	0,45	0,41	0,45	0,45
Desvest	0,13	0,11	0,04	0,06	0,10	0,05	0,05

La actividad determinada en las muestras de suelo colectadas a la altura de las calles 124 y 117 (segundo sector) fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) a las demás medidas tomadas en el humedal. En el Rio Juan amarillo la actividad fue similar a la encontrada en los suelos del tercer sector del humedal. Como se menciona anteriormente en los suelos tomados a la altura de la calle 124 y 117 se encuentran arbustos de pino formando un matillo de agujas de pino, debido al contenido fenólicos de este material vegetal resulta recalcitrante.



La *o*-difenol oxidasa cataliza la oxidación de compuestos fenólicos a catecol (Perucci et al., 2000) proporcionando una medida de la capacidad de la microflora para degradar materiales potencialmente recalcitrantes, la actividad deshidrogenasa se relaciona con el estado metabólico de las poblaciones microbianas (García et al., 1997). La relación entre estas dos actividades proporciona información acerca de respuesta de las comunidades microbianas a la presencia de estos compuestos. Los polifenoles, el catecol y el metil catecol son compuestos tóxicos inclusive para los microorganismos (Capasso et al., 1995; Ramos-Cormenzana et al., 1996) y posee efecto inhibitorio en general sobre otras enzimas (Freeman et al., 2004), efecto que se pudo observar en este estudio sobre las fosfatasa, pero no sobre la actividad deshidrogenasa, lo que indica un proceso de degradación en el mantillo localizado en el segundo sector del humedal Córdoba. Se ha observado (Benítez et al., 2004) incrementos en la actividad deshidrogenasa y en la *o*-difenol oxidasa en respuesta a la adición de residuos compostados de la industria de la oliva ricos en polifenoles. También se ha identificado que la disponibilidad de oxígeno (Kang et al., 2009) incrementa la actividad dado que participa en la reacción, así como el pH (6-7) y el contenido de fenoles disueltos (Toberman et al., 2010) son cruciales en la regulación de la actividad *o*-difenol oxidasa. Sin embargo, la disminución de la actividad en tercer sector del humedal y en el río Juan Amarillos se puede relacionar con la disminución de la diversidad vegetal y la introducción de residuos urbanos al sistema. La actividad fenoloxidasa esta relacionada con la tasa degradación vegetal en el mantillo, por lo que está influenciada directamente con el tipo de vegetación y su expresión está ligada a la disponibilidad de nutrientes. Se ha observado (Monkiedje et al., 2006) que el incremento de nutrientes (nitrógeno y fósforo) en el suelo, por diferentes prácticas agrícolas orgánicas y convencionales, tienen efectos negativos sobre la actividad fenol oxidasa. En ecosistemas acuáticos naturales la introducción de dichos nutrientes, tienen influencia negativa sobre la actividad fenol oxidasa (Penton y Newman, 2008) la que se vio acompañada de disminución en la diversidad vegetal. Se puede decir que las tres enzimas determinadas en el Humedal Córdoba responden a la fragmentación del humedal, y que están relacionadas con el aumento en el pH de aguas y suelos, además con la reducción en



la diversidad de la vegetación entre el segundo y tercer sector, como también con la reducción del espejo de agua.

7.5

Fracción de carbono activo

Los resultados obtenidos en los suelos y sedimentos tomados en el del Sistema Córdoba - Juan Amarillo para el carbono activo (mg C/Kg suelo seco) se muestran en la grafica 9 (Humedal Córdoba) y 10 (Rio Juan Amarillo) y los valores correspondientes en la tabla 6.

Grafica 9. Fracción de Carbono Activo en sedimentos y suelos aledaños al Humedal Córdoba. Las columnas corresponden al promedio de tres replicas y las barras a su desviación estándar.
Grafica 10. Fracción de Carbono Activo en sedimentos y suelos aledaños al Rio Juan Amarillo. Las columnas corresponden al promedio de tres replicas y las barras a su desviación estándar

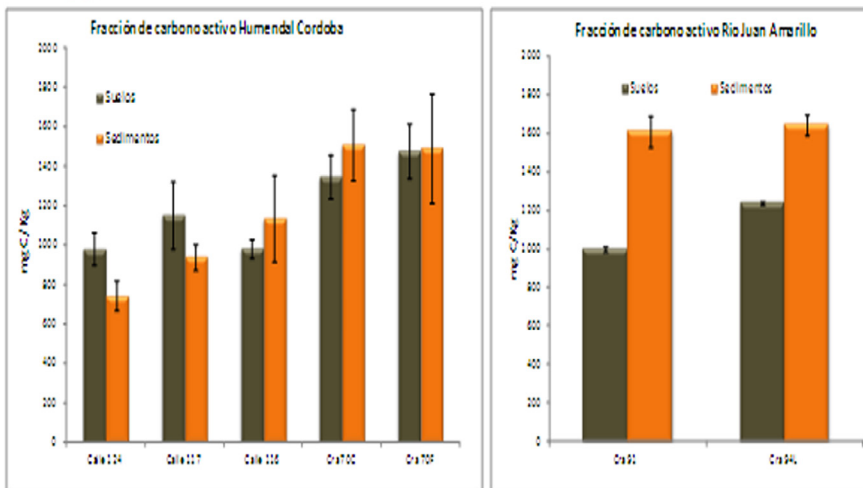


Tabla 6. Fracciones de carbono activo (mg C/Kg suelo seco*h) valores promedio (3 réplicas)

Cordoba/Promedio	Calle 124	Calle 117	Calle 116	Cra. 70C	Cra.70F
Suelos	980,37	1153,66	981,77	1344,54	1475,14
Sedimentos	14,20	14,80	10,18	20,62	20,56

Juan A/promedio	Cra. 91	Cra. 94L
Suelos	996,23	1238,15
Sedimentos	1608,29	1642,10

Cordoba/Desvest	Calle 124	Calle 117	Calle 116	Cra. 70C	Cra.70F
Suelos	79,52	170,16	48,54	111,37	139,11
Sedimentos	75,15	66,76	219,24	183,24	276,71

Juan A/Desvest.	Cra. 91	Cra. 94L
Suelos	12,34	7,45
Sedimentos	79,72	52,18

Se encontró una cantidad de carbono activo significativamente mayor ($p < 0.05$) en los sedimentos y suelos del tercer sector del humedal, frente a las mismos encontrados en el segundo del segundo sector, con excepción del carbono activo hallado en los suelos colectado a la altura de la calle 117, dado que no presentaron diferencias significativas con los suelos y sedimentos del tercer sector del humedal. Los contenidos de carbono activo en los suelos y sedimentos del río Juan Amarillo son similares a los encontrados en el tercer sector del humedal. En general no hay diferencias en el carbono activo entre suelos y sedimentos tomados en un mismo punto del humedal, pero en cambio en el río Juan Amarillo se encontraron contenidos de carbono activo significativamente mayores en los sedimentos frente a los mismos encontrados en los suelos.

Posiblemente existe una relación entre la actividad deshidrogenasa y los contenidos de carbono activo que se determinaron en el sistema Córdoba-Juan Amarillo, relación que anteriormente ha sido documentada (Caravaca et al., 2005; Jezierska-Tys y Franc, 2009; Peruzzi et al., 2011), también se han observado (Monkiedje et al., 2006) incrementos



en las actividades en relación al incremento de nutrientes (carbono y nitrógeno) por adición de enmiendas orgánicas en suelos agrícolas. La introducción de de materiales orgánicos derivados de residuos urbanos trae consigo aumento en los contenidos de carbono y así como aumento en las actividades fosfatasa y deshidrogenasa (Gianfreda et al., 2005; Singh y Agrawal, 2008) actividades que también responden a gradientes por el mismo tipo de contaminación, en humedales (Hill et al., 2006). Por otra parte, la canalización de los ríos trae consigo modificaciones en la disponibilidad de agua para los suelos aledaños y en la química de los suelos, así como modificaciones en la estructura de las comunidades vegetales, mostrando (Kang y Stanley, 2005) que dichos cambios llevaron a un incremento significativo en las actividades deshidrogenasa, α -glucosidasa y fosfatasa, también la modificación en el régimen hídrico tienen influencia en la composición vegetal y en la dinámica de la materia orgánica. La actividad deshidrogenasa fue el indicador que mejor distingue la afectación de los diferentes puntos de muestreo que se tomaron el sistema Córdoba Juan Amarillo, actividad que anteriormente se pudo establecer (Cerón y Ramírez, 2011) como indicador relacionado con el gradiente de contaminación presente en la cuenca alta de río Arzobispo en Bogotá D.C. También se pudo observar que las fosfatasas pueden responder al gradiente de pH encontrado a través del tramo donde se realizó el estudio y no a los contenidos de carbono, anteriormente se ha visto (Shackle et al., 2000) que dichas enzimas no se incrementan por la adición de carbono presentes en suelos de humedales construidos. El aumento del pH en a lo largo de la porción del sistema objeto de este estudio, esta relacionado con el aumento del efecto de la urbanización como se mencionó anteriormente, disminución en la diversidad de la vegetación y aumento del las descargas de residuos urbanos y actividades como el pastoreo de animales. Se ha postulado (Beare et al., 1995) que al incrementarse la diversidad comunidad vegetal se puede contribuir al enriquecimiento de la fertilidad del suelo y de su estructura ecológica, también se han reportado (Kang y Freeman, 1999; Acosta-Martinez y Tabatabai, 2000; Canet et al., 2000; Gianfreda et al., 2005) correlaciones significativas positivas y negativas de las actividades del suelo con el pH.



Los humedales proporcionan muchas funciones críticas en los ecosistemas urbanos, que incluyen hábitat de fauna y mejoramiento de la calidad del agua. Existe interés en restaurar o construir humedales para incrementar dichas funciones dado la escala y extendida pérdida de los humedales y los problemas de calidad de agua debido a la urbanización. Las características físicas, químicas y biológicas de los humedales cambian constantemente en función de los disturbios, por lo que se genera gran interés en definir el umbral al cual un efecto significativo que ponga en peligro la integridad biológica o de la calidad del agua. Por otra parte no existe un consenso claro acerca de los indicadores apropiados de las condición ecológica ni un “gold standard” (Brown et al., 2010) a la hora de medir la contaminación de los sedimentos y su efecto biológico, dado que es necesario establecer que factores tienen influencia directa en la actividad microbiana, dado que es esencial para los procesos de biodegradación, adsorción y para evitar la acumulación de materia orgánica e inorgánica.







Conclusiones

A medida que el sistema está más intervenido incrementa el pH tanto en suelos y aguas, la fragmentación del Humedal Córdoba va acompañada de un cambio en la vegetación, en el segundo sector se encuentra mas diversidad de vegetación acuática y terrestre arboles mientras que en el tercer sector donde se realizaron los muestreos se encuentran algunos arboles rodeados principalmente por los pastos “grama gruesa” (*Pennisetum clandestinum*).

El pH determinado en las aguas y suelos del Rio Juan Amarillo evidencia las problemáticas del sector por un lado la modificación hidráulica del rio por la construcción de jarillones y por otra, la contaminación.

La actividad deshidrogenasa fue el indicador que mejor distingue la afectación de los diferentes puntos de muestreo que se tomaron el sistema Córdoba Juan Amarillo, posiblemente existe una relación entre está, la actividad fosfatasa alcalina y los contenidos de carbono activo que se determinaron en el sistema.

El comportamiento de actividades fosfatasa alcalina y ácida en el sistema Córdoba-Juan Amarillo se puede atribuir a que, por una parte, el pH de aguas y suelos es menor en el segundo sector del humedal frente al encontrado en el resto de la porción del sistema que se estudió



Las modificaciones que la urbanización han dado a los ecosistemas del sistema Córdoba-Juan Amarillo como la fragmentación del humedal, la disminución de vegetación en el tercer sector y la construcción del jarillón y la contaminación se pueden relacionar con el incremento en las actividades fosfatasa y deshidrogenasa.

El comportamiento de actividades fosfatasa alcalina y ácida en el sistema Córdoba-Juan en los sedimentos del segundo sector se encuentra diversidad de vegetación acuática, que se pierde en el tercer sector debido a la fragmentación del humedal y en el río Juan amarillo encontramos la mayor afectación del sistema por las problemáticas mencionadas anteriormente.

La presencia de un mantillo de agujas de pino en los suelo del segundo sector del humedal Córdoba estimuló la actividad α -difenol oxidasa y puede tener un efecto negativo sobre las fosfatasas, pero no sobre la actividad deshidrogenasa, lo que indica un proceso de degradación activo en el mantillo localizado en el segundo sector del humedal Córdoba.

La disminución de la actividad α -difenol oxidasa en tercer sector del humedal y en el río Juan Amarillos se puede relacionar con la disminución de la diversidad vegetal y la introducción de residuos urbanos al sistema

Se puede decir que las tres enzimas determinadas en el Humedal Córdoba responden a la fragmentación del humedal, que están relacionadas con el aumento en el pH de aguas y suelos, con la reducción en la diversidad de la vegetación entre el segundo y tercer sector y también con la reducción del espejo de agua.

Con este estudio fue posible comparar el estado de dos cuencas (sistema Córdoba-Juan Amarillo) urbanas del sistema hídrico de Bogotá D. C., se recomienda el uso de dichas actividades como parámetro de recuperación en programas de manejo ambiental para el sistema.





Recomendaciones

Como se mencionó anteriormente los humedales proporcionan muchas funciones críticas en los ecosistemas urbanos, que incluyen habitación de fauna y mejoramiento de la calidad del agua. Con este estudio fue posible comparar el estado de dos cuencas urbanas (sistema Córdoba-Juan Amarillo) del sistema hídrico de Bogotá D. C. a través de la estimación de algunos indicadores de salud y calidad de suelos, se puede decir que las tres enzimas determinadas en el Humedal Córdoba responden a la fragmentación del humedal y que la actividad deshidrogenasa fue el indicador que mejor distingue la afectación de los diferentes puntos de muestreo que se tomaron el sistema Córdoba Juan Amarillo, así que estos parámetros pueden servir para el monitoreo de los recursos, ya que tienen relación con as diferentes problemáticas encontradas en las cuencas

Existe interés en restaurar o construir humedales para incrementar dichas funciones dado la escala y extendida pérdida de los humedales y los problemas de calidad de agua debido a la urbanización. Esta restauración debe estar monitoreada a través de indicadores que relacionen las propiedades del sistema con la actividad microbiana, dado que es esencial para los procesos de biodegradación, adsorción y para evitar la acumulación de materia orgánica e inorgánica.

Por otra parte no existe un consenso claro acerca de los indicadores apropiados de las condición ecológica ni un “gold standard” (Brown



et al., 2010) a la hora de medir la contaminación de los sedimentos y su efecto biológico, dado que es necesario establecer que factores tienen influencia directa en la actividad microbiana, los indicadores bioquímicos y biológicos determinados en este estudio son un ejemplo de ello.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta-Martinez, V., Tabatabai, M.A. 2000. Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biology and Fertility of Soils*. 31:85–91.

Benítez, E., Melgar, R., Nogales, R. 2004. Estimating soil resilience to a toxic organic waste by measuring enzyme activities. *Soil Biology & Biochemistry*. 36: 1615–1623.

Blair, G.J., Lefroy, R.D.B., Lisle, L. 1995. Soil carbon fraction based in their degree of oxidation and the development of a carbon management index for agricultural systems. *Australian Journal of Agricultural Research*. 46: 1459-1466.

Brown, J.S., Sutula, M., Stransky, C., Rudolph, J., Byron, E. 2010. Sediment Contaminant Chemistry and Toxicity of Freshwater Urban Wetlands in Southern California. *Journal of the American Water Resources Association*. 46: 367-385.

Brzezińska, M., Stopniewska, Z., Stopniewski, W. 2001. Dehydrogenase and Catalase Activity of Soil Irrigated with Municipal Wastewater. *Polish Journal of Environmental Studies* 10: 307-311.

Beare, M.H., Coleman, D.C., Crossley, D.A., Hendrix, P.F., Odum, E.P. 1995. A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling. *Plant and Soil*. 170: 5-22.

Burns, R.G. 1982. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology and Biochemistry* 14: 423-427.

Canet, R., Albiach, R., Pomares, F. 2000. Indexes of Biological Activity as Tools for Diagnosing Soil Fertility In Organic Farming. In: Garcia C, Hernández T, editors. *Research and Perspectives Of Soil Enzymology in Spain*. Murcia, Spain 7 Cebas-CSIC; p. 27– 39.



Capasso, R., Evidente, A., Schivo, L., Orru, G., Marcialis, M.A., Cristinzio, G., 1995. Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters. *Journal of Applied Bacteriology*. 79: 393–398.

Caldwell, B.A. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia* 49: 637-644.

Carreira, J.A., B. Viñepla, R. García-Ruiz, V. Ochoa, M.B. Hinojosa. 2008. Recovery of biochemical functionality in polluted flood-plain soils: The role of microhabitat differentiation through revegetation and rehabilitation of the river dynamics. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 2088–2097.

Casida, L.E.Jr., D.A. Klein y T. Santoro. 1964. Soil Dehydrogenase Activity. *Soil Science* 98(6), 371-376.

Caravaca, F., Alguacil, M.M., Torres, P., Roldán, A., 2005. Plant type mediates rhizospheric microbial activities and soil aggregation in a semiarid Mediterranean salt marsh. *Geoderma* 124, 375–382.

Castaño, M. 2002. Verdades sobre el Humedal de Córdoba. Entre Juncos Boletín de la Red de Humedales de la Sabana de Bogotá. No. 5. p.p 3

Cerón Rincón, L.E., L.M. Melgarejo. 2005. Enzimas de suelo: indicadores de salud y calidad. *Acta Biológica Colombiana* 10(1), 5-17.

Cerón Rincón, L.E., y Ramírez, E. 2011. Actividad microbiana en el Río Arzobispo. *Agronomía Colombiana*. (En prensa).

Chen, W., L. Wu, W.T.Jr. Frankenberger, y A.C. Chang. 2008. Soil Enzyme Activities of Long-Term Reclaimed Wastewater-Irrigated Soils. *Journal of Environmental Quality*. 37: S-36-S-42

Dick A., y M.A. Tabatabai. 1992. Significance and Potential Use of Soil Enzymes. En: Meeting, FJB (Ed.). *Soil Microbial Ecology: Applications*



in Agriculture and Environmental Management. Marcel Dekker, NY, USA, 95-127.

Doi, R., y Ranamukhaarachchi, S.L. 2009. Soil dehydrogenase in a land degradation-rehabilitation gradient: observations from a savanna site with a wet/dry seasonal cycle. *Revista de Biología Tropical*. 57: 223-234.

Doran J.W. 2002. Soil Health and Global Sustainability Translating Science into Practice. *Agriculture Ecosystems Environment* 88, 119-127.

Doran, J.W., Zeiss, M.R. 2000. Soil Health and Sustainability: Managing the Biotic Component of Soil Quality. *Applied Soil Ecology*. 15: 3-11.

Eivazi, F., Tabatabai, M.A. 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 9: 167-172.

Vieira, R.F., y Silva, C.M. 2003. Soil amendment with sewage sludge and its impact on soil microflora. *Brazilian Journal of Microbiology*. 34 (Supl.1):56-58

Freeman, C., Ostle, N.J., Fenner, N., Kang, H. 2004. A regulatory role for phenol oxidase during decomposition in peatlands. *Soil Biology & Biochemistry*. 36:1663-1667

Gagnon, V., Chazarenc, F., Comeau, Y., Brisson, J. 2007. Influence of macrophyte species on microbial density and activity in constructed wetlands. *Water Science and Technology*. 56 (3): 249-254.

García, C., Hernández, T., Costa, F., 1997. Potencial use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Communications in Soil Science and Plant Analyses*. 28: 123-134.

Gianfreda, L., Rao, M.A., Piotrowska, A., Palumbob, G., Colombob, C. 2005. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations:



intensive agricultural practices and organic pollution. *Science of the Total Environment*. 341: 265– 279

Gressel, N., y McColl, J.G. 2003. Phosphorus mineralisation and organic matter decomposition: a critical review. *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition* (eds G.Cadisch & K.E.Giller), pp. 297–309. CAB International, Wallingford, UK.

Güsewell, S., y Freeman, C. 2005. Nutrient limitation and enzyme activities during litter decomposition of nine wetland species in relation to litter N:P ratios. *Functional Ecology*. 19:582–593

Hernández, M.E. 2010. Suelos de Humedales Como Sumideros De Carbono y Fuentes de Metano. *Terra Latinoamericana*. 28: 139-147.

Hill, B.H., Elonen, C.M., Jicha, T.M., Cotter, A.M., Trebitz, A.S., Danz, N.P. 2006. Sediment microbial enzyme activity as an indicator of nutrient limitation in Great Lakes coastal wetlands. *Freshwater Biology*. 51: 1670–1683.

Jeziarska-Tys, S. y M. Franc. 2009. Impact of dairy sewage sludge on enzymatic activity and inorganic nitrogen concentrations in the soils. *International Agrophysics*. 23: 31-37.

Kang, H., Lee, S.H., Lee, S.M., Jung, S. 2009. Positive relationships between phenol oxidase activity and extractable phenolics in estuarine soils. *Chemistry and Ecology*. 25(2): 99-106.

Kang, H y E.H. Stanley. 2005. Effects of levees on soil microbial activity in a large river floodplain. *River Research and Applications* 21(1), 19 – 25.

Kang, H., y Freeman, C. 1999. Phosphatase and arylsulphatase activities in wetland soils: annual variation and controlling factors. *Soil Biology and Biochemistry*. 31:449– 54

Kibblewhite, M.G., K. Ritz y J. Swift. 2008. Soil health in agricultural systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 363, 685-701.



Maliszewska-Kordybuch, B., y Smreczek B. 2003. Habitat function of agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination. *Environ Intern.* 28:719–28.

Monkiedje, A., Spiteller, M., Fotio, D., Sukul, P. 2006. The Effect of Land Use on Soil Health Indicators in Peri-Urban Agriculture in the Humid Forest Zone of Southern Cameroon. *Journal of Environmental Quality.* 35: 2402-2409.

Tabatabai, M.A., y J.M. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry.* 1: 301–307.

Palacio, D., Hurtado, R., Garavito. L. 2003. Redes Socio-ambientales en tensión: El caso de la gestión ambiental de los humedales de Bogotá. *REDES- Revista hispana para el análisis de redes sociales.* 4(6):

Penton, C.R., y S. Newman. 2008. Enzyme-Based Resource Allocated Decomposition and Landscape Heterogeneity in the Florida Everglades. *Journal of Environmental Quality* 37, 972–976.

Peruzzi, E. Masciandaro, G., Macci, C., Doni, S., Mora Ravelo, S.G., Peruzzi, P., Ceccanti. B. 2011. Heavy metal fractionation and organic matter stabilization in sewage sludge treatment wetlands. *Ecological Engineering.* 37: 771–778

Perucci, P., C. Casucci y S. Dumontet. 2000. An improved method to evaluate the o-diphenol oxidase activity of soil. *Soil Biology and Biochemistry.* 32(1), 387-399.

Ramos-Cormenzana, A., Juarez-Jimeñez, B., Garcia-Pareja, M.P., 1996. Antimicrobial Activity of Olive Mill Waste-Waters (Alpechin) and Biotransformed Olive Oil Mill Wastewater. *International Biodeterioration and Biodegradation.* 38: 283–290.



Shackle, V.J., Freeman, C., Reynolds, B. 2000. Carbon supply and the regulation of enzyme activity in constructed wetlands. *Soil Biology and Biochemistry*. 32: 1935–1940.

Singh, R.P. y M. Agrawal. 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Management*. 28: 347–358.

Soares, R.A., L.F.W. Roesch, G. Zanatta, F.A. Camargo y L.M.P. Passaglia. 2006. Occurrence and distribution of nitrogen fixing bacterial community associated with oat (*Avena sativa*) assessed by molecular and microbiological techniques. *Applied Soil Ecology*. 33: 221-234.

Toberman, H., Laiho, R., Evans, C.D., Artz, R.R.E., Fenner, N., Strakov, P., Freeman, C. 2010. Long-term drainage for forestry inhibits extracellular phenol oxidase activity in Finnish boreal mire peat. *European Journal of Soil Science*. 61: 950–957

Weaver, M.A., Zablotowicz, R., Larry, K., Martin, L., Charles, B. 2011. Microbial and vegetative changes associated with development of a constructed wetland. *Ecological Indicator*. En prensa.

Weil, R.R., Islam, K.R., Stine, M.A., Gruver, J.B., Samson-Liebig, S.E. 2003. Estimating active carbon for soil quality assessment: A simplified method for laboratory and field use. *American Journal of Alternative Agriculture*. 18: 3-17.

Wu, Y., Tam, N.F.Y., Wong. M.H. 2008. Effects of salinity on treatment of municipal wastewater by constructed mangrove wetland microcosms. *Marine Pollution Bulletin* 57: 727–734

Yang , Q., Tam, N.F.Y., Wong, Y.S., Luan, T.G., Su, W.S., Lan, C.Y., Shin, P.K.S., Cheung. S.G. 2008. Potential use of mangroves as constructed wetland for municipal sewage treatment in Futian, Shenzhen, China. *Marine Pollution Bulletin*. 57: 735–743

Zhou, Q.H., Wu, Z.B., Cheng, S.P., He, F., Fu, G.P., 2005. Enzymatic activities in constructed wetlands and di-n-butyl phthalate (DBP) biodegradation. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1454–1459.



ANEXO PRODUCTOS DE INVESTIGACION

Los resultados de esta investigación se sometieron en la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de acuerdo con las instrucciones para autores. Actualmente la revista está indizada en CIRS (International Center for Scientific Research), Historia Mathematica, Current Mathematical Publications, MathSciNet (on line data base), Mathematical Reviews, Zentralblatt für Mathematik, Index Kewensis, Zoological Record, PERIODICA, Actualidad Iberoamericana, RLG.

Indicadores de Salud y Calidad del Suelo

Propuesta Diseño de Kit

La dilucidación de los mecanismos que median la interacción entre comunidades microbianas edáficas y los procesos del ecosistema requiere del desarrollo de aproximaciones para acercarse a las transformaciones que en él suceden, como parte de un conjunto de indicadores que dé cuenta de las redes o vínculos que existen entre la disponibilidad de recursos, estructura y función de la comunidad microbiana y los procesos del ecosistema. A continuación se ilustra detalladamente la determinación de fósforo disponible y formas de nitrógeno inorgánico y fracciones de carbono activo como medidas base para el desarrollo de un producto (kit diagnóstico) aplicable en campo.

La identificación de medidas que de cuenta del estado de salud y calidad para monitorear su condición y respuesta al manejo y así evitar su degradación. Se ha propuesto un conjunto mínimo de datos,



utilizando propiedades químicas, físicas y biológicas específicas que informan acerca de la funcionalidad y productividad de un ecosistema (Tabla A).

Tabla A. Propiedades del suelo indicadores de salud y calidad

FÍSICAS	QUÍMICAS	BIOLÓGICAS
Estabilidad estructural	pH, Capacidad de intercambio catiónico	Biomasa microbiana (C, N y P)
Distribución de poro	<u>Disponibilidad de nutrientes (fósforo disponible)</u>	Tasa Metabólica
Capacidad de campo	<u>Materia orgánica (carbono orgánico total y activo)</u>	Respiración
Velocidad de infiltración	<u>Nitrógeno mineralizado (formas de nitrógeno orgánico e inorgánico)</u>	Actividades enzimáticas
Textura	Estado de óxido reducción	Organismos indicadores (colémbolos, lombrices, protozoarios, Rhyzobium)
Densidad	Conductividad eléctrica	Diversidad taxonómica y funcional: riqueza abundancia

La dilucidación de los mecanismos que median la interacción entre comunidades microbianas edáficas y los procesos del ecosistema requiere del desarrollo de aproximaciones para acercarse a la diversidad funcional, como parte de un conjunto de indicadores que dé cuenta de las redes o vínculos que existen entre la disponibilidad de recursos, estructura y función de la comunidad microbiana y los procesos del ecosistema.

Las medidas subrayadas en la tabla tienen importantes vínculos con indicadores biológicos que se determinan en laboratorio como las enzimas del suelo, la biomasa microbiana, etc.

Se deben preparar las soluciones de trabajo y estándar de los diferentes métodos, envasar y etiquetar adecuadamente, las etiquetas deben incluir fecha de vencimiento, precauciones de uso toxicidad o precauciones de almacenamiento; incluir materiales de aplicación semicuantitativa para pesos o volúmenes aproximados, además el kit debe incluir un sistema de filtración (jeringas adaptas con filtros) de los extractos de suelos, para posteriormente sobre dichos extractos desarrollar los métodos para las determinaciones. Se deben calibrar las medidas en gotas, mL, etc, y se debe desarrollar la carta de colores correspondiente para cada determinación.



1. DETERMINACIÓN DE FÓSFORO

El método amarillo de molibdovanadato: Se trata de un método sencillo y directo, de sensibilidad media y de elevada precisión. El principal inconveniente es que la sílice interfiere, por lo que hay que eliminarlo completamente. Si se requiere mayor sensibilidad, es preferible el método del azul de heteropoliácido.

Materiales

1. Solución de metavanadato de amonio (Se disuelven 1.25 g de metavanadato de amonio en 200 mL de agua caliente, se espera hasta que la sal se ha disuelto totalmente, agregar 10 mL de ácido nítrico concentrado y diluirlo en 250 mL de agua).
2. Molibdato de amonio, 5 g en 100 mL de agua.
3. Ácido nítrico 6M.
4. Soluciones estandar que contenga 200 ppm de fósforo (Se disuelven 0.2200 g de dihidrogenofosfato de potasio KH_2PO_4 , de peso fórmula 136.1, en agua y se completa hasta 250 mL).
5. Ácido perclórico (60% o 72%), necesario para preparar las muestras.

Procedimiento

1. Tomar porciones de 2.0, 4.0, 6.0, y 8.0 ml del extracto de suelo, 2 gramo (1/2 cucharada) en solución de bicarbonato de sodio 0.5M.
2. Se adicionan en el orden que se indica: 10 mL de ácido nítrico 6M, 10 mL de metavanadato de amonio y 10 mL de molibdato de amonio.



3. Se pasan las soluciones a matraces de 100 mL y se completa volumen.
4. Mezclar bien.
5. Se prepara otra solución sin añadir fosfatos, pero con los mismos reactivos, para servir de ensayo en blanco.
6. Después de transcurridos 20 min, se mide la absorbancia a 400 nm y a 460 nm.

MÉTODO DE BRAY Y KURTZ

En 1945, Bray y Kurtz proponen un método rápido para estimar las formas de fósforo disponible para las plantas. En resumen, el método conocido como Bray se trata de la extracción con una solución mezcla de NH_4F 0,03N y HCl 0,025N, que se basa en el efecto solubilizador del H^+ sobre el P del suelo y la capacidad del ión F^- de bajar la actividad del Al^{+3} , evitando la reabsorción de los fosfatos en el sistema de extracción (Boschetti, 2003). Este método presenta como principal ventaja ser expeditivo, ya que arroja resultados que se encuentran en buena concordancia con la respuesta de los cultivos a la fertilización con fosfatos (Zalba 2002).

Materiales

1. Bray y Kurtz P-Extracción de la solución (0,025 M en HCl NH_4F M 0,03):
 - Disolver 11,11 g de fluoruro de amonio grado reactivo (NH_4F) en 9 litros de agua destilada.
 - Añadir 250 ml de HCl 1M previamente estandarizados y completar el volumen a 10 L con agua destilada.
 - Mezclar bien.



- Ajustar el pH de la solución resultante en $\text{pH } 2,6 \pm 0,05$ realizan con hidróxido de amonio o ácido clorhídrico (NH_4OH).
- Conservar en bombonas de polietileno hasta su uso

Procedimiento

1. Pesar 2 g de suelo en un dispositivo de 50 ml.
2. Añadir 20 ml de solución extractora en cada matraz y agitar vigorosamente durante 5 minutos.
3. Filtrar los extractos a través de del sistema de filtración adaptado al kit.
4. Filtrar de nuevo si los extractos no son claros.
5. Comparar con la carta de color.

Alto contenido	Medio contenido	Bajo contenido
----------------	-----------------	----------------

MÉTODO DE OLSEN

Este método fue desarrollado por Sterling R. Olsen y compañeros de trabajo en 1954 (Olsen et al., 1954) para predecir la respuesta del cultivo a los fertilizantes P insumos en suelos calcáreos particularmente aquellos con carbonato de calcio más de 2%, pero se ha demostrado en algunas investigaciones que es un método eficaz para suelos ácidos (Fixen y Grove, 1990).

El método se basa en el uso del HCO_3^- , CO_3^{2-} y una solución de NaHCO_3 0,5 M de pH 8,5 que descenso de las concentraciones de Ca^{2+} soluble por precipitación con CaCO_3 Al^{3+} y de Fe soluble y $+3$ por la formación de Al y oxihidróxidos de Fe, se aumenta la solubilidad P. El aumento de la superficie de cargas negativas y / o disminución



del número de sitios de adsorción de óxido de Fe y Al en niveles de pH alto también mejorar la desorción de P disponible en la solución.

Materiales

1. Solución de extracción Olsen P (NaHCO_3 0,5 M, pH 8,5): Disolver 420 g grado de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) en agua destilada y completar hasta un volumen final de 10 L.
2. Ajuste la extracción de solución de pH a 8.5 con hidróxido de sodio al 50%.

Procedimiento

1. pesar 1 g de suelo en un dispositivo de 50 ml.
2. Añadir 20 ml de solución extractora en cada uno de los dispositivos y agitar vigorosamente durante 10 minutos.
4. Filtrar los extractos a través del sistema diseñado.
5. Filtrar de nuevo si los extractos no son claros.
6. Comparar con la carta de color.

Alto contenido	Medio contenido	Bajo contenido
----------------	-----------------	----------------



2. DETERMINACIÓN DE NITRATOS:

METODO DE DIFENILAMINA EN MEDIO SULFÚRICO. (Hernández, 2009)

En la gran mayoría de suelos, el nitrógeno inorgánico combinado se encuentra en forma de ión NH_4^+ o NO_3^- . La determinación de nitratos en suelos es complicada debido a que la cantidad de esta forma mineral de nitrógeno en los suelos está sujeta a cambios rápidos originados por los procesos de amonificación, y nitrificación. Esto significa que las muestras tomadas para la determinación de nitrógeno de nitratos deben ser analizadas inmediatamente después de su muestreo. El método colorimétrico empleado con mayor frecuencia en suelos es que hace uso del ácido fenildisulfónico.

El fundamento de este método se basa en la reacción entre ácido nítrico con difenilamina, depende de la oxidación de la difenilamina (color azul), pasando por la N,N'-difenilbencidina incolora. La reacción se favorece en presencia de cloruros. La reacción presenta interferencias si hay presencia de nitritos, cloratos, bromatos, yodatos, cromatos, permanganatos, selenitos, vanadatos, molibdatos, peróxidos, antimonio, hierro (III). El límite de identificación es de 0,5 mg de ácido nítrico con un límite de dilución de 1:100,000

Materiales

1. ACIDO FENILDISULFONICO. Disolver 25 gramos de fenol en 150 ml de ácido sulfúrico concentrado, agregar 75 ml de ácido sulfúrico fumante (13-15% SO_3) y calentar en baño maría por dos horas a una temperatura de 95 a 1000 C. guardar en un frasco de vidrio oscuro.
2. HIDROXIDO DE AMONIO 1:1. Mezcle volúmenes iguales de NH_4OH concentrado y agua destilada.



3. SOLUCION ESTANDAR DE NITRATOS. Disolver exactamente 7.2160 gramos de nitrato de potasio (seco a 1050 C) en agua y aforar a 1 litro.
4. solución estándar diluida de nitratos 10 ppm de N-NO₃. Tomar 10 ml de la solución anterior y aforar a 1 litro con agua destilada.
5. SOLUCION EXTRACTORA. Disolver 1 gramo de CaSO₄ dihidratado en agua y aforar a 1 litro.

Procedimiento

1. Pesar 10 gramos de suelo y agregar a un matraz elermeyer de 250 ml.
2. Agregar 50 ml de solución extractora y agitar durante 15 minutos.
3. Filtrar con dispositivo de filtracion diseñado.
4. Tomar una alícuota del filtrado, la cual puede ser de 20 ml, dependiendo de la concentración de nitratos de la muestra. Agregar esta alícuota a un vaso de precipitado de 100 ml.
6. Agregar 2 ml de ácido fenoldisulfónico al residuo por medio de una bureta de punta recortada. Inclinar el recipiente de tal manera que el ácido entre en contacto con todo el residuo.
7. Después de 10 minutos de reposo, agregar de 30 a 40 ml de agua y 15 ml de solución de hidróxido de amonio. Un método alternativo de agregar el hidróxido es agregando hasta que el color vire a amarillo y después agregarle 3 ml más.
8. Compara con la cata de color diseñada

Alto contenido

Medio contenido

Bajo contenido



3. DETERMINACIÓN DE AMONIO

Este método comprende la incubación de suelo con una solución acuosa o solución tamponada de urea, la extracción de amonio con un NKC1 y 0,01 NHCl y colorimétricas NH₄⁺ determinación de una reacción indofenol modificado y se caracteriza por una alta sensibilidad y estabilidad del complejo coloreado formado. Las mediciones obtenidas por este método muestran que no hay cambio en la actividad ureasa aun durante varios meses de almacenamiento a bajas temperaturas.

Procedimiento

1. Colocar 5 gramos de suelo en dispositivos de 100 ml
2. Adicionar 2,5 ml solución de urea 0,08 M.
3. cerrar los dispositivos e incubarlos a 37 ° C durante 2 horas.
4. Agregar, 50 ml KC1 1 N y HCl 0,01 N y agitar durante 30 min.
5. Filtrar la suspensión resultante.
6. diluir 1 ml de la solución filtrada en 10 ml de agua destilada.
7. Agregar 5 ml de salicilato de sodio y 2 ml diclorosocianurato Na 0,1%
8. comparar con la carta de color diseñada.

Alto contenido	Medio contenido	Bajo contenido
----------------	-----------------	----------------



4. DETERMINACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO ACTIVO

Materiales

1. Solución stock: solución de KMnO_4 0.2M en CaCl_2 1M (pH 7.2), ajustar el pH a 7.2 usando NaOH 0.1M el pH de esta solución es importante para mantener la estabilidad de la misma por 6 meses, se debe guardar en botella oscura.
2. Soluciones estándar KMnO_4 0.005M, 0,01M y 0,02M en CaCl_2 1M (pH 7.2), para construir la carta de color que hará referencia a la cantidad presente en el suelo.
3. Tubos plásticos transparentes de fondo cónico de 50 mL, pipetas pasteur graduadas plásticas, probetas plásticas, cucharas plásticas, tabla plástica oscura.
4. Agua destilada.

Procedimiento

1. Tomar una muestra de suelo representativa de terreno que se quiere analizar aproximadamente (5 cucharadas) 20 gramos, esparcirlas sobre la tabla y dejar secar por 15 minutos preferiblemente exponiendo directamente a la luz solar.
2. Colocar una cucharada del suelo seco en tubo cónico con tapa, adicionar 2 mL de solución de KMnO_4 0.2M en CaCl_2 1M (pH 7.2) y 20 mL y agitar vigorosamente por 2 minutos.
3. Dejar reposar por 15 minutos para que flocule el suelo y comparar con la carta de color.

Bajo contenido	Medio contenido	Alto contenido
----------------	-----------------	----------------



La carta de colores se de ajustar al kit, con las diferentes soluciones estándar descritas anteriormente





REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Boschetti G., Quintero C., Diaz M., Barraco M. 2003. Determinación del fósforo disponible en el suelo por el método de Bray .Publicado en informaciones agronómicas del cono sur No 17

Doran, J.W. 2002. Soil Health and Global Sustainability Translating Science into Practice. Agriculture Ecosystems Environment. 88: 119-127.

DAMA Departamento Administrativo del Medio Ambiente. 2006. Política de Humedales. ©Alcaldía Mayor de Bogotá.

Doran, J.W., Jones, A.J., Arshad, M.A., Gilley, J.E. 1999. Determinants of Soil Quality and Health. En: Rattan Lat (Eds.). Soil Quality and Soil Erosion. CRC Press, Florida. 39-57.

Doran, J.W., Safley, M. 1997. Defining and Assessing Soil Health and Sustainable Productivity. En Pankhurst, C. Doube, B.M. Gupta V.V.S.R. (Eds.). Biological Indicators of Soil Health. CAB INTERNATIONAL, New York. Pag.1-22.

EAAB: Empresa de acueducto y alcantarillado de Bogotá <http://www.acueducto.com.co/wpsv5/wps/portal>

Hach, 1999. Determinación de nitratos método de acido cromotrópico en línea: catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/document

Laboratório de química analítica e instrumental 502503. Guia 3.1 Universidad Jorge Tadeo Lozano.

Methods of Phosphorus Analysis for Soils, Sediments, Residuals, and Waters. 2000. Department of Agronomy Throckmorton Plant Sciences Ctr. Kansas State University Manhattan, KS 66506-5501. ISBN: 1-58161-396-2

Weil, R.R., Islam, K.R., Stine, M.A., Gruver, J.B., Samson-Liebig, S.E. 2003. Estimating active carbon for soil quality assessment: A simplified method for laboratory and field use. American Journal of Alternative Agriculture. 18: 3-17.

