

Universidad Central de Venezuela

Facultad de Ciencias

Escuela de Química



**EVALUACIÓN FÍSICA, QUÍMICA Y BIOLÓGICA DE UN SUELO DE SABANA  
MEZCLADO CON UNA EMULSIÓN ASFÁLTICA SEMBRADO CON LA ESPECIE  
VEGETAL: *Urochloa brizantha*.**

Trabajo Especial de Grado presentado  
ante la Ilustre Universidad Central de  
Venezuela por la Br. Daynellys Daniela  
Rodríguez, para optar al título de  
Licenciada en Química.

Caracas, Octubre 2009

Yo Profesor Edgardo Leal, Investigador de la Escuela de Química, de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela y Pedro Colombo, Investigador de PDVSA Intevep.

Certificamos que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

**EVALUACIÓN FÍSICA, QUÍMICA Y BIOLÓGICA DE UN SUELO DE SABANA  
MEZCLADO CON UNA EMULSIÓN ASFÁLTICA SEMBRADO CON LA ESPECIE  
VEGETAL: *Urochloa brizantha*.**

Que presenta el Br. Daynellys Daniela Rodríguez, para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en los Laboratorios de Tratabilidad de Desechos Sólidos, Invernadero y Química Ambiental de PDVSA Intevep, bajo nuestra dirección, durante los años 2008 y 2009, y con esta fecha autorizamos su presentación.

Caracas, 30 de Octubre del 2009

---

Prof. Edgardo Leal  
(Tutor)

---

Ing. Ms. Pedro Colombo  
(Tutor)

Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: **EVALUACIÓN FÍSICA, QUÍMICA Y BIOLÓGICA DE UN SUELO DE SABANA MEZCLADO CON UNA EMULSIÓN ASFÁLTICA SEMBRADO CON LA ESPECIE VEGETAL: *Urochloa brizantha***. Presentado por la Br. Daynellys Daniela Rodríguez, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por el Reglamento de Trabajo Especial de Grado de la Escuela de Química.

---

Prof. Edgardo Leal (Facultad de Ciencias UCV)

---

Ing. Ms. Pedro Colombo (PDVSA Intevep)

---

Lic. Fernando Liendo  
(Jurado)

---

Prof. Alonso David Ojeda  
(Jurado)

## RESUMEN

Con la finalidad de estudiar el efecto de una emulsión asfáltica en las propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo de sabana moderadamente ácido sembrado con la especie *Urochloa brizantha*, mediante la realización de dos ensayos. En el primero se determinó el tipo de emulsión asfáltica (catiónica y aniónica) y la dosis que origina cambios físicos, químicos y biológicos en el suelo favorables para el crecimiento de la especie vegetal. Para ello, se utilizaron 13 tratamientos de suelo: control, 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 %p/p EA y 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 %p/p EC. Las emulsiones se aplicaron mecánicamente sobre el suelo, y los microcosmos fueron estudiados por un período de 30 días, bajo condiciones de invernadero. Los resultados de las propiedades físicas y químicas no arrojaron cambios importantes en el suelo, en cambio, la actividad biológica, empleando como indicador la actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH), mostró que el 3,0 %p/p EC presentó diferencias significativas con la mayoría de los tratamientos ( $p < 0,05$ ), exhibiendo el valor más elevado (82,24  $\mu\text{g/g}$  suelo) de la serie. En función de que la actividad microbiológica del suelo afecta directamente su fertilidad, se seleccionó la emulsión catiónica a una concentración de 3,0 %p/p, para la realización de la segunda parte del diseño experimental.

En el segundo ensayo se compararon 6 tratamientos: T<sub>0</sub>: suelo control; T<sub>1</sub>: suelo + 3 %p/p emulsión + T<sub>2</sub>: suelo + 3 %p/p emulsión + fertilizante ; T<sub>3</sub>: suelo + 3 %p/p emulsión + 10 %p/p estiércol de aves; T<sub>4</sub>: suelo + 3 %p/p emulsión + 10 %p/p de estiércol de aves + fertilizante; T<sub>5</sub>: suelo + 3 %p/p emulsión + cal, en presencia de *Urochloa brizantha*. Los microcosmos fueron evaluados por un período de 120 días, bajo condiciones de invernadero, con un muestreo inicial y a los 30, 60 y 120 días. Los resultados obtenidos sugieren que la gramínea tolera la concentración 3,0 %p/p de la emulsión catiónica y además favorece su producción de biomasa seca total. Con respecto a las propiedades físicas, los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> presentaron diferencias

significativas en el contenido de humedad con los demás tratamientos ( $p < 0,05$ ) a 120 días de estudio, debido a que el acondicionador orgánico se caracteriza por su capacidad de absorber agua, evitando así su rápida evaporación en el suelo. La estabilidad de los agregados no mostró diferencias significativas en los tratamientos al finalizar el estudio.

En cuanto a las propiedades químicas, se observó diferencias significativas en el pH del suelo en los tratamientos en comparación con el suelo control a 120 días de ensayo ( $p < 0,05$ ), lo cual demuestra que la emulsión por su carácter ácido, podría estar confiriéndoles protones a la solución del suelo, provocando la disminución del pH. La conductividad eléctrica (CE), el contenido de cloruros ( $\text{Cl}^-$ ) y de fósforo disponible, bases intercambiables (BI), capacidad de intercambio catiónico (CIC), saturación con base (%SB) y relación de adsorción de sodio (RAS) no mostraron cambios significativos en el tratamiento  $T_1$  con respecto al suelo control para el tiempo de estudio.

El contenido de los hidrocarburos biodegradables (saturados y aromáticos) disminuyó en el tiempo, en relación a los tratamientos que presentan estiércol y fertilización, debido a la incorporación de nutrientes al suelo. En el caso de los tratamientos donde se favoreció la producción de biomasa ( $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_5$ ), presentan una reducción en el contenido de aceites y grasas y de las concentraciones de los metales Ba y Zn principalmente, con respecto a los resultados obtenidos para el diseño experimental sin planta para 120 días de estudio.

Por otra parte, la actividad biológica, empleando como indicador la actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH) y respiración edáfica ( $\text{CO}_2$ ), se incrementó en los primeros 30 días de estudio con respecto al control (suelo sin emulsión) y luego al decrecer la concentración de los hidrocarburos biodegradables, se observó una

disminución gradual en el tiempo, destacándose que el tratamiento T<sub>4</sub> presentó la máxima actividad de los microorganismos en el suelo.

## DEDICATORIA

**A mi madre:** Nelly Rodríguez que siempre ha guiado mis pasos y por su constancia, dedicación, esfuerzo y abnegación hoy soy lo que soy. Todos mis logros te los debo a ti.

**A mi abuela y tíos:** Rosalía Rodríguez, José A. Rodríguez y Daniel Rodríguez que desde el cielo han estado presentes cuidándome y guiándome para el logro de mis metas.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por haber iluminado la senda correcta y abrirme siempre el camino cuando hay dificultades.

A mi madre y hermanos por su incondicional apoyo y ayuda para lograr culminar este proyecto, a mi familia y a José Manuel que siempre me dieron un voto de confianza. Los quiero mucho.

A mi novio, Maiker García por estar siempre allí en los momentos que lo necesite, gracias por tu apoyo incondicional. Te Amo.

A mis amigos Christian, Héctor, Ángel, Eloy, Jesús, Joel, Virginia, Fabiola, Mariale, Ana, Jacqueline, Jenire por su apoyo brindado en el transcurso de la carrera.

A los integrantes de los Laboratorios de Tratabilidad de Desechos Sólidos y Química Ambiental de PDVSA Intevep por su ayuda brindada en la realización del trabajo.

A mis tutores Pedro Colombo y Edgardo Leal por su apoyo, confianza y paciencia para la culminación de esta investigación.

A mis jurados Fernando Liendo y Alonso Ojeda por sus sabios consejos y aportes a la finalización de este proyecto.

A todos los que estuvieron conmigo por dedicar tiempo en cada uno de los momentos en los que los necesite, por todo eso y más **GRACIAS.**

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
2.1	Suelo.....	4
2.2	Propiedades del suelo.....	6
2.2.1	Estructura .....	6
2.2.2	Retención de humedad .....	8
2.2.3	Intercambio iónico .....	9
2.2.3.1	Intercambio catiónico .....	9
2.2.3.2	Intercambio aniónico .....	12
2.3	Mediciones biológicas en suelo .....	14
2.3.1	Respiración edáfica (producción de CO <sub>2</sub> ) .....	14
2.3.2	Actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH) .....	16
2.4	Materia orgánica del suelo (MO).....	17
2.5	Acidez del suelo.....	21
2.6	Enmiendas agrícolas.....	22
2.7	Emulsiones asfálticas.....	25
2.7.1	Asfaltenos.....	25
2.7.2	Teoría de las emulsiones. ....	26
2.7.3	Uso de emulsiones asfálticas como enmienda agrícola con suelo.....	30
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
4.1	Características del suelo.....	34
4.1.1	Área de estudio .....	34

4.1.1.1	Ubicación geográfica.....	34
4.1.1.2	Geología y relieve. ....	34
4.1.1.3	Clima .....	35
4.1.1.4	Suelo.....	35
4.1.1.5	Uso potencial y actual. ....	36
4.2	Características de las emulsiones asfálticas.....	36
4.3	Características del fertilizante .....	38
4.4	Características del acondicionador agrícola .....	38
4.5	Características de <i>Urochloa brizantha</i> .....	38
4.6	Diseño experimental .....	39
4.6.1	Etapa de laboratorio. ....	39
A.	Fase I (ensayo de microcosmos).....	39
B.	Fase II (Análisis de laboratorio).....	42
B.1	Suelo .....	43
B.1.1	Determinación del contenido de humedad (%p/p) .....	43
B.1.2	Determinación de agregados estables al agua (%AEA). ....	43
B.1.3	Determinación de pH .....	45
B.1.4	Determinación de la conductividad eléctrica (CE) .....	45
B.1.5	Determinación de bases intercambiables .....	46
B.1.7	Determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) ....	47
B.1.8	Determinación de la saturación con base (%SB) .....	48
B.1.9	Determinación de la relación de adsorción de sodio (RAS) .....	48
B.1.10	Determinación de cloruros (Cl <sup>-</sup> ).....	49
B.1.11	Determinación del contenido de materia orgánica (% MO) .....	50
B.1.12	Determinación del contenido de aceites y grasas (% AyG).....	51
B.1.13	Determinación de hidrocarburos biodegradables (saturados y aromáticos) .....	52

B.1.14 Determinación de metales totales .....	52
B.1.15 Determinación de fósforo disponible .....	53
B.1.16 Determinación de la actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH).....	54
B.1.17 Determinación de la respiración edáfica (CO <sub>2</sub> ).....	55
B.2 Emulsión asfáltica.....	57
B.2.1 Determinación de pH.....	57
B.2.2 Determinación de la conductividad eléctrica (CE).....	57
B.2.3 Determinación del contenido de aceites y grasas (%AyG).....	57
B.2.4 Determinación de metales lixiviados.....	58
B.3 Especie vegetal: <i>Urochloa brizantha</i> .....	59
B.3.1 Determinación de la biomasa seca tota.....	59
B.4 Fitotoxicidad.....	60
4.6.2 Análisis estadístico.....	61
<b>5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>62</b>
5.1 Selección del tipo de emulsión y dosis que se utilizo en los diferentes tratamientos para favorecer el crecimiento de <i>Urochloa brizantha</i> .....	62
5.1.1 Características físicas y químicas del suelo de Santa Bárbara, estado Monagas.....	62
5.1.2 Efecto de diferentes concentraciones de la emulsión asfáltica (catiónica y aniónica) sobre algunas propiedades del suelo .....	64
5.2 Comparación de los tratamientos de suelo en presencia de <i>Urochloa brizantha</i> .....	70
5.2.1 Composición física y química de la emulsión catiónica.....	70
5.2.2 Efecto de la emulsión enel suelo sobre la germinación de <i>Urochloa brizantha</i> .....	71
5.2.3 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la producción de biomasa	

seca total de <i>Urochloa brizantha</i> a 30, 60 y 120 días de ensayo .....	73
5.2.4 Efecto la emulsión en el suelo sobre contenido de humedad.....	76
5.2.5 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el contenido de materia orgánica (MO) y de agregados estables al agua (AEA).....	78
5.2.6 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el pH.....	81
5.2.7 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la concentración de cloruros .....	84
5.2.8 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la conductividad eléctrica (CE).....	84
5.2.9 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el contenido de bases intercambiables (BI), capacidad de intercambio catiónico (CIC) y saturación con base (% SB) del suelo .....	86
5.2.10 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la relación de adsorción de sodio (RAS) .....	88
5.2.11 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la disponibilidad de fósforo.....	89
5.2.12 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el contenido de aceites y grasas (%AyG) .....	93
5.2.13 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el contenido de hidrocarburos biodegradables (saturados y aromáticos) .....	95
5.2.14 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la actividad biológica .....	97
5.2.15 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el contenido metales totales.....	99
<b>6 CONCLUSIONES.....</b>	<b>103</b>
<b>7 RECOMENDACIONES.....</b>	<b>105</b>
<b>8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>106</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>115</b>
Anexo 1. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores de pH para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio. ....	116
Anexo 2. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores de BI para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio. ....	117

Anexo 3. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores de CIC para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio. ....	118
Anexo 4. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores de materia orgánica (MO) para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio. ....	119
Anexo 5. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores del contenido de humedad para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio. ....	120
Anexo 6. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores del contenido de agregados estables al agua para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio.....	121
Anexo 7. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores de la actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH) para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio. ....	122
Anexo 8. Tratamientos de suelo en presencia de <i>Urochloa brizantha</i> a 0, 30 y 120 días de ensayo. ....	123
Anexo 9. Reducción de la producción de biomasa de <i>Urochloa brizantha</i> para los tratamientos T <sub>3</sub> y T <sub>4</sub> con respecto al control a 120 días de estudio.....	124
Anexo 10. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores de biomasa seca total para los tratamientos de suelo a 120 días de estudio.....	125
Anexo 11. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores de materia orgánica para los tratamientos de suelo a 120 días de estudio.....	126
Anexo 12. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores del contenido de aceites y grasas para los tratamientos de suelo a 120 días de estudio.....	127
Anexo 13. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores de la actividad	

de la enzima deshidrogenasa para los tratamientos de suelo a 120 días de estudio.....	128
Anexo 14. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores de la respiración edáfica (producción de CO <sub>2</sub> ) para los tratamientos de suelo a 120 días de estudio. ....	129

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características de las emulsiones asfálticas. ....	36
Tabla 2. Composición química promedio de las emulsiones. ....	37
Tabla 3. Composición química específica de las emulsiones. ....	37
Tabla 4. Tratamientos de las mezclas suelo-emulsiones asfálticas. ....	40
Tabla 5. Tratamientos y sus respectivas características. ....	42
Tabla 6. Características físicas y químicas inicial del suelo de Santa Bárbara, (edo. Monagas) .....	63
Tabla 7. Características físicas y químicas de las mezclas de suelo-emulsión. ....	68
Tabla 8. Análisis físico y químico inicial de la emulsión catiónica. ....	71
Tabla 9. Análisis de metales lixiviados de la emulsión catiónica. ....	71
Tabla 10. Retención de humedad para los tratamientos a 0, 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	77
Tabla 11. Valores de pH por el método de pasta saturada a 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	83
Tabla 12. Concentración de cloruros para las mezclas de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	85
Tabla 13. Valores de CE por el método de pasta saturada a 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	87
Tabla 14. Bases intercambiables para los tratamientos de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	89
Tabla 15. Capacidad de intercambio catiónico para las mezclas de suelo a 30,	

60 y 120 días de ensayo. ....	90
Tabla 16. Relación de adsorción de sodio para las mezclas de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	92
Tabla 17. Aceites y grasas para las mezclas de suelo. a los 0, 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	94
Tabla 18. Concentración de metales totales de los tratamientos de suelo a 0 días de ensayo. ....	100
Tabla 19. Concentración de metales totales de los tratamientos de suelo a 30 días de ensayo. ....	101
Tabla 20. Concentración de metales totales de los tratamientos de suelo a 60 días de ensayo. ....	101
Tabla 21. Concentración de metales totales de los tratamientos de suelo a 120 días de ensayo. ....	102
Tabla 22. Disminución de los metales Ba y Zn por <i>Urochloa brizantha</i> a los 1 20 días de ensayo. ....	102

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Composición (por volumen) de un suelo ideal para el crecimiento de la flora y la fauna. ....	5
Figura 2. Representación esquemática del mecanismo de formación de estructura según Foth (1978). ....	7
Figura 3. Mecanismo de intercambio catiónico. ....	10
Figura 4. Adsorción del H <sup>+</sup> por las partículas coloidales del suelo. ....	11
Figura 5. Generación de carga positiva sobre la superficie de Gibbsita.....	13
Figura 6. Generación de la carga positiva sobre el hidróxido de aluminio. ....	13
Figura 7. Generación de la carga negativa sobre la superficie de la Gibbsita.....	14
Figura 8. Esquema de la materia orgánica en el suelo. ....	18
Figura 9. Estructura hipotética de los ácidos húmicos. ....	19
Figura 10. Estructura hipotética de los ácidos fúlvicos. ....	20
Figura 11. Actividad de la enzima deshidrogenasa en función de los tratamientos de suelo para 30 días de ensayo.....	69
Figura 12. Índice de germinación de la lechuga y la gramínea. ....	73
Figura 13. Biomasa seca total de <i>Urochloa brizantha</i> a los 30, 60 y 120 días de ensayo.....	75
Figura 14. Contenido de materia orgánica y agregados estables al agua para 0, 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	79
Figura 15. Valores promedios pH por el método de relación 1:1suelo:agua para 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	82

Figura 16. Conductividad eléctrica por el método de relación 1:1 suelo:agua a los 30, 60 y 120 días de ensayo.....	86
Figura 17. Saturación con base para los tratamientos de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	91
Figura 18. Fósforo disponible para los tratamientos de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	91
Figura 19. Porcentaje de degradación de aceites y grasas para los tratamientos de suelo con y si vegetación a 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	96
Figura 20. Contenido de las fracciones biodegradables en los tratamientos de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	98
Figura 21. Actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH) y respiración edáfica (CO <sub>2</sub> ) para los tratamientos a 30, 60 y 120 días de ensayo. ....	99

## 1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad, existe una creciente necesidad de implementar tecnologías que permita el aprovechamiento de los ecosistemas de sabana, ya que representan aproximadamente 1/3 de la totalidad del territorio nacional [1]. Las regiones venezolanas donde se encuentran estos ecosistemas son: Los Llanos occidentales, centrales y orientales del país, formados por sedimentos relativamente jóvenes de edad variable: pleistoceno, inferior y superior, y holoceno [2].

Generalmente, los suelos de ecosistema de sabana se caracterizan por ser muy pobres en elementos nutritivos, baja fertilidad natural, un bajo contenido de materia orgánica y bajos valores de Ca, Mg, Na, y K intercambiables.

Además, presentan un buen drenaje y por lo tanto la capacidad de retención de humedad es baja, factor limitante para el crecimiento de la mayoría de las especies vegetales [3].

Los suelos de Los Llanos venezolanos, en las últimas décadas, han sido sometidos a una agricultura con cultivos intensivos de secano, altamente mecanizados, sin medidas de conservación de suelos y sistemas agropecuarios, lo que ha traído como consecuencia el deterioro progresivo de sus propiedades físicas, químicas y biológicas. En estos suelos se han identificado, tanto cualitativamente como cuantitativamente algunos procesos de degradación, relacionados con el aspecto físico, ya que condicionan el desarrollo y la penetración de las raíces de las especies vegetales [4].

En virtud de esta problemática de deterioro progresivo de los suelo, en los últimos tiempos, se ha implementado la aplicación de enmiendas orgánicas con fines agrícolas, tanto animal como vegetal, como fuente de materia orgánica, que permitan un mejor aprovechamiento por los cultivos, sin impactar los ecosistemas, debido a que con su aplicación se contribuye a mantener el equilibrio de nutrientes en el suelo y a mejorar en general sus propiedades físicas y químicas, pero a pesar de sus beneficios para producir cultivos a gran escala, es necesario el empleo de altas concentraciones, lo que resulta poco factible por sus altos costos [5].

Sin embargo, al considerar las limitaciones propias de la producción agropecuaria de los ecosistemas de sabana, se identifica notoriamente la necesidad de buscar una alternativa sustentable de manejo agroecológico que permita el aprovechamiento de este recurso natural, algunos investigadores se han enfocado en la búsqueda de compuestos orgánicos que presenten un comportamiento similar a la de la materia orgánica, como es el caso del uso de emulsiones asfálticas, como una enmienda que mejora la estructura y la estabilidad de los agregados del suelo.

Pla et al. 1983, evaluaron el uso de emulsiones de asfalto para incrementar y regular la productividad de maní (*Arachis hypogaea* L.) en un ultisol arenoso de la mesa de Guanipa (edo. Anzoátegui), Venezuela. Los resultados muestran que la aplicación de emulsiones asfálticas contribuye notablemente a la conservación del agua en el suelo superficial a través de la reducción de las pérdidas por evaporación, alcanzando una mayor disponibilidad de importante líquido para el sustento de las plantas [6]. Otros estudios realizados demuestran que el uso de estas enmiendas también incrementa el porcentaje de agregación y de estabilidad, reduce las pérdidas de nutrientes por lavado y disminuye los niveles de concentración de metales principalmente Fe, Zn, Mn, Cu, Cd y Pb [7].

Venezuela, es calificada como una de las principales potencias en reserva de crudo, debido a que se estima que la Faja Petrolífera del Orinoco contiene 236.000 millones de barriles de crudo extra pesado, además se encuentra entre los 10 primeros países productores a nivel mundial [8]. Por ello, es factible la adquisición de los derivados del petróleo como son las emulsiones asfálticas. En este sentido, se evaluó el efecto de una emulsión asfáltica en las propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo de sabana sembrado con la especie vegetal: *Urochloa brizantha*.

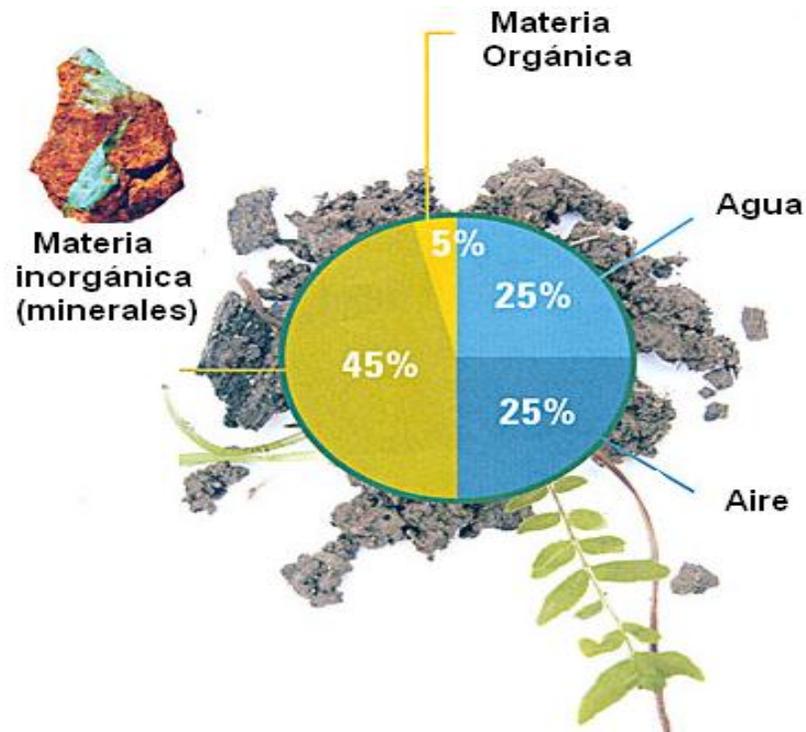
## 2 Revisión bibliográfica

### 2.1 Suelo

El suelo es un sistema muy complejo, esto sugiere que realizar una definición exacta y concisa resulta complicado. Según los autores Brady 1990 y Bornemiszsa 1982, el suelo se define como un producto natural, sintetizado en su perfil a partir de una mezcla variable de componentes inorgánicos no consolidados y modificados atmosféricamente, junto con materia orgánica en desintegración, cubre la tierra en una capa delgada y que proporciona, cuando contiene cantidades adecuadas de aire y agua, el soporte mecánico y, en parte, el sustento de las plantas [9,10].

De igual manera el suelo puede ser definido como un sistema de tres fases: sólido, líquido y gaseoso, la naturaleza y la interrelación entre estas fases son las que determinan sus propiedades físicas, químicas y biológicas; y de cuatro componentes: mineral, orgánico, agua y aire [11].

Aunque las proporciones de los diferentes componentes del suelo varían en función de su clase, siempre están presentes cuatro componentes (Figura 1). Alrededor del 45% en volumen total de un suelo en buenas condiciones para el crecimiento de la flora y la fauna, está compuesto por una mezcla de roca desintegrada y descompuesta (materia mineral), un 5% de restos en diversos estados de descomposición de la vida animal y vegetal (materia orgánica), y el 50% del espacio poroso dividido aproximadamente en 25% de agua y 25% de aire [11].



Fuente: <http://www.safa.edu.uy.suelo/capitulo1.htm> [12]

Figura 1 Composición (por volumen) de un suelo ideal para el crecimiento de la flora y la fauna.

La distribución cualitativa de los minerales en el suelo depende en principio del porcentaje en que se encuentren en el material parental y luego, va variando según la resistencia de esos minerales a la meteorización, debido a que se vuelven inestables a las condiciones fisicoquímicas del ambiente superficial [10,11].

El resultado de la meteorización no sólo determina la formación nuevos minerales, sino que frecuentemente hace que algunos elementos sean llevados a la solución del suelo y parte de ellos puedan o bien ser lavados, o ser adsorbidos en la superficie de las arcillas y de esta forma servir como fuente de nutrimento para las plantas [11].

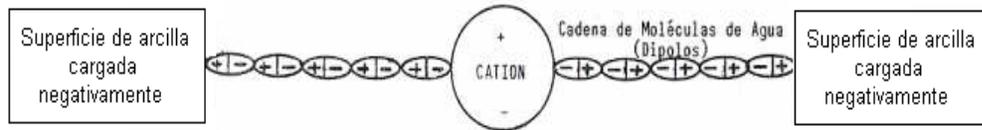
## 2.2 Propiedades del suelo

### 2.2.1 Estructura

Se define como la forma en que se asocian las partículas (arena, limo y arcilla) en unidades más grandes del suelo, denominadas agregados. Generalmente, este proceso ocurre debido a la tendencia de las partículas más finas (especialmente la arcilla) de mantenerse juntas [11].

Para la formación de los agregados se necesita que el material coloidal sea primeramente floculado y luego estabilizado o cementado. Se distinguen tres grupos de agentes cementantes: 1) minerales de arcilla, 2) óxidos coloidales de hierro y manganeso, 3) coloides orgánicos [13].

Dado que estos coloides normalmente están cargados negativamente, las moléculas de agua (dipolo) se unen a ellos y esta unión agua-partículas coloidales del suelo puede incluir cationes como  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ , que ayudan a la floculación de las arcillas (Figura 2). Las moléculas de agua se mantienen unidas fuertemente y en la medida en que el suelo se va secando, la distancia entre las partículas coloidales se hace más corta y tienden a juntarse. Si la pérdida de agua continúa, los coloides se pegan unos a otros o unen las partículas para formar agregados (acción cementante). De esta manera el agua actuando conjuntamente con los coloides, constituyen las fuerzas que induce la agregación en los suelos [11].



Fuente: citado por Casanova, 1991 [11].

Figura 2. Representación esquemática del mecanismo de formación de estructura según Foth (1978).

Los procesos que determinan la estabilidad o permanencia de los agregados son:

- Humedecimiento y secado del suelo.
- Acción de las raíces (remoción de agua, aporte de exudados, y formación de canales de raíces).
- Acción de los microorganismos descomponiendo residuos de planta y animales, creando materia orgánica del suelo y humus como material ligante [14].

La estructura del suelo afecta a un numeroso grupo de características físicas del suelo, pero sobre todo controla la porosidad del mismo, la cual permite la circulación del agua, la renovación del aire y la penetración de las raíces. También ejerce una acción positiva sobre la consistencia del suelo que, en superficie, permite la emergencia de las plántulas tras la germinación y al mismo tiempo facilita las labores agrícolas [15].

En el proceso de compactación de los suelos, se restringe principalmente la percolación de agua en el perfil. Por ello, a continuación se presentará la descripción de una propiedad fundamental como es la capacidad que tiene el suelo para retener la

humedad aportada por las lluvias y el riego, factor que limita el crecimiento de las plantas [16].

### **2.2.2 Retención de humedad**

La condición de humedad ideal para el crecimiento de las plantas se define como la Capacidad de Campo (CC), en donde el agua es retenida por la fracción sólida del suelo con una tensión aproximadamente de 1/3 bar.[9].

Desde el punto de vista agrícola, la presencia de agua en la superficie del suelo, es vital para el crecimiento de las plantas, no sólo porque estas necesitan al agua para sus procesos fisiológicos, sino también porque el agua contiene los nutrimentos en solución esenciales para su desarrollo. Además la humedad en el suelo ayuda a controlar dos factores importantes para el crecimiento normal de la planta como son el aire y la temperatura [11].

Bajo condiciones de campo, el suelo va perdiendo humedad por procesos de evapotranspiración y drenaje. Sin embargo, este es capaz de retener un determinado contenido de humedad en función de la estructura que presenta, debido a que el agua actuando conjuntamente con los coloides del suelo, constituyen las fuerzas que inducen la agregación.

Por otra parte, resulta importante señalar otra de las propiedades más características que poseen los coloides, como su habilidad para adsorber sustancias disueltas en una solución, ya que esta se presenta notablemente en los suelos, debido a las frecuentes interacciones principalmente entre la fase sólida, líquida y la superficie de las partículas

minerales y orgánicas del suelo. Una de las interacciones más estudiada es de tipo electrostática entre un catión o un anión y la superficie sólida cargada, según la naturaleza de esta fuerza nos referimos al proceso de Intercambio iónico [17].

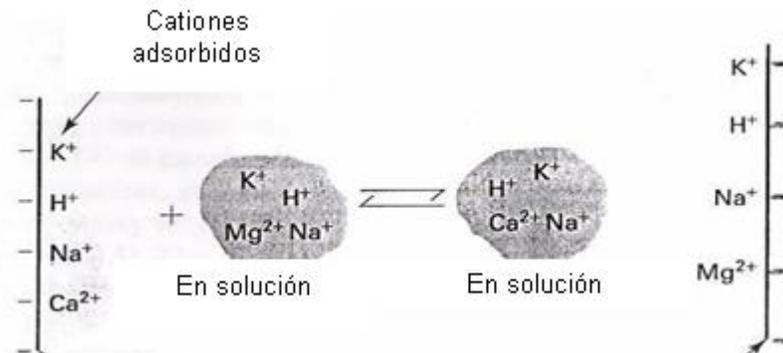
### **2.2.3 Intercambio iónico**

El intercambio iónico es un fenómeno basado en la presencia de cargas en las arcillas y demás partículas coloidales de los suelos. Por intermedio de estas cargas, los iones que son liberados de minerales que han sido sometidos a procesos de meteorización o provenientes de compuestos orgánicos en descomposición, además del agua de lluvia o de riego y de los fertilizantes, pueden ser adsorbidos por las partículas del suelo y bajo esta condición son retenidos en forma inmóvil. Sin embargo, esta retención no se realiza con una fuerza elevada que pueda impedir su intercambio con otros iones de la solución del suelo y ser absorbidos por el sistema radical de las plantas [11].

La carga eléctrica del ión involucrado en el proceso va a determinar el tipo de intercambio que se origina en el suelo [17].

#### **2.2.3.1 Intercambio catiónico**

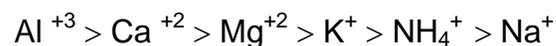
Es el cambio reversible entre cationes en la solución del suelo, y otros cationes en la superficie de materiales con actividad superficial, como coloides inorgánicos u orgánicos [10].



Fuente: Singer, 1999 [17].

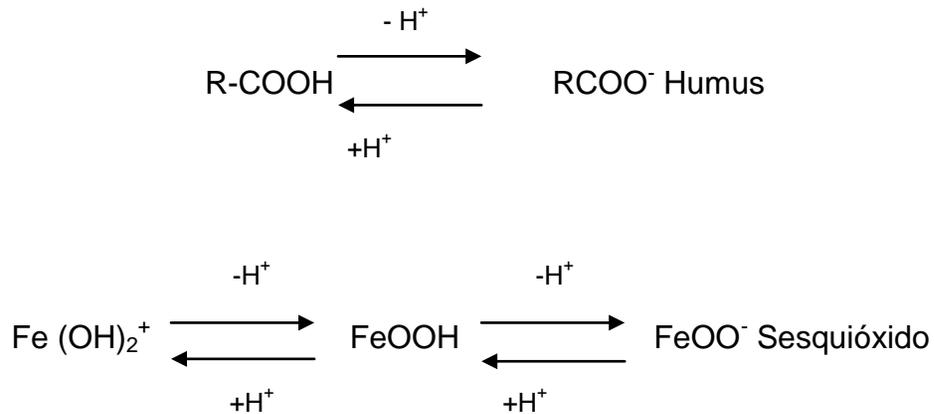
Figura 3. Mecanismo de intercambio catiónico.

La fuerza con la cual los cationes son retenidos en los sitios de intercambio depende de la valencia del catión, el número de cargas negativas en los coloides y la cercanía que el catión pueda tener con el coloide. Combinando estos efectos se presenta el siguiente orden en función de la magnitud de la interacción electrostática [17]:



De acuerdo a esta serie, el  $H^+$  no se incluye por ser un caso especial del intercambio catiónico, su adsorción depende del tipo de coloide y no simplemente de una atracción electrostática. Los coloides del suelo de carga variable adsorben  $H^+$  en grandes cantidades cuando el pH es ácido. Si el protón es retenido por las arcillas del suelo es adsorbido débilmente y puede ser sustituido fácilmente de los sitios de intercambio al igual que los otros cationes monovalente. Sin embargo, si es adsorbido por la fracción coloidal de la materia orgánica (Figura 4), donde se une fuertemente al oxígeno de los grupos carboxílicos ( $-COOH$ ), fenólicos ( $-OH$ ) y otros radicales orgánicos, resulta ser más difícil remplazarlo como catión intercambiable [17].

Otro aspecto importante que influye en el grado de intercambio es la concentración relativa de los cationes que compiten en la solución del suelo. La tendencia de una especie catiónica para ser adsorbida se incrementa, si está presente en altas concentraciones en la solución en relación a las otras especies intercambiables [17].



Fuente: Singer, 1999 [17].

Figura 4. Adsorción del  $H^+$  por las partículas coloidales del suelo.

El predominio de ciertos cationes en los sitios de intercambio depende fundamentalmente del pH. En condiciones de alcalinidad ( $pH > 6,5$ ) los cationes dominantes son  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $K^+$  y  $Na^+$ . Estos cationes son denominados cationes básicos, debido que bajo estas condiciones hay suficientes iones  $OH^-$  para hacer el sistema alcalino y el número de cargas positivas de estos cationes básicos supera el número de cargas negativas en la superficie de los coloides. En condiciones de acidez ( $pH < 6,5$ ) los cationes predominantes son  $H^+$  y  $Al^{+3}$  y por esta razón se denominan cationes ácidos [11,17].

La suma de los cationes básicos y ácidos que ocupan los sitios de intercambio de un suelo a un determinado pH expresada en miliequivalentes por 100 gramos de suelo (meq/100g de suelo), representará su “Capacidad de Intercambio Catiónico” (CIC) [11]. Así como hay coloides que tienen cargas negativas responsables del intercambio catiónico, también existen coloides que generan cargas positivas y son las responsables del intercambio aniónico en el suelo.

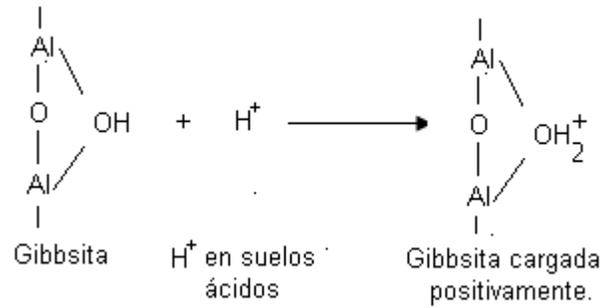
### **2.2.3.2 Intercambio aniónico**

Es el cambio entre aniones en la solución del suelo, y otros aniones en la superficie de materiales con actividad superficial [10].

Este mecanismo está asociado con hidróxidos y óxidos de  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Al}^{+3}$  y  $\text{Mn}^{+2}$ , con arcillas silicatadas y materiales amorfos. La protonación de los grupos OH del mineral, representa la causa principal de la generación de una superficie con una carga neta positiva, dispuesta a adsorber aniones de la solución del suelo (nitratos, fosfatos, cloruros y sulfato) [18]. Esta cantidad de aniones retenidos de forma intercambiable a un determinado pH expresada en miliequivalentes por 100 gramos de suelo (meq/100g de suelo) se denomina “Capacidad de Intercambio Aniónico” (CIA) [11].

Cabe destacar que, este proceso de protonación es dependiente del pH, ya que a pH ácidos las reacciones a y b (Figura 5 y 6) ocurren, mientras que si este se eleva, sucede la reacción c, en la cual se genera superficie con cargas negativas (Figura 7), favoreciendo la capacidad de intercambio catiónico [11].

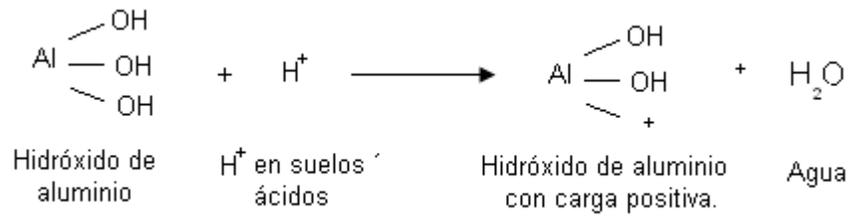
a.



Fuente: Casanova, 1991 [11].

Figura 5. Generación de carga positiva sobre la superficie de Gibbsita

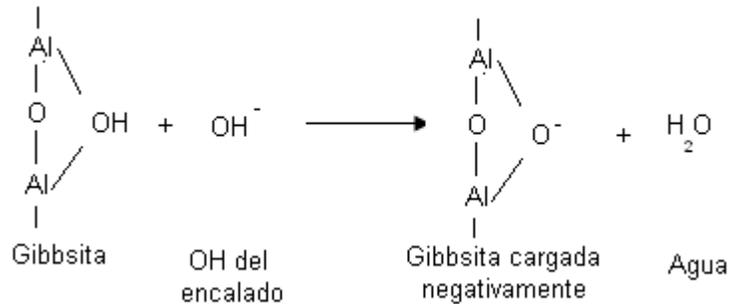
b.



Fuente: Casanova, 1991 [11].

Figura 6. Generación de la carga positiva sobre el hidróxido de aluminio.

**C.**



Fuente: Casanova, 1991 [11].

Figura 7. Generación de la carga negativa sobre la superficie de la Gibbsita.

Los procesos de intercambio catiónico y aniónico resultan muy importantes en la nutrición mineral de las plantas, ya que determinan la habilidad de los suelos para suministrar los nutrientes biodisponibles a su sistema radical [9].

Cabe señalar que, no sólo las propiedades físicas y químicas del suelo determinan su fertilidad, sino también su actividad biológica. Esta actividad se puede evaluar comúnmente empleando como indicadores la respiración edáfica ( $\text{CO}_2$ ) y la actividad de la enzima deshidrogenada (ADH) [18].

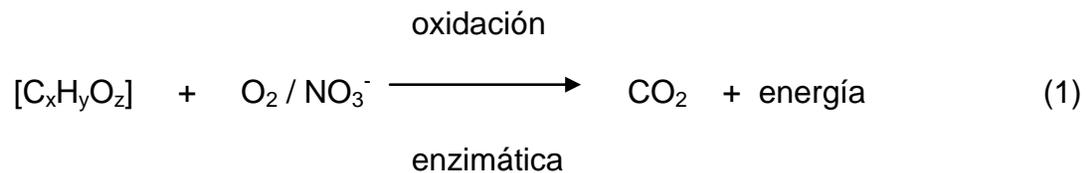
## 2.3 Mediciones biológicas en suelo

### 2.3.1 Respiración edáfica (producción de $\text{CO}_2$ )

La respiración edáfica es la producción de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), como resultado de la actividad biológica en un suelo, realizada por microorganismos, raíces vivas y

macroorganismos como lombrices, nemátodos o insectos [19]. También se puede considerar como una medida de la tasa de degradación de la materia orgánica en el suelo, ya que en este proceso se produce una rápida multiplicación y una considerada actividad de los organismos en general, y a su vez se producen elevadas cantidades de CO<sub>2</sub> [9].

La biodegradación constituye un proceso oxidativo, la fuente de carbono dona electrones que son transferidos a una molécula aceptora final de electrones, tal como es el oxígeno en la respiración aeróbica o el nitrato en condiciones anaeróbicas [20].



Un índice elevado de respiración del suelo sugiere una alta actividad biológica y puede ser buen signo, indicativo de una rápida descomposición de residuos orgánicos convertidos en nutrientes disponibles para el crecimiento de las especies vegetales [18]. En este proceso, parte del carbono es asimilado en los tejidos microbianos (biomasa microbiana), y otra parte es convertido en sustancias húmicas estables (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas), la descomposición de esta fracción es perjudicial para diversos procesos físicos y químicos tales como: agregación, intercambio catiónico y capacidad de retención de humedad [19].

### **2.3.2 Actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH)**

La actividad bioquímica total del suelo está constituida por una serie de reacciones catalizadas por enzimas [21]. Las enzimas son proteínas solubles, de naturaleza orgánica y estado coloidal, elaboradas por las células vivas, que actúan independientemente de estas, tienen un poder catalítico específico y se destruyen por el calor húmedo a 100°C [18].

De las enzimas determinadas en el suelo, son las oxidorreductasas las más estudiadas, dentro de las cuales se encuentran la deshidrogenasa, catalasa, peroxidasa, fenoloxidasa y glucoxidasa, también lo han sido otros grupos como las hidrolasas, liasas y transferasas [18].

Ceccanti et al. 1994 han indicado que la importancia del conocimiento de las actividades enzimáticas en los suelos, y en caso especial las enzimas oxidorreductasas, deriva fundamentalmente del papel que juegan estas en los procesos de degradación y evolución de la materia orgánica (MO). A esto se le agrega el hecho de que procesos como la mineralización y la humificación de la MO se rigen en gran medida por reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis [22].

La determinación de la ADH es un reflejo de las actividades oxidativas de la micoflora del suelo. Esta enzima intracelular está asociada a los microorganismos proliferantes, y no es estabilizada por los coloides inorgánicos (arcillas) y orgánicos (sustancias húmicas) del suelo [18]. Se encarga de la oxidación biológica de los compuestos orgánicos mediante el proceso de deshidrogenación, el cual está catalizado por la deshidrogenasa; la reacción general viene dada por:



Donde:  $\text{XH}_2$  es un compuesto orgánico dador de hidrógeno y A es el correspondiente aceptor de los mismos [23].

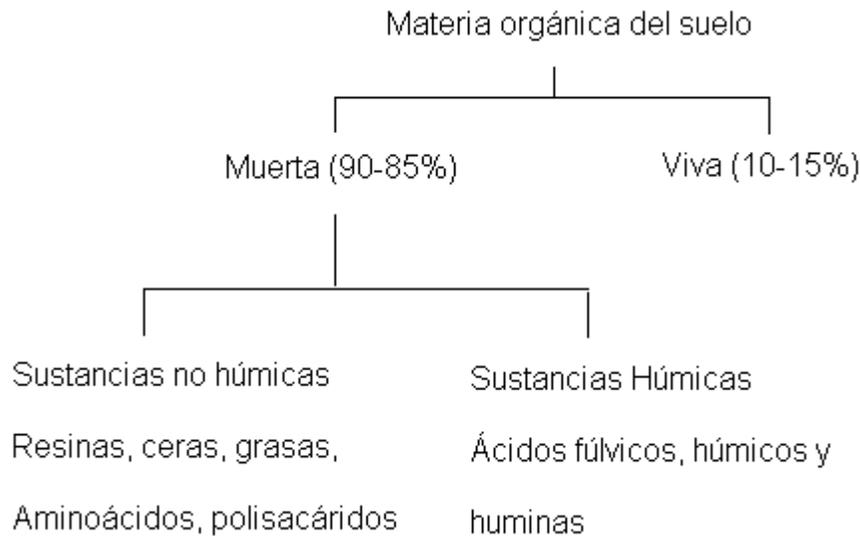
Se considera que la ADH está asociada al proceso de respiración de los microorganismos, ya que esta enzima está involucrada en el transporte de electrones en dicho proceso [24]. Estudios realizados han demostrado que una disminución en la respiración edáfica ( $\text{CO}_2$ ) produce una reducción de su actividad [25].

Lee et al. 2007, evaluó la actividad biológica de un suelo contaminado por aceite mineral pesado, mediante el  $\text{CO}_2$  y la ADH. Los resultados mostraron que la biodegradación de los hidrocarburos se incrementó rápidamente durante los primeros 15 días, provocando una elevación de la velocidad de emisión de  $\text{CO}_2$  y de la ADH con respecto al suelo control, esto se debe a que los hidrocarburos biodegradables (saturados y aromáticos) del contaminante constituyen la fuente de carbono necesaria para el crecimiento microbiano. Adicionalmente al consumirse la fracción biodegradable por los microorganismos del suelo, se observó una disminución del  $\text{CO}_2$  y ADH [26].

#### **2.4 Materia orgánica del suelo (MO)**

La materia orgánica del suelo normalmente se estima a partir del contenido del carbono orgánico. El carbono se encuentra en el suelo de diferentes formas: carbono elemental (carbón vegetal, grafito, etc.), en forma de inorgánica como carbonatos ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^{-2}$ ,  $\text{CO}_3^{-2}$ ) y en forma orgánica en el tejido de los animales, plantas, microorganismos así

como también productos de descomposición como el humus [27]. La materia orgánica del suelo puede ser esquematizada de la siguiente forma:

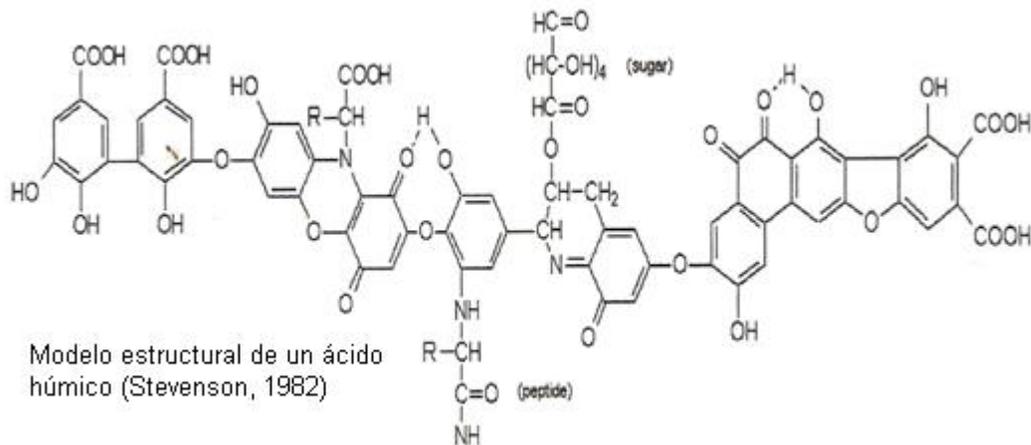


Fuente: Adams, 1995 [28].

Figura 8. Esquema de la materia orgánica en el suelo.

Las sustancias húmicas representa la parte más estable (antes de la reacción de oxidación) de la materia orgánica del suelo y puede definirse como: “La fracción más o menos estable de la materia orgánica del suelo que se obtiene después que se ha descompuesto la mayor parte de la sustancias vegetales o animales añadidas al suelo. Estas sustancias contribuyen a la mejora de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo y por consiguiente a su fertilidad [11]. Se clasifican en función de las solubilidades que presentan en medios ácidos, básicos o solventes orgánicos, como se muestra a continuación:

- Las huminas corresponden a la porción de la materia orgánica de los suelos o sedimentos que es insoluble a cualquier pH y por lo tanto no puede ser extraída en medio ácido ni básico diluido [29].
- Ácidos húmicos: Su estructura se presenta como sólidos amorfos de color marrón oscuro, generalmente insolubles en agua y en casi todos los solventes polares, pero fácilmente dispersables en soluciones acuosas de hidróxidos y sales básicas de los metales alcalinos. Desde el punto de vista estructural, su molécula parece estar constituida por un núcleo de naturaleza aromática, más o menos condensado, y de una región cortical con mayor predominio de radicales alifáticos, presentando en conjunto el carácter de heteropolímeros condensados [30]. A continuación se muestra una molécula hipotética de un ácido húmico:



Fuente: Weber, 2007 [31].

Figura 9. Estructura hipotética de los ácidos húmicos.

- Ácidos fúlvicos: representan la fracción de las sustancias húmicas que son solubles en agua bajo todas las condiciones de pH y permanecen en solución después de remover los ácidos húmicos [31].



Fuente: Weber, 2007 [31].

Figura 10. Estructura hipotética de los ácidos fúlvicos.

Estas sustancias juegan un papel muy importante en el suelo, entre los efectos más notables en los que interviene la materia orgánica se citan los siguientes:

- Mejora la estabilidad de los agregados.
- Aumenta la capacidad de retención de humedad, particularmente en aquellos de textura arenosa.
- Tiene influencia sobre el color, estando generalmente asociados a colores oscuros con mayor contenido de materia orgánica.
- Es responsable en un alto porcentaje de la capacidad de intercambio catiónico, especialmente en suelos ácidos tropicales.

- En la mineralización de la materia orgánica se liberan cantidades apreciables de N, S, P y algunos otros micronutrientes esenciales para el crecimiento y producción de las plantas.
- Algunos óxidos amorfos en el suelo pueden formar complejos con la materia orgánica disminuyendo la fijación de fósforo hacia formas no aprovechables por las plantas [11].

A pesar de todos los efectos beneficiosos que posee la materia orgánica en los suelos, su uso generalmente es reducido en áreas donde los fertilizantes son usados eficiente y económicamente. Una de las formas tradicionales de aumentar el contenido de materia orgánica en suelos bajo cultivo, es la adición de estiércol y residuos vegetales en la superficie [11].

## 2.5 Acidez del suelo

Los suelos ácidos son típicos de aquellas regiones en donde la precipitación es elevada, provocando la lixiviación de los cationes básicos observándose un predominio de cationes ácidos, tanto en los sitios de intercambio como en la solución del suelo [11].

Por muchos años existió la creencia de que el  $H^+$  intercambiable era la causa principal de la acidez en los suelos, sin embargo, trabajos de investigación más recientes han demostrado que el aluminio intercambiable es el catión asociado con la acidez de los suelos. Los iones  $H^+$  liberados en el proceso de mineralización de la materia orgánica pueden reaccionar con la estructura de la arcilla, liberando aluminio y ácido salicílico a la solución del suelo. El  $Al^{+3}$  pasa a los sitios de intercambio de las arcillas y puede

sufrir el proceso de hidrólisis produciendo  $H^+$  en la solución del suelo, detectados en el medidor de pH [11].

Uno de los efectos más importante del pH de los suelos está asociado con la nutrición mineral de las plantas. La absorción de los elementos nutritivos esenciales para el normal crecimiento y producción de las plantas ocurre en el rango de pH correspondiente a los suelos neutros (6,5-7,0). Elementos como nitrógeno, azufre, fósforo, potasio, calcio y magnesio son comunes ejemplos de esta situación haciéndose menos solubles cuando los suelos son más ácidos. Otros elementos que constituyen nutrientes esenciales para las plantas, pero requeridos en menores cantidades que los mencionados anteriormente son: hierro, manganeso, boro, cobre, zinc, cuyas solubilidades tienden a aumentar a pH ácido, esto puede llegar a ser nocivo para las plantas [11].

## **2.6 Enmiendas agrícolas.**

Son aquellos materiales que primeramente modifican las características físicas, químicas y biológicas sin tener en cuenta su valor como aporte de nutrientes. Además de ser una fuente completa de nutrientes para las plantas, los acondicionadores orgánicos aportan materia orgánica al suelo [32], por lo que favorece la fertilidad del suelo, incrementa la actividad de los microorganismos, facilitan el transporte de nutrientes a la planta a través de las raíces y mejoran la estructura del suelo [33].

Los acondicionadores orgánicos son diversos, pero todos en última instancia, se derivan de las plantas. Algunos consisten en materia vegetal natural (como hojas de árbol, hierba cortada, residuos de cultivos, abono verde, entre otros). Otros han sido

transformados, por la industria (fábricas de conservación de residuos), por los animales (estiércol, basura, lodos de depuradora) o por los microorganismos (compostaje) [17].

El uso de enmiendas orgánicas como agentes mejoradores de la actividad biológica del suelo, fueron estudiados por Paolini et al. 2004, donde evaluó el uso de enmiendas orgánicas y su efecto sobre la actividad enzimática deshidrogenasa (ADH) y mineralización del carbono en dos suelos, uno de muy baja fertilidad y sin ninguna actividad agrícola y otro de uso hortícola con fertilización combinada orgánica e inorgánica. En ambos suelos las respuestas a las aplicaciones de las enmiendas fueron altamente significativas ( $p < 0,0001$ ). Se observó un incremento de la ADH y la mineralización del carbono presento un modelo de la doble exponencial, la mayor respuesta se produjo por la aplicación de la gallinaza, seguido del estiércol y el vermicompost, aún después de 6 semanas de incubación, se mantuvo el incremento de la actividad enzimática, lo que se asocia a la presencia de una mayor estructura orgánica de alta recalcitrancia [34].

Acosta et al. 2005, evaluó la dinámica de la ADH en un suelo de Calciorthids de la Península de Paraguaná (edo. Falcón), mezclado con tres residuos orgánicos: lodo residual, estiércol de chivo y residuo del procesamiento industrial de la sábila, (*Aloe vera*), a dosis de 1 y 2 %p/p. El suelo control y los tratamientos fueron incubados aeróbicamente, en condiciones de laboratorio, durante 64 días. Los resultados mostraron que la incorporación de materia orgánica al suelo incremento significativamente ( $p = 0,05$ ) la actividad de esta enzima con respecto al control. Este incremento se mantuvo hasta el final del período de incubación. Para los tratamientos el incremento inicial en la ADH fue mayor con la dosis más alta, observándose una clara tendencia a disminuir con el transcurso del tiempo [17].

Asimismo, Lee et al. 2007, evaluó el efecto que ejercen las enmiendas orgánicas en el proceso de biorremediación y la actividad biológica de un suelo contaminado por aceite mineral pesado. Los resultados obtenidos muestran que se mejora las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo, debido al aumento de su porosidad, el contenido de macronutrientes, micronutrientes y que actúa como soporte y alimento de los microorganismos contribuyendo a la degradación o transformación del contaminante hasta formas menos tóxicas o inocuas para el ambiente y la salud humana [26].

Considerando al estiércol de aves como un acondicionador orgánico empleado para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos del petróleo, el mismo está formado por el excremento y la orina de ganado, aves de corral y otros animales de granja. La aplicación de este abono mejora la estructura del suelo, incrementa el contenido de nitrógeno orgánico y estimula el crecimiento y reproducción de bacterias y hongos del suelo [33].

Sin embargo, para mantener de manera parcial la fertilidad del suelo, los agricultores también pueden aplicar fertilizantes comerciales. Estos materiales contienen al menos uno de los principales nutrientes en forma asimilable o “disponible” para las plantas en cantidades conocidas [35]. En general, los nutrientes vegetales más comunes de estos productos son nitrógeno (como iones amonio, iones nitrato, urea), fósforo (como iones fosfatos) y potasio (como iones potasio). Otros nutrientes vegetales pueden estar también presentes en indicios o trazas [33].

Otra alternativa que ha cobrado mayor importancia a nivel mundial es el empleo de emulsiones asfálticas como una enmienda que mejora las propiedades del suelo, si es aplicada conscientemente, tomando en consideración el impacto ambiental que este tipo de compuestos pudieran ocasionar.

## 2.7 Emulsiones asfálticas

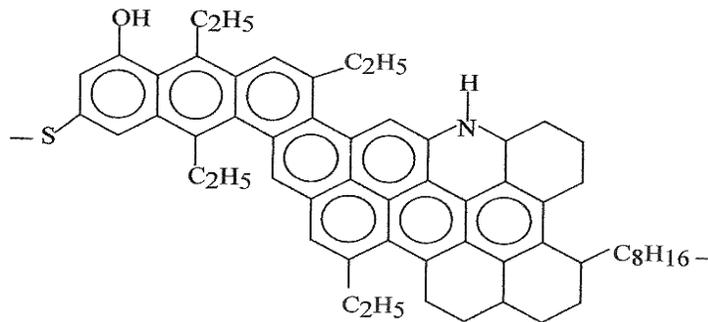
### 2.7.1 Asfaltenos

En un concepto más general, el crudo consta de 4 grupos de compuestos, a saber: los compuestos saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos [36].

Los asfaltenos son definidos como la fracción de crudo insoluble en solventes alifáticos de bajo peso molecular, como tales como n-pentano y n-heptano, pero solubles en tolueno. Otra definición considera que los asfaltenos son moléculas planas, poli aromáticos y poli cíclicas que contienen heteroátomos y metales, que existen en un estado de agregación en suspensión y están rodeados o estabilizado por resinas (agentes peptizantes); no son compuestos puros, ni son moléculas idénticas, se sabe que tiene una carga eléctrica, y son polidispersos [37]. Con respecto a su composición son sólidos amorfos de color marrón o negro, con alto contenido de heteroátomos [38], la composición química de los asfaltenos muestran que el contenido de compuestos aromáticos está entre 40-60% con una relación atómica H/C de 1-1,2 y los heteroátomos mayormente encontrados en diferentes crudos son azufre, nitrógeno y oxígeno. El nitrógeno se encuentra más como parte de los conjuntos aromáticos, mientras que el oxígeno y el azufre forman puentes entre ellos en estructura cíclica o lineal. El azufre existe predominantemente como heterocíclicos teofénicos (típicamente de 65-85%) con el resto de grupos sulfídicos. El nitrógeno se relaciona con los grupos pirrolicos, piridinos y quinólicos, siendo el grupo dominante el pirrolico. Los grupos asociados con el oxígeno son hidroxílicos, carbonilo, carboxílico y éter [38].

Debido a que los asfáltenos contienen una alta complejidad macromolecular, solo se conocen sus estructuras químicas promedios. Yen et al. 1964, desarrollaron con mucho éxito un modelo estructural, el cual explica muchas propiedades de los asfaltenos.

En este modelo, los asfaltenos consisten en láminas planas de sistemas aromáticos condensados, los cuales pueden ser interconectados por sulfuro, éter o cadenas alifáticas. Un promedio de cinco de esas láminas son amontonadas por interacciones  $\Pi$ - $\Pi$ . Los puentes de hidrógeno y las interacciones dipolo-dipolo causan la agregación de los asfáltenos en micelas cuando la concentración de estos es suficiente elevada [36].



Fuente: Acevedo, 1984 [38].

Figura 13. Estructura hipotética para los asfáltenos de Cerro Negro.

### 2.7.2 Teoría de las emulsiones.

Podemos definir a las emulsiones desde el punto de vista físico y químico, como una dispersión fina más o menos estabilizada de un líquido en otro, los cuales son no miscibles entre sí y están unidos por un emulsificante, emulsionante o surfactante [39].

Las emulsiones son sistemas formados por dos fases parcial o totalmente inmiscibles, en donde una es la fase continua (o dispersante) y la otra es la fase discreta (o dispersa) [39].

En el caso de las emulsiones asfálticas la fase continua es el agua y la fase discreta es la sustancia bituminosa (asfalto) en forma de pequeños glóbulos llamados micelas. Adicionalmente, se tiene el emulsificante, el cual se deposita en la interfase entre el agua y el asfalto provocando la formación de la emulsión; este depende de la clase de emulsión que se requiera [40].

Los emulsificantes son compuestos orgánicos de peso molecular relativamente elevado; su parte hidrofóbica, generalmente es una cadena hidrocarbonada lineal o cíclica que es soluble en el medio orgánico. La emulsión asfáltica, es soluble en el asfalto y su parte hidrofílica, por lo general es un grupo polar de tipo orgánico e inorgánico que se encuentran saponificados y con el contacto con la fase acuosa se disocian, quedando con cargas negativas o positivas según el tipo de emulsificante [40].

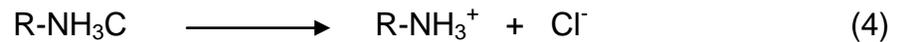
Se pueden clasificar en iónicos y no iónicos [41]. El tipo de emulsificante iónico define la clase de emulsión: los emulsificantes aniónicos, tienen grupos ácidos en su parte polar, con carga eléctrica negativa; estos tienen como fórmula general R-COONa [40].

Cuando este tipo de emulsificante se encuentra en un medio acuoso se disocia resultando:



y el grupo carboxilato  $\text{COO}^-$  se dirige hacia la parte hidrofílica, mientras que el radical alquilo R lo hace hacia la parte hidrofóbica [40].

Los emulsificantes catiónicos son generalmente grupos aminos con carga eléctrica positiva y con fórmula general  $\text{R-NH}_3\text{Cl}$ . Cuando este tipo de emulsificantes actúa en un medio acuoso se disocia de la siguiente manera:



y el grupo amino  $\text{NH}_3^+$  se orienta hacia la parte hidrofílica, mientras que el radical alquilo lo hace hacia la parte hidrofóbica [40].

Los emulsificantes son los que, producida la emulsión, se sitúan en su mayor parte en la interfase. Su parte hidrofóbica se dirige hacia el asfalto y su parte polar hacia el agua, en el caso de una emulsión asfáltica. Con estos emulsificantes las partículas adquieren cargas eléctricas del mismo signo, repeliéndose entre ellos y estabilizando el sistema [40].

De acuerdo al tipo de emulsificante utilizado, las emulsiones asfálticas se clasifican en:

- Emulsiones asfálticas catiónicas: Son aquellas emulsiones asfálticas cuyos glóbulos de asfalto están rodeados de una capa iónica de carga positiva [42].
- Emulsiones asfálticas aniónicas: Son aquellas emulsiones asfálticas cuyos glóbulos de asfalto están rodeados de una capa iónica negativa [43].

Las emulsiones suelen desestabilizarse debido a la existencia de minerales (mayoritariamente silicatos) en el material base para su elaboración (crudo). La carga de este material neutraliza la carga de las partículas del asfalto en la emulsión permitiendo que se acerquen unas a otras para formar agregados de gran tamaño; estos agregados son los que se depositan sobre el crudo formando una capa asfáltica.

Durante este proceso de desestabilización el agua es eliminada de sistema asfalto-material base. La emulsión como va perdiendo agua, pasa por emulsión inversa, en donde la fase acuosa está dispersa en el asfalto, o sea se forman pequeñas gotas de agua en el interior del asfalto, las cuales posteriormente, cuando se deposita la capa del asfalto, son eliminadas.

Los factores que influyen en la ruptura de emulsión aniónica son la evaporación de la fase acuosa, la difusión del agua en la emulsión y la absorción superficial de una fracción del emulsificante por el material base. En cambio, la ruptura de la emulsión catiónica se produce por la absorción de la parte polar del emulsificante por los agregados, provocando el quiebre de la emulsión y haciendo que las partículas del asfalto se adhieran inmediatamente a las partículas del material base, aún en presencia de humedad [40].

Resulta importante destacar, las ventajas que presenta el uso de las emulsiones asfálticas como se presenta a continuación:

1. Es un ligante asfáltico no contaminante, ya que contiene del 35 al 40% de agua como solvente.

2. Su manejo es sencillo y seguro, gracias a su baja viscosidad a temperatura ambiente.
3. Tiene una gran adhesión con cualquier agregado petreo.
4. Puede ser almacenado por semanas o meses, por la razón entre otras cosas a la igualdad de las densidades de sus componentes.
5. Presenta un bajo costo de la fase dispersante, que es agua.
6. Por su aplicación en frío, ayuda a no alterar al ambiente y queda suprimida la emisión de humus o gases.
7. El empleo del agua como solvente no crea problemas de su desperdicio, ya que es recuperable [40].

### **2.7.3 Uso de emulsiones asfálticas como enmienda agrícola con suelo.**

Estudios realizados sobre el empleo de emulsiones asfálticas como enmienda mejoradora de las propiedades del suelo son presentados por Pla et al. 1983, evaluó el uso de emulsiones de asfalto para incrementar y regular la productividad de maíz (*Zea mays* L.) y sorgo (*Sorghum bicolor* L.) en dos inceptisoles de Los Llanos Altos Occidentales de Venezuela. Los suelos bajo estudio están caracterizados por una baja estabilidad estructural y tasa de infiltración, drenaje interno restringido y topografía plana. Los resultados obtenidos indicaron una importante contribución a la conservación del agua, debido a un aumento de la tasa de infiltración y a una disminución de la pérdida de agua por evapotranspiración, lográndose una mayor disponibilidad del vital líquido y de los nutrimentos para su posterior utilización por las especies vegetales [44].

Salem et al. 1985, estudió el efecto de emulsiones bituminosas sobre la retención y liberación de algunos nutrientes elementales y metales pesados en suelos de Egipto y Bélgica. Estos suelos se caracterizan por un bajo contenido de materia orgánica y arcilla, donde el comportamiento de los elementos nutritivos está dominado por las lluvias que implican riesgos importantes de pérdida por lixiviación. Los resultados mostraron un incremento en el porcentaje de agregación y de estabilidad, reducción de pérdida de nutrientes por lavado y disminución de niveles de concentración de metales principalmente Fe, Zn, Mn, Cu, Cd, y Pb [7].

Se han realizado otros estudios donde se emplean emulsiones asfálticas, entre los cuales encontramos, Sánchez 1999, evaluó la respuesta de la incorporación de abonos orgánicos (gallinaza, cachaza de caña y pulpa de café) y la aplicación superficial de emulsiones asfálticas sobre las pérdidas de agua en el suelo sembrado con cebollín (*Allium schoenoprasum*). Los resultados mostraron que los suelos tratados con emulsiones asfálticas obtuvieron una mayor estabilidad de agregados; previniendo de esta manera que las pérdidas de agua están ausentes en comparación con aquellos suelos tratados con abonos orgánicos [45].

Fortún et al. 2005, evaluó el uso de emulsiones asfálticas y enmiendas orgánicas como estrategias para incrementar la estabilidad de los agregados, empleando microscopía electrónica de barrido (MEB) como método de cuantificación. Para ello, se utilizaron dos suelos ácidos de tipo arenoso-limoso y arenoso de España, fueron mezclados con emulsiones bituminosas y otras enmiendas orgánicas. Los resultados demostraron que produce mejoras en la estructura de ambos suelos con el uso de emulsiones, mientras que el tratamiento con materia orgánica, causó la formación de pequeños agregados de baja estabilidad en suelos arenosos y agregados estables en el otro tipo de suelo [46].

Agüero L. 2008. Evaluó el efecto combinado de emulsiones asfálticas sobre las propiedades físicas y químicas de un suelo ácido de sabana de cargas variables. Los resultados en el aspecto físico mostraron: mejoras en la estabilidad estructural del suelo, en los tratamientos con mayor proporción de emulsión asfáltica aniónica, debido a la acción cementante de la emulsión y la interacción mediante la carga negativa; mientras que en los resultados de retención de humedad no se observaron cambios significativos ( $p < 0,05$ ). Además reflejó un aumento en la capacidad de intercambio catiónico y de bases intercambiables en el tratamiento de la fracción granulométrica fina con 50% emulsión catiónica y 50% emulsión aniónica [47].

De acuerdo a los estudios presentados anteriormente, las emulsiones asfálticas representan un alto potencial para mejorar las condiciones físicas y químicas del suelo, por ello es importante seguir profundizando las investigaciones, para así conocer si además podrían favorecer el crecimiento de las especies vegetales.

### 3 OBJETIVOS

#### Objetivo general

Evaluar el efecto de una emulsión asfáltica en las propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo de sabana sembrado con la especie vegetal: *Urochloa brizantha*.

#### Objetivos específicos

- Evaluar el crecimiento de la especie vegetal: *Urochloa brizantha*, sembrada en un suelo de sabana mezclado con una emulsión asfáltica.
- Determinar los cambios que se producen en los parámetros biológicos como actividad enzimática deshidrogenasa y respiración edáfica en un suelo de sabana sembrado con la especie vegetal: *Urochloa brizantha* en presencia de una emulsión asfáltica.
- Evaluar los cambios físicos y químicos que ocurren al incorporar una emulsión asfáltica sobre un suelo de sabana sembrado con la especie vegetal: *Urochloa brizantha*.

## **4 MATERIALES Y MÉTODOS**

El diseño experimental se llevo a cabo en la empresa PDVSA Intevep, ubicada en la Urbanización Santa Rosa, sector El Tambor, Los Teques, estado Miranda; en los Laboratorios de Tratabilidad de Desechos Sólidos, Invernadero y Química Ambiental, pertenecientes a la Gerencia de Ambiente e Higiene Ocupacional.

### **4.1 Características del suelo**

#### **4.1.1 Área de estudio**

##### **4.1.1.1 Ubicación geográfica.**

El suelo es procedente del campo experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), ubicado en Santa Bárbara, estado Monagas, limitándose al norte con el Río Amana, al sur con la población de Mapirito, al Este con Moron y al Oeste con la población denominada Cabecera de Queregua y geográficamente a  $9^{\circ} 35' - 9^{\circ} 37'$  latitud norte y  $63^{\circ}35' - 63^{\circ}37'$  longitud oeste [48].

##### **4.1.1.2 Geología y relieve.**

Desde el punto de vista geológico, el área está ubicada sobre la formación mesa, cuya naturaleza litológica es de conglomerado de gravas y áreas muy gruesas, mal cementadas, con guijarros bien redondeados de diámetros variables, peñones y cantos

rodados, alternando con unas capas de arenas de diferentes tamaños, mala consolidación y escogencia, con alternación de capas de limolitas y arcillas [49]

#### **4.1.1.3 Clima**

Para la caracterización climatológica del INIA se tomó en cuenta la estación de Viento Fresco por constituir una de las estaciones más completas [50]. El promedio anual de precipitación está alrededor de 1024,8mm, los meses junio (188,4mm) y julio (165,7mm) presentan los valores máximos promedio de precipitación y los valores más bajos se ubican en los meses de febrero (10,9mm) y marzo (9,9mm). La temperatura promedio del año es de 26°C, siendo diciembre y enero los meses menos cálidos (24,9°C) y abril (27,3°C) el mes más cálidos. El promedio anual de evaporación es de 2069,9mm, siendo los meses marzo (229,9mm) y abril (219,7mm) de mayor evaporación y los valores más bajo se ubican en los meses junio (154,0mm) y agosto (151,8mm) [51].

#### **4.1.1.4 Suelo.**

Presentan textura arena francosa (aF) en los primeros 15 cm del perfil y franco arcillosa arenosa en los horizontes más profundos. Además, se caracteriza por un pH moderadamente ácido 5,5, bajo contenido de materia orgánica (0,27% C), no presenta problemas de sodicidad (RAS= 2,0), baja fertilidad (CIC: 3,98 meq/100 g suelo), bien drenado y densidad de 1,41 g/mL [48].

#### 4.1.1.5 Uso potencial y actual.

El uso que actualmente se le confiere al campo experimental INIA, es con fines agropecuarios, donde se realizan investigaciones con: sorgo (*Sorghum bicolor* L.), girasol (*Helianthus annuus*), y algunas plantas forrajeras. Como vegetación secundaria se presentan: el cadillo bobo (*Cenchrus peloso*), cadillo negro (*Cenchrus schinatas*) y mastranto (*Hyptis suaveolen*) [51].

## 4.2 Características de las emulsiones asfálticas

Las emulsiones que fueron utilizadas, son emulsiones comerciales (ver Tablas 1, 2 y 3), provenientes de la Industria de Productos Asfálticos (IPA) del estado Aragua.

Tabla 1. Características de las emulsiones asfálticas.

Clasificación	Tipo de rompimiento	Polaridad	Densidad g/mL
EAR- 228817	Rápido	Aniónica	0,89
ECR- 228819	Rápido	Catiónica	0,95

Tabla 2. Composición química promedio de las emulsiones.

Material Orgánico (%p/p)		Material Inorgánico (%p/p)	
91,43		8,57	
Fracción Orgánica			
Saturados	Aromáticos	Resinas	Asfaltenos
(%p/p)	(%p/p)	(%p/p)	(%p/p)
1,00	39,00	42,50	17,50

Tabla 3. Composición química específica de las emulsiones.

Emulsión	Contenido de Aceites y Grasas		Composición química	
	(%p/p)		(%p/p)	
IPA aniónica	67,02		Orgánicos	99,95
			Inorgánicos	0,05
IPA catiónica	64,50		Orgánicos	98,74
			Inorgánicos	1,26
Emulsión	Saturados	Aromáticos	Resinas	Asfaltenos
	(%p/p)	(%p/p)	(%p/p)	(%p/p)
IPA aniónica	6,00	44,00	42,00	8,00
IPA catiónica	1,00	39,00	42,50	17,5

### 4.3 Características del fertilizante

Los fertilizantes utilizados fueron N-P-K y urea, los cuales tienen concentraciones disponibles para las plantas de 12 %p/p N (disponibles en sus tres formas, amoniacal, nítrico y orgánico), 24 %p/p P (expresado como  $P_2O_5$ ), 12 %p/p K (expresado como  $K_2O$ ) y un 46 %p/p N respectivamente.

Para la adición de nutrientes se consideró las relaciones de C/N y C/P en función de los trabajos de biorremediación de suelos impregnados con desechos provenientes de las actividades petroleras elaborados en PDVSA Intevep.

### 4.4 Características del acondicionador agrícola

El estiércol utilizado es derivado del excremento y orina de aves (gallinaza), proveniente de la granja Avicentro perteneciente a San Casimiro, estado Aragua.

### 4.5 Características de *Urochloa brizantha*

Es una especie de origen africano, perteneciente a la familia de las gramíneas (Poaceae). Este cultivar, posee el valor nutritivo más alto en forrajes tropicales, además se adapta bien a suelos con fertilidad de media a alta, bien drenados, de textura media a ligera, se caracteriza por ser tolerante a la acidez (pero no tan extrema [52]).

## 4.6 Diseño experimental

La metodología realizada fue dividida en dos etapas:

- Etapa de laboratorio.
- Análisis estadístico.

### 4.6.1 Etapa de laboratorio.

En esta etapa se realizó el tratamiento de las muestras de suelo (suministrada por PDVSA Intevep, ya tamizada, utilizando una malla de 2 mm), desde la aplicación de los diferentes tratamientos, hasta los análisis físicos, químicos y biológicos de laboratorio necesario para cumplir los objetivos propuestos. El trabajo fue dividido en dos grandes fases: ensayo de microcosmos y análisis de laboratorio.

#### A. Fase I (ensayo de microcosmos)

Ensayo 1. Selección del tipo de emulsión y dosis máxima para la tolerancia de *Urochloa brizantha*.

Se prepararon mezclas de 600 g de suelo con las emulsiones asfálticas (catiónica y aniónica) según las concentraciones presentadas en la Tabla 4, estas fueron divididas en 4 fracciones de 150 g y colocadas en bandejas, es decir, 4 replicas por tratamiento suelo + emulsión y dio un total de 52 microcosmos. Las emulsiones se agregaron en el

suelo mezclando en forma mecánica, además se agregó 15mL de agua para dispersar la emulsión. Los microcosmos fueron estudiados por un período de 30 días bajo condiciones de invernadero (temperatura 35°C y humedad relativa 80 %) y a un riego interdiario para mantener la capacidad de campo en un 80 %p/p en las mezclas. Las muestras fueron colocadas en bolsas plásticas para prevenir su secado y almacenadas a una temperatura de 4°C. Se realizaron las siguientes caracterizaciones físicas, químicas y biológicas: contenido de humedad, estabilidad de agregados, pH, bases intercambiables, capacidad de intercambio catiónico, contenido de materia orgánica, actividad de la enzima deshidrogenasa.

Tabla 4. Tratamientos de las mezclas suelo-emulsiones asfálticas.

	Dosis (%p/p)												
	Suelo	Emulsión aniónica						Emulsión catiónica					
	100	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
Tratamientos	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>10</sub>	T <sub>11</sub>	T <sub>12</sub>

Ensayo 2. Luego de seleccionar la concentración de 3 %p/p de emulsión catiónica, debido a que este tratamiento presentó una alta actividad biológica, se realizó la segunda parte del diseño experimental, en el cual se compararon 6 tratamientos (Tabla 5).

Se prepararon mezclas de 3200 g de suelo, estas fueron divididas en 4 porciones de 800 g aproximadamente y colocadas en bandejas plásticas, es decir, 4 replicas por tratamiento de suelo, para dar un total de 72 microcosmos (Tabla 5). Se añadió la emulsión mezclado uniformemente con el suelo de forma mecánica y se agregó agua hasta el 60 %p/p de la capacidad de campo (157 mL H<sub>2</sub>O/Kg suelo) para dispersar la

emulsión en la mezcla. Con respecto al proceso de fertilización se realizó como agua de riego en porciones equivalentes al inicio, 30 y 90 días de estudio, con una dosis de 100 mL de una solución de 2 L que contiene 11,2 g urea + 1,6 g de N-P-K y 11,7 g urea + 1,7 g de N-P-K para los tratamientos T<sub>2</sub> y T<sub>4</sub> respectivamente.

Los microcosmos fueron estudiados por un período de 120 días con un muestreo inicial y a los 30, 60 y 120 días. Se dejaron bajo condiciones de invernadero y a un riego interdiario para mantener el porcentaje de humedad en las mezclas. Las muestras sólidas fueron colocadas en bolsas plásticas y almacenadas a una temperatura de 4°C. Se realizaron las siguientes caracterizaciones físicas, químicas y biológicas: contenido de humedad (%p/p), estabilidad de agregados (%AEA), pH, conductividad eléctrica (CE), bases intercambiables (BI), capacidad de intercambio catiónico (CIC), saturación con base (%SB), relación de adsorción de sodio (RAS), contenido de materia orgánica (%p/p), aceites y grasas (%AyG), hidrocarburos biodegradables (saturados y aromáticos), cloruros (Cl<sup>-</sup>), metales totales (Ba, Cd, Cr, Pb, Zn y Ag), metales lixiviados (Ba, Cd, Cr, Pb, Ni y Ag), actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH), respiración edáfica (producción de CO<sub>2</sub>).

Para la determinación de la biomasa seca total de *Urochloa brizantha*, se realizó una plantación, cada microcosmo contenía 2 plantas, con un peso individual de 5 g y la cosecha se efectuó en forma íntegra (vástago y raíz).

Tabla 5. Tratamientos y sus respectivas características.

Tratamientos	Características
T <sub>0</sub>	Suelo + <i>Urochloa brizantha</i>
T <sub>1</sub>	Suelo + 3 %p/p emulsión + <i>U. brizantha</i>
T <sub>2</sub>	Suelo + 3 %p/p emulsión + fertilizante + <i>U. brizantha</i>
T <sub>3</sub>	Suelo + 3 %p/p emulsión + 10 %p/p estiércol + <i>U. brizantha</i>
T <sub>4</sub>	Suelo + 3 %p/p emulsión + fertilizante + 10 %p/p estiércol + <i>U. brizantha</i>
T <sub>5</sub>	Suelo + 3 %p/p emulsión + 0,6 g cal/800 g suelo + <i>U. brizantha</i>

## B. Fase II (Análisis de laboratorio)

Se tomaron las cantidades de muestras requeridas para los diferentes análisis físicos, químicos y biológicos de cada tratamiento, como se muestra a continuación:

## **B.1 Suelo.**

### **B.1.1 Determinación del contenido de humedad (%p/p)**

La humedad o contenido de agua de un suelo se define como la razón entre el peso de agua de los poros del suelo y el peso de los sólidos del suelo. Resulta importante la determinación de este parámetro, ya que el agua es vital para el crecimiento de las plantas.

El método de determinación del contenido de humedad está basado en el principio gravimétrico, la balanza termogravimétrica registra el peso inicial de la muestra, se seca en un horno a 105°C por 45 minutos, mientras una balanza integrada mide continuamente su peso y la pérdida de peso total se interpreta como contenido de humedad [53]:

### **B.1.2 Determinación de agregados estables al agua (%AEA).**

Este parámetro permite conocer la estabilidad de los agregados del suelo, en función de vulnerabilidad de los agregados del suelo a fuerzas externas destructivas como el agua corriente.

Su determinación se basa en el humedecimiento y secado del suelo en forma gradual. Para ello, se deja secar la muestra al aire (en el caso de estar húmeda) y se pesa alrededor de 10 g de muestra de suelo tamizado a través de un tamiz de 2 mm.

Luego se coloca un tamiz de 0.25 mm (previamente pesado) sobre unos retazos de tela húmeda y se le agrega la muestra de suelo, permitiendo que esta se humedezca por 5 minutos, seguidamente se coloca el tamiz de 0,25mm con el suelo humedecido en un recipiente lleno con agua destilada (de forma que la superficie del agua este justo por encima de la muestra de suelo) y se realizan movimientos de arriba hacia abajo a lo largo de una distancia vertical de 1,5 cm a razón de 30 oscilaciones por minuto durante 3 minutos, asegurándose que los agregados permanezcan inmersos en agua durante el movimiento hacia arriba. Después se coloca el tamiz con los agregados sobre un tela seca para absorber el excedente de agua. Además se usa un equipo calórico para terminar de secar los agregados y seguidamente se toma el peso del tamiz con los agregados secos.

Una vez que esta etapa haya concluido, se dispersan los agregados con una solución calgón ( $40\text{g Na}_{(n+2)}\text{P}_n\text{O}_{3n+1}$  y  $10\text{g Na}_2\text{CO}_3$ ), sumergiendo el tamiz con los agregados secos en dicha solución, se remojan los agregados durante 5 minutos moviendo periódicamente el tamiz hacia arriba y abajo, en esta fase sólo la arena debe permanecer en el tamiz. Finalmente, se secan los agregados de la misma manera que la primera fase y se toma el peso de la arena contenida en el tamiz. Se calcula los agregados estables al agua (AEA) empleando la siguiente ecuación [54]:

$$\text{AEA (\%suelo} > 0,25\text{mm)} = \frac{(m_{(g)} \text{ agregados secos} - m_{(g)} \text{ arena})}{(m_{(g)} \text{ suelo seco} - m_{(g)} \text{ arena})} \times 100 \quad (1)$$

donde,

AEA: Agregados estables al agua.

### B.1.3 Determinación de pH

El pH se define como el logaritmo del valor inverso de la concentración de  $H^+$  expresada en moles/L.

$$pH = \text{Log} \frac{1}{[H^+]} \quad (2)$$

El método utilizado se denomina “electrométrico” [55], está basado en la determinación de un potencial eléctrico, que se establece al introducir el electrodo en la suspensión suelo-agua, y este potencial es proporcional a la concentración de  $H^+$  en la solución del suelo [11].

Para la determinación del pH, se pesa 20 g de muestra en una fiola de 250 mL, se agrega 20 mL de agua destilada (relación 1:1 suelo:agua), se agita durante 1 hora y se deja reposar por 30 minutos, posteriormente se filtra la muestra por succión empleando un papel de filtro Whatman N° 1. Finalmente, se coloca en el extracto el electrodo del pH metro para su lectura.

### B.1.4 Determinación de la conductividad eléctrica (CE)

La conductividad eléctrica, es un índice de la concentración de sales disueltas y su medida se basa en el principio de que la corriente eléctrica transmitida por una solución que contenga sales, aumentara a medida que la sales en solución se eleve.

Este parámetro nos indica las sales disueltas que puede contener la solución del suelo, ya que a valores altos de CE, puede interferir principalmente en los agregados del suelo, impidiéndole aireación y limitándolo así, el oxígeno necesario para el crecimiento de la especies vegetales [11, 17].

El procedimiento para la medición de CE, se ejecuto por relación 1:1 de suelo y agua (ver metodología de pH) a través de un conductímetro [56]

### **B.1.5 Determinación de bases intercambiables**

Es importante conocer el contenido de los principales cationes del complejo de cambio para la noción de los fenómenos de intercambio iónico del suelo [11].

Para su determinación se pesan 10 g de la muestra de suelo en una fiola de 250 mL y se le agrega 100 mL de una solución extractora de acetato de amonio ( $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ) 1N. Luego se agita por 1 hora y se deja reposar por 15 minutos, posteriormente se filtra por succión empleando un papel de filtro Whatman N° 1. Finalmente, se determina la concentración de los cationes  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{K}^+$ , y  $\text{Na}^+$  por espectroscopia de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado (ICP) [57].

$$\text{BI} = \text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2} + \text{K}^+ + \text{Na}^+ \quad (3)$$

### **B.1.6. Determinación de aluminio intercambiable**

Una muestra de 10 g de suelo, se le realiza una extracción con una solución de cloruro de sodio (NaCl) 1N. Luego se agita por 1 hora y se deja reposar por 15 minutos, posteriormente se filtra por succión empleando un papel de filtro Whatman N° 1. Finalmente, se determina la concentración del  $\text{Al}^{+3}$  por espectroscopia de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado (ICP) [57].

### **B.1.7 Determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC)**

Se obtiene al sumar los miliequivalentes de los diferentes cationes intercambiables presentes en el suelo, los cuales son  $\text{H}^+$ ,  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$  [12]. Estos fueron determinados por las metodologías: aluminio intercambiable y bases intercambiables [57].

Determinadas las concentraciones (meq/100 g suelo) de los cationes ácidos y básicos, se procede a calcular la capacidad de intercambio catiónico de la siguiente forma:

$$\text{CIC} = \text{H}^+ + \text{Al}^{+3} + \text{Mg}^{+2} + \text{Ca}^{+2} + \text{K}^+ + \text{Na}^+ \quad (4)$$

### B.1.8 Determinación de la saturación con base (%SB)

La saturación con bases (%SB) es la relación de los cationes básicos cambiables  $Mg^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $K^+$  y  $Na^+$  y los cationes intercambiables  $H^+$ ,  $Al^{+3}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $K^+$  y  $Na^+$  expresada en porcentaje [11]. Se cálculo de la siguiente manera:

$$\% SB = \frac{BI}{CIC} \times 100 \quad (5)$$

### B.1.9 Determinación de la relación de adsorción de sodio (RAS)

La relación de adsorción de sodio (RAS), mide la tendencia de la solución del suelo a producir sodio intercambiable, donde las concentraciones de  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$  y  $Mg^{+2}$  son expresadas en meq/L y está definida según la siguiente ecuación [11]:

$$RAS = \frac{Na^+}{\sqrt{\frac{Ca^{+2} + Mg^{+2}}{2}}} \quad (6)$$

La medición de este parámetro se realizo empleando el método de pasta saturada: se pesa 100 g de muestra, mezclándolo con porciones de agua destilada hasta formar una película delgada en la superficie de la misma, posteriormente se deja reposar por 24 horas a temperatura del laboratorio. Finalmente se filtra y se lleva a un equipo espectroscopia de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado (ICP), para determinar las proporciones de  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$  y  $Mg^{+2}$  [11].

Además a partir del extracto de pasta saturada también se determino los valores de pH y CE, para así compararlos con los obtenidos por el método de relación 1:1 suelo:agua.

Este método se utiliza con el objetivo de conocer la disposición de estas fracciones en la solución del suelo y su participación en el crecimiento de los cultivos [17].

#### **B.1.10 Determinación de cloruros (Cl<sup>-</sup>)**

Las sales de cloro al igual que el pH y la CE, afecta a la mayoría de los procesos biológicos y al crecimiento de las especies vegetales. Los cloruros representan la cantidad de sales de cloro que se encuentran en la solución del suelo [11, 17].

Para la determinación de la concentración de cloruros, se pesa 17 g de muestra, se le agrega 85 mL de agua destilada (relación 1:5 suelo:agua), se agita por medio de 1 hora, y se deja reposar por 30 minutos. Se filtra la suspensión suelo-agua por succión, empleando un papel de filtro Whatman N° 1. Se toma una alícuota del extracto filtrado y se determina la concentración (mg/L) de cloruros mediante una titulación colorimétrica  $\text{AgNO}_3$  0,014N, empleando como indicador  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$ .

Este método se basa principalmente en la diferencias de las solubilidades de los compuestos de  $\text{AgCl}$  y  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$ , es decir, la sal de cloro es más soluble que la de cromato, entonces al agotarse los iones cloruros, la siguiente gota del titulante reacciona con el ion  $\text{CrO}_4^{-2}$  formando un precipitado de color ladrillo correspondiente a  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$ , indicando el punto final de la titulación [58]:

$$Cl^- = \frac{(V_M - V_B) \times N \times Pa_{Cl^-}}{V_{ext}} \times 1000 \quad (7)$$

donde,

Cl<sup>-</sup>: cloruros (mg/L)

V<sub>M</sub>: Volumen (mL) de AgNO<sub>3</sub> gastados en la muestra

V<sub>B</sub>: Volumen (mL) de AgNO<sub>3</sub> gastados en el blanco

N: normalidad de AgNO<sub>3</sub>

Pa: peso atómico (g/mol) del átomo de cloro

V<sub>ext</sub>: Volumen (mL) de la muestra utilizado en la titulación.

### **B.1.11 Determinación del contenido de materia orgánica (% MO)**

Conocer el porcentaje de materia orgánica resulta ser significativo, debido que su presencia es altamente importante en el crecimiento de las plantas. Su determinación está basada principalmente en la combustión seca de la muestra. Para ello se pesa una muestra de 5 g en capsulas de porcelanas que fueron previamente tratadas en un horno-mufla a una temperatura de 550°C durante 2 horas para eliminar los compuestos que puedan generar error en el peso. Luego se trata el conjunto (muestra-capsula) en el horno a 105°C durante 1 hora, con la finalidad de eliminar la humedad en las muestras, este se deja enfriar y se lleva a peso constante. Nuevamente se coloca el conjunto y se eleva la temperatura a 550°C durante 3 horas. Finalmente se deja enfriar y se lleva a peso constante. Se determina el contenido de materia orgánica según la siguiente ecuación [59]:

$$\% \text{ MO} = \frac{(\text{g crisol} + \text{muestra } 105^{\circ}\text{C}) - (\text{g crisol} + \text{muestra } 550^{\circ}\text{C})}{(\text{g crisol} + \text{muestra } 105^{\circ}\text{C}) - (\text{g crisol } 550^{\circ}\text{C})} \times 100 \quad (8)$$

donde,

MO: materia orgánica

### **B.1.12 Determinación del contenido de aceites y grasas (% AyG)**

Para la determinación del contenido de aceites y grasas se pesa 10 g de la muestra en un dedal de extracción. La muestra se acidifica con 1 mL de HCl 1N; posteriormente se elimina la humedad, utilizando aproximadamente 15 g de sulfato de magnesio monohidratado ( $\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Después de haber preparado la muestra en el dedal, se coloca dentro del sistema de extracción Soxhlet conectado a un balón de 250 mL que contiene diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), el cual es calentado por una plancha de calentamiento durante 8 horas. La muestra se rotavapora para extraer el solvente que contiene los aceites y grasas, esta muestra se pasa por un filtro con sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) para eliminar la humedad restante, lavando varias veces con el solvente, mientras se recoge en un balón de 100 mL previamente llevado a peso constante, nuevamente se evapora el solvente y se coloca en la estufa a  $36^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, para garantizar la evaporación completa del solvente.

Finalmente, se lleva al desecador y se toma el peso de la muestra de aceites y grasas contenida en el balón. El contenido de aceites y grasas se calcula con la siguiente ecuación [60]:

$$\% \text{ AyG} = \frac{(\text{g AyG en el balón}) - (\text{g balón vacío})}{\text{g muestra seca}} * 100 \quad (9)$$

donde,

AyG: aceites y grasas

### **B.1.13 Determinación de hidrocarburos biodegradables (saturados y aromáticos)**

La determinación del contenido de las fracciones biodegradables del crudo, se realiza a partir del extracto de aceites y grasas, mediante un cromatógrafo de capa fina acoplado a un detector de ionización a la llama [61].

### **B.1.14 Determinación de metales totales**

Este método es aplicable a digestiones ácidas en microondas, de muestras de matrices con sílice, orgánicas y otras matrices compuestas. Algunos sistemas como cenizas, tejidos biológicos, aceites, suelos contaminados con aceites, sedimentos y suelos pueden ser digeridos usando el método de descomposición total [66].

Para su determinación se pesa alrededor de 0,5 g de muestra seca y tamizada por un tamiz de 2 mm en un vessel y se agrega  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HCl}$  y  $\text{HF}$  en las proporciones 9:3:1. El recipiente se sella y se coloca en un sistema de microondas durante 30 minutos a una presión de 120psi y 180°C de temperatura. Seguidamente, la muestra digerida se transfiere a un balón de 50mL, completando con agua destilada. Finalmente se lleva a un equipo de espectroscopia de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado

(ICP) para determinar el contenido de metales en la muestra (Ba, Cd, Cr, Pb, Zn y Ag) [62].

### B.1.15 Determinación de fósforo disponible

El fósforo disponible define los grados de deficiencia, suficiencia o exceso de este elemento en relación a su disponibilidad para las plantas. La determinación de fósforo disponible, está basado en la determinación por ICP del fósforo extraído del suelo mediante una solución de  $\text{NaHCO}_3$  0,5 M a 8,5 de pH [63]. Para ello, se pesa 1 g de muestra en una fiola de 125 mL, se le añade 20 mL de la solución extractora, se agita por 30 minutos y se deja reposar por 15 minutos. Finalmente se decanta el extracto y se lleva a un equipo de espectroscopia de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado (ICP) para la determinación del fósforo disponible en la muestra a partir de las siguientes ecuaciones:

$$P_{(mg)} = \frac{[P] \times V_{Ext}}{1000} \quad (10)$$

$$P_{(mg)}/m_{(Kg)} \text{ suelo} = \frac{P_{(mg)}}{\text{muestra seca}_{(Kg)}} \quad (11)$$

donde,

$P_{(mg)}$ : masa (mg) de fósforo disponible en la muestra

[P]: concentración (mg/L) de fósforo disponible en la muestra

$V_{Ext}$ : volumen (mL) de la solución de  $\text{NaHCO}_3$

$P_{(mg)}/m_{(Kg)} \text{ suelo}$ : concentración (mg/Kg) de fósforo disponible por masa de muestra seca.

### **B.1.16 Determinación de la actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH)**

La actividad de la enzima intracelular deshidrogenasa es un indicador de la actividad microbiana del suelo y es uno de los métodos comúnmente utilizado para determinar la actividad de los microorganismos [18].

El método está basado en la extracción con metanol y la determinación colorimétrica del trifenilformazan (TPF) que se origina después de incubar una muestra de suelo con una solución acuosa de cloruro de tetrazoilo (TTC) a 37°C por 24 horas [64]. El procedimiento consiste en pesar 1-1,2 g de suelo en un tubo de ensayo, luego se mezcla con una pequeña cantidad de CaCO<sub>3</sub> (0,010-0,015 g), 0,5 mL de una solución que contiene 3 %p/p de TTC y 2 mL de agua destilada, se agita hasta mezclar bien, después se incuba a 37°C por 24 horas. El blanco de cada una de las muestras no incluye el TTC, este volumen es completado con agua destilada, es decir, se agrega 2,5 mL de agua. Al finalizar el tiempo de incubación, se le agrega 2,5 mL de metanol y se agita fuertemente por 1 minuto, se filtra la suspensión del suelo, lavándose varias veces cada uno de los tubos hasta que desaparezca completamente la coloración rojiza y se completa con metanol hasta un volumen.

Finalmente, se mide la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 485nm, empleando como referencia el metanol y a partir de una curva de calibración previamente realizada con patrones de TPF en el rango de concentraciones desde 0 a 60 µgTPF/mL se calcula la concentración de TPF formada después de la incubación.

La actividad de la enzima deshidrogenasa en µg TPF por gramo de suelo para un tiempo de incubación de 24 horas, se cálculo de la siguiente forma:

$$ADH = \frac{[TPF]_{(\mu\text{g/mL})} \times \text{volumen de aforo}_{(\text{mL})}}{\text{muestra seca}_{(\text{g})}} \quad (12)$$

donde,

ADH: actividad de la enzima deshidrogenasa

[TPF]: concentración de trifenílformazan

### **B.1.17 Determinación de la respiración edáfica (CO<sub>2</sub>)**

La ADH en conjunto a la respiración edáfica es un indicador de la actividad microbiana del suelo. La metodología experimental se fundamenta en la fijación de CO<sub>2</sub> liberado por la actividad microbiana que se desarrolla en el suelo, mediante la activación con glucosa. Esta reacción fue determinada al cumplirse el período de incubación mediante la adición de BaCl<sub>2</sub>, que precipita los carbonatos [65].

Su determinación consiste en realizar una curva de calibración para seleccionar la concentración de glucosa óptima que origine un comportamiento lineal en la curva de respiración dentro de las 24 horas después de la adición de glucosa.

Para ello se pesa 25 g de suelo tamizado con un tamiz de 2 mm y se mezcla (cada 25 g de suelo) con 25, 50, 100, 125, 150, 200 mg de glucosa y se sigue el procedimiento, finalmente se grafica mgCO<sub>2</sub>/Kg suelo por tiempo de incubación en función de los tratamientos de suelo.

Se mezcla uniformemente 25 g de muestra de suelo tamizado con un tamiz de 2 mm con la concentración de glucosa determinada en el punto anterior, se deja secar las mezclas suelo + glucosa por dos horas. Luego se coloca la mezcla en los respirómetros previamente esterilizados; en la trampa se le agrega 10 o 20 mL de una solución 0,1 N hidróxido de sodio (NaOH), se incuba a 22°C por 24 horas. Finalmente se determina la cantidad de CO<sub>2</sub> absorbida por la solución de NaOH por titulación ácido-base con una solución de 0,1 N de ácido clorhídrico (HCl), usando fenolftaleína como indicador, previa a la precipitación de los carbonatos con 2 mL de cloruro de bario (BaCl<sub>2</sub>) 0,5 N. El blanco de esta titulación, consiste en la producción de CO<sub>2</sub> a partir de la glucosa. El CO<sub>2</sub> producido se calcula empleando la siguiente ecuación:

$$\text{mg CO}_2 = (V_B - V_M) \times N \times Z \quad (13)$$

donde,

V<sub>B</sub>: volumen (mL) de HCl gastados en la titulación del blanco;

V<sub>M</sub>: volumen (mL) de HCl gastados en la titulación de las muestras

N: Normalidad de HCl;

Z: Peso de miliequivalentes de CO<sub>2</sub> (PM/2).

La respiración edáfica en mg de CO<sub>2</sub> por Kg de suelo para un tiempo de incubación de 24 horas, se determino de la siguiente forma:

$$\text{Produccion de CO}_2 = \frac{\text{mg CO}_2}{\text{Kg muestra seca}} \quad (14)$$

## **B.2 Emulsión asfáltica.**

### **B.2.1 Determinación de pH.**

Para la determinación de este parámetro se rompe la emulsión de manera de extraer el agua a partir de un método físico, basado en la centrifugación de la muestra, luego se filtra por acción de la gravedad y finalmente el extracto filtrado se deja reposar por 15 minutos y se introduce el electrodo del equipo de pH para su lectura.

### **B.2.2 Determinación de la conductividad eléctrica (CE).**

El procedimiento para determinar la CE, se basa en la extracción de la fase acuosa de la emulsión asfáltica (ver metodología de pH). El extracto filtrado se coloca en el electrodo o puente de conductividad para su lectura.

### **B.2.3 Determinación del contenido de aceites y grasas (%AyG).**

La extracción de los aceites y grasas de la muestra de emulsión asfáltica, se realizó empleando un embudo de separación, para ello se pesa 10 g de muestra, se acidifica a un pH de 2, posteriormente se agrega el solvente de extracción (diclorometano) y se agita por varios minutos (para la estabilización de las fases se uso NaCl). Para la extracción completa de los aceites y grasas este procedimiento se ejecuta varias veces con pequeña porciones del solvente. Finalizado el tiempo de extracción, se evapora en un rotavapor el solvente del balón que contiene los aceites y grasas, esta muestra se pasa por un filtro con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  para eliminar la humedad restante, lavando varias veces

con el solvente, mientras se recoge en un balón de 100mL previamente llevado a peso constante, nuevamente se evapora el solvente y se coloca en la estufa a 36°C por 24 horas, para asegurar la evaporación completa del solvente. Finalmente se lleva al desecador y se toma el peso de la muestra de aceites y grasas contenida en el balón. El contenido de aceites y grasas se determina con la ecuación (9).

#### **B.2.4 Determinación de metales lixiviados**

El procedimiento que se utiliza para la determinación de metales lixiviados está dividido en dos fases, como primera fase se determina el fluido de extracción, el cual va a depender del pH de la suspensión suelo:agua. Para ello, se pesan 5 g de una muestra seca y tamizada a través de un tamiz de 1 mm, se le agrega 96,5 mL de agua destilada y se coloca bajo agitación durante 5 minutos, luego se mide el pH de la suspensión.

- Si el pH < 5, utilizar el fluido de extracción N° 1.
- Si el pH > 5, se añade 3,5 mL de HCl 1N a 50°C y se mide el pH nuevamente.
- Si el pH es < 5 se usa el fluido de extracción N° 1, pero si el pH > 5 se emplea el fluido N°2.

La preparación de los fluidos se describe a continuación:

- Fluido N°1. Se le agregan 5,7 mL de ácido acético glacial a 500 mL de agua, luego se le añade 64,3 mL de hidróxido de sodio 1N y se completa con agua hasta un volumen de 1000 mL. Este fluido debe tener un pH de  $4,93 \pm 0,05$ .

- Fluido N°2. Se le agregan 5,7 mL de ácido acético glacial a 500 mL de agua y se completa con agua hasta un volumen de 1000 mL; el pH debe ser de  $2,88 \pm 0,05$ .

Una vez determinado el tipo de fluido a utilizar, se realiza la extracción. Para ello, se pesa de 20 g de muestra y se coloca en el recipiente de extracción, seguidamente se le añade el fluido de extracción seleccionado anteriormente, se lleva el recipiente (previamente sellado) a un equipo de agitación rotatoria por un intervalo de 18-20 horas. Finalizada la agitación, se filtra con succión suave y el material filtrado se lleva a un equipo de espectroscopia de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado (ICP).

Para conocer el contenido de metales lixiviados por la emulsión asfáltica, se determinó el contenido de estos metales lixiviados en los tratamientos  $T_0$  y  $T_1$  y por diferencia se calcula la concentración de los metales Ba, Cd, Cr, Pb, Ni y Ag correspondiente a la emulsión.

### **B.3 Especie vegetal: *Urochloa brizantha***

#### **B.3.1 Determinación de la biomasa seca total**

Representa la cantidad de materia orgánica producida por las plantas en un período determinado. El procedimiento para la determinación de este parámetro biológico, se realizó al finalizar cada período de estudio, se toman las plantas en forma íntegra, se lavan las raíces con agua, seguidamente se separa el vástago y la raíz, se seca en la estufa a  $60^{\circ}\text{C}$  por 24 horas y finalmente se toma el peso de la biomasa seca total [25].

#### B.4 Fitotoxicidad

El bioensayo de toxicidad se realizó con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) y de la gramínea (*Urochloa brizantha*), este representa una prueba de toxicidad aguda en la que se puede evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas compleja en el proceso de germinación de semillas y en el desarrollo de las plantas durante los primeros días del crecimiento. La elección de emplear las semillas de lechuga para compararlos con los resultados obtenidos a partir de la gramínea, se baso principalmente en que las semillas de lechuga se caracterizan por una rápida germinación, y que por ser de un tamaño pequeño, poseen pocas reservas para el desarrollo de la planta lo que obliga a absorber más temprano los nutrientes del suelo para su desarrollo, haciéndolas susceptibles a cualquier compuesto fitotóxico en su matriz.

Como sustrato de germinación, se pesan 50 g de suelo proveniente de cada tratamiento (preparado de la misma manera que el ensayo 2 del punto A) dentro de las capsulas de Petri por triplicado, en cada una de ellas se colocan 10 semillas tanto de lechuga y de la gramínea, como control del ensayo se utilizo el suelo de Santa Bárbara (estado Monagas) sin ninguna adición (emulsión asfáltica, fertilizante o estiércol).

Las cápsulas de petri con el suelo y las semillas se incuban en la oscuridad a 22°C durante 5 días (120 horas). Al término del ensayo se cuentan el número de semillas germinadas, considerando como criterio de germinación la aparición visible de la radícula, y se mide la longitud de las mismas para cada una de las plantas de lechuga y del pasto en cada tratamiento. Con el número de semillas germinadas, y la longitud de radícula promedio, se estima el índice de germinación (IG) de cada tratamiento según la siguiente ecuación [66]:

$$IG = \frac{G_t \times Lr_t}{G_c \times Lr_c} \quad (15)$$

donde:

IG: Índice de germinación

$G_t$ : Número de semillas germinadas en el tratamiento

$Lr_t$ : Longitud promedio de la radícula en el tratamiento

$G_c$ : Número de semillas germinadas en el control

$Lr_c$ : Longitud promedio de la radícula en el control

#### **4.6.2 Análisis estadístico**

Los resultados de las caracterizaciones físicas, químicas y biológicas de los tratamientos fueron sometidos a un análisis estadístico de varianza con ajuste posterior tukey, para determinar diferencias entre las medias de cada tratamiento a un nivel de confianza de 95% ( $p < 0,05$ ), empleando el paquete estadístico, Statistic versión 7.0.

## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Selección del tipo de emulsión y dosis que se utilizo en los diferentes tratamientos para favorecer el crecimiento de *Urochloa brizantha*

#### 5.1.1 Características físicas y químicas del suelo de Santa Bárbara, estado Monagas.

En la Tabla 6 se muestran las características físicas y químicas del suelo de Santa Bárbara, destacándose valores de pH para los métodos de relación 1:1 suelo:agua y pasta saturada 5,78 y 6,09 respectivamente, considerándose pH moderadamente ácido [11], este resultado es similar (pH: 5,5) al reportado en el campo experimental de Santa Bárbara [51]. No presenta problemas de salinidad (CE: 0,13; 0,30 mS/cm valores respectivos a los métodos de relación 1:1 suelo:agua y pasta saturada).

Los valores de saturación con bases (%SB), capacidad de intercambio catiónico (CIC) y aluminio intercambiable, indica que se trata de un suelo pobre en nutrientes (CIC= 1,47) y no se esperarían problemas de acidez (% Sat.  $Al^{3+}$ = 3,36), debido a que generalmente valores mayores al 60%, presentan una concentración superior a 3 mg/L de  $Al^{3+}$  en la solución del suelo, provocando una condición de pH tóxica para la mayoría de las especies vegetales [11].

Tabla 6. Características físicas y químicas inicial del suelo de Santa Bárbara, (edo. Monagas)

Característica	Suelo de Santa Bárbara
pH (relación 1:1)	5,78
CE (mS/cm) (relación 1:1)	0,13
pH (pasta saturada)	6,09
CE (mS/cm) (pasta saturada)	0,30
Contenido de materia orgánica (%)	2,70
Capacidad de intercambio catiónico (meq/100 g suelo)	1,47
Saturación con base (%)	93,3
Saturación con aluminio (%)	3,36
Relación de adsorción de sodio	0,58
Contenido de humedad (%)	2,10

El contenido de materia orgánica es característico (% MO= 2,70) de un suelo perteneciente a un país tropical, debido a su rápida descomposición [11]. Los resultados de la Tabla 6 indican que el suelo de Santa Bárbara (edo. Monagas) posee condiciones físicas y químicas adecuadas para el crecimiento del cultivo de *Urochloa brizantha* [67].

### 5.1.2 Efecto de diferentes concentraciones de la emulsión asfáltica (catiónica y aniónica) sobre algunas propiedades del suelo

Las dosis de emulsión catiónica y aniónica utilizadas en el experimento están basadas en los trabajos realizados por Pla et al. 1991; además de cumplir con la normativa ambiental de hidrocarburos en el suelo, la cual establece que los niveles máximos del contenido de aceites y grasas debe ser menor a 1 %p/p para el esparcimiento del desecho en el suelo.

La determinación de pH es uno de los parámetros más solicitados en los análisis de suelo, debido a que afecta la mayoría de los procesos biológicos, principalmente el crecimiento de las plantas. En la Tabla 7 se muestran los valores promedios obtenidos de pH durante los 30 días de estudio, encontrándose valores que oscilan entre 6,16–6,88, considerándose pH ligeramente ácidos [11]. Sin embargo, desde el punto vista agronómico estos valores de pH no afectan el crecimiento de las especies vegetales.

Se presentaron diferencias significativas en el pH entre los tratamientos correspondientes a las dosis 0,5 y 2,0 %p/p de la emulsión aniónica (EA) ( $p < 0,05$ ). Posiblemente la disminución del valor de pH en el caso de la concentración de 0,5 %p/p con respecto al suelo control sea debida a la incorporación de la emulsión, ya que estas presentan carácter ácido (pH: 1,34).

El tratamiento de la dosis de 2,0 %p/p EA presenta el valor de pH más elevado en el experimento, y esto se debe principalmente a que la emulsión, además de los aceites y grasas contiene sales disueltas (NaCl, KCl, etc) entre otros, que al mezclarla con el suelo en una mayor concentración, provoca un aumento significativo en las

concentraciones  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{K}^{+}$  y  $\text{Na}^{+}$  en los sitios de intercambio, consecuentemente eleva el pH de la solución del suelo.

Los resultados de bases intercambiables y capacidad de intercambio catiónico, no siguen una tendencia clara (Tabla 7), los valores máximos corresponde a la dosis de 2,0 %p/p de emulsión catiónica (EC), esto se podría explicar a través del hecho que esta emulsión, puede interaccionar electrostáticamente con la superficie del suelo, es decir, puede ser repelida o atraída formando una doble capa eléctrica, evitando perdidas por lavado de los cationes básicos de la solución del suelo. Este resultado es similar al obtenido por Salem et al. 1985 [7].

Con respecto al contenido de materia orgánica se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de 2,5 %p/p EA; 2,0 y 2,5 %p/p de EC con respecto al control ( $p < 0,05$ ). Este resultado sugiere que la introducción de las emulsiones asfálticas en altas concentraciones incrementa el contenido de materia orgánica en el suelo.

En la Tabla 7 se muestran los valores correspondientes al contenido de humedad, los cuales se encuentran en el rango de 0,92-1,17 %p/p, correspondiente a los tratamientos 2,5 %p/p EA, 3,0 %p/p EC y 2,0 %p/p EC respectivamente. La determinación del contenido de humedad mostró diferencias significativas de los tratamientos 2,0 %p/p EC con los tratamientos 2,5; 3,0 %p/p EA y 1,0; 2,5 %p/p EC ( $p < 0,05$ ), este resultado confirma nuevamente la fuerte interacción electrostática que presenta la emulsión catiónica con los coloides del suelo (con respecto a la emulsión aniónica), evitando pérdidas de agua por evapotranspiración, el efecto mostrado de la emulsión asfáltica en el ensayo es congruente con los resultados obtenidos por los trabajos de Pla et al. 1983 [6] y Salem et al. 1985 [7].

Cabe destacar que, al incorporar el 2,0 %p/p EC, se observaron diferencias significativas en el contenido de humedad con respecto al 1,0 y 2,5 %p/p EC ( $p < 0,05$ ), esto posiblemente es debido a las interferencias en el riego de cada microcosmo en los 30 días de estudio.

Los resultados promedios de la determinación de la estabilidad de los agregados ( $>0,25\text{mm}$ ) del suelo se muestran en la Tabla 7, los valores no siguen una tendencia clara, no obstante estos se encuentran en el rango de 15,59-50,04 %p/p.

El análisis estadístico indica diferencias significativas del tratamiento de 2,5 %p/p EC, arrojando el valor más elevado de la estabilidad de agregados, con el resto de los tratamientos ( $p < 0,05$ ), esto se puede explicar partiendo del hecho que este tipo de agregados (macroagregados) consiste en complejos de arcilla-metal polivalente-materia orgánica [68], que al interaccionar la emulsión catiónica de una manera más eficiente con el suelo [69], existe la posibilidad de la formación de ese tipo de complejos estables, además se podría inferir que la probabilidad de formación de este tipo de complejo aumente en función de la proporción de la materia orgánica agregada, ya que los tratamientos con una dosis menor al 2,5 %p/p EC arrojaron valores menores de estabilidad de agregados.

Muchas propiedades físicas y químicas pueden ser usadas para definir la calidad de un suelo y, algunas pueden ser cuantificadas, como el contenido de materia orgánica, disponibilidad de nutrientes, estabilidad de agregados entre otras. Sin embargo, estos parámetros cambian muy lentamente, por lo tanto se requiere de muchos años para obtener cambios significativos en el suelo. En cambio, las propiedades biológicas y bioquímicas son responsables de los pequeños cambios que ocurren en el suelo, suministran inmediata y precisa información en cambios de su calidad y esto se debe

principalmente en que la actividad microbiológica del suelo afecta directamente su fertilidad, y juega un papel fundamental en la formación de estructura del suelo [70].

La actividad microbiológica del suelo se mide empleando comúnmente la actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH). En la Figura 11 se muestran los valores correspondientes a este parámetro, encontrándose que el valor máximo está relacionado con el tratamiento de 3 %p/p EC (ADH: 82,24  $\mu\text{g/g}$  suelo) para 30 días de estudio.

Se presentaron diferencias significativas en la ADH entre 3 %p/p EC con los tratamientos 1,0 y 1,5 %p/p EA ( $p < 0,05$ ), este resultado sugiere que la incorporación de la emulsión catiónica a una dosis de 3 %p/p produce cambios significativos en la actividad biológica del suelo, debido a la fuerte interacción que presenta esta emulsión y principalmente a que los hidrocarburos constituye la fuente de carbono necesaria para el crecimiento microbiano, este resultado es consistente con los trabajos de Fraser et al. 1988; Martens et al. 1992; Perucci, 1992, en el cual demostró que la incorporación de enmiendas orgánicas incrementa la actividad de las enzimas en el suelo (citado por Paolini, 2005) [18].

Finalmente, para la determinación de la dosis y la emulsión que se utilizó en la comparación de los tratamientos en presencia de *Urochloa brizantha*, se consideraron los resultados de la ADH, ya que la actividad biológica del suelo afecta la mayoría de las propiedades físicas y químicas y ofrece información inmediata y precisa de la fertilidad del suelo.

Tabla 7. Características físicas y químicas de las mezclas de suelo-emulsión a los 30 días de ensayo.

Tratamiento	pH	BI (meq/100gsuelo)	CIC (meq/100gsuelo)	MO (%p/p)	Humedad (%p/p)	EAA (%p/p)
	6,42 <sup>abc</sup>	1,60 <sup>ab</sup>	5,68 <sup>ac</sup>	2,80 <sup>a</sup>	1,01 <sup>abc</sup>	21,17ac
Control	(±0,34)	(±0,63)	(±1,27)	(±0,06)	(±1,08)	(±2,74)
	6,16b	1,49 <sup>a</sup>	4,54 <sup>ac</sup>	3,04 <sup>ab</sup>	1,03 <sup>abc</sup>	18,80ac
0,5 %p/p EA	(±0,24)	(±0,18)	(±0,71)	(±0,18)	(±0,02)	(±7,9)
	6,35 <sup>abc</sup>	1,68 <sup>ab</sup>	5,46 <sup>a</sup>	2,98 <sup>ab</sup>	1,02 <sup>abc</sup>	20,58ac
1,0 %p/p EA	(±0,09)	(±0,06)	(±0,32)	(±0,80)	(±0,06)	(±19,79)
	6,56 <sup>abc</sup>	1,43 <sup>a</sup>	4,26 <sup>ac</sup>	3,73 <sup>ab</sup>	1,02 <sup>abc</sup>	19,79ac
1,5 %p/p EA	(±0,41)	(±0,05)	(±0,23)	(±0,80)	(±0,02)	(±2,90)
	6,88c	1,73 <sup>ab</sup>	5,49 <sup>ab</sup>	3,50 <sup>ab</sup>	1,03 <sup>abc</sup>	22,32ac
2,0 %p/p EA	(±0,21)	(±0,15)	(±0,59)	(±0,10)	(±0,03)	(±2,26)
	6,73 <sup>abc</sup>	1,42 <sup>a</sup>	4,17 <sup>c</sup>	4,02 <sup>b</sup>	0,92 <sup>b</sup>	18,53ac
2,5 %p/p EA	(±0,40)	(±0,15)	(±0,53)	(±0,21)	(±0,04)	(±3,73)
	6,53 <sup>abc</sup>	1,51 <sup>a</sup>	4,43 <sup>ac</sup>	3,80 <sup>ab</sup>	0,98 <sup>ab</sup>	21,24ac
3,0 %p/p EA	(±0,26)	(±0,05)	(±0,21)	(±0,45)	(±0,04)	(±2,89)
	6,55 <sup>abc</sup>	1,93 <sup>b</sup>	6,46 <sup>bd</sup>	2,95 <sup>ab</sup>	1,09 <sup>ac</sup>	20,48ac
0,5 %p/p EC	(±0,17)	(±0,12)	(±0,24)	(±0,24)	(±0,06)	(±2,07)
	6,62 <sup>abc</sup>	1,90 <sup>b</sup>	6,30 <sup>bd</sup>	3,06 <sup>ab</sup>	0,96 <sup>ab</sup>	23,68ac
1,0 %p/p EC	(±0,08)	(±0,07)	(±0,31)	(±0,09)	(±0,17)	(±2,37)
	6,28 <sup>abc</sup>	1,58 <sup>a</sup>	4,90 <sup>ac</sup>	2,91 <sup>ab</sup>	1,06 <sup>abc</sup>	12,34a
1,5 %p/p EC	(±0,14)	(±0,14)	(±0,47)	(±1,78)	(±0,02)	(±5,20)
	6,31 <sup>abc</sup>	2,00 <sup>b</sup>	8,49 <sup>b</sup>	4,14 <sup>b</sup>	1,17 <sup>c</sup>	15,59ac
2,0 %p/p EC	(±0,17)	(±0,34)	(±2,80)	(±1,21)	(±0,06)	(±4,14)
	6,59 <sup>abc</sup>	1,62 <sup>ab</sup>	5,34 <sup>abc</sup>	4,11 <sup>b</sup>	1,00 <sup>ab</sup>	50,04b
2,5 %p/p EC	(±0,13)	(±0,81)	(±0,16)	(±0,64)	(±0,04)	(±2,39)
	6,58 <sup>abc</sup>	1,55 <sup>a</sup>	5,04 <sup>acd</sup>	3,55 <sup>ab</sup>	0,92 <sup>abc</sup>	28,32c
3,0 %p/p EC	(±0,05)	(±0,05)	(±0,24)	(±0,34)	(±0,24)	(±10,73)

Letras iguales en la misma columna indica que no hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

( $\pm$ ): Desviación estándar

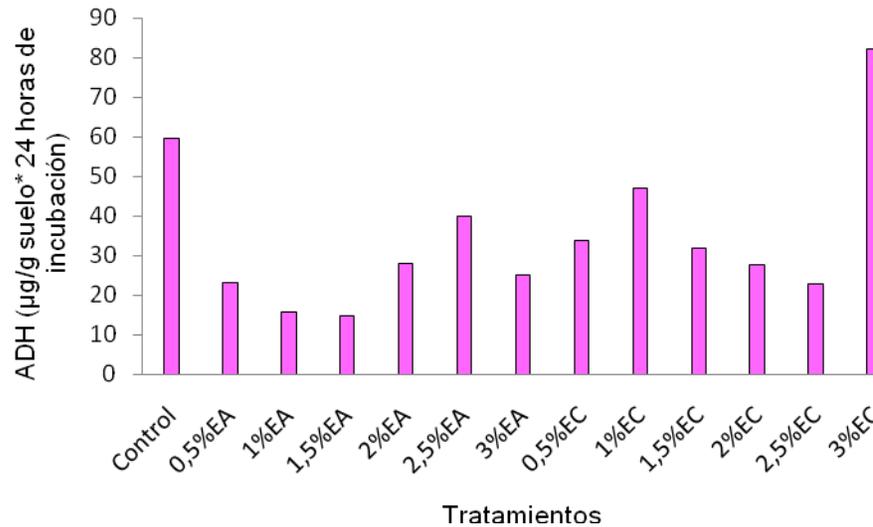


Figura 11. Actividad de la enzima deshidrogenasa en función de los tratamientos de suelo para 30 días de ensayo.

La materia orgánica cruda no ayuda a que se formen agregados estables, se requiere de la intervención de los microorganismos, para su transformación. Durante la actividad microbiana las células y los microorganismos por sí mismo pueden mantener unidas las partículas de suelo de manera mecánica, además en el proceso de mineralización se producen ciertos compuestos que favorecen la formación de agregados estables y también se liberan elementos nutritivos esenciales para el crecimiento de las plantas. Por otro lado, la fracción de la materia orgánica que queda después del proceso oxidativo (humus) es la responsable en gran parte de la capacidad de intercambio catiónico de los suelo [11, 13]. Estos beneficios que ofrece la actividad biológica al suelo son la base principal en la determinación de la concentración y el tipo de enmienda orgánica.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el primer ensayo se concluye que la dosis y emulsión asfáltica que arrojó cambios importantes en el suelo fue 3 %p/p de emulsión catiónica, siendo esta condición la que se utilizó en la segunda parte del diseño experimental.

## **5.2 Comparación de los tratamientos de suelo en presencia de *Urochloa brizantha***

### **5.2.1 Composición física y química de la emulsión catiónica**

La Tabla 8 muestra la composición física y química de la emulsión catiónica, el valor de pH, indica que la emulsión es extremadamente ácida (1,34), el contenido de aceites y grasas (64,5 %p/p), sin embargo sólo se añaden 3 %p/p y la conductividad eléctrica (CE: 14,38 mS/cm) indica que la emulsión es altamente salina.

En la Tabla 9 se muestran los valores de las concentraciones de metales lixiviados por la emulsión, los cuales están por debajo del límite de la normativa ambiental, sugiriendo que se puede realizar el esparcimiento de la emulsión catiónica en el suelo.

Los valores de los parámetros pH y CE de la emulsión, podrían afectar la fertilidad del suelo, por esta razón es necesario evaluar todos los efectos que puede causar la emulsión catiónica al realizar las mezclas.

Tabla 8. Análisis físico y químico inicial de la emulsión catiónica.

Muestra	pH	CE (mS/cm)	Humedad (%p/p)	AyG (%p/p)
Emulsión catiónica	1,34	14,38	35,52	64,5

Tabla 9. Análisis de metales lixiviados de la emulsión catiónica.

Muestra	Metales lixiviados (mg/L)					
	Ba	Cd	Cr	Pb	Ni	Ag
Emulsión catiónica	0,35	< 0,02	< 0,02	< 0,05	< 0,05	< 0,05
*Decreto 2635	100	1	5	5	5	5

\*Niveles exigidos por la normativa para esparcimiento en suelos (Decreto 2.635, artículo 50)

### 5.2.2 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la germinación de *Urochloa brizantha*

El índice de germinación (IG) es un parámetro que tiene la ventaja de evaluar niveles bajos de toxicidad (efecto sobre el crecimiento de la raíz) y niveles altos de toxicidad (efecto sobre la germinación de la semilla), ambos dentro de una misma ecuación 15 [71].

Entre los efectos negativos que ejercen los hidrocarburos sobre la germinación, se encuentra que las películas de aceite actúa como una barrera hidrofóbica alrededor de la semilla que impide, bloquea o reduce el flujo de agua y oxígeno a la misma impidiendo su germinación [72].

En la Figura 12 muestra el índice de germinación de la lechuga y de la gramínea para los diferentes tratamientos, observándose que la gramínea presenta los valores más elevados de IG en comparación con la lechuga, este resultado infiere que la gramínea es más tolerante a la concentración de 3 %p/p de la emulsión.

Los tratamientos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>5</sub> muestran un IG de germinación mayor que 1, lo que sugiere que la emulsión asfáltica, presenta un efecto positivo sobre la germinación de las plántulas de la gramínea, resultado importante para fines de restauración de suelos impactados. En cambio, el IG de la lechuga para el tratamiento T<sub>2</sub>, indica que la fertilización (concentración elevada) originó una condición tóxica, debido a que presentó valores menores a 1 (IG < 1).

Las mezclas de suelo que contienen estiércol T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> reportan un IG nulo (IG: 0), el efecto tóxico reflejado en el IG de la lechuga y de la gramínea, puede deberse a que al incorporar el estiércol aumentó la CE, inhibiendo la germinación, debido a que se han reportado que valores de CE > 2 mS/cm, inhibe el crecimiento de las plantas, sobre todo en las fases iniciales de su desarrollo [11].

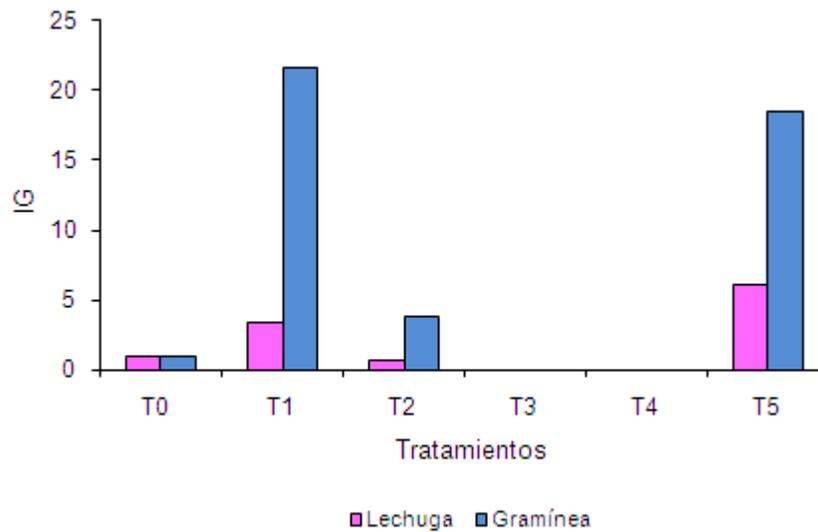


Figura 12. Índice de germinación de la lechuga y de la gramínea a 5 días de incubación.

### 5.2.3 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la producción de biomasa seca total de *Urochloa brizantha* a 30, 60 y 120 días de ensayo

La adición de la emulsión catiónica posiblemente tuvo un fuerte impacto sobre el crecimiento de la gramínea, este resultado se verifica cuando se analizan los datos de biomasa seca total.

En la Figura 13 se muestran los valores de biomasa seca total de la *Urochloa brizantha* por tratamiento, observándose un aumento progresivo en la producción de materia orgánica a los 30, 60 y 120 días de ensayo.

Los resultados indican que la incorporación de la emulsión catiónica al suelo no generó diferencias significativas en la biomasa seca total, con respecto al suelo control ( $p > 0,05$ )

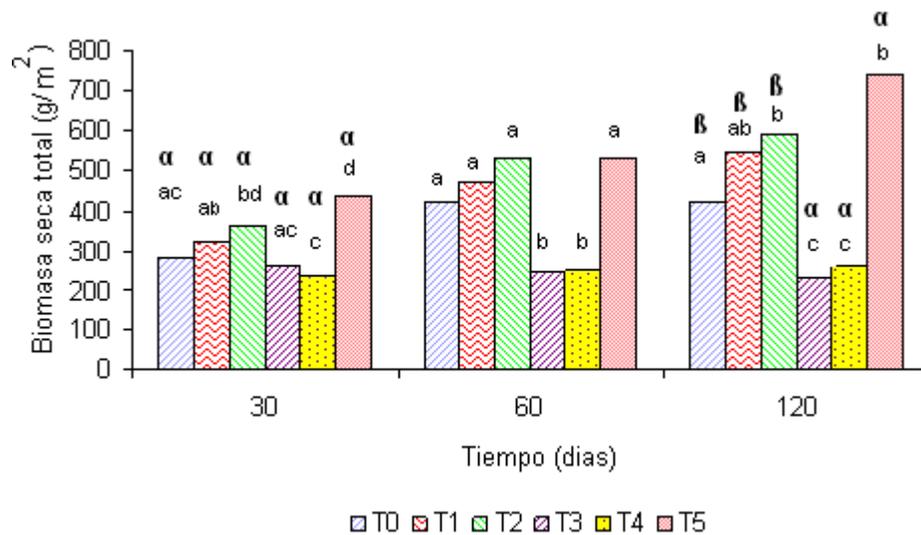
para cada tiempo de ensayo, este resultado sugiere que la concentración de la emulsión utilizada en el ensayo no es tóxica, para el crecimiento de la *U. brizantha*.

A los 120 días de estudio se encontró que la biomasa seca se reduce en un 46,04 y 37,85 % para los tratamientos  $T_3$  y  $T_4$  respectivamente con respecto al suelo control (sin emulsión), como consecuencia de una alta concentración del estiércol (10 %p/p) en la mezcla y a la salinidad de la emulsión. Cabe destacar que, para los tiempos de 30 y 60 días de estudio, se observó la misma tendencia de disminuir la producción de materia orgánica de  $T_3$  y  $T_4$  con respecto al tratamiento control  $T_0$ . Esta reducción de la biomasa seca total para dichos tratamientos ( $T_3$  y  $T_4$ ) tiene diferencias significativas con los demás tratamientos de suelo para cada período de ensayo ( $p < 0,05$ ), destacando que la gramínea después de 10 días aproximadamente de su siembra se vio afectada por dichas condiciones del suelo, provocando la inhibición de su crecimiento.

En la Figura 13 se observa que los tratamientos  $T_2$  y  $T_5$  presentan los valores máximos de producción de biomasa en función del tiempo, produciendo generalmente diferencias significativas con respecto al suelo control ( $p < 0,05$ ). Este resultado indica que el crecimiento de la planta se ve favorecido tanto por la presencia de nutrientes, mediante la fertilización como por la incorporación de cal al suelo.

A los 30 días de estudios se encontraron diferencias significativas en la biomasa seca en los tratamientos  $T_4$  y  $T_5$  con respecto al  $T_1$  ( $p < 0,05$ ), en el primer caso se observó una disminución de la producción de biomasa, este resultado se explica nuevamente en función de la concentración del estiércol y por la salinidad de la emulsión. En la segunda comparación se podría inferir que el cal agrícola ( $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ) mejora las condiciones físicas y químicas del suelo elevando la producción de biomasa con respecto al suelo control para el tiempo de estudio, mediante del aumento de las

concentraciones de elementos nutritivos principalmente  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$  en la solución del suelo.



Letras iguales en el mismo tiempo indican que no hay diferencias significativas.

Símbolos iguales en el mismo tratamiento no muestran diferencias significativas en el tiempo.

Figura 13. Biomasa seca total de *Urochloa brizantha* a los 30, 60 y 120 de ensayo.

Es importante señalar que los tratamientos  $T_0$ ,  $T_1$  y  $T_2$  mostraron diferencias significativas a los tiempos 30 y 120 días de estudio ( $p < 0,05$ ), este resultado sugiere que la emulsión catiónica con el tiempo podría haber ocasionado cambios importantes en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, favoreciendo el crecimiento de la gramínea con el tiempo.

#### 5.2.4 Efecto la emulsión en el suelo sobre el contenido de humedad del suelo

Los valores correspondientes a la capacidad de retención de humedad de los tratamientos no siguen una tendencia clara (Tabla 10) y esto se debe principalmente a que el diseño experimental se ejecuto por partes, consecuentemente los días de muestreos de los tratamientos fueron diferentes en cada tiempo de estudio (los muestreos se realizaron por grupos ( $T_0$ ,  $T_1$  y  $T_3$ ), ( $T_2$  y  $T_4$ ) y por último  $T_5$ , por lo tanto los posibles cambios climáticos pudieron haber ocasionado diferencias en la velocidad relativa de evaporación del agua en los tratamientos, provocando desviaciones importantes en el parámetro estudiado.

Entre los tratamientos  $T_0$  y  $T_1$  no mostraron diferencias significativas en el contenido de humedad a los 0, 30, 60 y 120 días de estudio ( $p < 0,05$ ), este resultado sugiere que la incorporación de la emulsión catiónica no genero cambios importantes en la capacidad que posee el suelo control para retener humedad.

Se evidencio diferencias significativas en el contenido de humedad de los tratamientos  $T_2$ ,  $T_3$  y  $T_4$  con respecto a los tratamientos  $T_0$ ,  $T_1$  y  $T_5$  ( $p < 0,05$ ) para 0, 30, 60 y 120 días de ensayo, este resultado indica que tanto la fertilización como la introducción de estiércol al suelo son las responsables del incremento en el porcentaje de humedad por el suelo. En el primer caso, se debe a que la solución de fertilización posee un mayor punto de ebullición (según las propiedades coligativas de una solución) en comparación al del agua, por lo tanto la evaporación de esta solución es más lenta, conservando un mayor contenido de agua en el tratamiento.

En el segundo caso, principalmente se debe a que los tratamientos  $T_3$  y  $T_4$  contienen estiércol, este acondicionador orgánico se caracteriza por su facilidad de absorbe el

agua (0,86 mL/g muestra) [73] y así de esta manera impide su rápida evaporación en el suelo.

Tabla 10. Retención de humedad para los tratamientos a 30, 60 y 120 días de ensayo.

Tratamiento	Retención de humedad (%p/p)				
	Días	0	30	60	120
T <sub>0</sub>		12,61 <sup>a</sup> (±0,67)	13,17 <sup>ab</sup> (±0,53)	10,50 <sup>a</sup> (±1,76)	9,92 <sup>a</sup> (±1,07)
T <sub>1</sub>		12,36 <sup>a</sup> (±0,12)	12,23 <sup>a</sup> (±1,80)	8,60 <sup>a</sup> (±0,19)	9,49 <sup>a</sup> (±0,88)
T <sub>2</sub>		15,54 <sup>bc</sup> (±0,33)	14,58 <sup>bc</sup> (±0,74)	9,66 <sup>a</sup> (±0,89)	10,73 <sup>a</sup> (±0,56)
T <sub>3</sub>		14,97 <sup>b</sup> (±0,76)	16,65 <sup>c</sup> (±0,51)	12,80 <sup>b</sup> (±0,62)	14,56 <sup>b</sup> (±1,46)
T <sub>4</sub>		17,09 <sup>c</sup> (±1,30)	15,92 <sup>c</sup> (±0,83)	15,37 <sup>b</sup> (±0,71)	15,00 <sup>b</sup> (±1,08)
T <sub>5</sub>		12,84 <sup>a</sup> (±0,60)	11,40 <sup>a</sup> (±0,53)	9,21 <sup>a</sup> (±0,81)	9,98 <sup>a</sup> (±1,08)

Letras iguales en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

(±): Desviación estándar.

A los 120 días de estudio se encontraron diferencias significativas en el contenido de humedad en los tratamientos T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> para el diseño experimental con y sin vegetación ( $p < 0,05$ ), esto se debe a que en estos tratamientos se vio favorecida la

producción de materia orgánica y por lo tanto la absorción de agua por las plantas, provocando una disminución del contenido de humedad con respecto a los tratamientos de suelo sin vegetación.

### **5.2.5 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el contenido de materia orgánica (MO) y de agregados estables al agua (AEA)**

El interés en el estudio de la dinámica de la materia orgánica del suelo en los suelos de sabana se ha incrementado en los últimos años, debido a los graves problemas de fertilidad y de meteorización. Al aplicar la emulsión asfáltica al suelo, se observó un aumento significativo en el contenido de materia orgánica y estabilidad de los agregados (Figura 14) en los tratamientos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> y T<sub>5</sub> con respecto al suelo control ( $p < 0,05$ ), ya que las emulsiones asfálticas están constituidas por compuestos orgánicos similares teóricamente a la materia orgánica, que intervienen en la formación de estructura del suelo.

A través del tiempo los tratamientos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>5</sub> presentaron diferencias significativas en el contenido de materia orgánica en relación a los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> ( $p < 0,05$ ), debido a que poseen estiércol como un agregado orgánico adicional, el cual contiene aproximadamente 42,1 %p/p de materia orgánica [73].

La Figura 14 muestra que a través del tiempo, la estabilidad de los agregados del suelo aumentó para las mezclas de suelo que contienen materia orgánica adicional con respecto al suelo control, para 120 días de estudio se incrementó en un 18,51 y 25,51 % para los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> respectivamente. Este resultado es similar a estudios realizados anteriormente en el cual demostraron que el contenido de materia orgánica

incrementa el contenido de agregados estables, debido a que presenta un efecto agregante en el suelo y su probabilidad se eleva a medida que decrece el contenido de arcilla [13].

Los tratamientos de suelo presentaron una tendencia de incrementar el contenido de agregados estables al agua hasta los 60 días de estudio y luego se observó una disminución al culminar el tiempo de ensayo, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la estabilidad de los agregados de los tratamientos a los tiempos de 60 y 120 de ensayo ( $p < 0,05$ ).

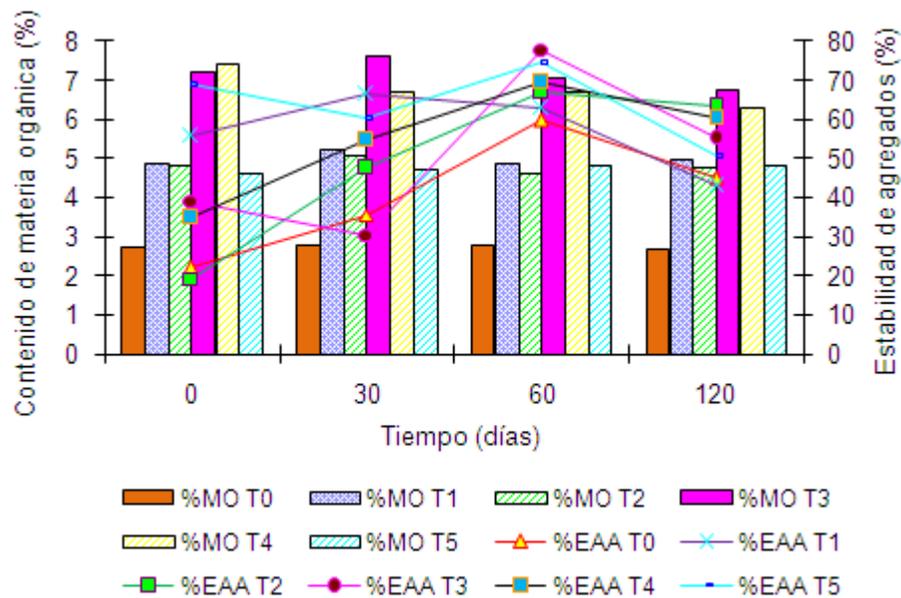


Figura 14. Contenido de materia orgánica y agregados estables al agua para 0, 30, 60 y 120 días de ensayo.

Se encontraron diferencias significativas en la estabilidad de agregados para 0 y 30 días de ensayo entre el T<sub>1</sub> y el suelo sin emulsión ( $p < 0,05$ ), este resultado indica que la

emulsión está participando en el proceso de agregación, formando quelantes con los metales (principalmente  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ ) que promueven la formación de estructura, mediante el proceso de floculación, como primer requisito para la construcción de macroagregados estables [74].

Cabe destacar que, los tratamientos que presentaron un elevado contenido de humedad (principalmente  $T_2$ ,  $T_3$  y  $T_4$  para 0 y 30 días de estudio) provocaron una disminución en la estabilidad de los agregados del suelo y esto se debe fundamentalmente a que la formación de agregados estables requiere que el material después del proceso de floculación sea estabilizado o cementado [74]. Según Foth (citado por Casanova) esta etapa se encuentra limitada debido a que el exceso de humedad en estos tratamientos no permite que los coloides se peguen entre sí o se unan (acción cementante) para la formación de estructura según el mecanismo de formación de agregados [11].

A los 60 días de estudio se encontró diferencias significativas en el contenido de agregados estables entre los tratamientos  $T_0$  y  $T_3$  ( $p < 0,05$ ), este resultado se puede explicar partiendo que este tiempo podría ser suficiente para que la materia orgánica sufriera el proceso de mineralización, produciendo material ligante que participa en el proceso de agregación, estos resultados son consistente con el trabajo realizado por Sánchez, 1999, donde encontró que el porcentaje de agregación se incremento con la incorporación de abonos orgánicos (gallinaza, cachaza de caña y pulpa de café) y emulsión asfáltica al suelo [45].

Cabe destacar que, para los 120 días de estudio no se observaron diferencias significativas del contenido de materia orgánica para los tratamientos de suelo, es decir,

no se presentaron cambios importantes en el proceso de mineralización de la materia orgánica en el suelo ( $p > 0,05$ )

Cabe señalar que, no se encontró una correlación positiva entre las variables de materia orgánica y agregados estables al agua ( $B: 0,33$ ), este resultado podría indicar que los cambios en AEA no están relacionados principalmente con el contenido de materia orgánica.

Aunque las plantas también participan en la formación de estructura del suelo por ejemplo, a través de la excreción de compuestos orgánicos gelatinosos de las raíces [12], no se observaron diferencias significativas de esta propiedad física del suelo en los tratamientos con y sin vegetación ( $p > 0,05$ ).

#### **5.2.6 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el pH**

Con respecto a las propiedades químicas del suelo, el pH está íntimamente relacionado con la nutrición mineral de las plantas, es decir, la absorción de elementos nutritivos esenciales para el normal crecimiento de las plantas está en el rango de 6,5-7,0 [11]. El suelo de estudio es ligeramente ácido, es por ello que se realizaron las mezclas de suelo para verificar si la emulsión catiónica genera cambios importantes en disminuir la acidez del suelo. En la Figura 15 y en la Tabla 11 se muestran los valores de pH determinados por el método de relación 1:1 suelo: agua y pasta saturada respectivamente para los diversos tratamientos, los cuales muestran inicialmente un aumento en el pH con respecto al suelo control.

No se presentaron diferencias significativas en el pH por ambas determinaciones entre el tratamiento  $T_1$  con respecto al control (suelo sin emulsión) para los tiempos de 0 y 30 días de estudio ( $p > 0,05$ ), este resultado infiere que la introducción de la emulsión no generó cambios importantes en la reacción del suelo para los tiempos de estudio. Sin embargo, para 60 y 120 días de ensayo se observó que el pH del tratamiento  $T_1$  por ambos métodos, disminuyó significativamente en comparación con el tratamiento control ( $p < 0,05$ ), ya que por su carácter ácido (pH: 1,34), la emulsión catiónica podría estar proporcionándole protones mediante el proceso de intercambio iónico, provocando una disminución del pH en el suelo.

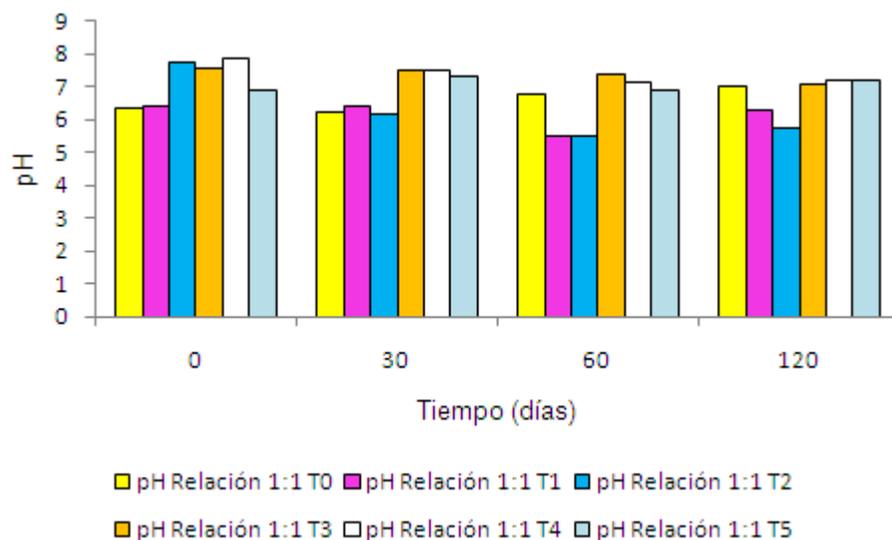


Figura 15. Valores promedio pH por el método de relación 1:1suelo:agua para 30, 60 y 120 días de ensayo.

Los resultados de pH (ambos métodos de determinación) no siguen una tendencia clara, pero en general los tratamientos  $T_0$  y  $T_1$  presentan diferencias significativas con los demás tratamientos ( $p < 0,05$ ), esto se podría explicar en función de la adición de nutrientes como producto de la fertilización, del acondicionador orgánico y del cal

agrícola que saturan los sitios de intercambio iónico por cationes básicos, provocando una reacción alcalina (se produce grupos  $\text{OH}^-$ ) que resulta de la hidrólisis de los coloides saturados. Los valores obtenidos de pH para los tratamientos que contienen estiércol ( $T_3$  y  $T_4$ ) resultan ser considerablemente elevados (ligeramente alcalinos) con respecto al suelo control, debido al carácter básico que presenta el acondicionador orgánico (pH entre 8-9) [73].

Tabla 11. Valores de pH por el método de pasta saturada a 30, 60 y 120 días de ensayo.

Tratamiento	pH				
	Días	0	30	60	120
$T_0$		6,33 <sup>a</sup> (±0,07)	6,37 <sup>a</sup> (±0,28)	6,83 <sup>a</sup> (±0,16)	6,26 <sup>a</sup> (±0,27)
$T_1$		6,26 <sup>a</sup> (±0,04)	6,46 <sup>ab</sup> (±0,03)	6,18 <sup>b</sup> (±0,07)	5,85 <sup>b</sup> (±0,13)
$T_2$		7,60 <sup>b</sup> (±0,22)	6,86 <sup>b</sup> (±0,35)	5,63 <sup>c</sup> (±0,04)	5,60 <sup>b</sup> (±0,14)
$T_3$		7,54 <sup>b</sup> (±0,09)	7,62 <sup>c</sup> (±0,12)	7,38 <sup>d</sup> (±0,06)	7,54 <sup>c</sup> (±0,09)
$T_4$		7,86 <sup>b</sup> (±0,33)	7,91 <sup>c</sup> (±0,08)	7,37 <sup>d</sup> (±0,09)	7,40 <sup>c</sup> (±0,15)
$T_5$		6,31 <sup>a</sup> (±0,05)	6,58 <sup>ab</sup> (±0,18)	7,27 <sup>d</sup> (±0,24)	7,44 <sup>c</sup> (±0,16)

Letras iguales en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

(±): Desviación estándar

### 5.2.7 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la concentración de cloruros

La concentración de cloruros (Tabla 12) aumentó al realizar las mezclas suelo emulsión y demás tratamientos con respecto al suelo control, es decir, los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$ ,  $T_4$  y  $T_5$  son estadísticamente diferentes con respecto a  $T_0$  ( $p < 0,05$ ), lo que evidencia el aumento de sales en la solución del suelo como consecuencia de la introducción de la emulsión, fertilizante y estiércol al suelo.

Al incorporar fertilizantes y estiércol en el suelo, las fracciones catiónicas se solubilizan por efecto del agua de riego aumentando de esta manera la concentración de cloruros en la solución del suelo.

### 5.2.8 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la conductividad eléctrica (CE)

Otra variable que influye en el crecimiento de la gramínea, es la conductividad eléctrica, en el Gráfico 5 se observa que el flujo de iones en la solución del suelo (método de relación 1:1 suelo:agua) aumentó al realizar las mezclas con la emulsión asfáltica y esto se debe principalmente a los intercambios iónicos producidos en el suelo (esencialmente sales disueltas que contienen la emulsión: NaCl, KCl entre otras), por el carácter salino de la emulsión. La determinación de CE por el método de pasta saturada (Tabla 13) sigue una tendencia similar a la encontrada por el método de relación 1:1 suelo:agua.

Cabe destacar que, el tratamiento control generalmente posee diferencias significativas en la CE con el resto de los tratamientos por ambos métodos de determinación ( $p < 0,05$ ), debido a que ellos contienen nutrientes como consecuencia de la adición de

fertilizante, estiércol y cal, los cuales provocan un aumento en el flujo de iones en la solución del suelo.

Tabla 12. Concentración de cloruros para las mezclas de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo.

Tratamiento	Concentración de Cl <sup>-</sup> (mg/L)				
	Días	0	30	60	120
T <sub>0</sub>		3,83 <sup>a</sup> (±0,00)	3,83 <sup>a</sup> (±0,00)	0,00 <sup>a</sup> (±0,00)	6,38 <sup>a</sup> (±2,21)
T <sub>1</sub>		11,49 <sup>b</sup> (±0,00)	10,53 <sup>b</sup> (±1,91)	0,00 <sup>a</sup> (±0,00)	3,83 <sup>a</sup> (±0,00)
T <sub>2</sub>		9,57 <sup>b</sup> (±0,00)	15,31 <sup>b</sup> (±3,13)	3,83 <sup>b</sup> (±0,00)	5,74 <sup>a</sup> (±3,83)
T <sub>3</sub>		67,00 <sup>c</sup> (±2,21)	58,39 <sup>c</sup> (±3,67)	53,60 <sup>c</sup> (±0,00)	55,51 <sup>b</sup> (±16,98)
T <sub>4</sub>		52,64 <sup>d</sup> (±1,91)	60,30 <sup>c</sup> (±1,91)	65,09 <sup>d</sup> (±3,13)	61,26 <sup>b</sup> (±3,13)
T <sub>5</sub>		9,57 <sup>b</sup> (±2,21)	3,83 <sup>a</sup> (±0,00)	0,00 <sup>a</sup> (±0,00)	3,83 <sup>a</sup> (±0,00)

Letras iguales en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

(±): desviación estándar.

Los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> presentaron una conductividad eléctrica mayor a 3 mS/cm para los tiempos de estudio (método pasta saturada), este resultado explica la reducción de

la biomasa seca total en estos tratamientos con respecto al suelo sin emulsión, debido a que estudios anteriores, han demostrado que la solución del suelo con una conductividad eléctrica mayor a 2 mS/cm reduce considerablemente el crecimiento de las plantas [11].

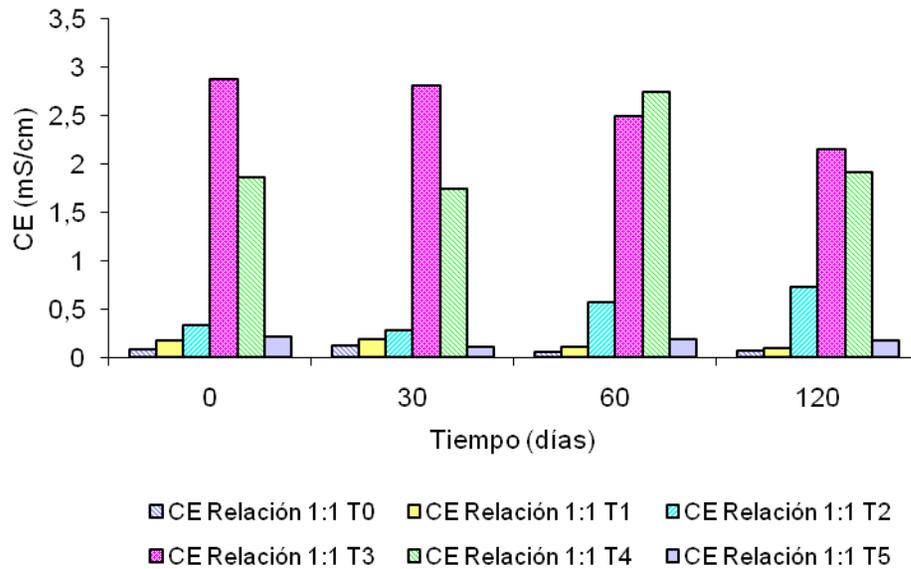


Figura 16. Conductividad eléctrica por el método de relación 1:1 suelo:agua a los 30, 60 y 120 días de ensayo

### 5.2.9 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el contenido de bases intercambiables (BI), capacidad de intercambio catiónico (CIC) y saturación con base (% SB)

La determinación del contenido de cationes que se encuentran en los sitios de intercambio bajo la matriz de  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ , se debe fundamentalmente a que la nutrición mineral de las plantas depende de los procesos de intercambio iónico en el suelo [11]. La Tabla 14 muestra los valores de bases intercambiables de los tratamientos en función del tiempo, los resultados sugieren que los cambios en este

parámetro son producidos principalmente por el proceso de intercambio iónico en el suelo, a partir de las mezclas del acondicionador orgánico y el cal agrícola, ya que los tratamientos T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> no presentan diferencias significativas entre sí ( $p > 0,05$ ).

Tabla 13. Valores de CE por el método de pasta saturada a 30, 60 y 120 días de ensayo.

Tratamiento	CE (mS/cm)				
	Días	0	30	60	120
T <sub>0</sub>		0,31 <sup>a</sup>	0,42 <sup>a</sup>	0,15 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>
		(±0,09)	(±0,04)	(±0,03)	(±0,07)
T <sub>1</sub>		0,49 <sup>ab</sup>	0,49 <sup>a</sup>	0,29 <sup>b</sup>	0,29 <sup>a</sup>
		(±0,05)	(±0,09)	(±0,04)	(±0,02)
T <sub>2</sub>		1,07 <sup>b</sup>	0,96 <sup>ac</sup>	1,85 <sup>c</sup>	2,12 <sup>b</sup>
		(±0,59)	(±0,22)	(±0,10)	(±0,48)
T <sub>3</sub>		6,79 <sup>c</sup>	6,66 <sup>b</sup>	6,26 <sup>d</sup>	5,71 <sup>c</sup>
		(±0,38)	(±1,34)	(±0,84)	(±0,86)
T <sub>4</sub>		3,29 <sup>c</sup>	4,72 <sup>c</sup>	7,11 <sup>d</sup>	5,40 <sup>c</sup>
		(±1,58)	(±0,31)	(±0,64)	(±0,51)
T <sub>5</sub>		0,78 <sup>ab</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,45 <sup>e</sup>	0,45 <sup>a</sup>
		(±0,12)	(±0,94)	(±0,76)	(±0,08)

Letras iguales en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

(±): Desviación estándar.

Los resultados correspondientes a la capacidad de intercambio catiónico (CIC) siguen la misma tendencia que en el caso de BI, las desviaciones se deben principalmente en la

proporción de los cationes ácidos en los sitios de intercambio, influenciados fuertemente por el pH del suelo. La Tabla 15 muestra los valores de CIC obtenidos para las mezclas de suelo, encontrándose diferencias significativas en CIC entre los tratamientos de T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>5</sub> con T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> para 0, 30, 60 y 120 días de ensayo ( $p < 0,05$ ), como consecuencia de la incorporación de estiércol a las mezclas de suelo.

La Figura 17 muestra la relación de los cationes básicos y los cationes intercambiables, observándose un incremento de SB de los tratamientos con respecto al suelo control, debido a los intercambios iónicos producidos en el suelo, a partir de las mezclas de la emulsión, del acondicionador orgánico y la cal agrícola

#### **5.2.10 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la relación de adsorción de sodio (RAS)**

El crecimiento de las plantas se ve afectado por la tendencia de la solución del suelo a producir sodio. En la Tabla 16 se muestran los valores de relación de adsorción de sodio (RAS), encontrándose que los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> presentan diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos ( $p < 0,05$ ), debido fundamentalmente a los procesos de intercambio iónico ocurridos en el suelo, como consecuencia de las sales (principalmente de sodio) que contiene el estiércol. Este resultado fortalece la explicación de la reducción de la biomasa seca total de *Urochloa brizantha* en los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub>, debido a los altos niveles de sodio que inhibe el crecimiento de la planta.

### 5.2.11 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la disponibilidad de fósforo

El fósforo se encuentra en los suelos tanto en forma orgánica, ligada a la materia orgánica, así como en forma inorgánica, que es la manera como la absorben los cultivos. La solubilidad de estas formas y por tanto su disponibilidad para las plantas está condicionada por reacciones fisicoquímicas y biológicas, las cuales a su vez afectan la productividad de los suelos.

Tabla 14. Bases intercambiables para los tratamientos de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo.

Tratamiento	BI (meq/100 g suelo)				
	Días	0	30	60	120
T <sub>0</sub>		1,01 <sup>a</sup> (±0,11)	1,40 <sup>a</sup> (±0,18)	1,30 <sup>a</sup> (±0,04)	1,60 <sup>a</sup> (±0,08)
T <sub>1</sub>		1,08 <sup>a</sup> (±0,19)	1,39 <sup>a</sup> (±0,06)	1,36 <sup>a</sup> (±0,03)	1,47 <sup>a</sup> (±0,08)
T <sub>2</sub>		1,08 <sup>a</sup> (±0,07)	1,34 <sup>a</sup> (±0,09)	1,37 <sup>a</sup> (±0,05)	1,99 <sup>a</sup> (±0,08)
T <sub>3</sub>		8,36 <sup>b</sup> (±0,35)	9,52 <sup>b</sup> (±1,77)	9,26 <sup>b</sup> (±0,88)	9,45 <sup>b</sup> (±0,98)
T <sub>4</sub>		5,88 <sup>b</sup> (±0,30)	9,23 <sup>b</sup> (±1,00)	9,52 <sup>b</sup> (±0,35)	10,49 <sup>b</sup> (±1,79)
T <sub>5</sub>		1,58 <sup>b</sup> (±0,23)	1,84 <sup>b</sup> (±0,19)	2,04 <sup>b</sup> (±0,09)	2,47 <sup>a</sup> (±0,30)

Letras iguales en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

(±): Desviación estándar.

Tabla 15. Capacidad de intercambio catiónico para las mezclas de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo.

Tratamiento	CIC (meq/100 g suelo)				
	Días	0	30	60	120
T <sub>0</sub>		1,10 <sup>ac</sup> (±0,11)	1,45 <sup>a</sup> (±0,20)	1,01 <sup>a</sup> (±0,04)	1,63 <sup>a</sup> (±0,08)
T <sub>1</sub>		1,15 <sup>ac</sup> (±0,14)	1,42 <sup>a</sup> (±0,06)	1,41 <sup>a</sup> (±0,03)	1,49 <sup>a</sup> (±0,08)
T <sub>2</sub>		1,10 <sup>a</sup> (±0,07)	1,36 <sup>a</sup> (±0,09)	1,39 <sup>a</sup> (±0,06)	2,10 <sup>a</sup> (±0,07)
T <sub>3</sub>		8,41 <sup>b</sup> (±0,34)	9,56 <sup>b</sup> (±1,78)	9,28 <sup>b</sup> (±0,86)	9,48 <sup>b</sup> (±0,97)
T <sub>4</sub>		5,90 <sup>b</sup> (±0,30)	9,25 <sup>b</sup> (±1,00)	9,55 <sup>b</sup> (±0,35)	10,65 <sup>b</sup> (±1,66)
T <sub>5</sub>		1,60 <sup>c</sup> (±0,23)	1,87 <sup>a</sup> (±0,19)	2,06 <sup>c</sup> (±0,09)	2,49 <sup>a</sup> (±0,30)

Letras iguales en la misma columna no presenta diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

(±): Desviación estándar.

La Figura 18 muestra la concentración del fósforo disponible para los tratamientos de suelo, observándose que los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> presentan los valores máximos, los cuales disminuyen con el tiempo.

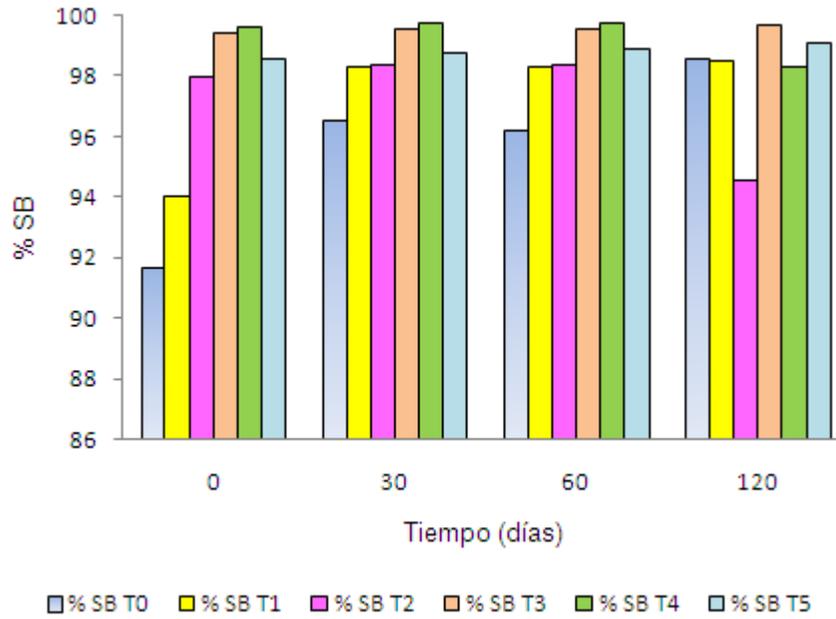


Figura 17. Saturación con base para los tratamientos de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo.

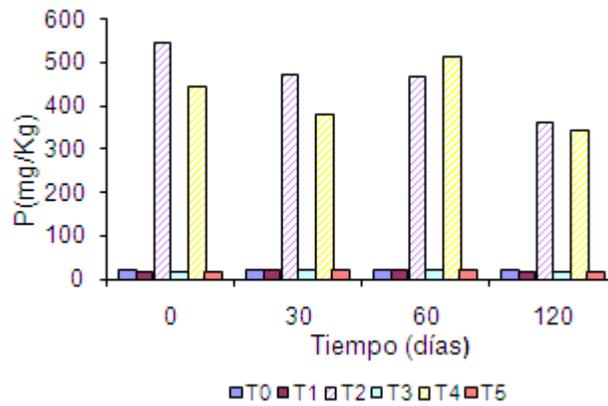


Figura 18. Fósforo disponible para los tratamientos de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo.

Tabla 16. Relación de adsorción de sodio para las mezclas de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo.

Tratamiento	RAS (meq/L).			
	Días	0	30	60
T <sub>0</sub>	0,81 <sup>ab</sup>	1,47 <sup>a</sup>	1,42 <sup>ab</sup>	2,16 <sup>a</sup>
	(±0,09)	(±0,48)	(±0,20)	(±0,31)
T <sub>1</sub>	0,60 <sup>a</sup>	1,18 <sup>a</sup>	2,00 <sup>a</sup>	2,11 <sup>a</sup>
	(±0,01)	(±0,31)	(±0,22)	(±0,10)
T <sub>2</sub>	1,04 <sup>b</sup>	1,51 <sup>a</sup>	1,15 <sup>b</sup>	1,08 <sup>b</sup>
	(±0,18)	(±0,54)	(±0,07)	(±0,04)
T <sub>3</sub>	7,35 <sup>c</sup>	6,08 <sup>b</sup>	4,77 <sup>c</sup>	6,06 <sup>c</sup>
	(±0,29)	(±0,58)	(±0,31)	(±0,99)
T <sub>4</sub>	6,13 <sup>c</sup>	5,87 <sup>b</sup>	5,93 <sup>c</sup>	6,15 <sup>c</sup>
	(±1,62)	(±0,74)	(±0,46)	(±0,42)
T <sub>5</sub>	1,00 <sup>ab</sup>	0,94 <sup>a</sup>	1,18 <sup>b</sup>	1,30 <sup>b</sup>
	(±0,46)	(±0,02)	(±0,03)	(±0,10)

Letras iguales en la misma columna no presenta diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

(±): Desviación estándar.

Los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> presentan diferencias significativas en el contenido de fósforo disponible con los demás tratamientos ( $p < 0,05$ ) a 0, 30, 60 y 120 días de ensayo, debido a que contienen estiércol, y este a parte de contribuir a la materia orgánica, es una fuente completa de nutrientes para las especies vegetales. Peláez et al. 1999, demostró que la gallinaza contiene 3,6 mg/Kg de fósforo en su forma disponible de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> [73].

### 5.2.12 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el contenido de aceites y grasas (%AyG)

La adición de la emulsión asfáltica al suelo incremento en el contenido de aceites y grasas (Tabla 17), observándose diferencias significativas entre los tratamientos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> y T<sub>5</sub> con respecto al suelo control T<sub>0</sub> para 0, 30, 60 y 120 días de ensayo.

En la Figura 19 se muestra la degradación del crudo en las mezclas de suelo en presencia y ausencia de la planta, donde generalmente se observa una mayor reducción en el contenido de aceites y grasas para el diseño experimental con planta a 120 días de ensayo.

Este resultado sugiere que la planta podría estar participando en el proceso de degradación del hidrocarburo. Cunninham et al. 1996, señala que la especie vegetal que produzca mayor biomasa, puede mejorar su efectividad de reducción del hidrocarburo, no sólo por el mayor volumen de suelo que es explorado por las raíces, sino también por la mayor producción de exudados que favorece la actividad microbiológica en la rizósfera [75].

Hernández et al. 2003, confirma la capacidad que presentan las gramíneas *Panicum maximun* y *Urochloa brizantha* de disminuir el contenido de aceites y grasas de un suelo impregnado con 3 %p/p de crudo liviano, respecto a los suelos con crudo en ausencia de las especie vegetales [72].

Tabla 17. Aceites y grasas para las mezclas de suelo. a los 0, 30, 60 y 120 días de ensayo.

Tratamiento	Contenido de aceites y grasas (%p/p)				
	Días	0	30	60	120
T <sub>0</sub>		0,11 <sup>a</sup> (±0,00)	0,11 <sup>a</sup> (±0,00)	0,11 <sup>a</sup> (±0,00)	0,03 <sup>a</sup> (±0,01)
T <sub>1</sub>		2,27 <sup>b</sup> (±0,10)	2,36 <sup>b</sup> (±0,40)	2,04 <sup>b</sup> (±0,20)	2,37 <sup>b</sup> (±0,83)
T <sub>2</sub>		2,11 <sup>b</sup> (±0,07)	2,22 <sup>b</sup> (±0,06)	1,91 <sup>b</sup> (±0,10)	2,11 <sup>b</sup> (±0,10)
T <sub>3</sub>		2,53 <sup>b</sup> (±0,10)	2,56 <sup>b</sup> (±0,18)	2,19 <sup>bc</sup> (±0,19)	2,33 <sup>b</sup> (±0,26)
T <sub>4</sub>		2,55 <sup>b</sup> (±0,43)	2,76 <sup>b</sup> (±0,31)	2,56 <sup>c</sup> (±0,39)	2,66 <sup>b</sup> (±0,52)
T <sub>5</sub>		2,15 <sup>b</sup> (±0,07)	2,30 <sup>b</sup> (±0,39)	2,10 <sup>bc</sup> (±0,11)	2,04 <sup>b</sup> (±0,13)

Letras iguales en la misma columna no presenta diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

(±): Desviación estándar

### 5.2.13 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el contenido de hidrocarburos biodegradables (saturado y aromático)

Los hidrocarburos están formados por saturados, aromáticos, resinas y asfáltenos, considerando las dos primeras fracciones biodegradables y las dos últimas resistentes a la biodegradación [20].

La Figura 20 muestra el contenido de saturados y aromáticos para los tratamientos de suelo, observándose por lo general una tendencia de disminuir en el tiempo, en relación a los tratamientos que presentan fertilización o estiércol, esto se debe a que la incorporación de nutrientes al suelo estimula la actividad microbiana, lo cual facilita el uso del carbono de los hidrocarburos por los microorganismos como sustrato para su crecimiento [76], provocando una disminución de las fracciones biodegradables.

En cambio los tratamientos  $T_1$  y  $T_5$  muestran una elevación del contenido de los hidrocarburos biodegradables, esto posiblemente es debido a interferencias en la realización de las mezclas de suelo, en cuanto a la cantidad y homogenización de de la emulsión.

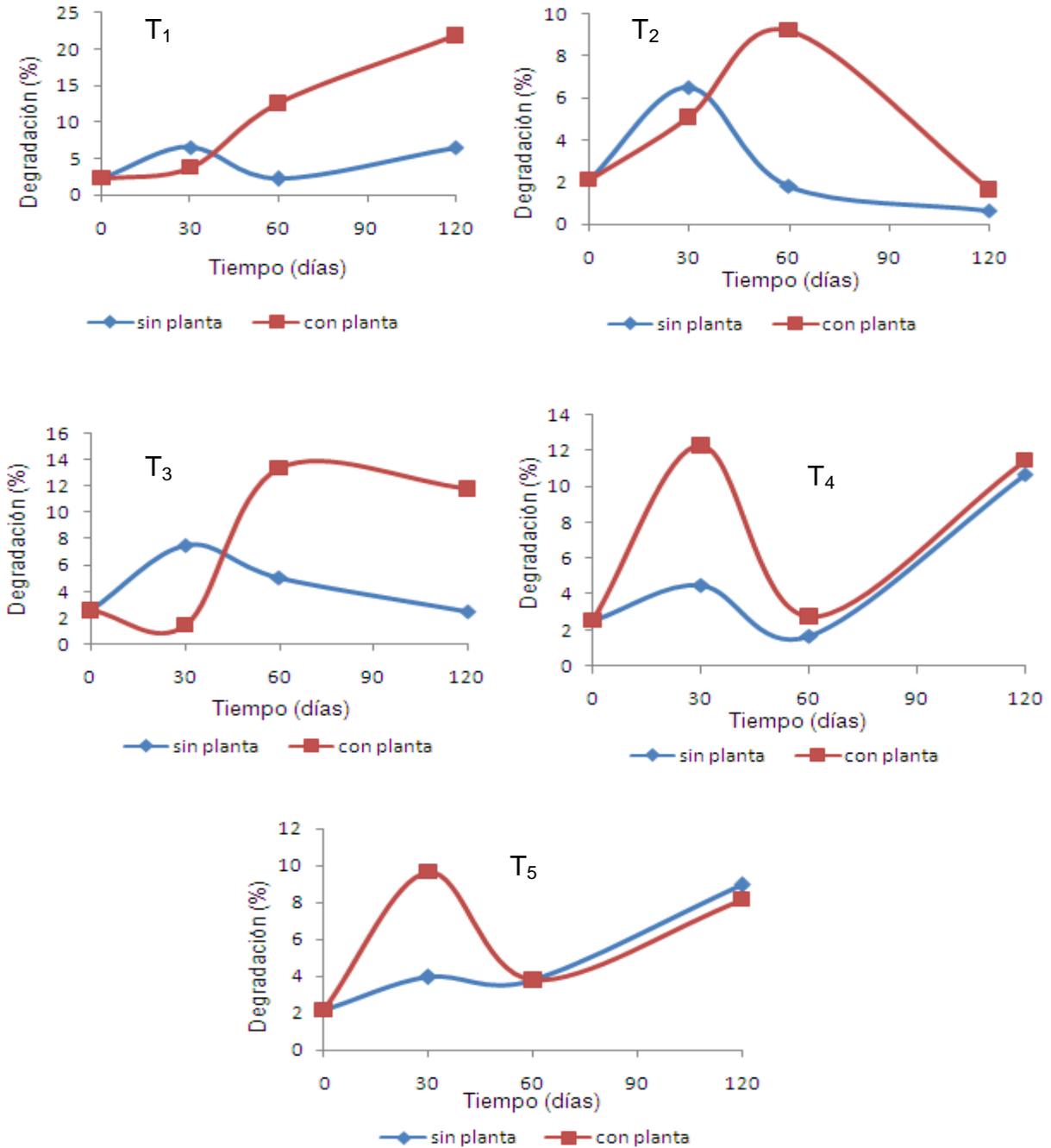


Figura 19. % de degradación de los aceites y grasas para los tratamientos de suelo con y si vegetación a 30, 60 y 120 días de ensayo.

#### 5.2.14 Efecto de la emulsión en el suelo sobre la actividad biológica

El contenido de aceites y grasas y su posible degradación en el suelo está íntimamente relacionado con su actividad biológica. En esta investigación se utilizó la actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH) en conjunto con la respiración edáfica ( $\text{CO}_2$ ) como indicador de la actividad biológica del suelo. En la Figura 21 se observa que la actividad biológica se incrementó en los primeros 30 días de estudio con respecto al suelo control, esto se debe principalmente a que los hidrocarburos biodegradables de la emulsión catiónica (saturados y aromáticos) constituyen la fuente de carbono necesaria para el crecimiento microbiano [77], provocando una elevación en la producción de  $\text{CO}_2$  y de la ADH por estar involucrada en dicho proceso, luego al ausentarse estas fracciones, se observó una disminución gradual en el tiempo de la actividad biológica en el suelo. Este resultado es similar al obtenido por Paolini et al. 2005, donde encontró que la incorporación de enmiendas orgánicas (lodo residual, estiércol de chivo y residuo del procesamiento industrial de la sábila (*Aloe vera*) al suelo aumentó la actividad de esta enzima con respecto al suelo control [18].

Resulta importante destacar que el tratamiento  $T_4$  presentó el valor máximo de actividad biológica. A los 120 días de ensayo se encontró diferencias significativas en ADH entre los tratamientos  $T_2$  y  $T_4$  ( $p < 0,05$ ), este resultado se puede explicar partiendo que la presencia de nutrientes en ambos tratamientos, estimula el crecimiento de los microorganismos, pero como el  $T_4$  contiene un mayor contenido de carbono por la incorporación del estiércol, se observó una mayor actividad biológica en la mezcla. Araujo et al. 2005, demostró que la mayor actividad biológica estaba asociada a los tratamientos con ripsos de perforación que contenían estiércol y estiércol + fertilizante (citado por Cárdenas et al. 2006 [77]).

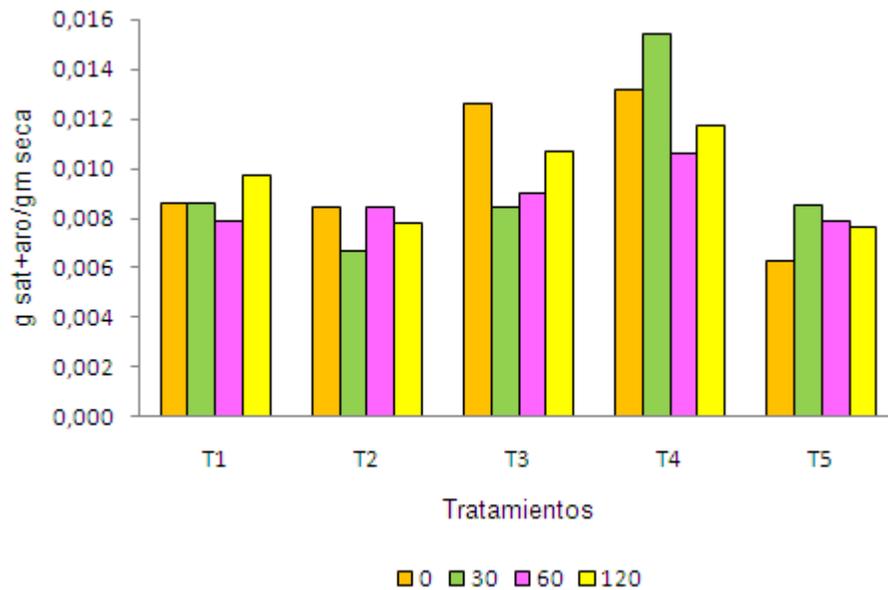


Figura 20. Contenido de las fracciones biodegradables en los tratamientos de suelo a 30, 60 y 120 días de ensayo.

No se encontró diferencias significativas la producción de  $\text{CO}_2$  ( $p > 0,05$ ) entre los tratamientos evaluados a 120 días de estudio. Esto sugiere que en la medida que el contenido de saturados y aromáticos son biodegradados, la producción de  $\text{CO}_2$  va disminuyendo.

Cabe destacar que, para 120 días de estudio se encontró una correlación positiva entre la ADH y producción de  $\text{CO}_2$  (B: 0,83). Oyarsun 2006, demostró que una disminución en la respiración edáfica produce una reducción de la ADH, debido a que esta enzima está involucrada en el transporte de electrones en el proceso de respiración.

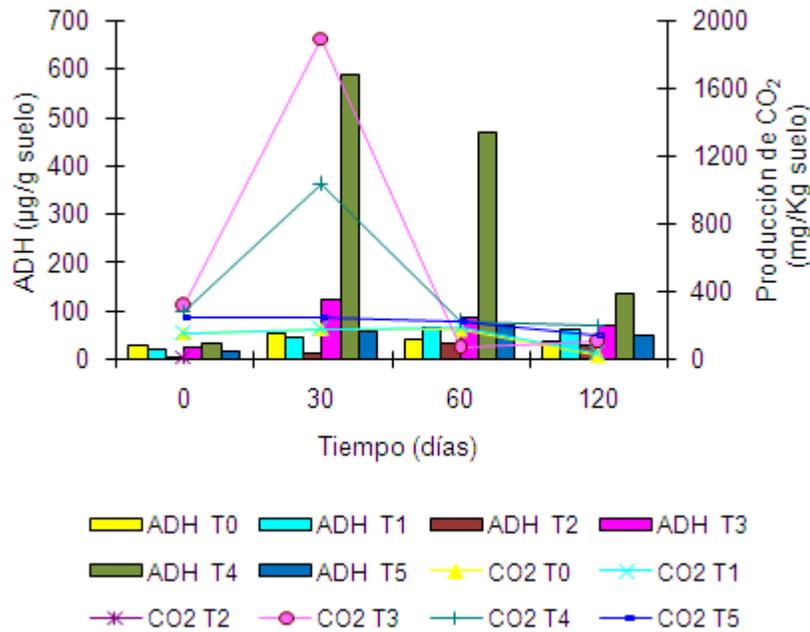


Figura 21. Actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH) y respiración edáfica (CO<sub>2</sub>) para los tratamientos a 30, 60 y 120 días de ensayo.

### 5.2.15 Efecto de la emulsión en el suelo sobre el contenido metales totales

Los valores obtenidos de los metales totales (Tabla 18, 19, 20 y 21) se encontraron por debajo de los límites máximos permisibles para el esparcimiento en el suelo y biotratamientos, establecidos en el artículo 50 y 53 del decreto 2635 de la gaceta oficial.

Resulta importante señalar que, en los tratamientos donde se sembró la *U. brizantha*, presentan una reducción en los niveles de Cr, Pb y Zn principalmente en comparación con los tratamientos sin vegetación, esta diferencia sugiere que la gramínea está acumulando o concentrando dichos metales.

Pérez et al. 2004, encontró que las plantas pueden ser usadas en la descontaminación de áreas impactadas por su capacidad de acumular o concentrar metales pesados y otros compuestos inorgánicos (citado por Martín et al. 2004) [78].

Tabla 18. Concentración de metales totales de los tratamientos de suelo a 0 días de ensayo.

Tratamiento	Metales totales (mg/kg) para 0 días					
	Ba	Cd	Cr	Pb	Zn	Ag
T <sub>0</sub>	65,52	1,98	19,65	4,95	17,95	4,95
T <sub>1</sub>	618,92	1,98	18,18	4,95	24,18	4,95
T <sub>2</sub>	493,92	1,98	17,95	4,95	39,18	4,95
T <sub>3</sub>	1175,92	1,98	18,71	4,95	55,92	4,95
T <sub>4</sub>	53,92	1,98	18,80	4,95	70,58	4,95
T <sub>5</sub>	40,15	1,98	16,48	4,95	16,28	4,95
*Decreto 2635	20.000	8,00	300	150	300	5,00

\*Niveles exigidos por la normativa para esparcimiento en suelos (Decreto 2635, artículo 50, anexo D)

En los tratamientos donde se favoreció la producción de biomasa de *U. brizantha* (T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>5</sub>), se obtuvo una disminución de los metales pesados Ba y Zn (Tabla 22), este resultado sugiere que esta especie tiene la capacidad de fitorremediar suelos contaminados con metales pesados

Tabla 19. Concentración de metales totales a 30 días de ensayo.

Tratamiento	Metales totales (mg/kg)					
	Ba	Cd	Cr	Pb	Zn	Ag
T <sub>0</sub>	52,27	1,98	13,08	13,10	10,04	4,95
T <sub>1</sub>	213	1,98	13,68	13,70	11,55	4,95
T <sub>2</sub>	68,9	1,98	15,63	15,65	25,15	4,95
T <sub>3</sub>	45,87	1,98	20,63	60,65	43,45	4,95
T <sub>4</sub>	79,42	1,98	15,68	15,70	45,15	4,95
T <sub>5</sub>	29,17	1,98	19,18	19,20	9,39	4,95
*Decreto 2635	20.000	8,00	300	150	300	5,00

\*Niveles exigidos por la normativa para esparcimiento en suelos (Decreto 2635, artículo 50, anexo D).

Tabla 20. Concentración de metales totales a 60 días de ensayo.

Tratamiento	Metales totales (mg/kg)					
	Ba	Cd	Cr	Pb	Zn	Ag
T <sub>0</sub>	102,97	1,98	18,98	4,95	10,30	4,95
T <sub>1</sub>	34,27	1,98	18,93	4,95	9,41	4,95
T <sub>2</sub>	31,42	1,98	17,93	4,95	7,61	4,95
T <sub>3</sub>	92,57	1,98	19,58	4,95	61,65	4,95
T <sub>4</sub>	41,97	1,98	15,28	4,95	34,90	4,95
T <sub>5</sub>	30,52	1,98	16,23	4,95	8,57	4,95
*Decreto 2635	20.000	8,00	300	150	300	5,00

\*Niveles exigidos por la normativa para esparcimiento en suelos (Decreto 2635, artículo 50, anexo D).

Tabla 21. Concentración de metales totales a 120 días de ensayo

Tratamiento	Metales totales (mg/kg)					
	Ba	Cd	Cr	Pb	Zn	Ag
T <sub>0</sub>	165,94	1,98	20,48	4,95	12,45	4,95
T <sub>1</sub>	45,59	1,98	20,28	4,95	11,85	4,95
T <sub>2</sub>	47,84	1,98	19,38	4,95	13,05	4,95
T <sub>3</sub>	61,79	1,98	20,48	4,95	51,95	4,95
T <sub>4</sub>	47,89	1,98	19,33	4,95	42,30	4,95
T <sub>5</sub>	65,89	1,98	18,03	4,95	13,15	4,95
*Decreto 2635	20.000	8,00	300	150	300	5,00

Tabla 22. Disminución de los metales Ba y Zn por *Urochloa brizantha* a los 120 días de ensayo.

Tratamiento	Disminución (%p/p)	
	Ba	Zn
T <sub>0</sub>	42,31	30,64
T <sub>1</sub>	92,63	50,99
T <sub>2</sub>	90,31	66,69
T <sub>3</sub>	94,75	7,10
T <sub>4</sub>	11,18	40,07
T <sub>5</sub>	-	19,23

## 6 CONCLUSIONES

- ✓ La emulsión catiónica a una concentración de 3 %p/p generó cambios significativos ( $p < 0,05$ ) en la actividad bioquímica del suelo (ADH) de Santa Barbara, estado Monagas.
- ✓ La especie *Urochloa brizantha* es tolerante a la concentración de 3 %p/p de emulsión catiónica.
- ✓ La presencia de la emulsión catiónica con una concentración de 3 %p/p, promueve el crecimiento de *Urochloa brizantha*.
- ✓ No se observaron diferencias significativas en el crecimiento de la especie vegetal al incorporar 3 %p/p de emulsión catiónica con respecto al suelo sin emulsión a los 120 días de ensayo ( $p < 0,05$ ).
- ✓ La incorporación de la emulsión catiónica y del estiércol de aves como enmiendas orgánicas al suelo, incrementó significativamente el contenido de materia orgánica con respecto al control ( $p < 0,05$ ), sin embargo no se encontró una correlación positiva sobre el contenido de agregados estables al agua.
- ✓ La emulsión catiónica aumentó significativamente la acidez en el suelo con respecto al control ( $p < 0,05$ ), sin embargo es característico de un suelo de sabana.

- ✓ Se demostró que la incorporación de la emulsión catiónica al suelo aumentó los parámetros conductividad eléctrica (CE), cloruros, relación de adsorción de sodio (RAS), bases intercambiables (BI), saturación con base (%SB) y capacidad de intercambio catiónico (CIC) con respecto al control.
  
- ✓ La adición de estiércol de aves al elevó significativamente el contenido de fósforo disponible en el suelo ( $p < 0,05$ ).
  
- ✓ La *Urochloa brizantha* participo en el proceso de degradación del hidrocarburo en el suelo.
  
- ✓ La especie vegetal disminuyó los niveles de Ba y Zn en el suelo.

## 7 RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar el diseño experimental empleando un suelo característico de sabana, para observar si los cambios en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo son más pronunciados.
  
- ✓ Elaborar experimentos de suelos mezclados con emulsión y diferentes dosis de estiércol, con la finalidad de evaluar la concentración óptima para el crecimiento de la *Urochloa brizantha* y para el mejoramiento de las características físicas, químicas y biológicas del suelo.
  
- ✓ Realizar ensayos a escala de campo que permitan la reproducibilidad de los datos obtenidos en esta investigación. Además de visualizar el mejoramiento de las características física, químicas y biológicas del suelo en áreas de poca fertilidad y cercanas a las actividades petroleras.

# **ANEXOS**

Anexo 1. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores de pH para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio.

Tratamientos	Medias												
	6,42	6,17	6,35	6,56	6,86	6,73	6,53	6,55	6,62	6,28	6,31	6,59	6,58
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>10</sub>	T <sub>11</sub>	T <sub>12</sub>
T <sub>0</sub>		0,935	1,000	1,000	0,353	0,831	1,000	1,000	1,000	0,999	1,000	1,000	0,999
T <sub>1</sub>	0,935		0,995	0,499	<u>0,011</u>	0,078	0,607	0,558	0,389	1,000	1,000	0,405	0,423
T <sub>2</sub>	1,000	0,995		0,988	0,165	0,578	0,997	0,994	0,946	0,950	1,000	0,971	0,975
T <sub>3</sub>	1,000	0,499	0,988		0,853	0,998	1,000	1,000	1,000	0,885	0,943	1,000	1,000
T <sub>4</sub>	0,353	<u>0,011</u>	0,165	0,853		1,000	0,767	0,808	0,983	0,059	0,089	0,913	0,902
T <sub>5</sub>	0,831	0,078	0,578	0,998	1,000		0,993	0,996	1,000	0,297	0,396	1,000	1,000
T <sub>6</sub>	1,000	0,607	0,997	1,000	0,767	0,993		1,000	1,000	0,939	0,975	1,000	1,000
T <sub>7</sub>	1,000	0,558	0,994	1,000	0,808	0,996	1,000		1,000	0,918	0,963	1,000	1,000
T <sub>8</sub>	0,995	0,389	0,949	1,000	0,983	1,000	1,000	1,000		0,776	0,860	1,000	1,000
T <sub>9</sub>	0,999	1,000	1,000	0,885	0,059	0,297	0,939	0,917	0,776		1,000	0,816	0,831
T <sub>10</sub>	1,000	1,000	1,000	0,943	0,089	0,396	0,975	0,963	0,860	1,000		0,897	0,907
T <sub>11</sub>	1,000	0,405	0,971	1,000	0,912	1,000	1,000	1,000	1,000	0,816	0,897		1,000
T <sub>12</sub>	0,999	0,423	0,975	1,000	0,902	0,999	1,000	1,000	1,000	0,831	0,907	1,000	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

T<sub>0</sub>: suelo

T<sub>7</sub>: suelo + 0,5 %p/p EC

T<sub>1</sub>: suelo + 0,5 %p/p EA

T<sub>8</sub>: suelo + 1,0 %p/p EC

T<sub>2</sub>: suelo + 1,0 %p/p EA

T<sub>9</sub>: suelo + 1,5 %p/p EC

T<sub>3</sub>: suelo + 1,5 %p/p EA

T<sub>10</sub>: suelo + 2,0 %p/p EC

T<sub>4</sub>: suelo + 2,0 %p/p EA

T<sub>11</sub>: suelo + 2,5 %p/p EC

T<sub>5</sub>: suelo + 2,5 %p/p EA

T<sub>12</sub>: suelo + 3,0 %p/p EC

T<sub>6</sub>: suelo + 3,0 %p/p EA

Anexo 2. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores de BI para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio.

Tratamientos	Medias (meq/100g suelo)												
	1,60	1,49	1,68	1,43	1,73	1,42	1,51	1,93	1,90	1,58	2,00	1,62	1,55
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>10</sub>	T <sub>11</sub>	T <sub>12</sub>
T <sub>0</sub>		0,993	1,000	0,864	0,986	0,790	0,999	0,097	0,180	1,000	0,816	1,000	0,999
T <sub>1</sub>	0,993		0,674	1,000	0,351	1,000	1,000	<u>0,002</u>	<u>0,004</u>	0,998	<u>0,004</u>	0,978	1,000
T <sub>2</sub>	1,000	0,674		0,288	1,000	0,211	0,814	0,305	0,492	0,995	0,233	1,000	0,960
T <sub>3</sub>	0,864	1,000	0,288		0,106	1,000	0,999	<u>0,000</u>	<u>0,001</u>	0,915	<u>0,001</u>	0,776	0,984
T <sub>4</sub>	0,986	0,351	1,000	0,106		0,072	0,496	0,619	0,811	0,913	0,458	0,996	0,756
T <sub>5</sub>	0,790	1,000	0,211	1,000	0,072		0,997	<u>0,000</u>	<u>0,001</u>	0,846	<u>0,001</u>	0,680	0,960
T <sub>6</sub>	0,999	1,000	0,814	0,999	0,496	0,997		<u>0,004</u>	<u>0,009</u>	1,000	<u>0,007</u>	0,995	1,000
T <sub>7</sub>	0,098	<u>0,002</u>	0,305	<u>0,000</u>	0,619	<u>0,000</u>	<u>0,004</u>		1,000	<u>0,028</u>	0,999	0,254	<u>0,012</u>
T <sub>8</sub>	0,180	<u>0,004</u>	0,492	<u>0,001</u>	0,811	<u>0,001</u>	<u>0,009</u>	1,000		0,061	0,999	0,254	<u>0,027</u>
T <sub>9</sub>	1,000	0,998	0,995	0,915	0,913	0,846	1,000	<u>0,028</u>	0,061		<u>0,032</u>	1,000	1,000
T <sub>10</sub>	0,081	<u>0,004</u>	0,233	<u>0,001</u>	0,458	<u>0,001</u>	<u>0,001</u>	1,000	1,000	<u>0,032</u>		0,115	<u>0,016</u>
T <sub>11</sub>	1,000	0,978	1,000	0,776	0,996	0,680	0,995	0,144	0,254	1,000	0,114		1,000
T <sub>12</sub>	1,000	1,000	0,960	0,984	0,756	0,959	1,000	<u>0,012</u>	<u>0,027</u>	1,000	<u>0,016</u>	0,999	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Anexo 3. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores de CIC para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio.

Tratamientos	Medias (meq/100g suelo)												
	5,68	4,54	5,46	4,26	5,49	4,17	4,43	6,46	6,30	4,90	8,49	5,34	5,04
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>10</sub>	T <sub>11</sub>	T <sub>12</sub>
T <sub>0</sub>		0,938	0,999	0,546	0,999	0,330	0,845	0,141	0,247	1,000	0,069	1,000	1,000
T <sub>1</sub>	0,938		0,308	1,000	0,297	0,991	1,000	<u>0,001</u>	<u>0,003</u>	0,995	<u>0,001</u>	0,598	0,933
T <sub>2</sub>	0,999	0,308		0,059	1,000	<u>0,023</u>	0,188	0,520	0,722	0,931	0,263	1,000	0,995
T <sub>3</sub>	0,546	1,000	0,059		0,056	1,000	1,000	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,772	<u>0,000</u>	0,188	0,495
T <sub>4</sub>	0,999	0,297	1,000	0,056		<u>0,022</u>	0,180	0,534	0,736	0,925	0,271	1,000	0,996
T <sub>5</sub>	0,330	0,991	<u>0,023</u>	1,000	<u>0,022</u>		1,000	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,529	<u>0,000</u>	0,090	0,275
T <sub>6</sub>	0,845	1,000	0,188	1,000	0,180	0,999		<u>0,001</u>	<u>0,000</u>	0,970	<u>0,001</u>	0,436	0,826
T <sub>7</sub>	0,141	<u>0,001</u>	0,520	<u>0,000</u>	0,534	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>		1,000	<u>0,022</u>	0,999	0,453	0,065
T <sub>8</sub>	0,247	<u>0,000</u>	0,722	<u>0,000</u>	0,736	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	1,000		<u>0,048</u>	0,994	0,641	0,130
T <sub>9</sub>	1,000	0,995	0,931	0,772	0,925	0,529	0,970	<u>0,022</u>	<u>0,048</u>		<u>0,015</u>	0,992	1,000
T <sub>10</sub>	0,069	<u>0,001</u>	0,263	<u>0,000</u>	0,271	<u>0,000</u>	<u>0,001</u>	0,999	0,994	<u>0,015</u>		0,223	<u>0,036</u>
T <sub>11</sub>	1,000	0,598	1,000	0,188	1,000	0,090	0,436	0,453	0,641	0,992	0,223		1,000
T <sub>12</sub>	1,000	0,933	0,995	0,495	0,994	0,275	0,826	0,065	0,130	1,000	<u>0,036</u>	1,000	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Para el análisis estadístico se utilizaron los valores transformados con logaritmo base 10 de la capacidad de intercambio catiónico (CIC).

Anexo 4. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores de materia orgánica (MO) para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio.

Medias (%p/p)													
Tratamientos	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>10</sub>	T <sub>11</sub>	T <sub>12</sub>
T <sub>0</sub>		0,999	1,000	0,144	0,385	<u>0,013</u>	0,071	1,000	0,998	0,256	<u>0,028</u>	<u>0,019</u>	0,441
T <sub>1</sub>	0,999		1,000	0,624	0,920	0,122	0,416	1,000	1,000	0,768	0,189	0,141	0,922
T <sub>2</sub>	1,000	1,000		0,479	0,819	0,075	0,293	1,000	1,000	0,641	0,125	0,091	0,840
T <sub>3</sub>	0,144	0,624	0,479		1,000	0,998	1,000	0,697	0,682	1,000	0,999	0,995	1,000
T <sub>4</sub>	0,385	0,914	0,819	1,000		0,931	0,999	0,918	0,941	1,000	0,955	0,916	1,000
T <sub>5</sub>	<u>0,013</u>	0,122	0,075	0,998	0,931		1,000	0,220	0,147	0,998	1,000	1,000	0,975
T <sub>6</sub>	0,071	0,416	0,293	1,000	0,999	1,000		0,526	0,472	1,000	1,000	1,000	1,000
T <sub>7</sub>	1,000	1,000	1,000	0,697	0,918	0,220	0,526		1,000	0,794	0,279	0,224	0,919
T <sub>8</sub>	0,998	1,000	1,000	0,682	0,941	0,147	0,472	1,000		0,814	0,221	0,167	0,946
T <sub>9</sub>	0,256	0,768	0,641	1,000	1,000	0,998	1,000	0,795	0,814		0,999	0,996	1,000
T <sub>10</sub>	<u>0,028</u>	0,189	0,125	0,999	0,955	1,000	1,000	0,279	0,221	0,999		1,000	0,984
T <sub>11</sub>	<u>0,019</u>	0,141	0,091	0,995	0,916	1,000	1,000	0,224	0,167	0,996	1,000		0,964
T <sub>12</sub>	0,441	0,922	0,840	1,000	1,000	0,975	1,000	0,919	0,946	1,000	0,984	0,964	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Para el análisis estadístico se utilizaron los valores transformados con logaritmo base 10 de materia orgánica (MO).

Anexo 5. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores del contenido de humedad para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio.

Tratamientos	Medias (%p/p)												
	1,01	1,03	1,02	1,02	1,03	0,92	0,98	1,08	0,96	1,06	1,16	1,00	0,92
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>10</sub>	T <sub>11</sub>	T <sub>12</sub>
T <sub>0</sub>		1,000	1,000	1,000	1,000	0,744	1,000	0,920	0,997	0,995	0,067	1,000	1,000
T <sub>1</sub>	1,000		1,000	1,000	1,000	0,468	0,997	0,992	0,949	1,000	0,172	1,000	1,000
T <sub>2</sub>	1,000	1,000		1,000	1,000	0,573	0,999	0,978	0,978	1,000	0,123	1,000	1,000
T <sub>3</sub>	1,000	1,000	1,000		1,000	0,573	0,999	0,978	0,978	1,000	0,123	1,000	1,000
T <sub>4</sub>	1,000	1,000	1,000	1,000		0,468	0,997	0,992	0,949	1,000	0,172	1,000	1,000
T <sub>5</sub>	0,744	0,468	0,573	0,573	0,468		0,978	<u>0,046</u>	1,000	0,138	<u>0,000</u>	0,858	0,424
T <sub>6</sub>	1,000	0,997	0,999	0,999	1,000	0,978		0,573	1,000	0,858	<u>0,013</u>	1,000	0,988
T <sub>7</sub>	0,920	0,992	0,978	0,978	0,999	0,046	0,573		0,311	1,000	0,832	0,832	1,000
T <sub>8</sub>	0,997	0,949	0,978	0,978	0,949	0,999	1,000	0,311		0,608	<u>0,004</u>	1,000	0,910
T <sub>9</sub>	0,995	1,000	1,000	1,000	1,000	0,138	0,858	1,000	0,608		0,537	0,978	1,000
T <sub>10</sub>	0,067	0,172	0,123	0,123	0,172	<u>0,000</u>	<u>0,013</u>	0,832	<u>0,004</u>	0,537		0,040	0,394
T <sub>11</sub>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,858	1,000	0,832	1,000	0,978	<u>0,040</u>		1,000
T <sub>12</sub>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,424	0,988	1,000	0,910	1,000	0,394	1,000	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Anexo 6. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores del contenido de agregados estables al agua para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio.

Tratamientos	Medias (%p/p)												
	21,17	18,80	20,58	19,79	22,32	18,53	21,24	20,48	23,68	12,34	15,89	50,04	28,32
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>10</sub>	T <sub>11</sub>	T <sub>12</sub>
T <sub>0</sub>		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,402	0,922	<u>0,000</u>	0,705
T <sub>1</sub>	1,000		1,000	1,000	0,996	1,000	1,000	1,000	0,947	0,819	0,999	<u>0,000</u>	0,294
T <sub>2</sub>	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,999	0,507	0,964	<u>0,000</u>	0,597
T <sub>3</sub>	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	0,991	0,652	0,990	<u>0,000</u>	0,454
T <sub>4</sub>	1,000	0,996	1,000	1,000		0,992	1,000	1,000	1,000	0,234	0,776	<u>0,000</u>	0,879
T <sub>5</sub>	1,000	1,000	1,000	1,000	0,992		1,000	1,000	0,924	0,856	1,000	<u>0,000</u>	0,257
T <sub>6</sub>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	0,400	0,916	<u>0,000</u>	0,718
T <sub>7</sub>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	0,765	0,992	<u>0,000</u>	0,803
T <sub>8</sub>	1,000	0,947	0,999	0,991	1,000	0,924	1,000	1,000		0,109	0,533	<u>0,000</u>	0,979
T <sub>9</sub>	0,402	0,819	0,507	0,652	0,234	0,856	0,400	0,765	0,109		1,000	<u>0,000</u>	<u>0,009</u>
T <sub>10</sub>	0,922	0,999	0,964	0,990	0,776	1,000	0,916	0,992	0,533	1,000		<u>0,000</u>	0,076
T <sub>11</sub>	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>										
T <sub>12</sub>	0,705	0,294	0,597	0,454	0,879	0,257	0,718	0,803	0,979	<u>0,009</u>	0,076	<u>0,000</u>	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Anexo 7. Análisis de Varianza (ANOVA) de los valores de la actividad de la enzima m deshidrogenasa (ADH) para los tratamientos de suelo a 30 días de estudio.

		Medias ( $\mu\text{g/g}$ muestra seca)												
		59,72	23,26	15,68	14,79	28,20	40,06	25,05	33,75	47,23	32,09	27,85	22,86	82,24
Tratamientos		T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>10</sub>	T <sub>11</sub>	T <sub>12</sub>
T <sub>0</sub>			0,364	<u>0,022</u>	<u>0,013</u>	0,773	1,000	0,559	0,990	1,000	0,787	0,724	0,345	1,000
T <sub>1</sub>	0,364			0,964	0,903	1,000	0,712	1,000	0,964	0,316	1,000	1,000	1,000	0,085
T <sub>2</sub>	<u>0,022</u>	0,964			1,000	0,677	0,079	0,866	0,258	<u>0,018</u>	0,661	0,729	0,971	<u>0,003</u>
T <sub>3</sub>	<u>0,013</u>	0,903	1,000			0,533	<u>0,048</u>	0,749	0,171	<u>0,010</u>	0,516	0,586	0,916	<u>0,002</u>
T <sub>4</sub>	0,773	1,000	0,677	0,533			0,974	1,000	1,000	0,719	1,000	1,000	1,000	0,300
T <sub>5</sub>	1,000	0,713	0,079	<u>0,048</u>	0,973			0,880	1,000	1,000	0,977	0,959	0,691	0,970
T <sub>6</sub>	0,599	1,000	0,866	0,749	1,000	0,880			0,996	0,501	1,000	1,000	1,000	0,163
T <sub>7</sub>	0,990	0,964	0,258	0,171	1,000	1,000	0,996			0,982	1,000	1,000	0,958	0,733
T <sub>8</sub>	1,000	0,316	<u>0,018</u>	<u>0,010</u>	0,719	1,000	0,501	0,982			0,735	0,667	0,299	1,000
T <sub>9</sub>	0,787	1,000	0,661	0,516	1,000	0,977	1,000	1,000	0,734			1,000	1,000	0,313
T <sub>10</sub>	0,724	1,000	0,729	0,586	1,000	0,959	1,000	1,000	0,667	1,000			1,000	0,261
T <sub>11</sub>	0,345	1,000	0,970	0,916	1,000	0,691	1,000	0,958	0,299	1,000	1,000			0,079
T <sub>12</sub>	1,000	0,085	<u>0,003</u>	<u>0,002</u>	0,300	0,970	0,163	0,733	1,000	0,313	0,261	0,079		

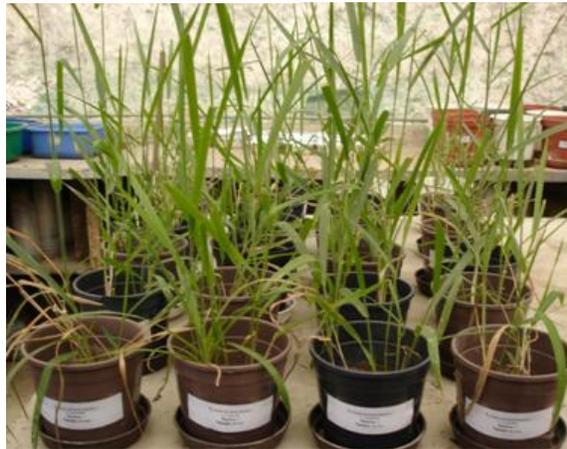
Valores subrayados indica que hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Para el análisis estadístico se utilizaron los valores transformados con logaritmo base 10 de la actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH).

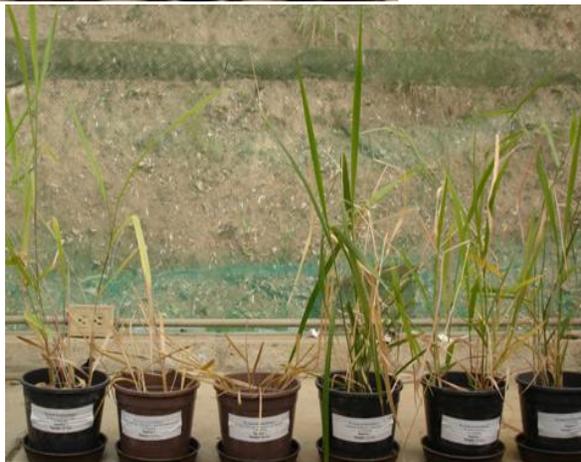
Anexo 8. Tratamientos de suelo en presencia de *Urochloa brizantha* a 0, 30 y 120 días de ensayo.



0 días



30 días



120 días

T5 T4 T3 T2 T1 T0

Anexo 9. Reducción de la producción de biomasa de *Urochloa brizantha* para los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> con respecto al control a 120 días de estudio.



T3

Anexo 10. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores de biomasa seca total para los tratamientos de suelo a 120 días de estudio.

Tratamientos	Medias (g/m <sup>2</sup> )					
	424,58	547,58	590,15	229,10	263,88	741,58
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
T <sub>0</sub>		0,16412	<u>0,03088</u>	<u>0,00861</u>	<u>0,03783</u>	<u>0,00019</u>
T <sub>1</sub>	0,16412		0,94677	<u>0,00019</u>	<u>0,00031</u>	0,09173
T <sub>2</sub>	<u>0,03088</u>	0,94677		<u>0,00016</u>	<u>0,00018</u>	0,05528
T <sub>3</sub>	<u>0,00861</u>	<u>0,00019</u>	<u>0,00016</u>		0,97718	<u>0,00016</u>
T <sub>4</sub>	<u>0,03783</u>	<u>0,00031</u>	<u>0,00018</u>	0,97718		<u>0,00016</u>
T <sub>5</sub>	<u>0,00190</u>	0,00917	0,05528	<u>0,00016</u>	<u>0,00016</u>	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas (p<0,05)

Anexo 11. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores de materia orgánica para los tratamientos de suelo a 120 días de estudio.

Tratamientos	Medias (%p/p)					
	2.67	4.54	4.78	6.73	6.33	4.66
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
T <sub>0</sub>		<u>0.00164</u>	<u>0.00164</u>	<u>0.00164</u>	<u>0.00164</u>	<u>0.00164</u>
T <sub>1</sub>	<u>0.00164</u>		<u>0,55489</u>	<u>0,00164</u>	<u>0,00164</u>	<u>0,95800</u>
T <sub>2</sub>	<u>0.00164</u>	<u>0,55489</u>		<u>0,00164</u>	<u>0,00164</u>	<u>0,96179</u>
T <sub>3</sub>	<u>0.00164</u>	<u>0.00164</u>	<u>0.00164</u>		<u>0,075363</u>	<u>0,00164</u>
T <sub>4</sub>	<u>0.00164</u>	<u>0.00164</u>	<u>0,00164</u>	<u>0,075363</u>		<u>0,00164</u>
T <sub>5</sub>	<u>0.00164</u>	0,95800	0,96178	<u>0,00164</u>	<u>0,00164</u>	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas (p<0,05)

Anexo 12. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores del contenido de aceites y grasas para los tratamientos de suelo a 120 días de estudio.

Tratamientos	Medias (%p/p)					
	0,26	2,00	2,11	2,33	2,67	2,04
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
T <sub>0</sub>		<u>0,00157</u>	<u>0,00157</u>	<u>0,00157</u>	<u>0,00157</u>	<u>0,00157</u>
T <sub>1</sub>	<u>0,00157</u>		0,99562	0,69812	0,08105	0,99979
T <sub>2</sub>	<u>0,00157</u>	0,99562		0,90197	0,13986	0,99913
T <sub>3</sub>	<u>0,00157</u>	0,69812	0,90197		0,60036	0,73459
T <sub>4</sub>	<u>0,00157</u>	0,08105	0,13986	0,60036		0,73023
T <sub>5</sub>	<u>0,00157</u>	0,99979	0,99913	0,73459	0,73023	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Anexo 13. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores de la actividad de la enzima deshidrogenasa para los tratamientos de suelo a 120 días de estudio.

Tratamientos	Medias ( $\mu\text{g/g}$ suelo)					
	50.82	90.39	27.74	68.21	132.59	46.89
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
T <sub>0</sub>		0.66839	0.96101	0.98382	0.06532	0.99999
T <sub>1</sub>	0.66839		0.29259	0.95466	0,60958	0,755194
T <sub>2</sub>	0.96101	0.29259		0,71399	<u>0,02213</u>	0,99212
T <sub>3</sub>	0.98382	0.95466	0,71399		0.20268	0.98375
T <sub>4</sub>	0.06532	0.60958	<u>0,02213</u>	0.20268		0.14327
T <sub>5</sub>	0.99999	0.75519	0,99212	0.98375	0.14327	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Anexo 14. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores de la respiración edáfica (producción de CO<sub>2</sub>) para los tratamientos de suelo a 120 días de estudio.

Tratamientos	Medias (mg CO <sub>2</sub> /Kg suelo)					
	22.23	29.07	12.03	99.31	199.47	142.84
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
T <sub>0</sub>		0.99999	0.99999	0.87722	0.19804	0.55495
T <sub>1</sub>	0.99999		0.99986	0.91206	0.22817	0.60994
T <sub>2</sub>	0.99999	0.99986		0.81367	0.15903	0.47479
T <sub>3</sub>	0.87722	0.91206	0.81367		0.71906	0.98782
T <sub>4</sub>	0.19804	0.22817	0.15903	0.71906		0.96223
T <sub>5</sub>	0.55495	0.60994	0.47479	0.09878	0.96223	

Valores subrayados indica que hay diferencias significativas (p<0,05)

## 8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Pérez, M., 2002. Alternativas en el manejo agroecológico y sucesiones tempranas en sabanas de drenaje rápido, ubicadas al norte de estado Amazonas. Trabajo Especial de Grado, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias – U.C.V. Caracas. 13 p.
2. Mogollon, L. y J. Comerma. 1994. Suelos de Venezuela. Edit Xlibris. 313p.
3. Luque, O. 1975. Plan de investigación sobre el manejo de suelos de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. Boletín Técnico, N° 15. 19p.
4. Lobo D., Z. Lozano y I. Pla. Limitaciones físicas para la penetración de raíces de maíz (*Zea mays* L.) y sorgo (*Sorghum bicolor* L.) en cuatro suelos de Venezuela. Revista de Venesuelos 4 (1 y 2): 19-24p.
5. Morales F. 2008. Efecto combinado de las emulsiones asfálticas catiónica y aniónica sobre la adsorción de fósforo en un suelo ácido de sabana. Trabajo especial de Grado. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. UCV. Caracas. 139p.
6. Pla I., D. Lobo y A. Florentino. 1983. Uso de emulsiones de asfalto para incrementar y regular la productividad de maní en un ultisol arenoso de la Mesa de Guanipa. Revista de la Facultad de Agronomía. U.C.V. 34(1-3): 43-48 p.
7. Salem, N; M. Verloo. y M De Boodt. 1985. Effects of Bituminous Emulsions on Retention and Release of Some Chemical Elements in two Soils Samples. Geoderma. 35: 241-249 p.
8. El Mercado del Petróleo en Venezuela. Disponible: [http://www.elmundo.es/nueva\\_economía/2002/124/pag03.pdf](http://www.elmundo.es/nueva_economía/2002/124/pag03.pdf)\_ Último día de consulta 11/10/09.
9. Brady N. 1990. The Nature and Properties of Soils. 10<sup>th</sup> edition. MACMILLAN PUBLISHING COMPANY. New York. 1-20; 177-212; 497-514 p.

- 
10. Bornemisza E. 1982. Introducción a la química de los suelos. Secretaria General de la Organización de Estados americanos, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Serie Química, Monografía N° 25. Washington, D.C. 65p.
  11. Casanova E. 1991. Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas. Venezuela. 377p.
  12. Generalidades del suelo. Disponible: <http://www.safa.edu.uy/suelo/capitulo1.htm>  
Último día de consulta: 10/09/09.
  13. Factores que afectan la formación de agregados. Disponible: <http://www.sagan-gea.org/hojaredsuelos.html>. Último día de consulta: 10/09/09.
  14. Rowel D. 1994. Soil Sciense: Methods & aplicaciones. Longman Scientific & Techinal. Singa pore.
  15. Edafología. Ciencias ambientales. Propiedades del suelo. Estructura. Disponible: <http://www.unex.es/edafoECAL5PFestructura.htm>. Último día de consulta: 10/09/09.
  16. Gilbert W. Robinson, 1967. Los suelos. Ediciones Omega. 2<sup>da</sup> edición, Barcelona.
  17. Singer M., J. Munms y N. Donal. 1999. Soil an introduction. 4<sup>th</sup> edition , Prentice Hall, USA.
  18. Paolini, J., y Y. Acosta. 2005. Actividad de la enzima de deshidrogenasa en un suelo de Calciorthids enmendado con residuos orgánicos. Agronomía Tropical. Volumen 55 N° 2. Maracay. 20 p.
  19. Parkin T. B., J. Doran, and e. E. Franco. 1996. Field and laboratory test of soil respiration. In: J. Doran and A. Jones (eds). Methods for assesing soli quality. Soil Sci. Soc. Am. Spec. Publ. 49. SSSA, Madison, WI. 231-246 p
  20. Atlas. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An enviromental perspective. Microbial. 45: 180-209p

- 
21. Skujins, J. 1967. Enzymes in soil. Edition Marcel Dekker. New York.
  22. Ceccanti, B. and C. García. 1994. Coupled chemical and biochemical methodologies to characterize a composting process and the humic substances. In: Humic Substances in the global environment and its implication on human health. N. Senesi and T. Miano. Edition Elsevier. New York. 1279-1285 p.
  23. Trevors, J. 1984. Dehydrogenase activity in soil. A comparison between the INT and TTC assay. *Soil Biology. Biochemistry* 16: 673-674 p.
  24. Paolini J. 2003. Actividades enzimáticas en suelos de los altos Llanos Centrales (estado Guárico). *Venezuelos*. 11(1-2): 39-46p.
  25. Oyarsun C. 2006. Efectos de derrames de emulsión de agua en diesel sobre la actividad microbiana del suelo. Trabajo Especial de Grado. Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. U.C.V. Caracas.
  26. Lee S., B. Oh and J. Kim. 2007. Effect of various amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity. *Elsevier. Bioresource Technology* 99: 2578-2587 p.
  27. Mediterránea de Agroquímicos. El suelo. Último día de consulta 10/09/09 Disponible: <http://www.mediterraneadeagroquímicos.es/INTROFRAME.htm>
  28. Adams, M., 1995. Fundamentos de Química de Suelos. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. U.C.V. Caracas. Venezuela.
  29. Bremer, E. B. H. Ellert y H. H. Janzen. 1995. Total and Light fraction carbon dynamics during four decade after cropping changes. *Soil Sci. Am. J.* 59. 1398-1403p.
  30. López, L. 2002. Sustancias Humicas. Tema 3. Guía de Docente de Geoquímica Orgánica. I.C.T. Facultad de Ciencias. U.C.V. Caracas. Venezuela. 20p.

- 
31. Weber, J. 2007. Homepage. Department of soil science & agricultural environment protection of the agricultural university of Wroclaw, Poland. Disponible: <http://www.ar.wroc.pl/english/faculties/agr/issaep/index.html>. Último día de consulta: 12/09/09.
32. Fertilizantes orgánicos. Disponible: <http://www.fertilizando.com/articulos/fertilizantes%20Organominerales.asp>. Último día de consulta: 10/09/09.
33. Miller T., 1992. Ecología y Medio Ambiente. Editorial Iberoamerica. Estados Unidos América. Capítulo 12, 338-359p.
34. Paolini J. y F. Contreras. 2004. Uso de enmiendas orgánicas y su efecto sobre la actividad de enzima deshidrogenasa y mineralización del carbono en suelos. Revista de la Facultad de Agronomía. U.C.V. Maracay, estado Aragua. Venezuela. Volumen 30:95-107p.
35. Nielsson F., 1987. Fertilizer science and technology. Marcel Dekker. Estados Unidos. Serie- Volumen 5. 16 p.
36. Escobar, G. 1982. Determinación de una estructura molecular promedio para asfáltenos. Trabajo de Ascenso. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. U.C.V. Caracas. Venezuela.
37. Alayon, M. 2004. Modulo de Enseñanza en Fenómenos Interfaciales Asfaltenos Ocurrencia y Floculación. ULA: Mérida, estado Mérida. Venezuela. Cuaderno 1:369
38. Acevedo, S. 1984. Estudio de los crudos Pao, Hamaca, Morichal y Cerro Negro provenientes de la faja petrolífera del Orinoco. Trabajo de Ascenso de la Categoría de Asociado. Facultad de Ciencias. U.C.V. Caracas. Venezuela. 198p.
39. Rivera G. 1987. Emulsiones asfálticas. Representaciones y servicios de ingeniero, S.A. 3<sup>era</sup> edición. México. 1-19p.

- 
40. Rodríguez, R., V. Castaño y M. Martínez. 2001. Emulsiones Asfálticas. Secretaría de Comunicaciones y Transportes. Instituto Mexicano de Transporte. Documento Técnico. 23-48 p.
41. Definición y propiedades de las emulsiones. Disponible: <http://www.textoscientificoscom/emulsiones/introducción>. Último día de consulta: 27/09/09.
- 42 . NORMA VENEZOLANA COVENIN. 1383. 1994. Emulsión Catiónica.
43. NORMA VENEZOLANA COVENIN. 1442. 1994. Emulsión Aniónica.
- 44 Pla, I; D. Lobo y A. Florentino. 1983. Uso de Emulsiones de asfalto para incrementar y regular la productividad de Maíz (*Zea mays* L.) y Sorgo (*Sorghum bicolor* L.) de dos inceptisoles de los Llanos Altos Occidentales. Revista de la Facultad de Agronomía. U.C.V. Maracay, estado Aragua. 34: 63-85 p.
45. Sánchez S. 1999. Efectos de los abonos orgánicos y las emulsiones asfálticas sobre la conservación de suelos y aguas en áreas montañosas. Trabajo Especial de Grado. Facultad de Agronomía. U.C.V. Maracay.
46. Fortún C. y A. Fortún 2005. Quantification of Soil Aggregates Treated with Bituminous Emulsion and other Organic Amendments by using Scanning electron Microscope. Ari Land Research and management. 19: 183-195 p.
47. Agüero L. 2008. Efecto Combinado de Emulsiones Asfálticas sobre las Propiedades Físicas y Químicas de un Suelo Ácido de Cargas Variables. Trabajo Especial de Grado. Escuela de Química. Facultad de Ciencias. U.C.V. Caracas. 132 p.
48. Colombo P. 2002. La Fitorremediación como Método Natural de Disminución de Hidrocarburos en Suelos de Santa Bárbara (Estado Monagas). Trabajo de Grado de Maestría. Área de Ingeniería. Universidad Católica Andrés Bello. Caracas. Venezuela.
49. COPLANARH. 1974. Inventario Nacional de Tierras. Región Centro Oriental. Publicación 35. Caracas.

- 
50. Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales Renovables (M.A.R.N.R.). 1983. Estudio preliminar de suelos Llanos Altos de Monagas, sector Tarragona, El Tejero, Santa Bárbara, Aguasay, estado Monagas. División de información e investigación del ambiente, zona 12. Serie de Información Técnica IT/173. Maturín, estado Monagas. Venezuela
51. FONDO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. 1990. Estudio Agroecológico del Campo Experimental Santa Bárbara, estado Monagas. Estación Experimental Monagas. Ministerio del Ambiente y los Recursos renovables. Zona 12. Maturín, estado Monagas. Venezuela.
52. *Brachiaria brizantha*. Disponible: <http://www.grupopapalota.com/html/productos/brizantha.htm> Último día de consulta: 14/10/2008.
53. Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C). 1990. Official Methods of Analysis. 15<sup>TH</sup> Edition. Determinación de humedad. Washington D.C.
54. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). 1999. Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo.
55. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA 9045 C). 1995. Método de medición de pH.
56. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1992. Standard Methods for Examination of water and wastewater (SMEWW 2520 A). Medición de conductividad eléctrica. Washintong D.C.
57. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA 3052) 1995. Método de determinación de capacidad de intercambio catiónico.
58. American Society For Testing and Materials (A.S.T.M 4500). 1988. Medición de cloruros.

- 
59. Instituto Argentino de Normalización y Certificación. 2007. Norma IRAM-SAGPyA 29571-1. Calidad Ambiental, Calidad del Suelo. Determinación de Materia Orgánica en Suelos.
60. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA 3540).1994. Método de extracción soxhlet para medición de aceites y grasas.
61. Norma AE-0207. 2001. Determinación de saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos (SARA) por cromatografía de capa fina acoplado a un detector de ionización a la llama (TLC/FID).
62. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA 3052). 1995. Método de medición de metales pesados y no pesados.
63. Gilbert de Brito, J. López de Rojas, I. Pérez de Roberti. 1990. Manual de Métodos y Procedimientos de Referencias, Análisis de Suelos para Diagnostico de Fertilidad. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Maracay, estado Aragua. Venezuela.
64. Casida, L. 1977. Microbial Metabolic Activity in Soil as Measured by Dehidrogenase Determination. Applied and Environmental Microbiology. 34: 630-636 p.
- 65 . Anderson J. y Domsch K. 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biology & Biochemistry 10: 215-221p.
66. Sobrero M. y Alicia R. 2004. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Libro en línea, disponible en: [http://www.idrc.ca/en/ev-84466-201-Do\\_TOPIC.html](http://www.idrc.ca/en/ev-84466-201-Do_TOPIC.html). Último día de consulta: 15/09/09.

- 
67. Guzmán J. 1996. Pastos y Forrajes. Producción y aprovechamiento. Espande. 3ª Edición. Caracas. Venezuela. 286-294p.
68. Edwards A. P. and J. M. Bremner. 1967. Microaggregates in soils Journal of Soil Science. 18: 64-73p.
69. Morales F. 2008. Efecto combinado de las emulsiones asfálticas catiónica y aniónica sobre la adsorción de fósforo en un suelo ácido de sabana. Trabajo Especial de Grado. Escuela de Química. Facultad de Ciencias. UCV. Caracas. Venezuela. 139p.
70. Pascual J., C. García, T. Hernández, J. Moreno y M. Ros. 2000. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. Soil Biology & Biochemistry . 32:1877-1883p.
71. Celis J.; M. Sandoval; E. Zagol y M. Briones. 2006. Efectos de la adición de biosólidos urbanos y de salmonicultura sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa L.*) en un suelo patagónico. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 6(3):13-25.
72. Hernández I. y Denise M. 2003. Uso de *Panicum maximum* y *Brachiaria brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano. Bioagro 15: 149-155p.
73. Peláez C. 1999. Gallinaza: materia prima en proceso de compostación. Revista avicultorres. Colombia. 53: 18-32p.
74. Tisdall J. and Oades J. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. Journal of Soil Science. 33:2. 141-163p.
75. Cunningham S., T. Anderson, A. Schwab y F. Hsu. 1996. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. Adv. Agron. 56: 55-114p.

- 
76. Cardenas C., Ismenia A., María M., Maucha M. y Maribel M. 2005. Biorremediación de suelos con consorción bacteriano, compostaje y fertilización. Centro de investigación del agua. Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia. Maracaibo, estado Lara. Venezuela. 14p.
77. Cardenas C., Ismenia A.; N. Angulo; L. Chávez; D. Vasquez; G. Morillo; L. Herrera y A. Trujillo. 2006. Biodegradación de ripios de perforación, utilizando cultivo mixto, estiércol y fertilización. Venezuela.
78. Martín C., Aldo G. y María B. 2004. Tratamientos biológicos de suelos contaminados: por hidrocarburos. Aplicaciones de hongos en tratamientos de biorrecuperación. Revista Iberoamericana. 21: 103-120p.