



---

---

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**UNIDAD DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**TRANSPORTE Y TRANSFORMACIÓN DE  
COMPUESTOS NITROGENADOS EN UN  
SUELO AGRÍCOLA DEL ESTADO DE  
YUCATÁN**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**I.C. BRENDA IVETTE RIVERA RUÍZ DE  
CHÁVEZ**

**EN OPCIÓN AL GRADO DE  
MAESTRA EN INGENIERÍA  
OPCIÓN AMBIENTAL**

**MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO**

**2018**

## **OFICIO DE IMPRESIÓN**

Aunque este trabajo hubiere servido para el Examen de Grado y hubiera sido aprobado por el sínodo, sólo el autor es responsable de las doctrinas emitidas en él.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios y el desarrollo de este trabajo de tesis.

A la unidad de Posgrado e Investigación de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Yucatán por todo el apoyo y las facilidades brindadas.

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la transformación y el transporte de compuestos nitrogenados en un suelo agrícola del Estado de Yucatán, se realizaron experimentos simulando tratamientos de fertirriego de dos cultivos típicos de la región: papaya maradol y chile habanero. Los experimentos se llevaron a cabo en cuatro columnas que contenían muestras inalteradas de un suelo agrícola del municipio de Santa Elena, Yucatán. Se realizó la caracterización fisicoquímica inicial y final del suelo y en cada fertirriego se analizaron los compuestos nitrogenados lixiviados: N-amoniaco, N-nitritos, N-nitratos y N-orgánico. Asimismo, con la finalidad de encontrar bacterias y hongos relacionados con los procesos del ciclo del nitrógeno, se llevó a cabo la extracción del metagenoma del suelo, secuenciación masiva, identificación y búsqueda en la enciclopedia de genes y genomas de Kyoto (KEGG).

En las columnas de suelo se identificaron varios procesos relacionados al ciclo de nitrógeno: reducción, nitrificación, desnitrificación, indicios de nitrificación, así como dos procesos de transporte: fijación y lixiviación. Se encontraron tres grupos principales de bacterias involucradas en estos procesos: bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias reductoras y bacterias desnitrificantes.

Los datos analizados mostraron que los compuestos nitrogenados utilizados como fertilizantes, en este tipo de suelo agrícola, pueden ser una de las fuentes de los nitratos que se detectan frecuentemente en los estudios de calidad de agua del acuífero del estado de Yucatán.

## **ABSTRACT**

With the objective of evaluating the transformation and transport of nitrogenous compounds in agricultural soil of the State of Yucatan, experiments were performed simulating fertigation treatments of two typical crops of the region, papaya maradol and habanero pepper. The experiments were carried out in four columns that contained undisturbed samples of agricultural soil of the municipality of Santa Elena, Yucatán. The initial and final physicochemical characterization of the soil was carried out, and in each fertigation the leached nitrogen compounds were analysed as: N-ammoniacal, N-nitrites, N-nitrates and N-organic. In addition, in order to find bacteria and fungi related to the processes of the nitrogen cycle, soil metagenome extraction, massive sequencing, identification and search in the Encyclopedia of Genes and Genomes of Kyoto (KEGG) were carried out.

In the soil columns several processes related to the nitrogen cycle were identified: reduction, nitrification, denitrification, signs of nitrification, as well as two transport processes: fixation and leaching. Three main groups of bacteria involved in these processes were found: nitrogen fixing bacteria, reducing bacteria and denitrifying bacteria.

The analyzed data showed that the nitrogen compounds used as fertilizers, in this type of agricultural soil, can be one of the sources of nitrates that are frequently detected in the water quality studies of the aquifer of the state of Yucatan.

# INDICE

1 INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVOS .....	3
2.1 Objetivo general .....	3
2.2 Objetivos específicos .....	3
3 MARCO TEÓRICO.....	4
3.1. Características del estado de Yucatán.....	4
3.1.1. Localización y límites de extensión .....	4
3.1.2 Orografía .....	4
3.1.3 Clima .....	5
3.1.4 Precipitación pluvial .....	5
3.1.5 Geomorfología .....	5
3.1.7 Tipo de suelo.....	6
3.1.8 Uso de suelo .....	7
3.2 Calidad del agua en el del acuífero de Yucatán.....	7
3.2.1 Vulnerabilidad a la contaminación del acuífero de Yucatán .....	8
3.3. El Nitrógeno en la naturaleza .....	9
3.3.1 El ciclo del Nitrógeno en el suelo .....	9
3.3.2 Contaminación del suelo por exceso de Nitrógeno .....	12
3.4 La agricultura en Yucatán .....	13
3.4.1 La agricultura intensiva y el uso de fertilizantes .....	13
3.4.2 Tipos de fertilizantes .....	14
3.4.3 Fertilizantes Nitrogenados.....	15

3.4.4 Métodos de aplicación de fertilizantes .....	16
3.4.5 Métodos de riego .....	16
3.5 Relación Suelo – Planta – Agua.....	17
3.5 Lisímetros y columnas de suelo .....	19
3.5.1 Estudio de arte: lisímetros y columnas de suelo .....	20
3.6 Metagenómica de los suelos.....	25
4 METODOLOGÍA.....	26
4.1 Extracción de muestras de suelo .....	26
4.2 Armado de las columnas de suelo .....	28
4.3 Caracterización fisicoquímica del suelo .....	29
4.4 Fase experimental: suministro de fertilizante y riego .....	31
4.4.1 Tratamiento 1: Simulación de fertirriego para la papaya maradol .....	31
4.4.2 Tratamiento 2: Simulación de fertirriego para chile habanero .....	32
4.5 Análisis químico del lixiviado.....	33
4.6 Análisis del meta genoma .....	34
5 RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	35
5.1 Extracción y armado de las columnas de suelo .....	35
5.2 Caracterización física del suelo.....	36
5.2.1 Granulometría del suelo .....	36
5.2.2 Límites de consistencia .....	37
5.3 Fase experimental: suministro de fertilizante y riego .....	39
5.3.1 Aporte de Nitrógeno durante el fertirriego del Tratamiento 1 .....	39
5.3.2 Aporte de Nitrógeno durante el fertirriego del Tratamiento 2 .....	39
5.4 Resultados generales de los lixiviados de ambos tratamientos .....	40



5.4.1 Análisis de los compuestos nitrogenados lixiviados.....	41
5.4.2 Compuestos nitrogenados del Tratamiento 1.....	42
5.4.3 Compuestos nitrogenados del Tratamiento 2.....	44
5.4.4 Resultados de la columna #1 .....	46
5.5 Caracterización química del suelo .....	50
5.6 Análisis del meta genoma .....	53
6. CONCLUSIONES.....	58
7. RECOMENDACIONES .....	59
8 REFERENCIAS.....	60
ANEXOS .....	69
ANEXO I Modificación a protocolo para la extracción de ADN de muestras de suelo agrícola con el método de lisis in situ y adsorción en sílice (Rojas-Herrera et. al., 2008).....	69
ANEXO II Tablas de resultados de los análisis a los lixiviados de los tratamientos 1 y 2.....	72
Tabla II.1 Resultados del tratamiento 1 para la columna #1 .....	72
Tabla II.2 Resultados del tratamiento 1 días para la columna #2.....	73
Tabla II.3 Resultados del tratamiento 1 para la columna #3 .....	74
Tabla II.4 Resultados del tratamiento 1 para la columna #4 .....	75
Tabla II.5 Resultados del tratamiento 2 para la columna #1 .....	76
Tabla II.6: Resultados del tratamiento 2 para la columna #2 .....	77
Tabla II.7: Resultados del tratamiento 2 para la columna #3 .....	78
Tabla II.8 Resultados del tratamiento 2 para la columna #4 .....	79
ANEXO III Tabla de bacterias presentes en las muestras de suelo.....	80

## LISTA DE TABLAS

- Tabla 3.1 Superficies sembradas y cosechadas, volumen y valor de la producción agrícola por tipo de cultivo en el año agrícola 2014 (INEGI, 2015).
- Tabla 3.2 Fracciones de los minerales del suelo y su tamaño (Holzman 2015).
- Tabla 4.1 Pruebas, métodos y normativas para la caracterización física del suelo.
- Tabla 4.2 Pruebas, métodos y normativas para la caracterización química del suelo.
- Tabla 4.3 Cantidad de fertirriego empleado para el Tratamiento 1 (SEDER-INIFAP (2002).
- Tabla 4.4 Cantidad de fertirriego empleado para el Tratamiento 2 (Avilés W, et. al. 2010).
- Tabla 4.5 Pruebas, métodos y normativas para los análisis químicos del lixiviado.
- Tabla 5.1 Análisis granulométrico del suelo.
- Tabla 5.2 Datos obtenidos en laboratorio para determinar limite líquido (LL) y limite plástico (LP).
- Tabla 5.3 Aporte de nitrógeno durante el fertirriego del tratamiento 1.
- Tabla 5.4 Aporte de nitrógeno durante el fertirriego del tratamiento 2.
- Tabla 5.5 pH, C.E. Turbiedad, DQO y %M.O. de los lixiviados col # 2, # 3 y # 4.
- Tabla 5.6 Análisis químicos iniciales y finales del suelo.
- Tabla 5.7 Porosidad total (Pt%) de las muestras de suelo.
- Tabla 5.8 Bacterias con mayor porcentaje de presencia en las muestras de suelo. C1= Columna 1 y MC= Muestra compuesta de columnas # 2, # 3 y # 4.

- Tabla 5.9 Organismos del reino fungi presentes en las muestras de suelo. C1= Columna #1 y MC= Muestra compuesta de columnas # 2, # 3 y # 4.
- Tabla II.1 Resultados del tratamiento 1 para la columna # 1. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1 D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1 D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1 D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1 D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.
- Tabla II.2 Resultados del tratamiento 1 para la columna # 2. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1 D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1 D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1 D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1 D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.
- Tabla II.3 Resultados del tratamiento 1 para la columna # 3. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1 D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1 D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1 D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1 D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.
- Tabla II.4 Resultados del tratamiento 1 para la columna # 4. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.
- Tabla II.5 Resultados del tratamiento 2 para la columna # 1. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2 D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2 D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2 D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2 D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.
- Tabla II.6 Resultados del tratamiento 2 para la columna # 2. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2 D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2 D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2

D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2 D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.

Tabla II.7 Resultados del tratamiento 2 para la columna # 3. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2 D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2 D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2 D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2 D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.

Tabla II.8 8 Resultados del tratamiento 2 para la columna # 4. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2 D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2 D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2 D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2 D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.

Tabla III.1 Bacterias presentes en las muestras de suelo. C1= Columna # 1. MC = Muestra compuesta de columnas # 2, # 3 y # 4.

Tabla IV.1. Hongos presentes en las muestras de suelo. C1= Columna # 1. MC = Muestra compuesta de columnas # 2, #3 y # 4.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Reacciones bioquímicas que regulan la distribución de compuestos nitrogenados en agua (Fuentes F. et al. 2002).

Figura 3.2 Relaciones entre el ciclo del nitrógeno y los compuestos orgánicos y minerales.

Figura 4.1 Diagrama de la metodología.

Figura 4.2 Extracción de muestras de suelo.

Figura 4.3 Esquema de las columnas.

Figura 4.4. Armado de las columnas de suelo.

Figura 5.1 Armado de las columnas de suelo.

- Figura 5.2 Gráfica de la granulometría del suelo.
- Figura 5.3 Representación del LL y el IP en la carta de plasticidad (ASTM International, n.d.).
- Figura 5.4 Gráficas de los promedios y desviaciones estándar de los compuestos nitrogenados analizados en el tratamiento 1. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1 D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1 D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1 D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1 D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.
- Figura 5.5 Gráficas de los promedios y desviaciones estándar de los compuestos nitrogenados analizados en el tratamiento 2. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2 D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2 D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2 D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2 D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.
- Figura 5.6 Comparativa de parámetros promedio de las columnas # 2, # 3 y # 4 con columna # 1 durante los tratamientos 1 y 2.
- Figura 5.7 Comparativa de los compuestos nitrogenados analizados en las columnas # 2, # 3 y # 4 (promedio) con los valores obtenidos de la columna # 1 durante el tratamiento 1. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1 D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1 D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1 D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1 D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.
- Figura 5.8 Comparativa de los compuestos nitrogenados analizados en las columnas # 2, # 3 y # 4 (promedio) con los valores obtenidos de la columna # 1 durante el tratamiento 2. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2 D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2 D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2 D2=

Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2 D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.

Figura 5.9 Procesos del ciclo de nitrógeno y bacterias asociadas a él presentes en las muestras de las columnas de suelo. C1= Columna #1 y MC= Muestra compuesta de columnas # 2, # 3 y # 4.

# 1. INTRODUCCIÓN

El acuífero de Yucatán es de suma importancia, ya que representa la única fuente de suministro de agua para todas las actividades humanas del estado. Sin embargo, debido a su geología kárstica, al nivel de aguas freáticas relativamente superficial, a su nula topografía, a las delgadas capas de suelo y a la presencia de roca fracturada, el acuífero de Yucatán presenta una alta vulnerabilidad a la contaminación antropogénica (González-Herrera et al. 2014).

Los nitratos en diversas concentraciones se encuentran entre los contaminantes más frecuentemente detectados en los estudios de calidad de agua del acuífero del estado de Yucatán (Pérez-Ceballos y Pacheco-Avila, 2004). El origen incluye las malas prácticas agrícolas, tales como el uso inadecuado de fertilizantes en los cultivos y la descarga de aguas residuales sin tratamiento (Miguel-Fernández y Vázquez-Taset, 2006). El agua de riego y el agua de lluvia transportan estos contaminantes mediante procesos de escorrentía, lixiviación y filtración, contaminando el agua subterránea (Pérez 2012).

El problema ambiental más importante relativo a la acumulación de nitratos en el subsuelo y aguas subterráneas o superficiales es que pueden originar la eutrofización del medio acuático causando una disminución de la capacidad auto depuradora del medio y una merma de los organismos acuáticos (Martínez-Gaspar et al. 2011). En el humano, los nitratos al ser consumidos pueden transformarse en nitritos y pasar rápidamente a la sangre y fijarse a la hemoglobina, impidiendo la oxigenación de los tejidos causando la metahemoglobina o enfermedad de los niños azules, la cual afecta principalmente a los bebés. Asimismo, en un porcentaje elevado, hay indicios de que los nitritos pueden llegar a ser cancerígenos (Rojas et al. 2015).

La presencia de compuestos nitrogenados en las aguas subterráneas está íntimamente relacionada con los procesos que se desarrollan en el ciclo del nitrógeno. Debido a esto, es de suma importancia conocer la transformación de

estos compuestos en el suelo así como su transporte hacia el manto acuífero para evitar su posible contaminación (González-Herrera et al. 2014).

En esta investigación, se evaluó el transporte y la transformación de compuestos nitrogenados procedentes de fertilizantes comerciales comúnmente usados en dos de los cultivos más representativos del estado de Yucatán, el chile habanero y la papaya maradol. Para este propósito, se extrajeron muestras inalteradas de suelo del Campo Experimental Uxmal, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), en el municipio de Santa Elena, Yucatán, para conformar columnas de suelo buscando reproducir los tratamientos de riego y fertilización que se tienen en el campo, analizando la presencia de estos compuestos en el agua lixiviada como en el suelo.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

Evaluar el transporte y la transformación de compuestos nitrogenados en un suelo agrícola del Estado de Yucatán mediante la implementación de columnas de suelo.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Analizar el proceso de fertirriego y lixiviación de compuestos nitrogenados en las columnas de suelo.
- Realizar una comparativa inicial y final de los procesos fisicoquímicos ocurridos en el suelo agrícola derivados del proceso de fertirriego en las columnas de suelo.
- Determinar la diversidad microbiana relacionada con la transformación de compuestos nitrogenados presentes en el suelo agrícola de las columnas de suelo.

## **3. MARCO TEÓRICO**

### **3.1. Características del estado de Yucatán**

#### **3.1.1. Localización y límites de extensión**

El estado de Yucatán, está ubicado en el extremo este del país y ocupa la porción centro-norte de la Península de Yucatán. Se encuentra entre los paralelos 19°31'46" y 21°37'21" de latitud norte y entre los meridianos 87°22'08" y 90°24'22" de longitud oeste del meridiano de Greenwich, tiene una extensión superficial aproximada de 43 577 km<sup>2</sup> que lo ubica en el vigésimo lugar nacional, esta área representa aproximadamente 2.01 % de la República Mexicana, y 27.88 % del territorio peninsular (INEGI 2002).

El estado de Yucatán limita al norte y noreste con el Golfo de México, con el que forma un largo y angosto litoral arenoso de 342 km aproximadamente; hacia el este y sureste colinda con el estado de Quintana Roo y hacia el suroeste y oeste con el estado de Campeche (INEGI 2002).

Específicamente, este trabajo se centra en un suelo agrícola tomado dentro del Campo Experimental Uxmal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) ubicado en el sur del estado de Yucatán, sobre la carretera antigua Mérida – Campeche km 75, en el municipio de Santa Elena, el cual se encuentra entre los paralelos 20°06' y 20°23' de latitud norte; los meridianos 89°34' y 89°53' de longitud oeste; altitud entre 100 y 200 m. Dicho municipio ocupa el 1.36 % de la superficie del estado (INEGI, 2009).

#### **3.1.2. Orografía**

En la Península de Yucatán no se tienen montañas ni grandes elevaciones de terreno. Su principal rasgo fisiográfico es la Sierrita de Ticul, con una extensión de 110 km y una elevación de 250 metros sobre el nivel del mar (CCPY 2012).

### **3.1.3. Clima**

Existen tres subtipos climáticos en el estado de Yucatán: el subtipo climático Aw2, Aw1 y Aw0 (INEGI 2002). Los tres subtipos anteriores presentan una temperatura media anual de 26.1 °C, con una variación de la media mensual, entre el mes más frío y el más caliente entre 5 y 7 °C, es decir, de poca oscilación térmica (isotermal) (INEGI 2002).

### **3.1.4. Precipitación pluvial**

La precipitación media en la región Península de Yucatán, se estima en 1157 mm anuales; y de acuerdo con los registros de lluvias puntuales varía desde los 458 mm en la costa norte de Yucatán, a 1615 mm en la cuenca del río Chumpán, en el sur de Campeche (CCPY 2012).

### **3.1.5. Geomorfología**

De acuerdo a Beddows et al. (2007), el tercio norte y parte del este de la Península de Yucatán están formados por karst (paisaje propio de terrenos calizos, por el efecto de disolución que el agua tiene sobre ellos), con elevación máxima de 10 m, compuesto por secuencias de capas horizontales de calizas y dolomitas del Terciario Tardío (Plioceno) limitado por los depósitos periféricos del Cuaternario, los cuales están restringidos a una franja periférica angosta a lo largo del litoral. A lo largo de la costa norte estos depósitos constan de calizas compuestas por conchas de bivalvos, compactadas densamente. En la costa noreste los depósitos del Cuaternario son del Pleistoceno y su extensión y topografía se interpretan como carbonatos formados por encima del nivel de las mareas que reflejan los movimientos de la línea de costa, lo cual es consistente con la formación de cavidades extensas de la disolución subterránea asociada a la haloclina (capas de agua en donde la salinidad del agua cambia rápidamente con la profundidad) y su profundidad en relación con el nivel del mar en esa época.

La topografía de la Península presenta como rasgo más importante los cenotes, los cuales se concentran en la parte norte, a lo largo de una línea imaginaria

situada entre Tulum, Quintana Roo y Campeche, y disminuyen hacia el sur de la Península. La roca kárstica provoca a que el agua de origen meteórico se infiltre y acumule en el subsuelo, formando una lente de agua dulce delgada que flota sobre una masa de agua salina, más densa, cuyo origen es la intrusión marina natural. El contacto entre ambas masas de agua, dulce y marina, forma una zona de mezcla, donde la disolución es mayor. En contraste, la zona de Mérida y la costa norte no presentan un desarrollo tan extenso de flujos subterráneos, aunque tiene el mayor número de cenotes de la Península, en lo que se ha denominado el anillo de cenotes, el cual coincide con el diámetro externo del cráter Chicxulub.

### **3.1.7. Tipo de suelo**

En México existen 26 de los 32 grupos de suelos conocidos por el Sistema Internacional Base Referencial Mundial del Recurso del Suelo (SEMARNAT 2012); en Yucatán, cinco de ellos son los predominantes: leptosol 58.85 %, luvisol 14.45 %, phaeozem 9.69 %, cambisol 8.02 %, nitisol 1.48 % (INEGI 2015). En el municipio de Santa Elena, los suelos dominantes son el leptosol (56.37 %), el nitisol (41.06 %) y el luvisol (2.24 %) (INEGI 2009).

El Servicio Geológico Mexicano, en la carta geológica Minera Mérida F16-10 (SGM, 2006), indica que en el Municipio de Santa Elena predomina la caliza marga (leptosol), suelo que tiene como característica el estar compuesto por rocas calcáreas con láminas de suelos color rojo claro.

El término leptosol viene del griego “leptos” que significa delgado. Se trata de un suelo natural con minerales y limitado por una roca continua a menos de 25 cm de superficie (SEMARNAT, 2012). Los leptosoles son suelos someros de escasa profundidad, escasa cantidad de tierra fina y gran cantidad de piedras o afloramientos de roca (Durán y Mendez 2010). Se asocia a este tipo de suelos una escasa capacidad de retención de agua. Se llegan a observar algunas zonas de más de 60 cm debido a acarreos hídricos y eólicos en las zonas de inundación. Estos suelos presentan pH neutro en las capas superficiales pero al profundizar aumenta la alcalinidad. El nitrógeno total no es alto y posee una buena capacidad de intercambio catiónico. El contenido de materia orgánica es bajo (SEMARNAT

2012). El nombre maya para este tipo de suelos es Hay lu'um, que significa "poco suelo o tierra delgada" (Bautista et al. 2012).

### **3.1.8 Uso de suelo**

En el uso de suelo de Yucatán predominan las actividades agrícolas, pecuarias y apícolas (INEGI 2015). El municipio de Santa Elena cuenta con 4 localidades y tiene una población total de 3 617 habitantes. Su principal uso de suelo es para la agricultura (1.9 %) y cuenta con 0.34 % de zona urbana. La mayor parte del municipio es considerado como selva (INEGI 2009).

## **3.2 Calidad del agua en el del acuífero de Yucatán**

La disponibilidad natural media total del agua en Yucatán es mayor que la extracción total bruta de agua en el estado, ya que solo se explota el 7.98 % del agua disponible, sin embargo su calidad es cuestionable ya que también es receptora del agua de desecho que se genera en el estado (González-Camero 2012).

El principal problema sobre este recurso es el incremento en la contaminación debido a los agentes externos, tales como las aguas residuales, agroquímicos, efluentes industriales y materia orgánica. Así mismo, el acuífero es susceptible a degradación por la intrusión salina en la franja costera del estado (INEGI 2002), ya que presenta una elevada permeabilidad, un gradiente hidráulico (diferencia de altura entre el nivel del manto freático y el agua subterránea) muy bajo y el nivel freático se encuentra ligeramente por arriba del marino (Alcocer et. al 1999).

Según Alcocer et al. (1999), entre los principales problemas de contaminación de agua subterránea detectados en Yucatán se encuentran:

- Contaminación por sólidos disueltos.
- Contaminación por patógenos.
- Contaminación por plaguicidas.
- Contaminación por nitratos (eutrofización).

### **3.2.1. Vulnerabilidad a la contaminación del acuífero de Yucatán**

Una propiedad importante de los acuíferos es la vulnerabilidad de los sistemas de agua subterránea, la cual depende de la sensibilidad de éstos a impactos humanos y naturales. Entre los principales factores naturales, sobresalen los factores hidrológicos, los cuales determinan la inaccesibilidad de la zona saturada a los contaminantes, la capacidad de atenuación de la misma y los estratos por encima de ella. Las propiedades del medio varían de un punto a otro, lo que hace variable el potencial de un acuífero para protegerse, razón por la que algunas áreas son más vulnerables que otras (Pérez-Ceballos y Pacheco-Avila 2004).

Vrba y Zaporozec (1994) definen la vulnerabilidad como “una propiedad intrínseca del sistema de agua subterránea que depende de la sensibilidad del mismo a los impactos humanos y/o naturales”. Foster e Hirata (1991), mencionan que la “vulnerabilidad del acuífero a la contaminación, representa su sensibilidad para ser adversamente afectado por una carga contaminante impuesta”. Custodio (1995) señala que “la vulnerabilidad a la polución expresa la incapacidad del sistema para absorber las alteraciones, tanto naturales como artificiales”. Carbonell (1993) define la vulnerabilidad a la contaminación, como la tendencia de los contaminantes a localizarse en el sistema de agua subterránea, luego de ser introducidos por encima del acuífero más somero.

Se distinguen dos tipos de vulnerabilidad del agua subterránea: por un lado, la vulnerabilidad intrínseca es aquella derivada de las características propias del acuífero y su entorno, sin considerar la acción de los contaminantes. Por otro lado, cuando además de las características físicas e hidrológicas del medio, se toma en cuenta la incidencia de sustancias contaminantes, la vulnerabilidad se denomina vulnerabilidad específica (Auge 2005).

Las variables más empleadas para la calificación de la vulnerabilidad son: profundidad de la superficie freática, características litológicas e hidráulicas de la zona subsaturada, espesor y tipo de suelo, magnitud de la recarga, litología y tipo de acuífero (Auge 2005).

Existen diferentes metodologías para la cualificación y mapeo de la vulnerabilidad del agua subterránea. Según Torres et al. (2014) entre las más empleadas se encuentran: DRASTIC, empírico desarrollado para la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, (EPA, por sus siglas en inglés), GOD, SINTACS y el método EPIK. La interacción entre la vulnerabilidad y la carga contaminante (peligro) determinan el riesgo de contaminación al agua subterránea, el cual está asociado a las medidas preventivas que se pudieran proponer (Auge 2004).

### **3.3. El nitrógeno en la naturaleza**

En ecosistemas naturales, el contenido de nitrógeno en el suelo se acerca a un valor de equilibrio, pero cualquier cambio en el ambiente, como variaciones de humedad, temperatura, pH, etc., puede hacer que se presente un desequilibrio en él. Cerca de un 99 % del nitrógeno presente en el suelo natural se encuentra contenido en la materia orgánica. Esto es debido a que la materia orgánica actúa bloqueando el nitrógeno dando lugar a formas nitrogenadas estables (Peña y Quijano 2010).

El nitrógeno es un elemento imprescindible en la producción agrícola, desempeña funciones esenciales como componente de la clorofila y de las moléculas proteicas. En la naturaleza, se encuentra en distintos estados químicos que se transforman en su tránsito por el sistema suelo-planta, a lo cual se le conoce como ciclo del nitrógeno (Sánchez 2016).

#### **3.3.1. El ciclo del nitrógeno en el suelo (Sánchez 2016)**

Las entradas de nitrógeno al suelo están constituidas principalmente por los aportes de fertilizantes orgánicos e inorgánicos, aportes en el agua de lluvia y riego, así como por la fijación biológica del  $N_2$  y la deposición húmeda. Por otra parte, las salidas de nitrógeno del suelo vienen determinadas de la extracción por las plantas, la volatilización, la desnitrificación, la lixiviación y la escorrentía. El ciclo se completa con una serie de transformaciones en el suelo como la mineralización del nitrógeno orgánico ( $N_2$ ,  $N_2O$ ), la nitrificación del amonio y la inmovilización.

Una de las transformaciones que sufre el nitrógeno dentro del ciclo es la mineralización, que es el paso de nitrógeno orgánico a nitrógeno mineral como ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). Este proceso se lleva a cabo mediante la acción de los microorganismos en el suelo y depende de factores tales como: la calidad del sustrato orgánico, humedad, temperatura del suelo y la propia actividad biológica del suelo.

Otra transformación es la nitrificación, la cual es el proceso por el cual el ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) es oxidado primero a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) por bacterias aerobias del género *Nitrosomonas* y posteriormente a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) por las del género *Nitrobacter*. El nitrógeno en su forma nítrica no es retenido en la matriz del suelo debido a su carga negativa y prácticamente no sufre transformaciones químicas ni biológicas. Una vez que se ha llegado a la forma nítrica, se ha cerrado el ciclo principal, ya que es en este estado en el que es aprovechable mayoritariamente por la planta.

En ciertas condiciones el nitrógeno mineral vuelve a transformarse en orgánico, siguiendo un proceso inverso al de la nitrificación, proceso denominado inmovilización. Mediante este proceso, numerosos microorganismos que utilizan el nitrógeno mineral del suelo para la síntesis de sus propias proteínas compiten directamente con las plantas cultivadas. Se trata de una inmovilización temporal que se produce especialmente durante el proceso de descomposición y que limita el posible lavado del nitrato.

La extracción de nitrógeno por las plantas constituye una de las salidas más importantes del nitrógeno en los suelos agrícolas y depende de las necesidades de la planta que extrae el nitrógeno del suelo por medio de sus raíces y de la disponibilidad de nitrógeno en el suelo.

La desnitrificación es la conversión del nitrato y nitrito a formas gaseosas como  $\text{N}_2$  o  $\text{N}_2\text{O}$ , que pasan a la atmósfera. Este proceso se da en condiciones de elevada humedad en el suelo, ya que la escasez de oxígeno obliga a ciertos microorganismos a emplear el nitrato y el nitrito como sustrato respiratorio y fuente de oxígeno.



La volatilización es la emisión de amoníaco gaseoso desde el suelo a la atmósfera debido al desplazamiento que se produce en el equilibrio existente entre el amonio y el amoníaco en la solución de suelo, ocurre en condiciones de pH alcalino. La escorrentía se refiere a las pérdidas de nitrógeno que se producen con el flujo superficial de agua originado como consecuencia del riego o una lluvia intensa y la lixiviación al transporte de nitrógeno, en forma de nitrato, hacia capas más profundas del suelo.

El reciclaje del nitrógeno depende entonces de las transformaciones químicas de compuestos nitrogenados más disponibles, a través de reacciones de óxido – reducción, como se observa en la figura 3.1 (Fuentes y Massol-Deya 2002). El conjunto de esas transformaciones integran el ciclo biogeoquímico de nitrógeno. La figura 3.2 muestra las relaciones entre el ciclo del nitrógeno y los compuestos orgánicos y minerales.

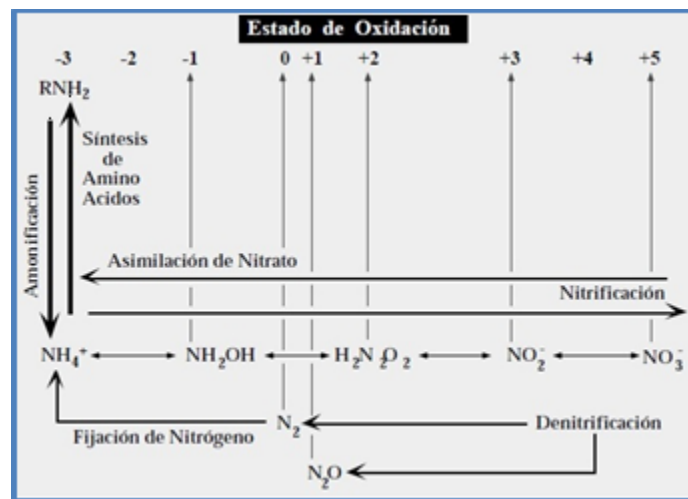


Figura 3.1 Reacciones bioquímicas que regulan la distribución de compuestos nitrogenados en agua (Fuentes et al. 2002).

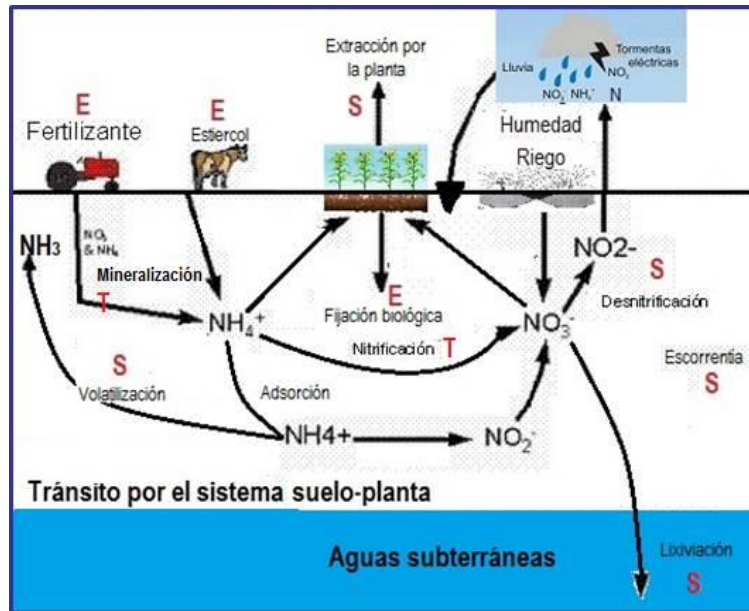


Figura 3.2 Relaciones entre el ciclo del nitrógeno y los compuestos orgánicos y minerales

### 3.3.2. Contaminación del suelo por exceso de nitrógeno

La contaminación por exceso de nitrógeno se origina cuando se utiliza más fertilizante del que puede absorber el cultivo, o cuando se transporta con el agua o viento antes de ser absorbido. Del nitrógeno aplicado a muchos cultivos, solamente entre 10-50 % suele ser absorbido por las plantas, mientras que cerca de 50-90 % restante se puede lixiviar, generar escorrentía o perderse en forma gaseosa (Jara 2012).

En suelos de libre drenaje, la lixiviación de nitrato tiene que ser estimada ya sea mediante la extracción de una columna de suelo y la imposición de una condición artificial como límite inferior en el suelo, o por muestreo secuencial de la mayor parte del suelo o de la solución del suelo. En la aplicación de las prácticas agrícolas actuales, por lo general no se preocupan mucho por las cantidades de nitrógeno liberados en el suelo. Un cuidadoso ajuste de la cantidad de fertilizante utilizado que asegure que el suministro total no exceda las necesidades de los cultivos, podría provocar una reducción significativa en la lixiviación de los nitratos procedentes de la agricultura (Vinten y Smith 1993).

### **3.4. La agricultura en Yucatán**

En general, la historia de la agricultura está relacionada con la historia del desarrollo de la civilización y los avances en la productividad de los sistemas agrícolas que han contribuido a mejorar la calidad de vida de gran parte de la población. Existe toda una gama de tipos de agricultura que van desde sistemas de subsistencia, en donde el agricultor cultiva una parcela pequeña con recursos e insumos limitados y produce para su consumo y el de su familia; hasta sistemas intensivos de agricultura comercial, en donde están involucradas grandes extensiones de tierra y/o animales, altos niveles de insumos (agroquímicos), un alto grado de mecanización y su objetivo es comercial. Por la dominancia en Yucatán de suelos pedregosos y de poca profundidad, el proceso de intensificación y aumento del valor de la producción agrícola ha sido lento; sin embargo, en años recientes se ha incrementado la producción de alimentos de calidad (Eastmond y García 2010).

La superficie total cultivada en Yucatán es de 741,756 Ha. En la Tabla 3.1 se muestran las superficies sembradas y cosechadas, volumen y valor de la producción agrícola por tipo de cultivo y principales cultivos en el año agrícola 2014 (INEGI 2015).

#### **3.4.1. La agricultura intensiva y el uso de fertilizantes**

La agricultura intensiva es el sistema de producción agrícola donde se hace uso intensivo de los medios de producción (manos de obra, insumos o capitalización); y donde se producen grandes cantidades en reducidos espacios, de un solo tipo de producto; al ponerla en práctica, se necesita nutrir de manera artificial los suelos; para lo cual se hace uso de los fertilizantes. Un fertilizante se define como “cualquier material que contenga uno o varios de los nutrientes esenciales que se añaden al suelo o que se aplican sobre el follaje de las plantas con el propósito de complementar el suministro de nutrientes de las plantas” (CFA 1995).

Tabla 3.1. Superficies sembradas y cosechadas, volumen y valor de la producción agrícola por tipo de cultivo en el año agrícola 2014 (INEGI 2015)

Tipo de cultivo	Superficie sembrada (Ha)	Superficie cosechada (Ha)	Volumen (T)	Valor (miles de pesos)
<b>Total</b>	<b>756 275</b>	<b>741 756</b>	<b>NA</b>	<b>3598981</b>
<b>Cultivos cíclicos</b>	<b>142 114</b>	<b>130 746</b>	<b>NA</b>	<b>985104</b>
Maíz grano	131 714	120 859	105 724	396 139
Pepino	816	816	39 497	305 537
Calabacita	730	727	13 134	75 021
Chile verde	572	568	3 789	57 094
Berenjena	100	100	5 091	33 042
Sandia	415	406	9 331	26 690
Soya	2 336	2 089	3 637	20 491
Jitomate	169	160	2 199	13 570
Camote	70	70	2 133	11 392
Hortalizas	199	196	1 744	7 600
Resto de los cultivos cíclicos	4 992	4 754	NA	38 468
<b>Cultivos perennes</b>	<b>614 161 a/</b>	<b>611 010 b/</b>	<b>NA</b>	<b>2 613 878</b>
Pastos	582 792	582 723	5 062 296	1 915 663
Naranja	12 306	12 051	151 548	241 985
Limón	5 183	4 954	90 314	148 856
Papaya	409	364	20 057	69 209
Aguacate	462	430	10 980	58 423
Resto de los cultivos perennes	13 009	10 488	NA	179 741

Nota: Desde el punto de vista estadístico, el año agrícola es el periodo de 18 meses que resulta de la adición de las siembras y cosechas que se realizan en los ciclos agrícolas otoño/invierno y primavera/verano, y de las cosechas de productos de cultivo perennes. Comprende octubre – diciembre de un año más el siguiente completo y los meses enero – marzo del año subsecuente. Debido al redondeo de las cifras, la suma de los parciales puede o no coincidir con los totales.

a) Se refiere a superficie plantada que comprende a la superficie plantada en el año agrícola de referencia, la plantada en desarrollo y la plantada en producción.

b) Se refiere únicamente a la superficie plantada en producción.

Fuente: SAGARPA. Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera [www.slap.gob.mx](http://www.slap.gob.mx) (9 de julio de 2015)

### 3.4.2. Tipos de fertilizantes

Con base en el contenido de nutrientes, los fertilizantes pueden contener un solo nutriente o ser considerados como multinutrientes. Los primeros se denominan fertilizantes o materiales simples. Los fertilizantes multinutrientes se conocen como fertilizantes mixtos o complejos. Los fertilizantes multinutrientes internacionalmente reciben una designación numérica que consta de tres números, los cuales representan respectivamente el contenido de nitrógeno (N), fósforo ( $P_2O_5$ ) y potasa ( $K_2O$ ) del fertilizante en términos de su porcentaje en peso. Esta designación de tres números se denomina grado (CFA 1995).

### 3.4.3. Fertilizantes nitrogenados

Los principales tipos de agricultura intensiva en la actualidad dependen en gran medida de las entradas de nitrógeno, a través de los fertilizantes minerales, abonos animales o N-fijación biológica por las leguminosas; para mantener su productividad (Vinten y Smith 1993). El nitrógeno puede ser empleado en forma de amoníaco anhidro, agua amoniacal, nitrato de amonio, sulfato de amonio, sulfo – nitrato de amonio, nitrato de calcio, nitrato de sodio o urea; principalmente. Sin importar la forma de nitrógeno que se aplica al suelo, esencialmente toda la cantidad de este elemento se convierte por último en la forma de nitrato. Los principales fertilizantes nitrogenados que existen actualmente en el mercado internacional de acuerdo con la CFA (1995) son:

- Amoníaco anhidro (82-0-0)
- Agua amoniacal (20-0-0)
- Nitrato de amonio (34-0-0)
- Sulfato de amonio (21-0-0-24S)
- Sulfo-nitrato de amonio (30-0-0-6.5S)
- Nitrato de calcio (15.5-0-0-19Ca)
- Nitrato de sodio (16-0-0)
- Urea (46-0-0)
- Nitrofosfatos

La aplicación excesiva de nitrógeno puede producir mayor competencia de malas hierbas y ataques de plagas, generando con ello pérdidas sustanciales; agotamiento de los suelos de los demás nutrientes, principalmente fósforo y potasio, modificar el pH del suelo, ser la causa principal de contaminación por nitratos de las aguas subterráneas y dificultar el tratamiento del agua. Una fertilización excesiva de nitrógeno no solo es contraria a las buenas prácticas agrícolas, sino también una pérdida de trabajo y capital, daña el ambiente y no es sostenible (Jara 2012).

#### **3.4.4. Métodos de aplicación de fertilizantes**

Los métodos de aplicación de fertilizante están directamente relacionados con el uso que da la planta a los nutrientes y los cambios que sufren éstos en el suelo. Según la CFA (1995) se tienen los siguientes métodos: aplicación superficial, que consiste en distribuir uniformemente materiales secos o líquidos sobre el suelo y puede llevarse a cabo por medio del esparcidor de chorro continuo, esparcidor rotatorio y el esparcidor de fertilizantes líquidos; aplicación subterránea, que puede realizarse por medio de inyección y se refiere a colocar los fertilizantes bajo la superficie del suelo o por medio de aplicación en banda; aplicación en el agua de riego, la cual requiere el uso de aspersor, rociador y sistemas de tubería de goteo y de pared doble y la aplicación foliar, que se refiere a la aplicación del fertilizante directamente sobre el follaje.

#### **3.4.5. Métodos de riego**

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) (2002), básicamente hay cinco métodos principales de riego:

- Riego de superficie, que cubre toda la superficie cultivada o casi toda (considerado como riego convencional).
- Riego por aspersión, que imita a la lluvia (considerado como riego convencional).
- Riego por goteo, que aplica el agua gota a gota solamente sobre el suelo que afecta a la zona radicular.
- Riego subterráneo de la zona radicular, mediante contenedores porosos o tubos instalados en el suelo.
- Subrrigación, se da cuando el nivel freático se eleva suficientemente para humedecer la zona radicular.

El riego por goteo y el riego subterráneo son riegos localizados, es decir, en ellos se aplica el agua solamente donde es necesaria siendo las pérdidas pequeñas. Ambas tecnologías se basan en la aplicación frecuente de pequeñas cantidades

de agua directamente a las raíces de los cultivos. Además estas tecnologías incrementan los rendimientos de los cultivos y reducen la salinización de los suelos. De igual forma, como estos dos sistemas evitan el contacto del agua con las hojas, pueden usarse aguas salobres para regar cultivos moderadamente tolerantes a la salinidad (FAO 2002).

Según Medina (1993) la ventaja principal del riego por goteo es que el nivel de humedad que se mantiene en el suelo es inferior a la capacidad de campo, lo cual es muy difícil de conseguir con otros sistemas de riego; por lo mismo, prevalece un importante ahorro de agua, mano de obra, abonos y productos fitosanitarios; además, existe la posibilidad de regar cualquier tipo de terreno, sin importar la pendiente, el espesor o la calidad del suelo, lo cual aumenta la producción y calidad de los frutos, como consecuencia de tener la planta satisfecha en sus necesidades en agua y nutrientes.

### **3.5. Relación suelo–planta–agua**

La FAO, en su portal web de suelos, (FAO 2017) define al suelo como “el medio natural para el crecimiento de las plantas”. Está compuesto por agua, aire, material inorgánico y materia orgánica; es el principal sustrato para producir alimentos.

Aproximadamente, los suelos contienen un 25 % de agua, un 25 % de aire, hasta un 5 % de materia orgánica y el restante 45 % son minerales con distintas características. Las partículas sólidas del suelo, dejan espacios (porosidad) que son ocupados por agua y aire en forma variable en el tiempo (Holzman 2015).

Estos sólidos (minerales) se distinguen y clasifican por sus tamaños (Tabla 3.2). La combinación de proporciones de arena, limo y arcilla se denomina “textura” (Holzman 2015).

Cuánto más pequeña es la partícula menor es el tamaño de poro que deja entre ellas, aunque mayor es el espacio poroso total (Holzman 2015).

Tabla 3.2 Fracciones de los minerales del suelo y su tamaño (Holzman, 2015).

Fracción	Tamaño	Diámetro (mm)
<b>Arena</b>	Grande	2.00 – 0.005
<b>Limo</b>	Mediano	0.05 – 0.002
<b>Arcilla</b>	Pequeño	< 0.002

Un aspecto importante a considerar, es el pH del suelo, el cual es una de las propiedades químicas más relevantes ya que controla la movilidad de iones, la precipitación y disolución de materiales, las reacciones óxido-reducción, el intercambio iónico, la actividad microbiana y la disponibilidad de nutrientes. La aplicación frecuente de fertilizantes también contribuye a la disminución del pH del suelo (Sainz et al. 2011).

Cuando se realiza un riego, se producen tres situaciones a lo largo del tiempo, en cuanto al contenido de agua en el suelo y su disponibilidad para la planta (Holzman 2015):

1. Saturación: En un primer momento se ocupan todos los poros con agua. Se expulsa todo el aire de los poros y la planta no puede respirar, no puede obtener energía y no puede absorber. Tanto el agua como los nutrientes en ella disueltos se pierden en profundidad
2. Capacidad de retención de campo: Una vez que se escurre el agua “sobrante”, comienzan a aparecer los poros con aire, momento en el cual se dan las condiciones de contenido de agua y aire que hacen posible el aprovechamiento del agua y nutrientes disueltos
3. Punto de marchitez permanente: Es la tercera condición de humedad del suelo en la cual, el agua que queda, es fuertemente retenida por el suelo, tanto que la raíz no puede vencer esa fuerza

De igual forma, es importante hacer mención del ascenso capilar, que es la propiedad del agua que le permite “trepar” las paredes de los sólidos y ascender en altura. Los suelos arcillosos, al dejar poros menores, sufren un mayor ascenso que aquellos suelos que poseen más arenas. Este es un proceso que se asocia al ascenso de la capa freática. Este proceso genera un problema, dado que en la capa freática hay disuelta una cantidad de sales, las cuales suben con el agua y al



producirse la evaporación del líquido, se acumulan en superficie, aumentando la conductividad eléctrica del suelo y las posibilidades de afectar al cultivo, ya que las sales son capaces de retener agua con más fuerzas que las mismas raíces (Holzman 2015).

Otro elemento sólido del suelo es la materia orgánica. Está compuesta principalmente por organismos vivos (biomasa), tejidos muertos aún identificables (animales y vegetales) y materiales ya transformados (humus). Su contribución es vital para la calidad y salud del suelo y los cultivos (Holzman 2015).

Como parte de la biomasa, la actividad microbiana es importante para mantener la fertilidad del suelo y en la nutrición de las plantas. Los microorganismos del suelo conducen la biodegradación de la materia orgánica y constituyen un importante reservorio de carbono, nitrógeno y fósforo. El interés agronómico en la actividad microbiana se debe a su potencial para reciclar los nutrientes, mejorar la nutrición de las plantas y disminuir o sustituir la aplicación de fertilizantes de origen industrial. La actividad microbiana es regulada por las características físicas y químicas del suelo, por la composición de los materiales orgánicos y por la naturaleza de la comunidad microbiana (Álvarez 2004).

Los nutrientes se encuentran formando parte de la materia orgánica y las arcillas. Es gracias al agua que éstos quedan disueltos y disponibles, transformándose en la “solución del suelo” (Holzman 2015).

### **3.6. Lisímetros y columnas de suelo**

El término lisímetro deriva de las palabras griegas “lysis” (disolver) y “metron” (medir). Este vocablo se puede aplicar a todo dispositivo utilizado para determinar la velocidad, cantidad y composición del agua que percola en un medio poroso (Santa-Olalla-Mañas 2005).

Según los autores McIlroy y Angus (1963) un lisímetro es “un bloque de suelo, con vegetación o sin ella, encerrado en un recipiente adecuado y expuesto a las condiciones naturales de campo, que permite la determinación de uno de los términos de la ecuación del ciclo hidrológico cuando otros términos son

conocidos”. Tannen (1967) define un lisímetro como “un dispositivo en el cual un volumen de suelo que puede estar cubierto de vegetación, es colocado en un recipiente para aislarlo del resto del suelo con el propósito de evaluar o controlar varios términos de la ecuación del balance de agua” (Santa-Olalla-Mañas 2005).

Los lisímetros ofrecen una buena manera de llevar a cabo experimentos controlados en virtud de las condiciones de campo. La lixiviación de los nitratos de muchos tipos de suelos se puede comparar simultáneamente en tales pruebas (Jemison y Fox 1994).

Los lisímetros proporcionan una excelente información hidrológica, ya que a menudo contienen los perfiles del suelo y no son caros de construir. Proporcionan mediciones de concentración de  $\text{NO}_3^-$  en la matriz del suelo y, por lo tanto, pueden proporcionar una de las mejores formas de evaluar las pérdidas de  $\text{NO}_3^-$  por lixiviación, brindando información específica del sitio, estimaciones de pérdida de masa (con estimaciones de eficiencia de recolección) y las concentraciones de lixiviado que muy probablemente reflejan la mayor parte de la lixiviación con agua (Jemison y Fox 1994).

Algunos autores consideran a los lisímetros monolitos (lisímetros conformados por un único bloque de suelo) como término equivalente a las columnas de suelo, esto porque ambos son bloques de suelo encerrados en recipientes adecuados y expuestos a condiciones naturales de campo; sin embargo, en la presente tesis se utilizará el término de columna de suelo.

### **3.6.1 Estudios sobre lisímetros y columnas de suelo**

Cencur et al. (2001) realizaron un trabajo en las plantaciones de Trnovo, al oeste de Eslovenia, el cual tuvo una duración de 1.6 años. El objetivo principal fue estudiar la percolación del nitrato a través del suelo kárstico y en la zona no saturada subyacente de rocas karsificadas. Realizaron la simulación de la fertilización con el fertilizante sintético KAN (nitrato-amónico-cálcico) que se añadía a un túnel construido con la finalidad de recolectar las muestras de agua; la superficie del túnel se cubrió con pasto y pequeñas plantas. Se midió *in situ* en las

muestras de agua la conductividad eléctrica, pH y temperatura; en el laboratorio se examinó la concentración de los iones nitrato y nitrito. Las plantas consumieron una parte importante del nitrato y sólo una pequeña parte fue retenida en una cobertura del suelo y estaba disponible para ser lixiviada. Los resultados demostraron que la capa impermeable del suelo en roca kárstica no es suficiente para retener el nitrato y para evitar la contaminación del suelo kárstico.

Knappe et al. (2002) realizaron una investigación en Brands, cerca de Leipzig, Sajonia, Alemania, que tenía como objetivo estimar el riesgo potencial de los lixiviados de nitrógeno en el agua subterránea bajo diferentes tipos de agricultura. Para ello, usaron 12 lisímetros monolíticos de pesada con drenaje libre, sección transversal de 1 m<sup>2</sup> y una profundidad de 3 m a los cuales les colocaron diferentes tipos de suelos. Anualmente el lixiviado de nitrógeno perdía de 5 a 44 kg por hectárea de concentración de nitrato por filtración de agua (lixiviado) de los cuales, entre 80 y 200 mg se perdían durante el periodo de agricultura intensiva. En tierras de barbecho, es decir, en tierras de cultivo que se dejó de sembrar durante uno o varios ciclos vegetativos, cierta cantidad de nitrato fue removido por las plantas. Como resultado, las concentraciones de nitrato en el lixiviado se redujeron significativamente. Además, en las plantaciones de leguminosas y con la aplicación de estiércol en otoño, la concentración de nitrato en los lixiviados aumentó significativamente.

Owens et al. (1999) compararon los lixiviados de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> provenientes de dos fórmulas diferentes de fertilizantes nitrogenados aplicados a forrajes. Por 11 años, el nitrato de amonio se aplicó a una superficie de 8.1 m<sup>2</sup> en forma continua. Los objetivos de este estudio fueron: (i) evaluar la importancia de los lixiviados de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en suelos de cultivo de forraje bajo fertilización, y (ii) comparar los efectos relativos del nitrato de amonio contra un fertilizante de lenta liberación de nitrógeno (urea metileno) en el transporte de nitrógeno a través de la lixiviación. Las concentraciones de nitrato en los lixiviados provenientes de los lisímetros de 2.4 m se midieron semanalmente. Lo que se encontró en el lixiviado fue que la liberación lenta de fertilizantes nitrogenados, tales como urea metileno, permite que el

nitrógeno vuelva a estar disponible más lentamente y se reduzca la cantidad de exceso de nitrógeno en cualquier tiempo dado.

Scholefield et al. (1993) realizaron en 1982, en un suelo franco-arcilloso de Hallsworth (sudoeste de Inglaterra), un trabajo con lisímetros, en donde las parcelas fueron pastoreadas por bovinos de forma continua, recibiendo fertilizantes, en un rango de 200 o 400 kg.N/ha por año en la pradera existente, y de 400 kg.N/ha en una nueva capa de hierba sembrada de raigrás perenne. El agua de drenaje se controló con muescas en V y se tomaron muestras para el análisis diario de nitrato. Se obtuvieron 7 años de datos (cinco años para las praderas sembradas). Los resultados sugirieron que manipular el suministro de nitrato puede disminuir la lixiviación y que el suministro de agua a través de suelo determina la concentración máxima de nitrato para una carga dada.

Ulén (1999) estudió el comportamiento del lixiviado y sus balances de fósforo, potasio y nitrógeno durante una rotación de cultivos en 7 años en cuatro tipos de suelo con recepción de fertilizantes inorgánicos, estiércol y composta de gramíneas. El abono que se aplicó fue el máximo permitido por la ley y la lluvia fue la natural. Con este experimento, se demostró que la aplicación de estiércol no dio lugar a ningún cambio directo en la lixiviación de nutrientes, a diferencia de la aplicación de los otros fertilizantes. Además, el suelo fue afectado considerablemente por las concentraciones de nutrientes en el agua de drenaje. A corto plazo se demostró que la agricultura basada en abono orgánico, como la agricultura ecológica, no deberían causar problemas de aumento de la nutrición del suelo.

Zhou et al. (2006) realizaron un trabajo en la estación experimental de la "Northwest A&F University Yangling", en la provincia de Shaanxi, China, utilizando el método de columnas de suelo para comparar los efectos de la lixiviación y transformación de los fertilizantes nitrogenados (N-nitrato, nitrato de amonio y urea) en el suelo después de su aplicación por medio de fertirrigación a través de riego por goteo y riego superficial. Las columnas fueron construidas con tubos de PVC de 8.5 cm de diámetro y 40 cm de largo. Realizaron análisis de

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  y urea al agua lixiviada y de  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  a las muestras de suelo. Esta investigación mostró que el agua de riego y el método de riego fueron factores importantes que afectaron el movimiento y la transformación de la urea-N en el suelo. Cuando la cantidad de agua de riego fue la misma, la pérdida de urea-N debido a la lixiviación fue más baja en el riego por goteo. Además, la textura del suelo y el tipo de fertilizante influyeron significativamente en la pérdida de nitrógeno del suelo, ya que la pérdida de fertilizante nitrogenado debido a la lixiviación fue mayor en el suelo de textura gruesa comparado con el suelo de textura fina. Además, en comparación con el fertilizante de nitrato o la urea, las pérdidas de nitrógeno fueron menores cuando se aplicó fertilizante de amonio. Estos resultados indicaron que para obtener la máxima utilización de nutrientes, el diseño de sistemas de fertirrigación por goteo debería tener en cuenta tanto el suelo como los fertilizantes.

Marcano y Elizalde (2010) realizaron un estudio durante 4 meses cuyo objetivo fue cuantificar el nitrato lixiviado de dos suelos agrícolas (lacustrino y aluvial), representativos de la Cuenca del Lago de Valencia, mediante la aplicación de riego, con la frecuencia necesaria para mantener los suelos húmedos, utilizando columnas de suelo sin disturbar. Para ello utilizaron tres columnas de suelo elaboradas con tubos de PVC de 20 cm de diámetro y 60 cm de profundidad donde se mantuvieron constantes todos los parámetros involucrados en el ciclo del nitrógeno. Las columnas se mantuvieron húmedas y cercanas a su máxima capacidad de retención durante 4 meses. Concluyeron que el riego actúa como un promotor de los procesos de nitrificación producidos por los microorganismos del suelo a costa de la materia orgánica del mismo, lo que lleva a pérdida de  $\text{NO}_3^-$  por lixiviación.

Dousset et al. (2010) en un estudio realizado en la cuenca de Morcille, Beaujolais evaluaron la efectividad de dos cubiertas de hierba para reducir la lixiviación de plaguicidas y así, posteriormente, preservar la calidad del agua subterránea. Se consideraron dos modalidades de cobertura de suelo: suelo desnudo y suelo con amortiguación e intercampos de hierba. Este estudio permitió comparar la influencia de las diferentes modalidades de cobertura del suelo sobre la

transferencia de plaguicidas evaluando la capacidad de infiltración real de una zona de amortiguación teniendo en cuenta la heterogeneidad de este parámetro en la parcela y la influencia del flujo a través de los macroporos de los plaguicidas lixiviados en la cubierta de césped del suelo.

Imache et al. (2012) realizaron un trabajo sobre los efectos de las mejoras por medio de lodos depurados sobre la adsorción y lixiviación de plaguicidas a través de suelos Mediterráneos no perturbados en la región de Gharb, en Marruecos. Este estudio se realizó en dicha región debido a que es una zona agrícola importante donde los suelos reciben tratamientos con plaguicidas y fertilizantes orgánicos para aumentar su rendimiento y la problemática es que el acuífero subterráneo correspondiente al área de estudio es poco profundo y por lo tanto vulnerable. El objetivo fue estudiar la influencia del diuron, cyhalofop-butilo y procymidone durante su lixiviación a través de suelo no perturbado por medio de columnas de suelo. Con este trabajo se confirmó que la movilidad del diuron, cyhalofop-butilo y procimidona está muy influida por la naturaleza de la tierra y sugiere un mayor potencial de riesgo de contaminación de las aguas subterráneas en la arcilla que en el suelo arenoso, además, el impacto depurador de los lodos sobre las concentraciones del carbono orgánico disuelto y plaguicidas en los lixiviados dependía tanto de los suelos como de las propiedades de los plaguicidas.

Garg et al. (2014) estudiaron la cinética de lixiviación del nitrato desde un enfoque multidisciplinario para obtener los datos necesarios para una mejor representación de  $\text{NO}_3^-$ , usando columnas de suelo agrícola y no agrícola. Ambos tipos de suelos fueron tomados de campo agrícola y de tierra estéril cerca del área agrícola en Dheerkhera, Hapur. El nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ ), que es una sal presente en el campo agrícola, se utilizó como fuente de  $\text{NO}_3^-$ . Se observaron en la lixiviación los efectos del volumen de poros, la temperatura y la dureza del calcio (Ca). Para estudiar la cinética de lixiviación se prepararon columnas de vidrio graduado de 60 cm de longitud y 3 cm de diámetro, rodeadas por una cubierta de cristal para el flujo continuo de agua. Los resultados de este estudio mostraron que el  $\text{NO}_3^-$

lixiviable es mayor en las columnas de suelo de la agricultura en comparación con las columnas de suelo no agrícola.

### **3.7. Metagenómica de los suelos**

Entre los métodos diseñados para acceder al conocimiento de la fisiología y genética de organismos no cultivables, la metagenómica se ha convertido en una poderosa herramienta de estudio. Literalmente “metagenómica” significa “más allá del genoma” y se refiere al análisis funcional y de secuencia independiente de cultivo de toda la colección de genomas microbianos presentes en diferentes nichos o comunidades ambientales, plantas o animales. Aplica un conjunto de tecnologías genómicas y herramientas bioinformáticas para acceder directamente al contenido genético de comunidades enteras de organismos (Genti 2013).

El análisis metagenómico consiste en aislar el ADN de una muestra ambiental, ser amplificarlo y secuenciarlo por metodologías de segunda o tercera generación (Genti 2013). Una de las técnicas más usadas para la amplificación desde hace algunas décadas es utilizando los genes ribosomales que codifican para la subunidad 16S (ADNr 16S). Este marcador es una poderosa herramienta que ha sido ampliamente usada en clasificaciones filogenéticas, debido a que su secuencia es altamente conservada. La amplificación de los ADNr 16S se realiza por medio de la PCR empleando oligonucleótidos o “primers” específicos. De esta manera, miles de secuencias de ADNr 16S de diversos microorganismos, cultivables y no cultivables, son reportadas a las bases de datos como el GenBank del “National Center for Biotechnology Information” (NCBI), y el “Ribosomal Database Project” (RDP), cuya información crece continuamente y se encuentra disponible para consulta (Hernández-León et al. 2010).

## 4. METODOLOGÍA

En la Figura 4.1 se muestra el diagrama de flujo con las principales actividades que se llevaron a cabo para cumplir con los objetivos de la investigación.

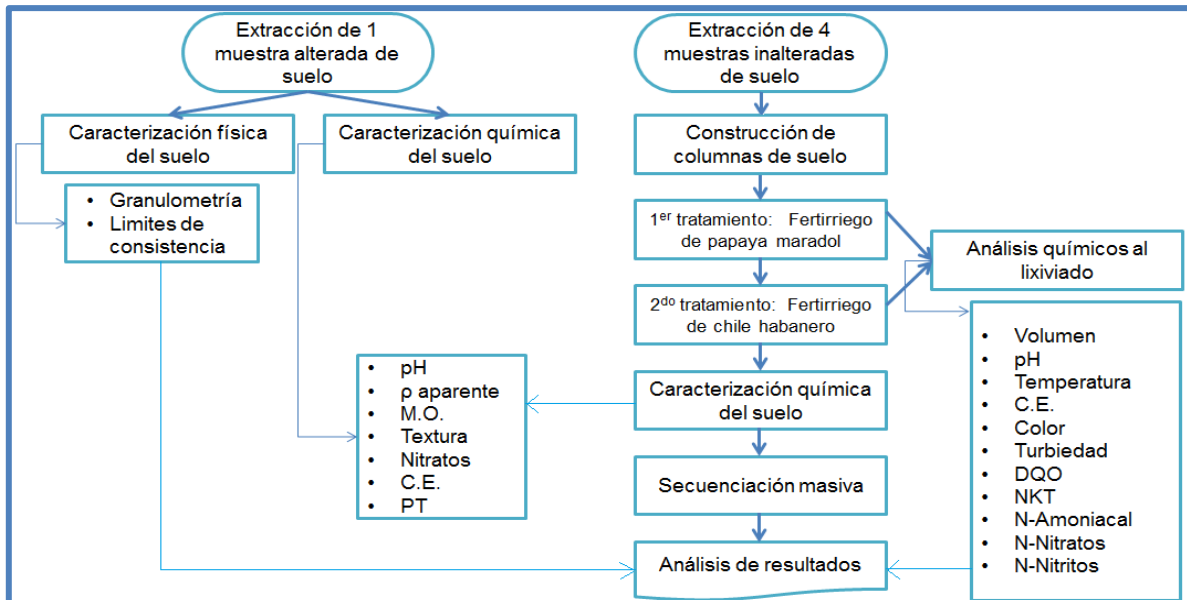


Figura 4.1: Diagrama metodológico.

### 4.1 Extracción de muestras de suelo

Se realizó la extracción de las muestras de suelo agrícola del Campo Experimental Uxmal, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), en el municipio de Santa Elena, al sur del estado de Yucatán.

Para la caracterización inicial del suelo, se realizó la extracción de una muestra alterada de suelo agrícola de 2 kg aproximadamente. Una muestra se denomina alterada cuando no guarda las mismas condiciones que cuando se encontraba en el terreno de donde procede, e inalterada en caso contrario (Crespo 1995). Dicha muestra se empacó e identificó en una bolsa limpia que se hizo llegar en menos de 48 h al laboratorio de suelo, planta y agua del Campo Experimental Edzná, INIFAP, Campeche.

Asimismo, se extrajeron cuatro muestras inalteradas de suelo que se recolectaron en tubos de PVC hidráulico para la construcción de las cuatro columnas de suelo;



con los cuales se busca conservar la estructura y la humedad original del sitio de extracción. En el sitio de cada extracción se marcaron cuatro círculos de aproximadamente 5 in ( $\approx 12.70$  cm) de diámetro, los cuales se excavaron alrededor de las marcas utilizando palas, picos y barretas, evitando dañar la estructura del material de la muestra. Posteriormente, al centro de cada uno de éstos, se colocó un tubo de PVC hidráulico de 1/16 in de espesor, 4 in de diámetro ( $\approx 10.16$  cm) y 75 cm de alto, el cual por medio de golpes con un mazo se hincó cuidadosamente para evitar dañarlo en el proceso. Cuando el PVC ya no descendía a través del suelo, se procedía a profundizar más el círculo exterior, quitando así presión lateral y propiciando que el tubo descendiera más, como se puede apreciar en la Figura 4.2.



Figura 4.2 Extracción de muestras de suelo.

Este proceso se repitió hasta que se consiguió toda la muestra del estrato de suelo agrícola y se llegó al estrato rocoso. Una vez alcanzado el estrato rocoso, se retiraron las columnas de suelo del campo, colocando una bolsa de plástico en la base de cada columna para retener el suelo. Las cuatro muestras extraídas para conformar las columnas, se transportaron al Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY), en donde se procedió al armado de las columnas de suelo.

## 4.2. Armado de las columnas de suelo

Para armar las columnas de suelo, se procedió de acuerdo con el esquema que se muestra en la Figura 4.3.

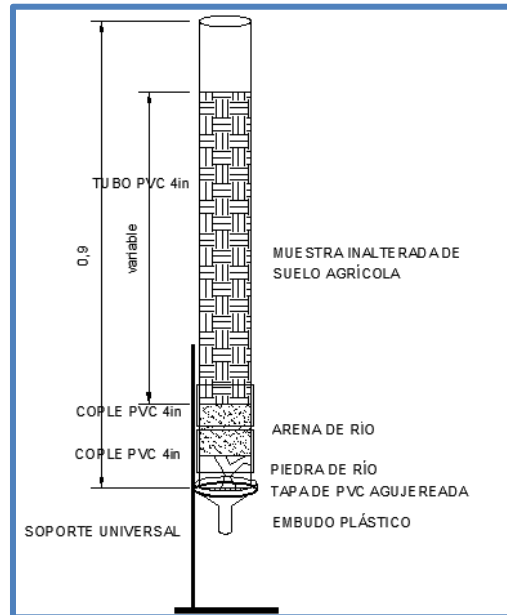


Figura 4.3 Esquema de las columnas.

Previo a la llegada al laboratorio con los tubos de PVC hidráulico con las muestras inalteradas de suelo, se prepararon cuatro filtros, cada uno formado por una primera capa de arena de río de aproximadamente 15 cm de altura, una segunda capa con piedras de río de aproximadamente 10 cm de altura y por último una tapa de PVC agujereada de 4 in de diámetro ( $\approx 10.16$  cm). Se adaptó en la base un embudo para la recolección de las muestras del lixiviado generadas en los procesos de simulación de fertilización y riego. Los filtros se nivelaron y cada uno se fijó sobre un soporte universal con anillo de hierro apoyado, a su vez, sobre una estructura metálica propia del laboratorio de Ingeniería Ambiental; y para mayor seguridad y evitar movimiento de éstos, se colocaron alrededor cinchos plásticos y cinta de ducto. La unión de las tres secciones (tapa agujereada de PVC, tubo de PVC con filtro y tubo de PVC con la muestra inalterada de suelo) se realizó con dos coples de PVC de 4 in ( $\approx 10.16$  cm). Finalmente, después de colocar el tubo con la muestra de suelo, se rectificó la nivelación de toda la columna y, por medio

de cinta de ducto y cinchos plásticos, se aseguró todo el sistema conformando así un monolito que será tratado como una columna de suelo. Debajo del embudo se colocó un vaso de precipitado de 4 L para la recolección del lixiviado.

En la parte superior de la estructura metálica, se suspendieron de forma invertida cuatro botellas de PET de pared gruesa, cada una asociada a cada columna de suelo, a las cuales se les cortó el fondo para introducir el fertirriego. Asimismo, a las tapa roscas se les hizo un agujero en la parte central, a través del cual se introdujo un normo gotero estándar. Este sistema se utilizó para simular el riego por goteo.

El armado completo de las cuatro columnas de suelo se muestra en la Figura 4.4



Figura 4.4 Armado de las columnas de suelo.

### 4.3. Caracterización fisicoquímica del suelo

Para la caracterización física del suelo, la clasificación de suelos más usada desde el punto de vista de mecánica de suelos es el Sistema Unificado de Clasificación de Suelos (SUCS) en la cual se asigna un símbolo para cada tipo de suelo. Sus principales parámetros de clasificación describen el comportamiento mecánico del

suelo. En la tabla 4.1 se aprecian las pruebas, métodos a usar y normativa ASTM International empleadas en el suelo agrícola para este propósito.

Tabla 4.1: Pruebas, métodos y normativas para la caracterización física del suelo.

Prueba	Método a usar	Normativa
Granulometría de materiales	“Test methods for particle-size distribution (graduation) of soils using sieve analysis”	ASTM D-6913
Límites de consistencia	“Test methods for liquid limit, plastic limit and plasticity index of soil”	ASTM D-4318

Una vez realizadas estas pruebas, se usó como referencia la ASTM D-2487 para la clasificación del suelo agrícola.

Las normas en las que se basa la interpretación y análisis del comportamiento mecánico del suelo y su clasificación, son las que se encuentran vigentes en ASTM International.

De igual forma, se realizaron los análisis químicos que se muestran en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2: Pruebas, métodos y normativas para la caracterización química del suelo.

Prueba	Determinación analítica	Normativa
pH	AS-02	NOM-021-RECNAT-2000
Densidad aparente	AS-03	
Materia orgánica	AS-07	
Nitratos	AS-08	
Textura	AS-09	
Conductividad eléctrica	AS-18	
Fósforo	AS-10 / AS-11	

La normativa en la que se basan los análisis químicos del suelo es la NOM-021-RECNAT-2000 (DOF-2002), que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.

Primeramente, se realizó una caracterización inicial con la muestra alterada de suelo extraída el día del muestreo en el Campo Experimental Uxmal del INIFAP.

Una vez finalizados los experimentos, las cuatro columnas de suelo fueron desarmadas y de cada una de las columnas se extrajeron muestra de suelo, las cuales fueron empacadas e identificadas en bolsas plásticas estériles que se hicieron llegar en menos de 48 h al laboratorio de suelo, planta y agua del Campo

Experimental Edzná, INIFAP Campeche, para su caracterización química final (Ver Sección 4.1).

#### **4.4. Fase experimental: suministro de fertilizante y riego**

A las columnas de suelo se les suministró el tipo, cantidad de fertilizante y agua de riego equivalente a la fertilización de una planta de papaya maradol o de una planta de chile habanero por columna de suelo según procede en los manuales del INIFAP publicados para la región sureste de México, durante la siembra de estos cultivos. Aunque el área de la columna es menor que el área necesaria para una planta completa, se consideró así con base en la teoría de riego por goteo, que considera una salida de goteo por planta. Los cultivos de chile habanero y papaya maradol, son cultivos típicos del estado de Yucatán que fueron seleccionados para este experimento ya que requieren cantidades considerables de fertilizante y un riego continuo. Esto dio como resultado dos tratamientos diferentes, que fueron ejecutados uno seguido del otro y repetidos por triplicado.

##### **4.4.1. Tratamiento 1: Simulación de fertirriego para la papaya maradol**

Para la simulación del tratamiento de fertilización y riego de la papaya maradol, se siguieron las recomendaciones de SEDER–INIFAP (2002) considerando una planta de entre 91 y 150 días de edad (edad correspondiente a la etapa del trasplante a la floración), contados a partir de su siembra.

Antes de comenzar el tratamiento 1, se aplicó primero un riego sin fertilizante, procurando distribuir la humedad en todo el perfil de suelo. Este primer riego, simuló un “riego pesado”, es decir, se aplicó una gran cantidad de agua para “inundar” la columna de suelo. Para ello, se comenzó a administrar agua en forma rápida (16 mL/min), observándose la formación paulatina de una columna de agua sobre la columna de suelo. Se realizó el riego sin fertilizante de 4 L durante 3 h (1.33 L/h).

Una semana después del riego pesado, se realizó el tratamiento 1, en el cual, se administraron dos riegos de 8.5 L de agua (cantidad de agua usada para la planta en la etapa del trasplante a la floración) y se procedió a usar la fertilización coincidente con esta etapa. Cada repetición se realizó con una semana de diferencia y se usaron las cantidades de fertilizante y agua por columna que se muestran en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3 Cantidad de fertirriego empleado para el tratamiento 1 (SEDER-INIFAP, 2002).

Componente	g /columna	Agua de riego/columna (L)
Triple 17 (17-17-17)*	50	8.5
Urea (46-0-0)*	50	
Fosfato Diamónico (DAP) (18-46-0)*	10	

\*Grado del fertilizante (%P/P N,P;K), ver sección 3.4.2.

Cada riego tuvo una duración de 8 h y se dividió en tres periodos:

1. Durante 1/6 del tiempo (1h y 20 min), se aplicaron 1.4 L de agua sin fertilizante (1.05 L/h).
2. Durante 2/3 del tiempo (5h y 20 min), se aplicaron 5.7 L del agua con 110 g de fertilizante (1.07 L/h).
3. Finalmente, durante 1/6 del tiempo (1h y 20 min), se aplicaron 1.4 L de agua sin fertilizante (1.05 L/h).

Para simular el riego por goteo y controlar tiempos y cantidades de fertilizante a colocar, se utilizó el equipo de gotero para suero estándar (normo gotero) descrito en la Sección 4.2.

#### 4.4.2. Tratamiento 2: simulación de fertirriego para chile habanero

Para la simulación del tratamiento de fertilización y riego del chile habanero, se siguieron las recomendaciones de Avilés et al. (2010). Para el cálculo del fertirriego de las columnas de suelo, se supuso la producción de plantas de chile habanero (en almácigos o charolas) y que la planta alcanzó una altura adecuada para trasplante (15 a 20 cm), y se simuló la aplicación de fertilizantes a través del agua de riego considerando una planta de chile habanero por columna. El tratamiento resultante se describe a continuación: se aplicó primeramente un riego

pesado sin fertilizante de 4 L durante 3 h (1.33 L/h), procurando que la humedad se distribuyera en el perfil del suelo.

Posteriormente, se aplicaron dos riegos de 4 L de agua durante 4 horas (1 L/h), realizados con una semana de diferencia entre cada repetición, en los cuales se disolvieron los nutrientes presentados en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4 Cantidad de fertirriego empleado para el tratamiento 2 (Avilés W. et al. 2010).

Componente	g /columna	Agua de riego/columna (L)
Urea (46-0-0)*	3.70	4
Fosfato	0.18	
Potasio	0.64	
Calcio	0.48	
Magnesio	0.24	

\*Grado del fertilizante (%P/P N,P;K), ver sección 3.4.2.

Para simular el riego por goteo y controlar tiempos y cantidades de fertilizante a colocar, se utilizó el equipo de gotero para suero estándar (normo gotero) descrito en la Sección 4.2.

#### 4.5. Análisis químico del lixiviado

El análisis químico del lixiviado recolectado de las columnas de suelo después de cada tratamiento se llevó a cabo en el laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería de la UADY.

Los análisis químicos que se realizaron se presentan en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5 Pruebas, métodos y normativas para los análisis químicos del lixiviado.

Prueba	Método a usar	Normativa
pH	Electrométrico	NMX-AA-008-SCFI-2011
Color	Electrométrico	NMX-AA-017-1980
Conductividad eléctrica	Electrométrico	NMX-AA-093-SCFI-2000
Turbiedad	Electrométrico	NMX-AA-038-SCFI-2001
DQO	Dicromato	NMX-AA-030-2-SCFI-2011
Nitrógeno total	Kjeldahl	NMX-AA-026-SCFI-2010
N- amoniacal (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	Kjeldahl (destilación)	NMX-AA-026-SCFI-2010
N-nitratos (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Ácido cromotrópico	Covenin 2193-84
N-nitritos (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	Diazotización	NMX-AA-154-SCFI-2011

#### **4.6. Análisis del metagenoma**

Después de realizado el último lixiviado del tratamiento 2, como se mencionó en la sección 4.3, se procedió al desarmado de las columnas de suelo y, adicional a las muestras de suelo tomadas para su análisis químico, se tomaron dos muestras más: una muestra alterada del suelo de la columna #1 y una muestra compuesta por suelo de las columnas #2, #3 y #4. A estas muestras se les realizó extracción de ADN con el método de lisis *in situ* y adsorción en sílice, basado en el protocolo de Rojas-Herrera et al. (2008), ejecutado con algunas modificaciones, las cuales se mencionan en el Anexo I. Dicha muestra fue preservada y posteriormente enviada al laboratorio de “Research and Testing Genomics Laboratory”, en Lubbock, Texas, donde se le realizaron pruebas de secuenciación masiva con un equipo Secuenciador Illumina Mysec con resolución de lectura de 300 ciclos con duración aproximada de 56 h. Se secuenció la región B1-B4 del gen 16S ARN ribosomal, usando el primer 28FY519R, que permitió la amplificación de dicha región en bacterias y también se secuenció la región ITS1 usando los primer ITS1F e ITS2AR para la amplificación en hongos. Los resultados fueron enviados por el laboratorio y se interpretaron con la finalidad de encontrar bacterias y hongos característicos del ciclo del nitrógeno.



## 5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 5.1. Extracción y armado de las columnas de suelo

Las columnas de suelo que se extrajeron, siguiendo el procedimiento explicado en la Sección 4.1, resultaron de diferentes alturas debido a la profundidad a la que se encontraba en cada sitio el estrato rocoso. Por ello, la columna #1 fue de 22 cm, la columna #2 de 24 cm, la columna #3 de 37 cm y la columna #4 de 42 cm, como se muestra en la Figura 5.1

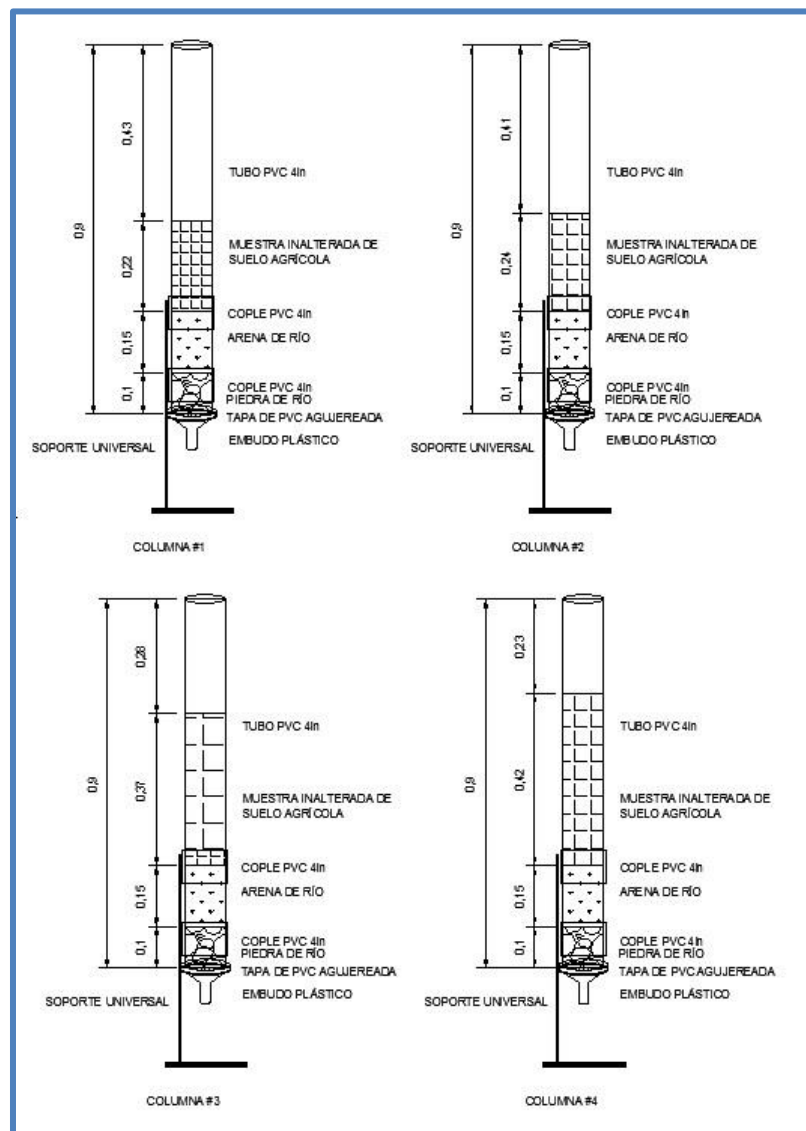


Figura 5.1: Armado de las columnas de suelo.

## 5.2. Caracterización física del suelo

A continuación se muestran los resultados obtenidos de la caracterización física inicial del suelo, descrita en la Sección 4.3.

### 5.2.1. Granulometría del suelo

De la muestra alterada de suelo extraída del campo agrícola del C.E. Uxmal del INIFAP (ver sección 4.1), se utilizaron 508 g para realizar el análisis granulométrico en el laboratorio de Geotecnia de la Facultad de Ingeniería de la UADY, del cual se obtuvo la Tabla 5.1 con los siguientes resultados.

Tabla 5.1: Análisis granulométrico del suelo.

N tamiz	Malla (mm)	Peso parcial	% retenido	% pasante acumulado
4	4.75	0.00	0.00	100.00
10	2.00	100.30	19.74	80.25
20	0.84	176.50	34.74	45.51
40	0.42	104.20	20.51	25.00
60	0.25	43.30	8.52	16.47
100	0.14	34.40	6.77	9.70
200	0.074	21.30	4.19	5.51
FONDO		28.00	5.51	0.00
<b>TOTAL</b>		<b>508.00</b>	<b>100.00</b>	

La Figura 5.2 contiene la gráfica del porcentaje de material acumulado que pasó por los tamices usados.

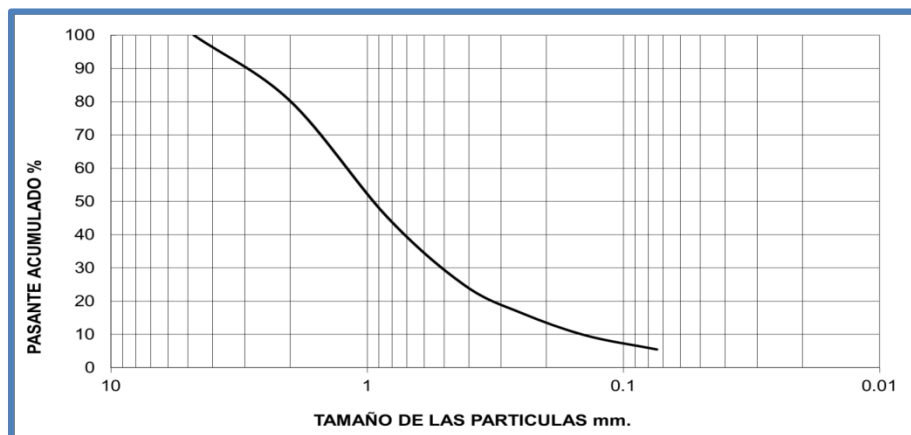


Figura 5.2: Gráfica de la granulometría del suelo.

Como no hubo material retenido en la malla No. 4, se determinó que el material es arena (S). Además, como el material que pasa la malla No. 200 se encuentra entre el 5 y 12 %, (5.51 %) se tiene un caso frontera que debe tener un símbolo doble de acuerdo con sus características de plasticidad y granulometría (Juárez-Badillo E. y Rico-Rodríguez A. 2014).

Con ayuda de la gráfica de la figura 5.2, se analizaron el  $C_u$  (Coeficiente de uniformidad) y el  $C_c$  (Coeficiente de curvatura) necesarios para el primer símbolo de la clasificación del material (Juárez-Badillo y Rico-Rodríguez 2014).

$$C_u = \frac{D_{60}}{D_{10}} = \frac{1.1}{0.15} = 7$$

$$C_c = \frac{(D_{30})^2}{D_{60} * D_{10}} = \frac{(0.5)^2}{(1.1 * 0.15)} = 1.515$$

Donde:

- $C_u$ = coeficiente de uniformidad
- $C_c$ = coeficiente de curvatura
- $D_{60}$ = Tamaño tal, que el 60 %, en peso, del suelo, será igual o menor
- $D_{30}$  = Tamaño tal, que el 30 %, en peso, del suelo, será igual o menor
- $D_{10}$ = Tamaño tal, que el 10 %, en peso, del suelo, será igual o menor

En el caso de las arenas bien graduadas,  $C_u > 6$  y  $1 < C_c < 3$ , por lo que se tiene una arena bien graduada (SW) con amplio margen de tamaño de partículas y cantidades apreciables de cada tamaño intermedio (Juárez-Badillo E. y Rico-Rodríguez A. 2014).

### 5.2.2. Límites de consistencia

Siguiendo el procedimiento de identificación de la fracción que pasa la malla No. 40 del ASTM International, se determinaron el LL (Límite líquido) y el LP (Límite plástico) (Juárez-Badillo y Rico-Rodríguez 2014). En la tabla 5.2 se muestran los datos obtenidos en laboratorio.

Tabla 5.2 Datos obtenidos en laboratorio para determinar límite líquido (LL) y límite plástico (LP)

Tara Número	Unidad	Límite líquido			Límite plástico		
		1	2	3	1	2	3
Peso tara + muestra húmeda	g	23.48	27.98	28.08	21.15	20.72	21.45
Peso tara + muestra seca	g	21.70	24.58	24.57	20.32	20.02	20.55
Peso de la tara	g	18.71	18.78	18.49	18.26	18.29	18.38
Peso de la muestra seca	g	2.99	5.80	6.08	2.06	1.73	2.17
Peso del agua	g	1.78	3.40	3.51	0.83	0.70	0.90
Número de golpes		23	26	29	N/A	N/A	N/A

Realizando los cálculos descritos en Juárez-Badillo y Rico-Rodríguez (2014) con los datos obtenidos en laboratorio, se calcularon los LL, LP, IP (índice plástico) y w % (porcentaje de humedad).

- Límite líquido (LL) = 58.90 %
- Límite plástico (LP) = 40.74 %
- Índice plástico (IP) = 18.15 %
- Contenido de humedad (w %) = 37.61 %

Representando estos datos en la carta de plasticidad para clasificación de suelos de partículas finas, del SUCS (ASTM D 2487 1994), como se observa en la figura 5.3, se tiene que el valor obtenido queda debajo de la línea "A", por lo que el segundo símbolo para clasificar el suelo es OH

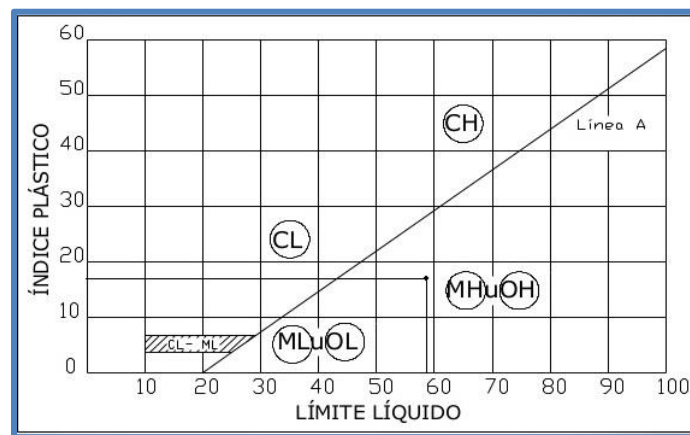


Figura 5.3 Representación del LL e IP en la carta de plasticidad (ASTM D 4318-93 1994).

Por lo que se concluye que el suelo usado para las columnas de suelo se clasifica con símbolo doble como: SW-OH, es decir, arena bien graduada, color rojo claro, con finos tipo arcillosos de alta compresibilidad y alta plasticidad.

### 5.3. Fase experimental: suministro de fertilizante y riego

A continuación se muestran los resultados obtenidos del suministro de fertilizante y riego, descrita en la Sección 4.4.

#### 5.3.1. Aporte de nitrógeno durante el fertirriego del tratamiento 1

Se llevó a cabo el tratamiento 1 tal como se describió en la sección 4.4.1. En la Tabla 5.3 se desglosa el aporte de nitrógeno procedente del fertirriego aplicado a las columnas de suelo.

Tabla 5.3 Aporte de nitrógeno durante el fertirriego del tratamiento 1.

U / columna	Fertilizante	Fórmula química	Aporte N-amoniacal (g)	Aporte N-nitrito (g)	Aporte N-nitratos (g)	Aporte N-orgánico (g)
50 g	Triple 17	N/A	5	3.5	---	---
50 g	Urea	CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	---	---	---	5.6
10 g	DAP	NH <sub>4</sub> HPO <sub>4</sub>	9	---	---	---
8.5 l	Agua	H <sub>2</sub> O	---	---	0.0646	---
<b>Total</b>			<b>14</b>	<b>3.5</b>	<b>0.0646</b>	<b>5.6</b>

Se obtuvieron los datos por columna especificados en el Anexo II.

#### 5.3.2. Aporte de nitrógeno durante el fertirriego del tratamiento 2

Se llevó a cabo el tratamiento 2 tal como se explicó en 4.4.2. En la Tabla 5.4 se desglosa el aporte de nitrógeno procedente del fertirriego aplicado a las columnas de suelo.

Tabla 5.4 Aporte de nitrógeno durante el fertirriego del tratamiento 2.

U / columna	Fertilizante	Fórmula química	Aporte N-amoniacal (g)	Aporte N-nitrito (g)	Aporte N-nitratos (g)	Aporte N (g)
3.70 g	Urea	CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	---	---	---	0.8625
0.18 g	DAP	NH <sub>4</sub> HPO <sub>4</sub>	0.0324	---	---	---
0.64 g	Potasio	K	---	---	---	---
0.48 g	Calcio	Ca	---	---	---	---
0.24 g	Magnesio	Mg	---	---	---	---
4 l	Agua	H <sub>2</sub> O	---	---	0.0304	---
<b>Total</b>			<b>0.0324</b>	<b>---</b>	<b>0.0304</b>	<b>0.8625</b>

Se obtuvieron los datos por columna especificados en el Anexo II.

## 5.4 Resultados del análisis fisicoquímico de los lixiviados en ambos tratamientos

El análisis de los resultados en esta sección se hizo considerando a la columna #1 por separado, ya que la mayoría de los parámetros analizados en los lixiviados de esta columna tuvieron comportamientos atípicos en comparación con las columnas #2, #3 y #4. Los resultados de la columna #1 se presentan en la sección 5.4.4.

De los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio realizadas a los lixiviados de las columnas #2, #3 y #4 (con excepción de los compuestos nitrogenados analizados en las secciones siguientes), los cuales se presentan por cada columna en las tablas del anexo II, se deduce lo siguiente:

Los lixiviados recogidos 24 horas después de aplicados los fertirriegos, representaron aproximadamente el  $93.5 \pm 5.3$  % del volumen total de fertirriego de cada tratamiento, por lo que únicamente el 6.5 % del volumen del fertirriego fue retenido en el suelo.

En la tabla 5.5 se pueden observar los parámetros medidos y los promedios obtenidos:

El incremento de la C.E. demuestra que con cada fertirriego del tratamiento 1 se fue teniendo incremento en la concentración de sales en el agua lixiviada, entre el tratamiento 1 y el tratamiento 2 hubo disminución de C.E. debido a que

transcurrieron 53 días entre ambos tratamientos, y de nuevo en el tratamiento 2, en el transcurso de los fertirriegos, se fue presentando incremento en la C.E.

Tabla 5.5 pH C.E., turbiedad, DQO y % M.O de los lixiviados col. #2, #3 y #4.

Parámetro	Unidad	Lix RP 1	Lix T1 D1	Lix T1 D2	Lix RP 2	Lix T2 D1	Lix T2 D2
pH		7.83	8.00	7.81	7.36	7.30	6.94
C.E	µs/cm	1,802.33	1,030	1,529	1,110	3,498	4,137.33
Turbiedad	NTC	3.26	0.79	1.27	4.38	3.83	3.04
DQO	mg/L	41.67	118.89	163.89	161.67	150.56	173.89
M.O.	%	47.03	1,429.33	1,710.67	44.73	116.70	109.87

El incremento en la turbiedad durante el tratamiento 1 se debe a que en cada lixiviado fue incrementándose la suspensión de sólidos, en cambio, durante el tratamiento 2, la adición de fertilizantes fue menor por lo que los sólidos suspendidos se quedaron atrapados en la muestra de suelo al interior de las columnas.

El incremento en la DQO señala un incremento en cada lixiviado de sustancias o compuestos orgánicos e inorgánicos.

El incremento del % M.O. con cada lixiviado señala descomposición de microorganismos y disminución de oxígeno, probablemente por la disminución del volumen de vacíos dada cada vez que se producía el fertirriego.

El pH fluctuó en valores cercanos a la neutralidad con una tendencia hacia la acidificación, comenzado en el riego pesado 1 con un valor promedio de  $7.8 \pm 0.04$  y concluyendo en el tratamiento, 2 día 2 con un valor promedio de  $6.9 \pm 0.45$ .

#### 5.4.1. Análisis de los compuestos nitrogenados lixiviados

El análisis de los compuestos nitrogenados se hizo considerando a la columna #1 en ambos tratamientos por separado, ya que la mayoría de los parámetros analizados en los lixiviados de esta columna, tuvieron comportamientos atípicos en comparación con las columnas #2, #3 y #4. Además, no se consideró diferencia en el análisis entre la columna #2 de 24 cm de muestra de suelo respecto a las columnas #3 y #4, con 37 y 42 cm de muestra de suelo, respectivamente, ya que el tiempo y volumen de lixiviado observados fueron

similares; esto debido a las características altamente permeables del suelo que permiten que el lixiviado drene a la misma velocidad sin depender de la profundidad de la capa de suelo.

El nitrógeno total Kjeldahl (NKT) se compone de la sumatoria del N-orgánico y el N-amoniaco presentes en una muestra analizada (DOF, 2013), por lo cual, la cantidad de N-orgánico presente en los lixiviados se calculó a partir de las cantidades medidas de NKT y N-amoniaco en cada muestra, para así poder comparar las entradas y las salidas de éste.

#### **5.4.2. Compuestos nitrogenados del tratamiento 1**

En las gráficas de la figura 5.4 se pueden observar los promedios y desviaciones estándar de los cuatro compuestos nitrogenados analizados por cada fase del tratamiento 1, columnas #2, #3 y #4.

De la gráfica correspondiente al N-amoniaco, se observa que durante el riego pesado 1 (RP1) no existen entradas ni salidas del compuesto; en el fertirriego del tratamiento 1 día 1 (FR T1D1), se realizó un aporte de este compuesto de 1,647.06 mg/L, de los cuales no se obtuvo lixiviado. Respecto al fertirriego del tratamiento 1 día 2 (FR T1D2), se realizó el mismo aporte (1,647.06 mg/L), de los cuales se obtuvo en el lixiviado del tratamiento 1 día 2 (LIX T1D2)  $772.8 \pm 190.07$  mg/L, lo que sugiere que el 46.9 % del N-amoniaco fue lixiviado. Se observa una tendencia creciente del N-amoniaco en cada lixiviado.

De la gráfica correspondiente a N-nitritos, en el FR T1D1, se realizó un aporte de este compuesto de 411.76 mg/L y en el LIX T1D1 se obtuvieron  $0.017 \pm 0.01$  mg/L de N-nitritos (0.004 %). En el FR T1D2, se realizó el mismo aporte de este compuesto (411.76 mg/L) y se obtuvieron en el LIX T1D2  $0.057 \pm 0.006$  mg/L, lo que sugiere que únicamente el 0.014 % del N-nitritos fue lixiviado, quedando prácticamente en su totalidad retenido en el suelo, posiblemente sujeto a ser transformado dentro de él.



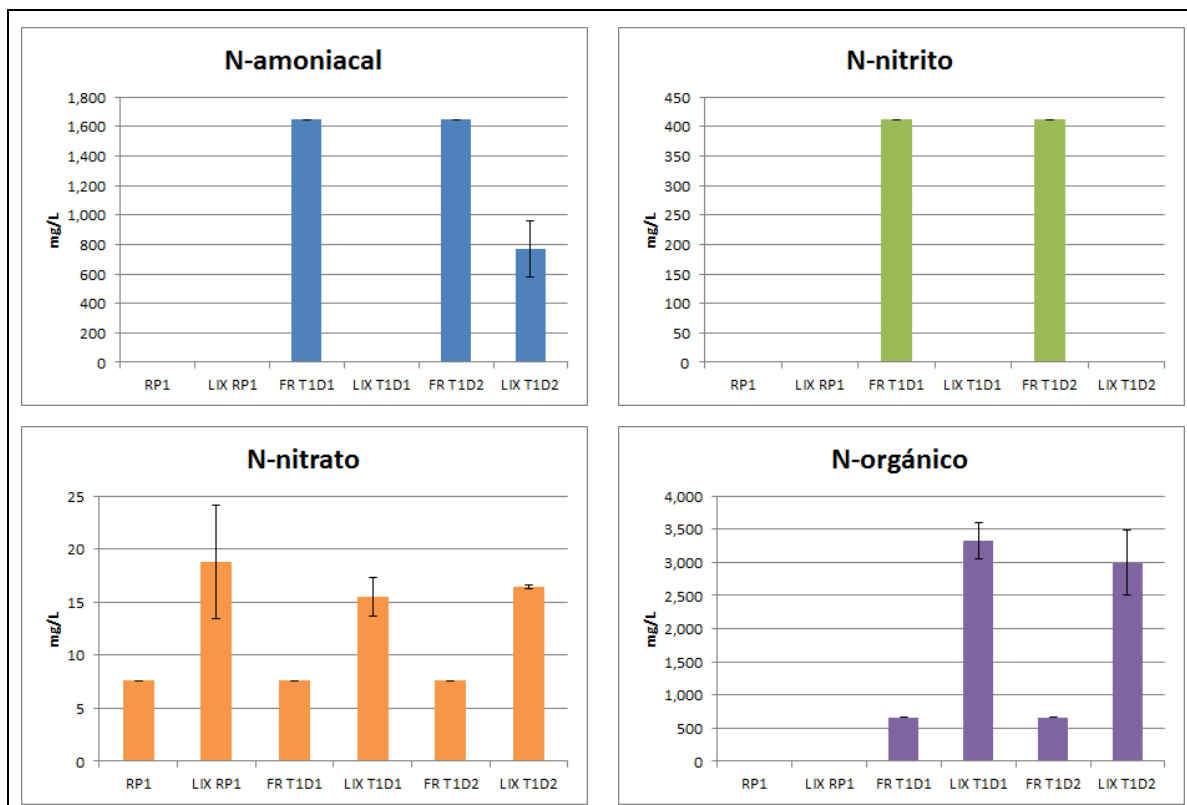


Figura 5.4 Gráficas de los promedios y desviaciones estándar de los compuestos nitrogenados analizados en el tratamiento 1. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2

Como se puede observar de la gráfica de N-nitrato, desde el RP1 existe un aporte de 7.6 mg/L en el agua usada para el riego de las columnas (dato medido del agua suministrada por el laboratorio). En el lixiviado del riego pesado 1 (LIX RP1) se obtuvieron  $18.83 \pm 5.3$  mg/L, es decir, se lixivia 247.8 % más del aporte de N-nitrato. En el FR T1D1 y el FR T2D2 se hace el mismo aporte (7.6 mg/L) de los cuales  $15.5 \pm 1.8$  mg/L (203.9 %) se recogen en el LIX T1D1 y  $16.47 \pm 0.1$  mg/L (216.67 %) se recogen en el LIX T1D2. Debido a que el contenido de N-nitrato inicial medido en el suelo fue muy bajo, (7.79 ppm de nitrato), se deduce que los compuestos nitrogenados añadidos a través del fertirriego se transforman en N-nitratos, como se observa en los resultados de LIX T1D1 y LIX T1D2.

En la gráfica correspondiente al N-orgánico, se observa que no existe aporte en el RP1, sin embargo existe salida en el LIX RP1 de  $2.43 \pm 0.2$  mg/L. En el FR T1D1, se realizó un aporte de este compuesto de 658.82 mg/L, de los cuales se obtuvieron en el LIX T1D1  $3329.2 \pm 277.2$  mg/L, lo que sugiere que se lixivia 505.3 % más de N-orgánico que el aportado en el fertirriego. Respecto al FR T1D2, se realizó el mismo aporte de este compuesto (658.82 mg/L) de los cuales se obtuvo en el LIX T1D2  $2,996 \pm 494.9$  mg/L, lo que sugiere que se lixivia 454.7 % más de N-orgánico que el aportado en el fertirriego. Estos valores hacen suponer que los compuestos nitrogenados añadidos en el fertirriego, sufren transformaciones a través de su paso por la columna de suelo hasta convertirse en N-orgánico.

### **5.4.3. Compuestos nitrogenados del tratamiento 2**

En las gráficas de la figura 5.5 se pueden observar los promedios y desviaciones estándar de los cuatro compuestos nitrogenados analizados por cada fase del tratamiento 2, columnas #2, #3 y #4.

De la gráfica correspondiente al N-amoniaco, se observa que durante el riego pesado 2 (RP2) no existen entradas ni salidas de este compuesto. En el fertirriego del tratamiento 2 día 1 (FR T2D1), se realizó un aporte de este compuesto de 8.1 mg/L, de los cuales no se obtuvo lixiviado. Respecto al fertirriego del tratamiento 2 día 2 (FR T2D2), se realizó el mismo aporte (8.1 mg/L), de los cuales tampoco se obtuvo lixiviado, lo que sugiere que el N-amoniaco se queda retenido en el suelo, sujeto a transformaciones.

De la gráfica correspondiente a N-nitritos, se observa que no hubo aporte de N-nitrito en el RP2 ni en el FR T2D1 y el FR T2D2, sin embargo se observan salidas en los lixiviados. En el lixiviado del riego pesado 2 (LIX RP2) se obtuvieron  $1.175 \pm 0.2$  mg/L, en el LIX T2D1 se obtuvieron  $1.257 \pm 0.06$  mg/L y en el LIX T2D2 se obtuvieron  $1.314 \pm 0.112$  mg/L de N-nitritos, lo cual se debe a transformaciones ocurridas a partir de otros compuestos nitrogenados y al N-nitrito que se acumuló en el tratamiento 1.

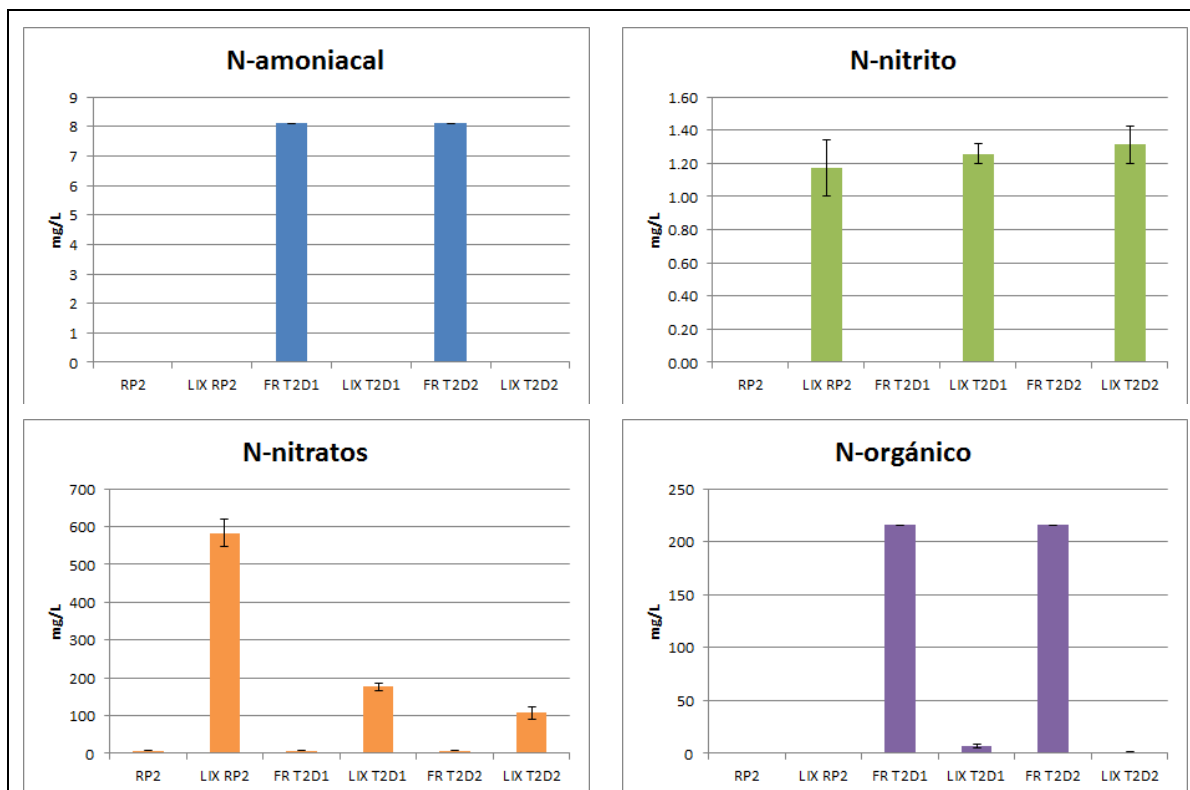


Figura 5.5 Gráficas de los promedios y desviaciones estándar de los compuestos nitrogenados analizados en el tratamiento 2. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.

Como se puede observar de la gráfica de N-nitrato, desde el RP2 existe un aporte de 7.6 mg/L en el agua usada para el riego de las columnas. Se obtuvo en el LIX RP2  $583 \pm 35.3$  mg/L, es decir, se lixivia un adicional de 7,671 % del aporte de N-nitrato del RP2. En el FR T2D1 se hace el mismo aporte (7.6 mg/L) de los cuales  $176.50 \pm 9.2$  mg/L se recogen en el LIX T1D1, es decir, se lixivia un adicional 2,322 % del aporte de N-nitrato del FR T2D1. En el FR T2D2 se hace de nuevo el mismo aporte (7.6 mg/L), de los cuales  $107 \pm 17.4$  mg/L se recogen en el LIX T2D1, es decir, se lixivia un adicional de 1,408 % del aporte de N-nitrato del FR T2D2. Este comportamiento del N-nitrato es consecuencia de las acumulaciones y las transformaciones que se dieron en las columnas en el tiempo transcurrido entre el tratamiento 1 y el tratamiento 2, que fue de 53 días.

En la gráfica correspondiente al N-orgánico, se observa que no existe aporte ni salida en el RP2. En el FR T2D1, se realizó un aporte de este compuesto de 215.63 mg/L, de los cuales se obtuvo en el LIX T2D1  $7.00 \pm 2$  mg/L, lo que sugiere que el 3.2 % del N-orgánico es lixiviado. Respecto al FR T2D2, se realizó el mismo aporte de este compuesto (215.63 mg/L), se obtuvo en el LIX T2D2 1.40 mg/L, lo que sugiere que el 0.6 % de este compuesto es lixiviado. En ambos fertirriegos se observa que casi en su totalidad el N-orgánico se queda retenido en el suelo, posiblemente sujeto a ser transformado dentro de él.

En ambos tratamientos, se observa que aportando las cantidades de N-orgánico que se consideran necesarias en la fertilización de cada cultivo, en los lixiviados de los fertirriegos sólo se observa un proporcional pequeño de dicho compuesto, por lo que queda atrapado en el suelo de la columna y que es el compuesto nitrogenado que es más fácil (o rápido) de asimilar por las bacterias contenidas en el suelo y por ello no se lixivia tanto de él como de otros compuestos nitrogenados.

#### **5.4.4. Comparación de resultados con la columna #1**

Como se mencionó anteriormente, el análisis de los resultados en esta sección se hace considerando a la columna #1 como atípica. En la Figura 5.6 se observa de forma gráfica la comparación de los parámetros analizados en las columnas #2, #3 y #4 (promedio) con los valores obtenidos de la columna #1 durante los tratamientos 1 y 2.

En la gráfica comparativa de pH se observa que la columna #1 tiene tendencia básica, en cambio las columnas #2, #3 y #4 tienden a la acidificación.

El comportamiento de la columna #1 en las gráficas de turbiedad y DQO, muestra que existieron máximos en los mismos puntos: durante el T1 D1 y el Lix RP2, cosa que no se observa en las otras tres columnas; lo cual sugiere que en la columna #1 existía exceso de sólidos suspendidos de tipo inorgánico, de naturaleza diferente a los existentes en las otras tres columnas.

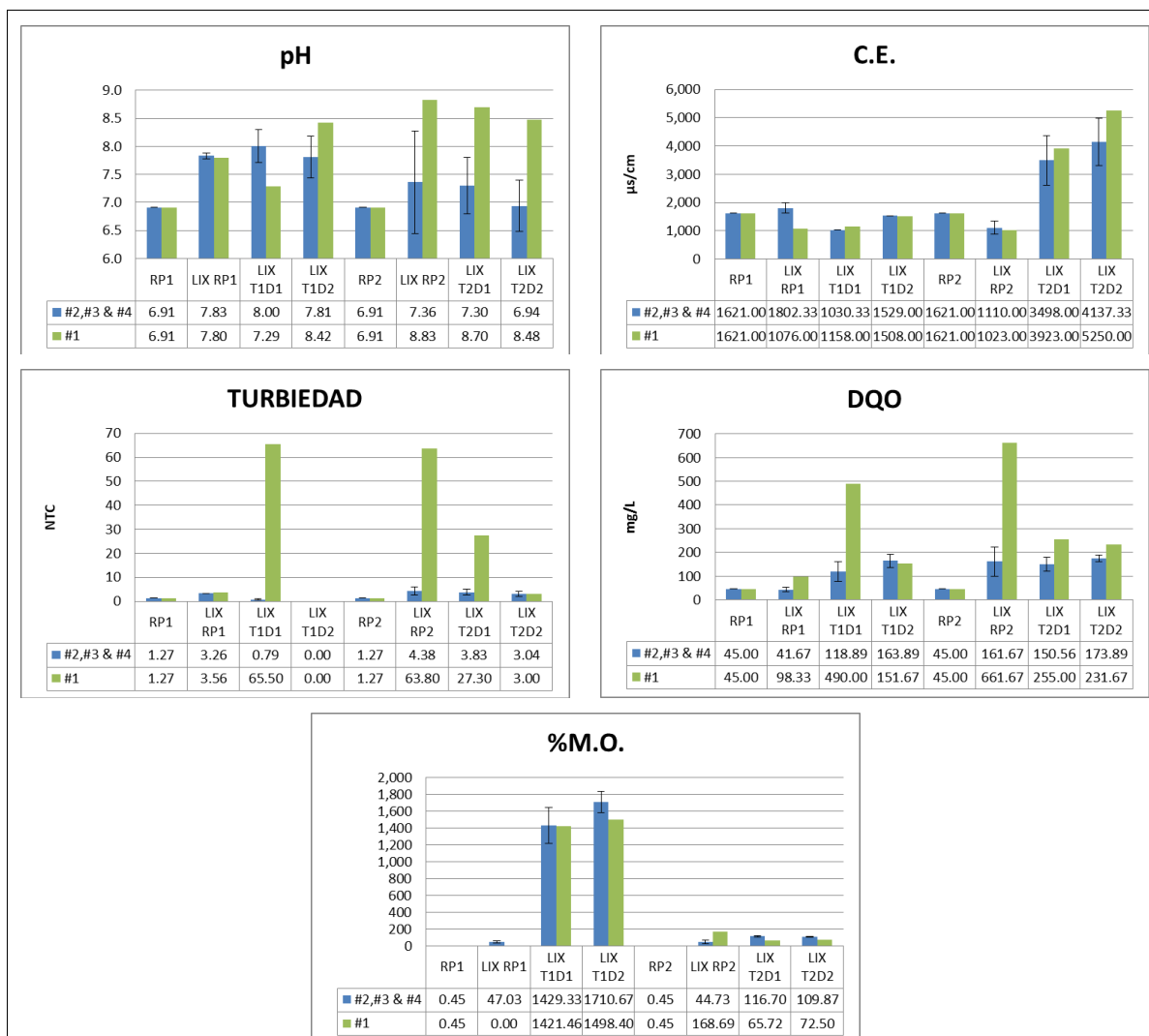


Figura 5.6 Comparativa de parámetros promedio de las columnas #2, #3 y #4 con columna #1 durante los tratamientos 1 y 2.

Por el contrario, el comportamiento respecto a la conductividad eléctrica (C.E.) y porcentaje de materia orgánica (% M.O.) es muy similar en las cuatro columnas.

En la Figura 5.7 se observa de forma gráfica la comparación de los compuestos nitrogenados analizados en las columnas #2, #3 y #4 (promedio) con los valores obtenidos de la columna #1 durante el tratamiento 1.

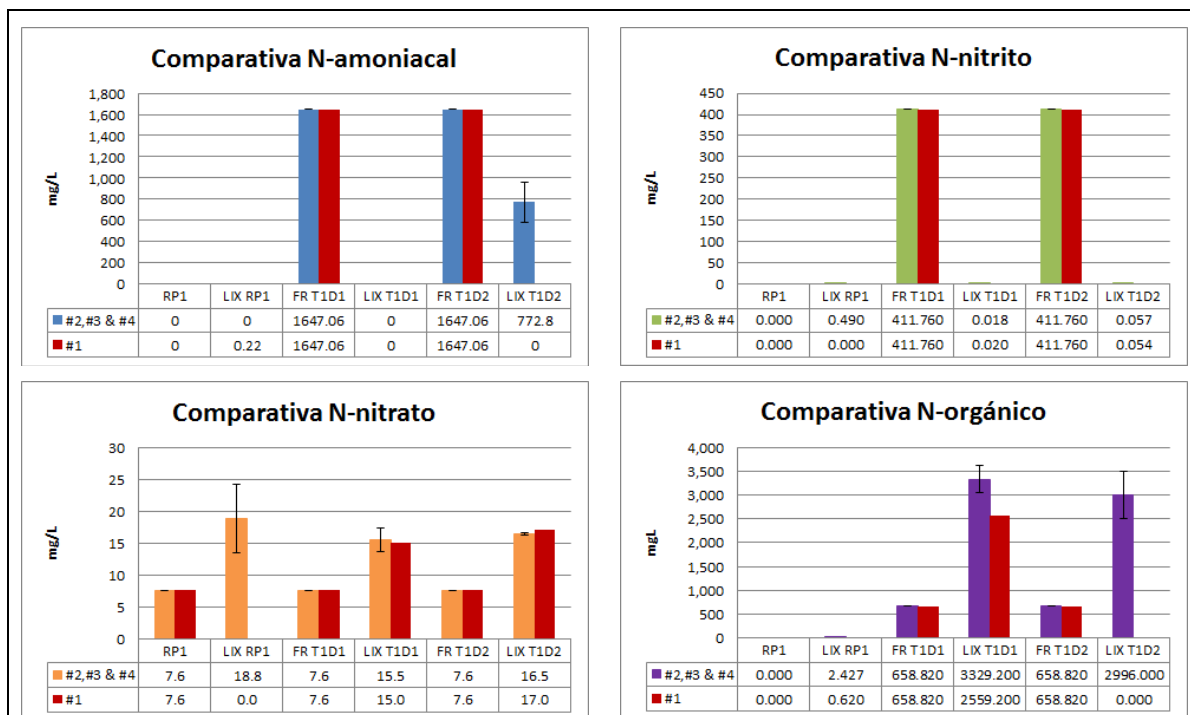


Figura 5.7. Comparativa de los compuestos nitrogenados analizados en las columnas #2, #3 y #4 (promedio) con los valores obtenidos de la columna #1 durante el tratamiento 1.

RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.

En la gráfica comparativa de N-amoniaco, se observa que en el Lix T1D2 de las columnas #2,#3 y #4 si existe presencia de este compuesto nitrogenado, en cambio la columna #1 a pesar de recibir en el fertirriego la misma cantidad de N-amoniaco, no manifiesta presencia de éste en sus lixiviados.

Se observa gráficamente que el comportamiento del N-nitrito es similar en las cuatro columnas.

La gráfica de N-nitrato muestra diferencia únicamente en el lixiviado del RP1 y después las cuatro columnas se comportan de manera similar.

La gráfica de N-orgánico muestra diferencia en el último punto (LIX T1 D1) donde la columna #1 no manifiesta presencia de éste. En cambio las columnas #2, #3 y #4 presentan una concentración de 2,996 mg/L.

En la Figura 5.8 se observa de forma gráfica la comparación de los compuestos nitrogenados analizados en las columnas #2, #3 y #4 (promedio) con los valores obtenidos de la columna #1 durante el tratamiento 2.

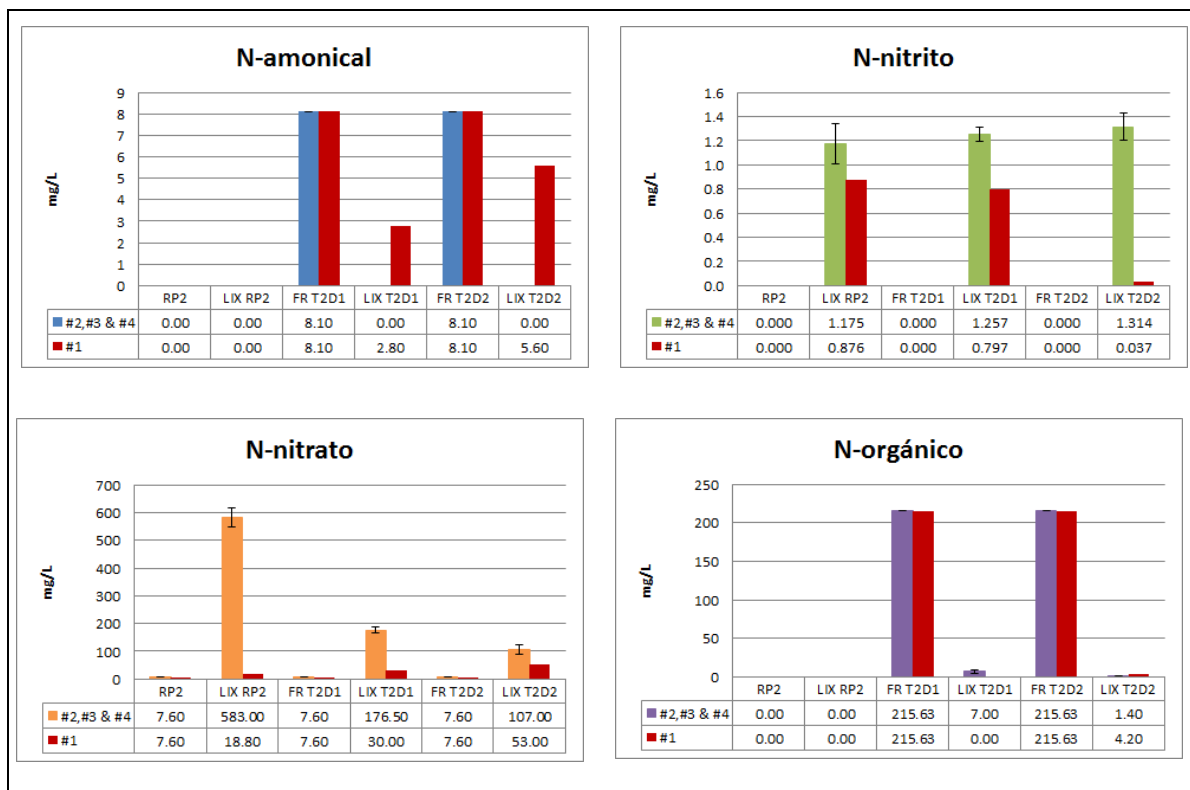


Figura 5.8 Comparativa de los compuestos nitrogenados analizados en las columnas #2, #3 y #4 (promedio) con los valores obtenidos de la columna #1 durante el tratamiento 2.

RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.

Se observa que la columna #1 en los lixiviados T2D1 y T2D2 si presenta N-amoniacal en los lixiviados de la columna #1, en cambio en los lixiviados de las columnas #2, #3 y #4 no presentan éste compuesto nitrogenado.

Los lixiviados de las columnas #2, #3 y #4 contienen mayor concentración de N-nitrito que los lixiviados de la columna #1.

La tendencia del lixiviado de N-nitrato en las columnas #2, #3 y #4 fue decreciente, y en la columna #1 fue creciente.

El comportamiento del N-orgánico fue similar en las cuatro columnas

## 5.5 Caracterización química del suelo

Al concluir el tratamiento 2, se procedió a desarmar las columnas y a analizar el suelo de cada una de ellas (ver Sección 4.3). La Tabla 5.6 muestra la comparativa entre los análisis iniciales del suelo procedente de la muestra alterada y los análisis finales del suelo, procedentes de las cuatro columnas de suelo.

Tabla 5.6 Análisis químicos iniciales y finales del suelo.

Parámetro	Unidad	Muestra Inicial	Promedio final
Conductividad eléctrica (C.E.)	$\mu\text{s}/\text{cm}$	680	$5,160 \pm 2,422.35$
pH		6.60	$5.50 \pm 0.6$
% Materia orgánica (% M.O)	%	1.07	$3.390 \pm 1.19$
Densidad aparente (D.A.)	$\text{g}/\text{cm}^3$	1.29	$1.480 \pm 0.156$
Nitratos	ppm	7.79	$822.15 \pm 414.66$
Fósforo	ppm	3.50	$77.99 \pm 39.81$

En la figura 5.8 se observa de forma gráfica, el comportamiento inicial y final de los parámetros analizados en el suelo, para las cuatro columnas de suelo.

La conductividad eléctrica es un indicador del contenido de sales en el suelo. En la gráfica de variación de conductividad eléctrica, se puede observar que la muestra inicial tuvo una C.E. de  $680 \mu\text{s}/\text{cm}$  y que en las muestras finales existió un aumento a  $5,420 \pm 1,058.58 \mu\text{s}/\text{cm}$ . Durante el desarrollo de los tratamientos, el incremento de la C.E. se debe a la incorporación de una cantidad de fertilizante superior a las absorbidas o lixiviadas (Bárbaro 2014).

El pH del suelo controla la movilidad de iones, precipitación y disolución de minerales, las reacciones redox, el intercambio iónico, la actividad microbiana y la disponibilidad de nutrientes (Sainz et al. 2011). En la gráfica de variación de pH se puede observar que la muestra inicial de suelo tuvo un pH de 6.6, (ligeramente ácido) y que en las muestras finales existió una disminución a  $5.95 \pm 0.981$  (moderadamente ácido). Según Sainz et al. (2011), la aplicación frecuente de fertilizantes contribuye a la disminución del pH del suelo y a la acidificación de éste.



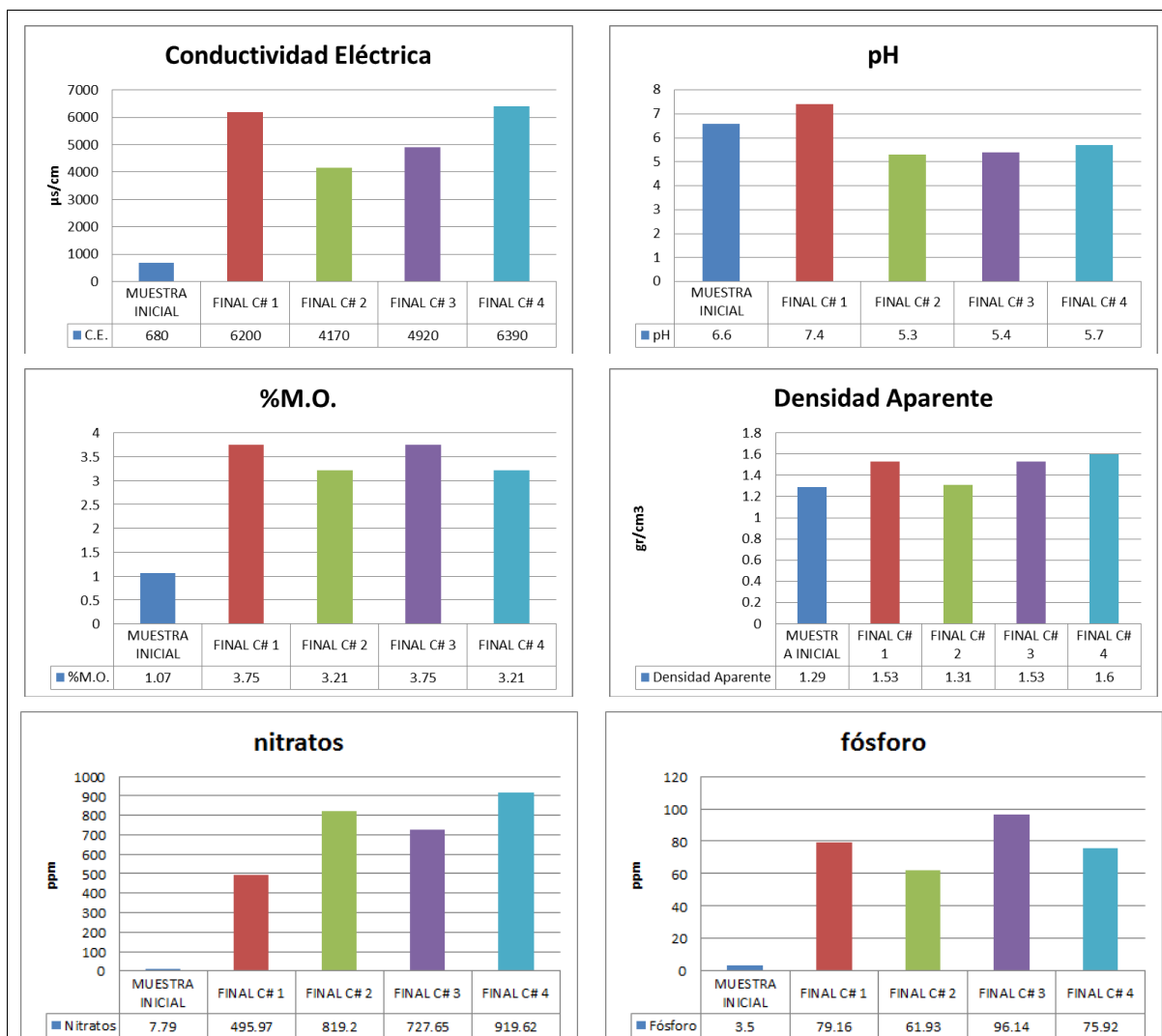


Figura 5.8 Comportamiento inicial y final de los parámetros analizados en las muestras de suelo.

El porcentaje de materia orgánica (% M.O.) es considerado como un indicador de salud del suelo. En la gráfica de variación de % de M.O. se puede observar que la muestra inicial de suelo tuvo un % M.O de 1.07 (bajo) y que en las muestras finales existió un aumento a  $3.48 \pm 0.312$  (medio). El aumento en el % M.O. se debe a la actividad de las bacterias, ya que sus desechos se convierten en materia orgánica. (Álvarez 2004).

La densidad aparente (D. A.) es una forma de evaluar la resistencia del suelo a la elongación de las raíces, varía con la textura del suelo y el contenido de materia orgánica; de igual forma, puede variar estacionalmente por efecto de labranzas y

con la humedad del suelo sobre todo en los suelos con arcillas expansivas (Taboada 2008). En la gráfica de variación de densidad aparente se puede observar que la muestra inicial de suelo tuvo una D. A. de  $1.29 \text{ g/cm}^3$  y que en las muestras finales existió un aumento a  $1.49 \pm 0.126 \text{ g/cm}^3$ . El incremento de la D.A. se debe al incremento en la humedad del suelo y al incremento en el % de M. O.

Utilizando los datos de D.A, se determinó la porosidad total (Pt) como se observa en la Tabla 5.7

Tabla 5.7 Porosidad total (Pt %) de las muestras de suelo.

Parámetro	Unidad	Muestra inicial	Muestras finales			
			C #1	C #2	C #3	C #4
D.A	$\text{g/cm}^3$	1.29	1.53	1.31	1.53	1.6
D.R.	$\text{g/cm}^3$	2.65	2.65	2.65	2.65	2.65
Pt	%	51.32	42.26	50.57	42.26	39.62

Se entiende por porosidad del suelo el volumen ocupado por las fases líquida y/o gaseosa; resulta la suma de la porosidad capilar (relacionada con retención de humedad) y de la porosidad no capilar (intercambio gaseoso) (Crespo-Villalaz 1995). Con los datos obtenidos en laboratorio, difícilmente se puede hacer el cálculo de la porosidad no capilar, sin embargo, de la Pt se puede deducir que hubo una disminución en el intercambio gaseoso, por lo que el contenido de oxígeno en las columnas de suelo debió disminuir gradualmente con cada tratamiento.

En la gráfica de variación de N-nitratos se puede observar que la muestra inicial de suelo tuvo 7.79 ppm (bajo) y que en las muestras finales existió un aumento a  $740.61 \pm 180.958$  (muy alto), debido a la absorción y acumulación de N-nitratos proveniente de las transformaciones de los compuestos nitrogenados sufridas en el suelo y al suministro de N-nitratos durante los fertirriegos.

En la gráfica de variación de fósforo se puede observar que la muestra inicial de suelo tuvo 3.5 ppm (bajo) y que en las muestras finales existió un aumento a  $78.29 \pm 14.055$  (muy alto), esto debido al suministro de fósforo durante los fertirriegos.

## 5.6 Estudio de comunidades microbianas

El estudio de las comunidades bacterianas presentes en el medioambiente tiene una enorme relevancia en cuanto al conocimiento de la diversidad biológica global y de los ciclos biogeoquímicos en los que intervienen. Se obtuvo la diversidad y abundancia de bacterias y hongos presentes en el suelo estudiado y se identificó aquellos microorganismos involucrados en algún proceso en el ciclo del nitrógeno. Se encontraron un total de 44 bacterias en la muestra de la columna #1 y 59 en la muestra compuesta del suelo de las columnas #2, #3 y #4. Se identificó que el 85.78% en la muestra de la columna #1 y el 65.42% en la muestra compuesta del suelo de las columnas #2, #3 y #4 de ellas participan en algún proceso dentro del ciclo del nitrógeno. En la Tabla 5.8 se observan las bacterias que tienen mayor presencia en ambas muestras (>0.1 %), se describe también sus características o parte del proceso que dentro del ciclo del nitrógeno en el que intervienen. En el anexo III se puede observar la tabla con los resultados completos de hongos y bacterias.

La relación de los microorganismos con la parte del proceso del ciclo del nitrógeno en donde intervienen, se basó en la información proporcionada por la enciclopedia de genes y genomas de Kyoto (KEGG 2017), la cual es una base de datos para comprender funciones de alto nivel y utilidades del sistema biológico, a partir de información de un conjunto de datos moleculares a gran escala generados por la secuenciación del genoma y otras tecnologías experimentales de alto rendimiento.

En la tabla 5.8 también se pueden observar las tres principales divisiones de bacterias presentes en las muestras de suelo agrícola: actinobacterias, bacterioidetes y proteobacterias. Las actinobacterias son un grupo de bacterias trascendentales en la ecología del suelo porque llevan a cabo la función de reciclar la materia orgánica acumulada. Asimismo, son microorganismos importantes por la capacidad de producir una amplia gama de enzimas extracelulares y una gran variedad de metabolitos secundarios (Medina et al. 2010). Se encontraron dos especies: *Actinoallomurus oryzae*, presente sólo en la

muestra de la columna #1, y *Sporichthya sp.*, presente en ambas muestras de suelo, ésta última no se encuentra asociada al ciclo del nitrógeno.

Tabla 5.8. Bacterias con mayor porcentaje de presencia en las muestras de suelo. C1= Columna 1 y MC= Muestra compuesta de columnas # 2, # 3 y # 4.

División	Género / especie	% C1	% MC	Característica/ proceso del ciclo de N	Fuente
Actinobacteria	<i>Actinoallomurus oryzae</i>	0.00	3.71	Actinomiceto endófito	Indananda et al. 2011
Actinobacteria	<i>Sporichthya sp.</i>	1.39	1.58	Bacteria asociada al consumo de isopreno	Gray et al. 2015
Bacteroidetes	Orden: Sphingobacteriales	22.53	15.99	Reducción asimilativa de nitrato a amoníaco	KEGG PATHWAY Database 2017
Proteobacteria	<i>Alicyclophilus denitrificans</i>	25.51	0.33	Reducción asimilativa de nitrato a amoníaco	KEGG PATHWAY Database 2017
Proteobacteria	<i>Dokdonella sp.</i>	0.00	24.84	Bacteria denitrificante	Han et al. 2016
Proteobacteria	<i>Brevundimonas sp.</i>	13.99	1.17	Reducción asimilativa de nitrato a amoníaco	KEGG PATHWAY Database 2017
Proteobacteria	<i>Frateuria terrea</i>	0.00	6.84	Bacteria indicadora de hidrocarburos	Villalobos-Zapata y Mendoza-Vega 2010
Proteobacteria	<i>Rhodomicrobium sp.</i>	4.87	2.25	Reducción asimilativa de nitrato a amoníaco	KEGG PATHWAY Database 2017
Proteobacteria	Clase: Alpha proteobacteria	0.82	4.14	Algunas forman simbiosis fijadora de N con leguminosas	Wolde-Meskel et al. 2005
Proteobacteria	<i>Delftia sp.</i>	3.64	0.50	Reducción asimilativa de nitrato a amoníaco	KEGG PATHWAY Database 2017
Proteobacteria	<i>Ramlibacter sp.</i>	0.41	3.33	fijación biológica de nitrógeno ATM a través de la interacción simbiótica con plantas (soya)	Ángeles-Núñez y Cruz-Acosta 2015
Proteobacteria	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	2.66	1.40	Reducción asimilativa de nitrato a amoníaco	KEGG PATHWAY Database 2017
Proteobacteria	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	2.48	0.20	Reducción asimilativa de nitrato a amoníaco y desnitrificación, nitrato a nitrógeno	KEGG PATHWAY Database 2017
Proteobacteria	<i>Pseudaminobacter defluvii</i>	1.14	2.28	Forman simbiosis fijadora de N con leguminosas	Wolde-Meskel et al. 2005
Proteobacteria	<i>Mesorhizobium sp.</i>	2.16	0.42	Reducción asimilativa de nitrato a amoníaco	KEGG PATHWAY Database 2017
Unclassified	Unclassified (Reino: Bacteria)	0.66	5.35		

Los bacteroidetes son bacterias copiotrofas, forman parte del grupo de bacterias oportunistas del suelo, que se caracterizan por consumir principalmente formas

lábil de carbono, requerir concentraciones nutricionales elevadas y exhibir tasas de crecimiento y actividad también elevadas. Pueden ser considerados como un indicador directo de que se han llevado a cabo prácticas agrícolas (Nadal-Rocamora 2016). Se encontró un solo tipo de bacteroidete, del orden Sphingobacteriales en ambas muestras de suelo analizadas, la cual se encontró asociada en el ciclo del nitrógeno, ya que en KEGG (2017) ha sido reportada como reductiva- asimilativa de nitrato, de nitrato a amoníaco.

Las proteobacterias son un grupo de bacterias extenso y complejo, contiene alrededor de 1300 especies en 384 géneros. Todas están relacionadas desde el punto de vista filogenético pero son muy variables en cuanto a morfología, fisiología y modo de vida. Están representados todos los tipos nutricionales principales: fotótrofos, heterótrofos y quimiolitotrofos. El filum se divide en cinco grupos en función de las secuencias del RNAr, y preferencias nutricionales (Martin-Sánchez 2017). Se encontraron principalmente 14 especies diferentes en ambas muestras, 11 en la muestra de suelo de la columna #1 y 13 en la muestra compuesta de suelo de las columnas #2, #3 y #4 asociadas con el ciclo de nitrógeno.

De forma gráfica, en la Figura 5.9 se pueden observar las bacterias que se encontraron asociadas al ciclo de nitrógeno, así como el proceso y la transformación que realizan dentro de él. Se incluye el porcentaje presente dentro de cada muestra.

Se aprecia que el porcentaje de bacterias presentes en las muestras de suelo varían considerablemente, lo cual se refleja en los resultados obtenidos de los lixiviados, donde la columna #1 mostró comportamientos diferentes a las otras tres columnas.

Con los resultados obtenidos del análisis de secuenciación masiva, se demuestra la existencia de transformaciones entre compuestos nitrogenados, sobre todo hacia N-nitratos en el interior de las columnas de suelo. Además, como se puede observar, las bacterias reductoras (encargadas de la transformación de N-nitrato a

amoniaco) son las más abundantes, sobre todo dentro de la muestra de la columna #1.

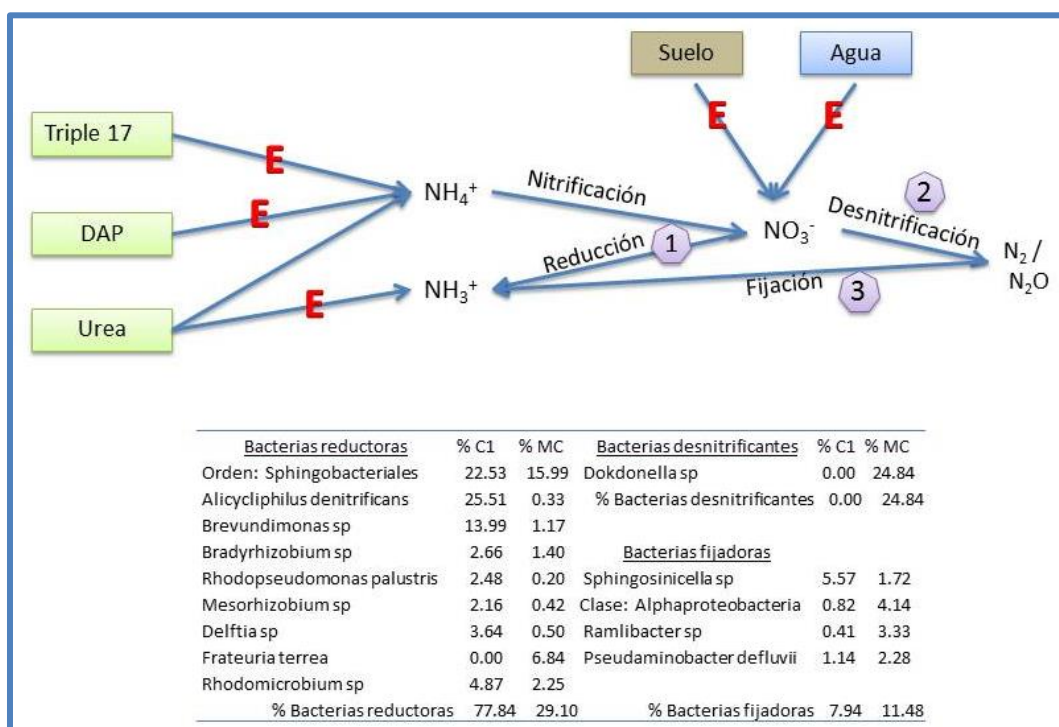


Figura 5.9. Procesos del ciclo de nitrógeno y bacterias asociadas a él presentes en las muestras de las columnas de suelo. C1= Columna #1 y MC= Muestra compuesta de columnas #2, #3 y #4.

Del total de hongos hallados en la muestra compuesta de suelo procedente de las columnas, ninguno de ellos, de acuerdo a la literatura, interviene en el ciclo del nitrógeno. En la Tabla 5.9 se observan los de mayor presencia en cada una de las muestras.

El hongo *Cladophialophora carrionii*, hallado únicamente en la columna #1, es causante de micosis (dermatitis verrugosa) que afecta la piel y el tejido subcutáneo, es conocido como hongo dematiáceo que tiene como vía de entrada la piel que ha sufrido una herida (inoculación traumática). Estos organismos se han aislado de materia vegetal en descomposición, de la madera y del suelo y se presentan con mayor frecuencia en países con clima tropical y subtropical, especialmente entre la gente que vive en el medio rural, que no usa calzado y por lo tanto en quienes las heridas con vegetales o algún otro material contaminado

son comunes y repetitivas (Hernández 2015). Es un tipo de hongo saprófito, es decir, desarrollan todo su ciclo vital sobre materia orgánica inerte, principalmente de origen vegetal, ya que pueden colonizar cualquier tipo de sustrato orgánico (Cuesta 2017) y tiene coloración marrón.

Tabla 5.9. Organismos del reino fungi presentes en las muestras de suelo. C1= Columna #1 y MC= Muestra compuesta de columnas #2, #3 y #4.

División	Genero / especie	% C1	% MC
Ascomycota	<i>Cladophialophora carrionii</i>	30.84	0.00
Ascomycota	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	27.35	0.00
Ascomycota	<i>Phialosimplex salinarum</i>	0.64	0.00
Ascomycota	<i>Scedosporium boydii</i>	0.00	1.70
Ascomycota	Unclassified	0.00	0.76
Basidiomycota	<i>Malassezia</i>	0.11	0.00
Glomeromycota	<i>Acaulospora scrobiculata</i>	0.11	0.00
Unclassified	Unclassified	0.00	87.27

## 6. CONCLUSIONES

- Las principales transformaciones que se pudieron constatar respecto al ciclo de nitrógeno en las columnas de suelo fueron: reducción, nitrificación, desnitrificación, fijación y lixiviación. La volatilización no se midió y no hay evidencia de que se hubiese dado inmovilización.
- Los datos analizados mostraron que es imperante cuidar la dosis y la aplicación de fertilizantes en los suelos agrícolas, ya que se demuestra que en cantidades abundantes, los compuestos nitrogenados llegan a ser una fuente considerable de contaminación por nitratos tanto del suelo como del acuífero.
- Se encontraron tres grupos principales de bacterias involucradas en los procesos del ciclo del nitrógeno en el metagenoma del suelo: bacterias de fijadoras de nitrógeno, bacterias reductoras y bacterias desnitrificantes, sin embargo, los resultados en los lixiviados y el suelo, demuestran que hubo transformación hacia N-nitratos, por lo que debió existir nitrificación en algún punto de las transformaciones dadas.



## 7. RECOMENDACIONES

- Hacer un análisis inicial del metagenoma del suelo, para poder comparar los porcentajes de bacterias presentes al inicio y al final del experimento.
- Realizar dentro de los análisis químicos al suelo medición de  $\text{NH}_3^+$  y  $\text{NH}_4^+$ .
- Incorporar la medición de la volatilización del  $\text{NH}_3^+$  y el  $\text{N}_2$ .

## 8 REFERENCIAS

Alcocer J., Lugo A., Sánchez M., Escobar E. (1999) Contaminación del agua subterránea en la península de Yucatán, México. "Revista UNAM Imagen Veterinaria", 1(1) 41-50.

Álvarez J. (2004) Actividad microbiana del suelo bajo diferentes sistemas de producción de maíz en los altos de Chiapas, México. "Agrociencia", 38(1)13-22.

Ángeles-Núñez J. G., Cruz-Acosta T. (2015) Aislamiento, caracterización molecular y evaluación de cepas fijadoras de nitrógeno en la promoción del crecimiento de frijol en "Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas", 6(5) 929-942.

ASTM D 2487 (1994). Standard classification of soils for engineering purposes (Unified Soil Classification System). Annual Book of ASTM Standards, ASTM International, West Conshohocken, PA.

ASTM D 4318 (1994). Standard test method for liquid limit, plastic limit and plasticity index of soils. Annual Book of ASTM Standards, ASTM International, West Conshohocken, PA.

ASTM D-6913 (1994). Test methods for particle-size distribution (graduation) of soils using sieve analysis. Annual Book of ASTM Standards, ASTM International, West Conshohocken, PA.

Auge M. (2004) Vulnerabilidad de acuíferos. Conceptos y Métodos. Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria Pabellón 2, Buenos Aires, Argentina. E-book disponible en: <http://tierra.rediris.es/hidrored/ebvulnerabilidad.html>. Recuperado en mayo de 2017.

Avilés W., Dzib R., Pereyra G. (2010). Manual para la producción de chile habanero Capsicum Chinense Jacq. en Yucatán, a campo abierto y bajo estructuras de protección. INIFAP. C.E. Centro Regional del Sureste. Mocochá, Yucatán.

Bárbaro L. (2014) Importancia del pH y la Conductividad Eléctrica (CE) en los sustratos para plantas. INTA, Argentina.

Bautista F., Maldonado D., Zinck A. (2012). La clasificación maya de suelos. "Ciencia y Desarrollo". Editorial, Ciencia y tecnología: CONACYT. Disponible en línea: <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/260/articulos/clasificacion-maya-suelos.html>

Beddows P., Blanchon P., Escobar-Briones E, Torres-Talamante O. (2007) Los cenotes de la península de Yucatán, "Arqueología Mexicana", 14(83) 32-35.

Carbonell A. (1993). Groundwater vulnerability assessment: predicting relative contamination potential under conditions of uncertainty. en "National Research Council. National Academy Press" 1-204. Washington DC.

CCPY (2012) Comité técnico de aguas subterráneas para la zona metropolitana de Mérida (COTASMEY). Consejo de cuenca Península de Yucatán. 31p

Cencur-Curk B, Pintar M, Veselic M. (2001). Study of agricultural pollution at in-situ rock lysimeter at karstic Trnovo plateau in Slovenia, "Gumpensteiner Lysimetertagung" 24(25) 127-130.

CFA (1995). Manual de fertilización para horticultura. California Fertilizer Association, México, Editorial, Limusa.

Covenin 2193-84 (1984). Agua Potable. Determinación de nitratos. Fondonorma. Caracas, Venezuela.

Crespo-Villalaz C. (1995) Mecánica de suelos y cimentaciones. Editorial Limusa. México D.F.

Cuesta (2017) Ecología y hábitar de los hongos. Hongos saprófitos. Disponible en: [www.amanitacesarea.com/guia\\_ecologica2.html](http://www.amanitacesarea.com/guia_ecologica2.html). Recuperado en octubre de 2017.

Custodio E. (1995). Consideraciones sobre el concepto de vulnerabilidad de los acuíferos a la polución en "II Seminario Hispano – Argentino sobre Temas Actuales de Hidrología Subterránea". Serie Correlación Geológica (11): 99-122.

Dousset S., Thevenot M., Schrack D., Gouy V., Carver N. (2010) Effect of grass cover on water and pesticide transport through undisturbed soil columns, comparison with field study (Morcille watershed Beaujolais). "Environmental Pollution Elsevier", 158(7) 2446-53.

Durán R., Méndez M. (2010) Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA.

Eastmond A, García A. (2010) Impacto de los sistemas agropecuarios sobre la diversidad, en “Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatán. Contexto social y económico”. SEDUMA, 98-194.

FAO (2002) Agua y cultivos. Logrando el uso óptimo del agua en la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y alimentación. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/y3918s/y3918s00.htm#TopOfPage> . Recuperado en marzo de 2017.

FAO (2017). Portal de suelos de la FAO. Definiciones clave. Disponible en: <http://www.fao.org/soils-portal/about/definiciones/es/> Recuperado en marzo de 2017.

Foster S., Hirata R. (1991). Determinación del riesgo de contaminación de aguas subterráneas, una metodología basada en datos existentes. Segunda edición, Organización Panamericana de la Salud, Lima, Peru, 1-81.

Fuentes F., Massol-Deya A. (2002). Manual de Ecología Microbiana. Departamento de Biología. Universidad de Puerto Rico. Puerto Rico.

Garg A., Gupta A., Rani A. (2014). The leaching kinetics of nitrate in soil using glass column method. “International Journal of Innovate Research in Science, Engineering and Technology”, 3(5) 12486-12495.

Genti S. (2013) Metagenómica: más allá del genoma de los microorganismos. “Bitácora Digital” Facultad de ciencias Químicas, I, 1-6.

González-Camero A. (2012). Contexto del Sector Rural y Pesquero en Diagnóstico del sector rural y pesquero (Capítulo 1). En: “Identificación de la problemática del sector agropecuario y pesquero de México”. Revisores técnicos: Espinoza A., Benítez E., Santoyo H., Verdín J., Vidal L. Secretaría de Agricultura, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Ciudad de México, 1-49.

Gonzalez-Herrera R., Martinez-Santibañez E., Pacheco-Avila J., Cabrera-Sansores A. (2014). Leaching and dilution of fertilizers in the Yucatan karstic aquifer. "Environmental Earth Sciences", 72(8), 2879-2886.

Gray C. M., Helmig D., Fierer N. (2015). Bacteria and fungi associated with isoprene consumption in soil. "Elementa, Science of the Anthropocene", (3)53.

Han S.-I., Kim J.-O., Lee Y.-R., Ekpeghere K.I., Koh S.-C., Whang K.-S. (2016) Denitratimonas tolerans gen. nov., sp. Nov., a denitrifying bacterium isolated from a bioreactor for tannery wastewater treatment. "Antonie van Leeuwenhoek. Journal of Microbiology", 109(6)785-792.

Hernández F. (2015). Cromoblastomycosis. Departamento de microbiología y parasitología – Recursos en Micología. UNAM. Disponible en: [www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/cromoblastomycosis.html](http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/cromoblastomycosis.html).

Recuperado el 17 de mayo de 2017.

Hernández-León R., Velázquez-Sepúlveda I., Orozco-Mosqueda M.C., Santoyo G. (2010). Metagenómica de suelos: grandes desafíos y nuevas oportunidades biotecnológicas en "Revista internacional de botánica experimental" 79, 133-139.

Holzman R.L. (2015). Relación suelo-planta-agua. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Ediciones INTA, Argentina.

Imache A., Dousset S., Satrallah A., Dahcher A. (2012) Effects of sewage sludge amendments on pesticides sorption and leaching through undisturbed Mediterranean soils. "Journal of Environmental Science and Health part B" 47(3) 161-167.

Indananda C., Thamchaipenet A., Matsumoto A., Inahashi Y., Duangmal K., Takahashi Y. (2011). Actinoallomurus oryzae sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from roots of a Thai jasmine rice plant. "International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology", 61, 737-741.

INEGI (2002). Estudio Hidrológico del estado de Yucatán, primera edición, Editorial del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, Aguascalientes, Ags.

INEGI (2009) Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Santa Elena, Yucatán. Clave geo-estadística 31066.

INEGI (2015) Anuario geográfico y estadístico de Yucatán 2015. Serie Conociendo México, Editorial del Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Aguascalientes, Ags.

Jara A. (2012). Los fertilizantes y sus efectos ambientales. En "Agricultura y contaminación del agua", UNAM. Instituto de Investigaciones Económicas, México, 207-231.

Jemison J. M, Fox R. H. (1994). Nitrate leaching from nitrogen-fertilized and manured corn, "Journal of Environmental Quality ", 23, 337-343.

Juárez-Badillo E., Rico-Rodríguez A. (2014) Mecánica de suelos, tomo I. Fundamentos de mecánica de suelos. Tercera Edición, Editorial Limusa, México.

KEGG (2017.) Wiring diagrams of molecular interactions, reactions, and relations. KEGG PATHWAY Database. Disponible en: <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>. Recuperado en mayo de 2017.

Knappe S. Haferkorn U., Meissner R. (2002) Influence of different agricultural management systems on nitrogen leaching results of lysimeters studies. "Journal of Plant Nutrition and Soil Science" 165, 73-77.

Marcano L, Elizalde G. (2010) Nitrato lixiviado de columnas de suelo sin disturbar, pertenecientes a dos suelos de la cuenca del lago de Valencia. "Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V.", 25(2) 67-72.

Martínez-Gaspar F.J., Ojeda-Barrios D.I., Hernández-Rodríguez A., Martínez-Téllez J.J., De la O-Quezada G. (2011). El exceso de nitratos: Un problema actual en la agricultura, Synthesis, 11-16.

Martin-Sánchez I. (2017.) Diversidad microbiana y taxonomía. Universidad de Granada. Página Web del Departamento de Microbiología de la UGR. Disponible en: [http://www.diversidadmicrobiana.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=145&Itemid=105](http://www.diversidadmicrobiana.com/index.php?option=com_content&view=article&id=145&Itemid=105) Recuperado el 17 de mayo de 2017.

McIroy, I.C., Angus C.E. (1963) The Aspendale multiple weighed lysimeter installation. CSI-RO Div. Meteorol. Physics Tech Pap., Melbourne, Australia.

Medina H., Evangelista Z. (2010) Aislamiento y búsqueda de actinobacterias del suelo productoras de enzimas extracelulares y compuestos con actividad antimicrobiana. en "U. Tecnociencia" 5(1) 72-78.

Medina S. J. (1993). Riego por goteo. Teoría y práctica. Ediciones multiprensa.

Miguel-Fernández C., Vázquez-Taset Y. M. (2006). Origen de los nitratos (NO<sub>3</sub>) y nitritos (NO<sub>2</sub>) y su influencia en la potabilidad de las aguas subterráneas en "Minería y Geología", 22(3)1-9.

Nadal-Rocamora I. (2016). Alteraciones fisiológicas, metabólicas y de la composición de las poblaciones bacterianas de la microbiota de un suelo agrícola tras la aplicación de residuos orgánicos urbanos. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

NMX-AA-008-SCFI-2011 (2011). Análisis de agua - determinación del pH - método de prueba. Secretaría de Economía, México, D.F.

NMX-AA-017-1980 (1980). Aguas. Determinación de color. Secretaría de comercio y fomento industrial. México, D.F.

NMX-AA-026-SCFI-2010 (2010). Análisis de agua - medición de nitrógeno total Kjeldahl en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Secretaría de Economía, México, D.F.

NMX-AA-030/2-SCFI-2011 (2011). Análisis de agua - determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba - parte 2 - determinación del índice de la demanda química de oxígeno – método de tubo sellado a pequeña escala. Secretaría de Economía, México, D.F.

NMX-AA-038-SCFI-2001 (2001) Análisis de agua - determinación de turbiedad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Secretaría de Economía, México, D.F.

NMX-AA-093-SCFI-2000 (2000). Análisis de agua - determinación de la conductividad electrolítica - método de prueba. Secretaría de Economía, México, D.F.

NMX-AA-154-SCFI-2011 (2011). Análisis de agua – determinación de nitrógeno de nitritos en aguas naturales, residuales, residuales tratadas y marinas– método de prueba. Secretaría de Economía, México, D.F.

NOM-021-RECNAT-2000 (2000). Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis. Norma Oficial Mexicana. SEMARNAT, México, D. F.

Owens L., Edwards W., Van Keuren R. (1999) Nitrate leaching from grassed lysimeters treated with ammonium nitrate or slow-release nitrogen fertilizer. "Journal of Environmental Quality", 28, 1810-1816.

Peña C., Quijano D. (2010) Modelación del Nitrógeno en la cuenca alta del río Siecha para establecer procesos de transformación del Nitrógeno. Universidad de la Salle, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Bogotá D. C., 27-31

Pérez E. R. (2012). La contaminación agrícola del agua: aspectos generales y teoría, en "Agricultura y contaminación del agua", México: UNAM Instituto de Investigaciones Económicas, 25-44.

Pérez-Ceballos R., Pacheco-Avila J. (2004). Vulnerabilidad del agua subterránea a la contaminación de nitratos en el estado de Yucatán, en "Ingeniería" 8(1), 33-42.

Rojas-Fabro A.Y., Pacheco-Ávila J.G., Esteller-Alberich A.B., Cabrera-Sansores S.A., Camargo-Valero M.A. (2015). Spatial distribution of nitrate health risk associated with groundwater use as drinking water in Merida-México, "Applied Geography", 49-57.

Rojas-Herrera R., Narváez-Zapata J., Zamudio-Maya M., Mena-Martínez M. (2008). A Simple Silica-based Method for metagenomic DNA Extraction from soil and sediments. "Molecular Biotechnology". 40: 13-17.



Sainz H., Echeverría H., Angelini H. (2011) Niveles de materia orgánica y pH en suelos agrícolas de la región de Pampaena y Extrapampaena Argentina en "Información agronómica de Hispanoamérica". IPNI (2) 6-12.

Sánchez C. (2016). Estimación de parámetros en modelos de transporte de agua y nitrógeno en el suelo. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, 7-12

Santa-Olalla-Mañas F.J.M (2005). Agua y Agronomía. Primera edición. Editorial: Mundi-Prensa Libros. Barcelona, España.

Scholefield K., Tyson K., Garwood R., Armstrong A., Hawkings J., Stone C. (1993) Nitrate leaching from grazed grassland lysimeters: effects of fertilizer input, field drainage, age of sward and patterns of weather. "Journal of soil Science", (44) 601-613.

SEDER-INIFAP (2002). Papaya maradol, paquete tecnológico. 19p

SEMARNAT (2012). Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

SGM - INEGI (2006). Carta geológica minera Mérida F16-10. Servicio Geológico Mexicano. Pachuca, Hidalgo.

Taboada, M. (2008) Fertilidad física de los suelos. 2da Ed. Editorial Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

Tannen, C.B. (1967) Measurement of evapotranspiration. En "Irrigation of Agricultural Lands", Hagan et al (editors), editorial ASA, Madison Wisconsin.

Torres-Díaz M.C., Basulto-Solis Y.Y., Cortés-Esquivel J., García-Uitz K., Koh-Sosa A., Puerto-Romero F., Pacheco-Avila J. (2014) Evaluación de la vulnerabilidad y el riesgo de contaminación del agua subterránea en Yucatán. "Ecosistemas y Recursos Agropecuarios", 1(3):189-203.

Ulén B. (1999) Leaching and balances of phosphorus and others nutrients in lysimeters and other nutrients after application of organic manures of fertilizers. "Soil use and management", 15, 56-61.

Villalobos-Zapata, G. J., Mendoza-Vega J. (Coord.), (2010). La Biodiversidad en Campeche: Estudio de Estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (CONABIO), Gobierno del estado de Campeche, Universidad Autónoma de Campeche, El Colegio de la Frontera Sur. México.

Vinten A., Smith K. A. (1993). Nitrogen cycling in agricultural soils. En: "Nitrate: processes, patterns and management", Edinburgh: Wiley, 39-69

Vrba J., Zaporozec A. (1994). Guidebook on mapping groundwater vulnerability. En: Contributions to Hydrogeology Series, Volume 16 of IAH., editorial: Heise, Hannover, 1-131.

Wolde-Meskel E., Terefework Z., Frostegård A., Lindström K. (2005). Genetic diversity and phylogeny of rhizobia isolated from agroforestry legume species in southern Ethiopia. "International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology", 55, 1439–1452.

Zhou J.B., Xi J.G., Chen Z.J., Li S.X. (2006) Leaching and transformation of nitrogen fertilizers in soil after application of N with irrigation: a soil column method. "Soil Science Society of China"; 16(2): 245-252.

## ANEXOS

### **ANEXO I Modificación a protocolo para la extracción de ADN de muestras de suelo agrícola con el método de lisis in situ y adsorción en sílice (Rojas-Herrera et. al., 2008)**

1. Pesar 0.6 g en peso fresco de suelo agrícola en un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL estéril, en el número de réplicas necesarias para la extracción y concentración de ADN metagenómico.
2. Conservar la muestra en refrigeración a 4 °C si se continuará al día siguiente la extracción.

#### **Lavados**

3. Añadir 1 mL de buffer TEN (Tris-HCl 100 mM pH 8.0, NaCl 500 mM, EDTA 50 mM pH 8.0).
4. Homogeneizar en vortex por 1 minuto.
5. Centrifugar 10 minutos a 10 000 x g a 4 °C. Descartar el sobrenadante.
6. Repetir los pasos 4, 5 y 6 por 2 veces más.
7. Se añade 1 mL de buffer TEN 2X EDTA (Tris-HCl 100 mM pH 8.0, NaCl 500 mM, EDTA 100 mM pH 8.0) para realizar el lavado durante las 2 últimas veces.
8. Si el lavado está casi limpio, continuar con la extracción de ADN.

#### **Extracción y purificación del ADN**

9. Añadir 1 mL de buffer TEN a la muestra y agitar en vortex por 30 segundos.
10. Añadir 20 mL de la solución de lisozima (20 mg/mL en buffer TE) a la muestra.
11. Incubar a 37 °C por 1 hora. Agitando suavemente cada 10 min.
12. Incubar 10 minutos en un baño de hielo después incubar 5 minutos en un baño a 65 °C. Repetir cinco veces este ciclo.
13. Añadir 100 mL de SDS 20 % y agitar en vortex por 1 minuto.
14. Incubar 30 minutos a 30 °C.
15. Centrifugar 10 min a 10 000 x g a temperatura ambiente.

16. Pasar el sobrenadante (NOTA: solamente 1 mL) a un tubo de microcentrífuga nuevo y añadir 500 mL de acetato de potasio 5M (Nota: Normalmente se forma un sólido grumoso flotante).
17. Incubar 5 minutos a 65 °C y 20 minutos a baño de hielo (NOTA: Después de este paso se puede congelar la muestra y reservar para continuar al día siguiente).
18. Centrifugar 30 minutos a 20 000 x g a 4 °C.
19. Pasar el sobrenadante a un tubo de microcentrífuga nuevo y se volvió a centrifugar 5 minutos a 20 000 x g a 4 °C para limpiar más la muestra, si la muestra sale limpia de este paso, continuar, si no, pasar el sobrenadante a un tubo nuevo.
20. Añadir 200 mL de la suspensión de SiO<sub>2</sub> (NOTA: Volver a suspender).
21. Agitar por inversión durante 3 minutos.
22. Centrifugar por 2 minutos a 16 000 x g a temperatura ambiente. Desechar el sobrenadante.
23. Lavar la pastilla 4 veces con 1 mL de etanol 70 % (NO AGITAR) centrifugando cada vez 2 minutos a 16 000 x g a temperatura ambiente.
24. Dejar evaporar el alcohol manteniendo los tubos abiertos boca abajo sobre papel estéril por 10 min sobre la mesa. (NOTA: después de este paso se pueden tapar los tubos y refrigerar a -20 °C para continuar al día siguiente.)
25. Volver a suspender la pastilla en 35 mL de agua destilada estéril (NOTA: No agitar rudamente, solo un ligero golpeteo con la punta del dedo índice hasta que la solución se torne lechosa y pasar al siguiente paso).
26. Incubar 5 minutos a 55 °C con agitación ocasional.
27. Centrifugar por 5 minutos a 16 000 x g a temperatura ambiente.
28. Pasar el sobrenadante a un tubo nuevo cuidando de no tomar sílice. (aquí es donde se reconstituyó en un sólo tubo todas las muestras que son réplicas de una misma muestra de suelo).
29. Se centrifuga nuevamente la muestra por 5 minutos a 16 000 x g a temperatura ambiente para limpiar la sílice que pudiese llevarse durante la recuperación del sobrenadante del paso anterior.

30. Se pasa el sobrenadante a un tubo de microcentrífuga nuevo.
31. Guardar los tubos en congelación (-20 °C) y bien etiquetados para análisis posteriores de calidad en gel de agarosa y cuantificación (En caso de secuenciación, usar lo antes posible con un límite de 15 días para evitar el deterioro del ADN).

## ANEXO II Tablas de resultados de los análisis a los lixiviados de los tratamientos 1 y 2

Tabla II.1 Resultados del tratamiento 1 para la columna #1. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.

PARÁMETRO	RP1	LIX RP1	FR T1 D1	LIX T1 D1	FR T1 D2	LIX T1 D2
Vol. Inicial (l)	4.0	---	8.5	---	8.5	
Vol. Final (l)	---	3.20	---	7.90	---	6.90
pH	6.91	7.80	---	7.29	---	8.42
C.E. (µs/cm)	1,621	1,076	---	1,158	---	1,508
Color 455NM	0.00	20	---	76	---	67
Color 465NM	0.005	50	---	58	---	31
Turbiedad (NTC)	1.27	3.56	---	63.50	---	0.00
Temperatura (°C)	23.10	24.10	---	23.70	---	20.40
NKT (mg/l)	ND	0.84	---	2,559.20	---	ND
N-Amoniacal (mg/l)	ND	0.224	14,000	0.00	14,000	ND
N-orgánico (mg/l)	0.00	0.62	658.82	2,559.20	658.82	0.00
N-nitratos (mg/l)	30.40	ND	64.60	15	64.6	17
N-nitritos (mg/l)	ND	ND	3,500	0.017	3,500	0.050
DQO (mg/l)	45	98.33	---	490	---	151.67
% M.O.	0.45	ND	---	1,421.46	---	1,498.40

Tabla II.2 Resultados del tratamiento 1 para la columna #2. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.

PARÁMETRO	RP1	LIX RP1	FR T1 D1	LIX T1 D1	FR T1 D2	LIX T1 D2
Vol. Inicial (l)	4.0	---	8.5	---	8.5	
Vol. Final (l)	---	3.50	---	7.75	---	8.30
pH	6.91	7.86	---	6.86	---	7.43
C.E. ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )	1,621	1,616	---	1,073	---	1821
Color 455NM	0	39	---	121	---	209
Color 465NM	0.005	63	---	137	---	180
Turbiedad (NTC)	1.27	3.28	---	ND	---	ND
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	23.1	22.90	---	23.60	---	20.00
NKT (mg/l)	ND	2.52	---	ND	---	3,284.40
N-amoniaco (mg/l)	ND	ND	14,000	ND	14,000	638.40
N-orgánico (mg/l)	0.00	2.52	658.82	ND	658.82	2,646
N-nitrato (mg/l)	30.4	18.80	64.6	13.40	64.6	16.60
N-nitrito (mg/l)	ND	0.03	3,500	0.01	3,500	0.91
DQO (mg/l)	45	35	---	83.33	---	148.33
% M.O.	0.45	59.92	---	1,193	---	1,577

Tabla II.3 Resultados del tratamiento 1 para la columna #3. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.

PARÁMETRO	RP1	LIX RP1	FR T1 D1	LIX T1 D1	FR T1 D2	LIX T1 D2
Vol. Inicial (l)	4.0	---	8.5	---	8.5	
Vol. Final (l)	---	3.30	---	8.00	---	8.30
pH	6.91	7.85	---	7.38	---	8.18
C.E. (µs/cm)	1621	1,803	---	10.42	---	13.60
Color 455NM	0.00	42	---	22	---	40
Color 465NM	0.005	52	---	42	---	13
Turbiedad (NTC)	1.27	3.16	---	0.52	---	0.00
Temperatura (°C)	23.1	22.70	---	23.50	---	19.60
NKT (mg/l)	ND	2.52	---	3,525.20	---	4,253.20
N-amoniaco (mg/l)	ND	ND	14,000	ND	14,000	907.20
N-nitrato (mg/l)	30.4	24.20	64.6	16.90	64.6	16.50
N-orgánico (mg/l)	0.00	2.52	658.82	3,525.20	658.82	3,346
N-nitrito (mg/l)	ND	0.06	3,500	0.03	3,500	0.05
DQO (mg/l)	45	48.33	---	163.33	---	148.33
% M.O.	0.45	41.61	---	1,603	---	1,822



Tabla II.4 Resultados del tratamiento 1 para la columna #4. RP1=Riego pesado 1, LIX RP1= Lixiviado Riego pesado 1, FR T1D1= Fertirriego tratamiento 1 día 1, LIX T1D1= Lixiviado tratamiento 1 día 1, FR T1D2= Fertirriego tratamiento 1 día 2, LIX T1D2= Lixiviado tratamiento 1 día 2.

PARÁMETRO	RP1	LIX RP1	FR T1 D1	LIX T1 D1	FR T1 D2	LIX T1 D2
Vol. Inicial (l)	4.0	---	8.5	---	8.5	
Vol. Final (l)	---	3.25	---	7.90	---	8.45
pH	6.91	7.77	---	7.36	---	7.82
C.E. (µs/cm)	1,621	1,988	---	9,760	---	1,406
Color 455NM	0	26	---	23	---	15
Color 465NM	0.005	37	---	22	---	13
Turbiedad (NTC)	1.27	3.34	---	1.06	---	0.00
Temperatura (°C)	23.1	22.70	---	23.60	---	19.50
NKT (mg/l)	ND	2.24	---	3,133.20	---	ND
N-amoniaco (mg/l)	ND	ND	14,000	ND	14,000	ND
N-nitrato (mg/l)	30.4	13.50	64.6	16.20	64.6	16.30
N-orgánico (mg/l)	0.00	2.24	658.82	3,133.20	658.82	ND
N-nitrito (mg/l)	ND	0.07	3,500	0.01	3,500	0.06
DQO	45	ND	---	110	---	195
% M.O.	0.45	39.55	---	1,492	---	1,733

Tabla II.5 Resultados del tratamiento 2 para la columna #1. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.

PARÁMETRO	RP2	LIX RP2	FR T2 D1	LIX T2 D1	FR T2 D2	LIX T2 D2
Vol. Inicial (l)	4.0	---	4.0	---	4.0	---
Vol. Final (l)	---	3.90	---	3.86	---	3.95
pH	6.91	8.83	---	8.70	---	8.48
C.E. ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )	1,621	1,023	---	3,923	---	5,250
Color 455NM	0.00	1.81	---	0.52	---	0.08
Color 465NM	0.005	1.64	---	0.48	---	0.07
Turbiedad (NTC)	1.27	63.80	---	27.30	---	3
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	23.1	24.10	---	23	---	21.40
NKT (mg/l)	ND	ND	---	2.8	---	9.8
N-amoniaco (mg/l)	ND	ND	32.4	2.8	32.4	5.60
N-orgánico (mg/l)	0.00	0.00	215.63	0.00	215.63	4.2
N-nitratos (mg/l)	30.4	18.1	30.4	30	30.4	53
N-nitritos (mg/l)	ND	0.878	---	0.797	---	0.037
DQO (mg/l)	45	661.667	---	255	---	231.667
% M.O.	0.45	168.69	---	65.72	---	72.50

Tabla II.6: Resultados del tratamiento 2 para la columna #2. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.

PARÁMETRO	RP2	LIX RP2	FR T2 D1	LIX T2 D1	FR T2 D2	LIX T2 D2
Vol. Inicial (l)	4.0	---	4.0	---	4.0	---
Vol. Final (l)	---	3.75	---	3.75	---	3.80
pH	6.91	6.32	---	6.75	---	6.49
C.E. (µs/cm)	1,621	834	---	2,487	---	3,197
Color 455NM	0	0.042	---	0.033	---	0.032
Color 465NM	0.005	0.034	---	0.030	---	0.028
Turbiedad (NTC)	1.27	2.48	---	2.71	---	1.92
Temperatura (°C)	23.1	24.10	---	22.50	---	21.20
NKT (mg/l)	ND	0.00	862.5	ND	862.5	1.40
N-amoniaco (mg/l)	ND	0.00	32.4	ND	32.4	ND
N-orgánico (mg/l)	0.00	0.00	215.63	ND	215.63	1.40
N-nitrato (mg/l)	30.4	ND	30.4	ND	30.4	87
N-nitrito (mg/l)	ND	1.35	---	1.32	---	1.42
DQO (mg/l)	45	98.33	---	118.33	---	158.33
% M.O.	0.45	21.97	---	110.10	---	108.60

Tabla II.7: Resultados del tratamiento 2 para la columna #3. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.

PARÁMETRO	RP2	LIX RP2	FR T2 D1	LIX T2 D1	FR T2 D2	LIX T2 D2
Vol. Inicial (l)	4.0	---	4.0	---	4.0	---
Vol. Final (l)	---	3.90	---	3.90	---	3.75
pH	6.91	7.73	---	7.40	---	6.94
C.E. (µs/cm)	1,621	1,252	---	3,945	---	4,418
Color 455NM	0	0.119	---	0.091	---	0.086
Color 465NM	0.005	0.103	---	0.079	---	0.081
Turbiedad (NTC)	1.27	5.22	---	3.83	---	3.46
Temperatura (°C)	23.1	24.20	---	22.40	---	21.20
NKT (mg/l)	ND	ND	862.5	5.60	862.5	1.40
N-amoniaco (mg/l)	ND	ND	32.4	ND	32.4	ND
N-orgánico (mg/l)	0.00	0.00	215.63	5.6	215.63	1.4
N-nitrato (mg/l)	30.4	558	30.4	183	30.4	115
N-nitrito (mg/l)	ND	1.16	---	1.20	---	1.32
DQO (mg/l)	45	165	---	158.33	---	188.33
% M.O.	0.45	47.78	---	113.90	---	106.60

Tabla II.8 Resultados del tratamiento 2 para la columna #4. RP2=Riego pesado 2, LIX RP2= Lixiviado Riego pesado 2, FR T2D1= Fertirriego tratamiento 2 día 1, LIX T2D1= Lixiviado tratamiento 2 día 1, FR T2D2= Fertirriego tratamiento 2 día 2, LIX T2D2= Lixiviado tratamiento 2 día 2.

PARÁMETRO	RP2	LIX RP2	FR T2 D1	LIX T2 D1	FR T2 D2	LIX T2 D2
Vol. Inicial (l)	4		4		4	
Vol. Final (l)		3.80		3.80		3.95
pH	6.91	8.03		7.74		7.40
C.E. ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )	1,621	1,244		4,062		4,797
Color 455NM	0	0.12		0.12		0.13
Color 465NM	0.005	0.11		0.11		0.10
Turbiedad (NTC)	1.27	5.44		4.95		3.74
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	23.1	24.40		22.40		21.10
NKT (mg/l)	ND	ND	862.5	8.40	862.5	ND
N-Amoniacal (mg/l)	ND	ND	32.4	0.00	32.4	ND
N-Orgánico (mg/l)	0.00	0.00	215.63	8.4	215.63	ND
N-nitratos (mg/l)	30.4	608	30.4	170	30.4	119
N-nitritos (mg/l)	ND	1.02		1.25		1.20
DQO (mg/l)	45	221.67		175		175
M.O.	0.45	64.43		126.10		114.40

## ANEXO III Bacterias presentes en las muestras de suelo

Tabla III.1. Bacterias presentes en las muestras de suelo. C1= Columna # 1. MC = Muestra compuesta de columnas # 2, #3 y #

4.

Division	Clase	orden	Familia	genero	Genero / especie	C1	MC
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Rhodanobacteraceae	<i>Dokdonella</i>	<i>Dokdonella sp</i>	0.00	24.84
Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	22.53	15.99
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Rhodanobacteraceae	<i>Frateuria</i>	<i>Frateuria terrea</i>	0.00	6.84
Unclassified	Unclassified	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.66	5.35
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.82	4.14
Actinobacteria	Actinobacteria	Streptosporangiales	Thermomonosporaceae	<i>Actinoallomurus</i>	<i>Actinoallomurus oryzae</i>	0.00	3.71
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Ramlibacter</i>	<i>Ramlibacter sp</i>	0.41	3.33
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	<i>Pseudaminobacter</i>	<i>Pseudaminobacter defluvii</i>	1.14	2.28
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Rhodomicrobium</i>	<i>Rhodomicrobium sp</i>	4.87	2.25
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingosinicella</i>	<i>Sphingosinicella sp</i>	5.57	1.72
Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioideae	<i>Nocardioides</i>	<i>Nocardioides sp</i>	0.00	1.70
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	0.14	1.64
Actinobacteria	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces sp</i>	0.00	1.62
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	<i>Taonella</i>	<i>Taonella mepensis</i>	0.00	1.60
Actinobacteria	Actinobacteria	Frankiales	Sporichthyaceae	<i>Sporichthya</i>	<i>Sporichthya sp</i>	1.39	1.58
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Rhodanobacteraceae	<i>Rhodanobacter</i>	<i>Rhodanobacter fulvus</i>	0.00	1.55
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium sp</i>	2.66	1.40
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Blastochloris</i>	<i>Blastochloris sp</i>	0.00	1.33
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	<i>Brevundimonas</i>	<i>Brevundimonas sp</i>	13.99	1.17
Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i>	<i>Mycobacterium coloregonium</i>	0.00	1.05
Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i>	<i>Mycobacterium sp</i>	0.30	0.93
Acidobacteria	Acidobacteriia	Acidobacteriales	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.00	0.91
Bacteroidetes	Unclassified	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.34	0.89
Acidobacteria	Acidobacteriia	Acidobacteriales	Acidobacteriaceae	<i>Acidobacterium</i>	<i>Acidobacterium sp</i>	0.05	0.81

Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	<i>Phenylobacterium</i>	<i>Phenylobacterium sp</i>	0.61	0.80
Actinobacteria	Unclassified	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.23	0.70
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Hyphomicrobium</i>	<i>Hyphomicrobium sp</i>	0.32	0.62
Chloroflexi	Chloroflexia	Chloroflexales	Chloroflexaceae	<i>Chloroflexus</i>	<i>Chloroflexus sp</i>	0.11	0.58
Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioideaceae	<i>Nocardioides</i>	<i>Nocardioides terrae</i>	0.00	0.57
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Unclassified	<i>Reyranela</i>	<i>Reyranela graminifolii</i>	0.00	0.56
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Unclassified	<i>Reyranela</i>	<i>Reyranela soli</i>	0.50	0.53
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	<i>Pseudolabrys</i>	<i>Pseudolabrys sp</i>	0.00	0.53
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Delftia</i>	<i>Delftia sp</i>	3.64	0.50
Actinobacteria	Rubrobacteria	Gaiellales	Gaiellaceae	<i>Gaiella</i>	<i>Gaiella sp</i>	1.09	0.46
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	<i>Mesorhizobium</i>	<i>Mesorhizobium sp</i>	2.16	0.42
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	<i>Mesorhizobium</i>	<i>Mesorhizobium chacoense</i>	1.34	0.35
Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	<i>Frigoribacterium</i>	<i>Frigoribacterium mesophilum</i>	0.00	0.35
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Alicyciphilus</i>	<i>Alicyciphilus denitrificans</i>	25.51	0.33
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.07	0.30
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae	<i>Mycoplana</i>	<i>Mycoplana ramosa</i>	0.32	0.26
Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	<i>Rhodoglobus</i>	<i>Rhodoglobus sp</i>	0.32	0.25
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	<i>Rhizobium</i>	<i>Rhizobium sp</i>	0.14	0.22
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	<i>Rhodopseudomonas</i>	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	2.48	0.20
Chloroflexi	Ktedonobacteria	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.00	0.20
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.41	0.16
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingopyxis</i>	<i>Sphingopyxis sp</i>	0.18	0.16
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.02	0.16
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingomonas</i>	<i>Sphingomonas sp</i>	0.00	0.12
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	<i>Paenibacillus</i>	<i>Paenibacillus sp</i>	0.34	0.10
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Erythrobacteraceae	<i>Altererythrobacter</i>	<i>Altererythrobacter sp</i>	0.80	0.09
Proteobacteria	Unclassified	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.00	0.08
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Devosia</i>	<i>Devosia neptuniae</i>	0.14	0.07
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae	<i>Ochrobactrum</i>	<i>Ochrobactrum intermedium</i>	0.20	0.06
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Rhodoplanes</i>	<i>Rhodoplanes sp</i>	0.05	0.06

Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Devosia</i>	<i>Devosia sp</i>	0.52	0.05
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.59	0.04
Firmicutes	Clostridia	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.00	0.04
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Unclassified	<i>Aquabacterium</i>	<i>Aquabacterium sp</i>	0.80	0.01
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	<i>Shinella</i>	<i>Shinella sp</i>	0.39	0.00
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	<i>Orientia</i>	<i>Orientia tsutsugamushi</i>	0.30	0.00
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	<i>Sinorhizobium</i>	<i>Sinorhizobium sp</i>	0.27	0.00



## ANEXO IV Hongos presentes en las muestras de suelo

Tabla VI.1. Hongos presentes en las muestras de suelo. C1= Columna # 1. MC = Muestra compuesta de columnas # 2, #3 y #

4.

Reino	División	Clase	orden	Familia	genero	Genero / especie	C1	MC
Fungi	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	27.35	0.00
Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Chaetothyriales	Herpotrichiellaceae	<i>Cladophialophora</i>	<i>Cladophialophora carrionii</i>	30.84	0.00
Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Phialosimplex</i>	<i>Phialosimplex salinarum</i>	0.64	0.00
Fungi	Ascomycota	Sordariomycetes	Microascales	Microascaceae	<i>Scedosporium</i>	<i>Scedosporium boydii</i>	0.00	1.70
Fungi	Ascomycota	Unclassified	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	División <i>Ascomycota</i>	0.00	0.76
Fungi	Basidiomycota	Malasseziomycetes	Malasseziales	Malasseziaceae	<i>Malassezia</i>	Basidiomycota, género: <i>Malassezia</i>	0.11	0.00
Fungi	Glomeromycota	Glomeromycetes	Diversisporales	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	<i>Acaulospora scrobiculat</i>	0.11	0.00
Fungi	Unclassified	Unclassified	Unclassified	Unclassified	<i>Unclassified</i>	<i>Unclassified</i>	0.00	87.27
No Hit	No Hit	No Hit	No Hit	No Hit	<i>No Hit</i>	<i>No Hit</i>	40.96	10.27