

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISION DE INGENIERIA
DEPARAMENTO DE RIEGO Y DRENAJE**



Efectividad de Substancias Húmicas de Leonardita y *Azospirillum* en la Estabilidad de Agregados de un Calcisol

POR:

ARELI GARCIA LUNA

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN IRRIGACIÓN

Buenvista, Saltillo, Coahuila Mex.

Mayo del 2010

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISION DE INGENIERIA

DEPARAMENTO DE RIEGO Y DRENAJE

Efectividad de Substancias Húmicas de Leonardita y Azospirillum en la Estabilidad de Agregados de un Calcisol

Por:

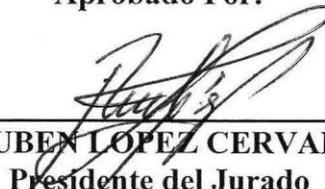
ARELI GARCIA LUNA

Tesis

Que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN IRRIGACIÓN

Aprobado Por:


Dr. RUBEN LÓPEZ CERVANTES
Presidente del Jurado

 
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
M.C. TOMAS REYNA CEPEDA M.C. LINDOLFO ROJAS PEÑA
Sinodal Sinodal


Dr. RAUL RODRIGUEZ GARCIA
Coordinador de la División de Ingeniería
Buenvista, Saltillo, Coahuila. Mayo de 2010

DEDICATORIA

A mis padres:

*Alba Luna Luna
Guillermo García Martínez*

A MI MADRE

A ti mamá, que más que mi madre has sido mi mejor amiga con la cual siempre he contado y cuando más te necesito eres la primera persona en darme un aliento de vida, no tengo con que agradecerte tu amor, confianza y apoyo. Gracias por que nunca dejaste de creer en mí, gracias a ti he cumplido un objetivo más en la vida, este triunfo es tuyo. "Te amo mamá".

A MI PADRE

A ti papá, que siempre confiaste en mí y creíste en lo que estaba haciendo me propuse lograr algo en la vida y no defraudarlos he aquí uno de tus mayores esfuerzos pues nunca me dejaste sola. Hay momentos en los que sentí desesperación por no poder lograr las cosas pero con esfuerzo y dedicación se logra, lo he aprendido de ti, es por eso que te doy las gracias por cada enseñanza y apoyo que siempre me brindaste, sobra saber que siempre estás ahí cuando te necesito, "Te quiero mucho papá".

A mis hermanos

*Jared Heliud García Luna
Janeth García Luna
Guillermo García Luna*

Por haber contribuido en la formación de esta etapa de mi vida, por el cariño y la confianza que siempre me han brindado así como la esperanza que han puesto en mí de poder lograr algo en la vida, y por darme cada momento de alegría. Los quiero mucho, son los mejores hermanos que Dios me pudo haber dado.

A mis abuelos

Celia Luna Sánchez

Raymundo Luna Hernández

Por su cariño y por cada consejo recibido, por que se que en mi pusieron las esperanzas de poder lograr lo que uno se propone y que más que un claro ejemplo de lo que me han enseñado.

A mis tíos

Leoncio Luna Luna y Ma. Concepción Goches

Teresa Luna Luna

Gracias a ustedes por su apoyo moral y económico, así como por cada uno de los consejos que durante todo este tiempo me han dado y ser como unos segundos padres ya que sin ustedes no hubiera podido concluir con esta etapa de mi vida.

A mis primos

Yaqueline Serrano Luna (mini) y Leonardo Luna (pollito) por darme muchos momentos de alegría así como su cariño y compañía durante todo este tiempo, Dios me los bendiga siempre.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso...Nuestro Señor

Por darme la vida, fortaleza, capacidad intelectual y habilidad para superar los obstáculos presentados a lo largo de esta vida, y aprender de cada situación y no dejarme vencer por los momentos si no aprender a superarlos y verlo como una enseñanza más y principalmente ser el sostén tanto físico, espiritual y moral en cada paso. Así mismo por haberme dado el regalo más grande e importante en la vida, “mi familia”.

A mi Alma Mater, la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” por abrirme sus puertas, y cobijarme en cada rincón de sus instalaciones, por darme la oportunidad de superarme y realizarme profesionalmente.

Al Dr. Rubén López Cervantes, por haber compartido sus conocimientos, tiempo, dedicación y ser mi guía para la realización de esta investigación.

TLQ. Martha Patricia Herrera Gaytán, por su apoyo y colaboración en la realización de este trabajo.

M.C Tomas Reyna Cepeda, por su aportación y sugerencias en la realización de esta investigación.

M.C Lindolfo Rojas Peña, por las sugerencias y puntos de vista en la realización de este trabajo.

A mis amigos

A la banda y amigos, Apolinar (poly), Marcos Manuel (oso), Jorge A. (koki), Eliezer (primo), Julio (yulay), Homero (jomy), Esmeralda (arenita), Octavio O. (pelón), José (pepino), Rosemberg (D2), José Luis (Tachi), Claudio (pequeña), Javier (picoro), Hilario (wero), Gildardo, Don Melquiades y el Ing. Rommel de la Garza entre otros,

por cada momento de alegría y tristeza compartidos, consejos y el apoyo brindado durante toda la carrera.

A la Generación "CVIII"

A todos mis compañeros de generación y clase, Juan Notario, Fercho, Yolis, Ivan (pelle), Galileo, Rosemberg, Irmin, Magin, Wane, pinkis, Noe y Pablo entre otros, por haber empezado y concluido el mismo proyecto.

A la familia De La Rosa Valenzuela

A doña Toñita, Yony, Mayra, Mingo, Eva, Adán y al nuevo integrante que viene en camino , gracias por abrirme las puertas de su casa y aceptarme dentro de su familia como un integrante más así como cada consejo que he recibido de cada uno de ustedes pues nunca tendré con que agradecerles todo el apoyo brindado, Dios los bendiga siempre.

INDICE DE CONTENIDO

Índice de cuadros.....	i
Índice de figuras.....	iii
RESUMEN	iv
I.- INTRODUCCIÓN	1
Objetivos.....	4
Hipótesis.....	4
II.-REVISION DE LITERATURA	5
La Materia Orgánica del Suelo (MOS).....	5
Las Substancias Húmicas (SH).....	7
Factores que intervienen en la formación de Agregados.....	16
Efecto de las Substancias Húmicas en el suelo.....	20
III.-MATERIALES Y METODOS	28
Localización del Área Experimental.....	28
Metodología.....	28

IV.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
V.-CONCLUSIONES.....	43
VI.-LITERATURA CITADA.....	44

INDICE DE CUADROS

Cuadros	Páginas
1.-Intervalos usuales para la composición elemental de las sustancias húmicas.....	12
2.-Grupos funcionales presentes en las sustancias húmicas.....	14
3.-Distribución de grupos funcionales oxigenados en sustancias húmicas (meq/100g)....	15
4.-Tratamientos y dosis empleados en experimento.....	30
5.-Análisis de varianza para materia orgánica (MO) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y <i>Azospirillum</i>	32
6.-Análisis de varianza para carbonatos totales (CO ₃) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y <i>Azospirillum</i>	33
7.-Análisis de varianza para nitrógeno total (NT) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y <i>Azospirillum</i>	35
8.-Análisis de varianza para el contenido de arena (A) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y <i>Azospirillum</i>	37
9.-Análisis de varianza para el contenido de arcilla (Ar) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y <i>Azospirillum</i>	37

10.- Análisis de varianza para el contenido de limo (L) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y <i>Azospirillum</i>	37
11.-Análisis de varianza para la estabilidad de agregados (Ag) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y <i>Azospirillum</i>	39
12.-Matriz de correlaciones de las variables medidas a un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y <i>Azospirillum</i>	40

INDICE DE FIGURAS

Figuras	Páginas
1.-Evolución de la materia orgánica del suelo.....	7
2.-Fraccionamiento de las sustancias húmicas (Stevenson, 1994).....	10
3.-Fraccionamiento de las sustancias húmicas. Propiedades (Cuesta, 1994).....	10
4.- Contenido de materia orgánica (MO) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita.....	32
5.-Contenido de carbonatos totales (CO ₃) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita.....	34
6.- Contenido de nitrógeno total (NT) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita.....	36
7.-Contenido de arena, limo y arcilla de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas leonardita.....	38
8.-Estabilidad de agregados de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita.....	39
9.- Correlación entre el contenido de materia orgánica (MO) y la estabilidad de agregados (Ag) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y la bacteria <i>Azospirillum</i>	41

RESUMEN

Para determinar la efectividad de sustancias húmicas de leonardita, una experimental (AHE) y otra comercial (AHC) y la bacteria *Azospirillum* (Az), en la estabilidad de agregados de un Calcisol, el horizonte Ap de este tipo de suelo, fue colectado, secado al aire y después, 10 kg fueron colocados en macetas de plástico. Los tratamientos adicionados fueron: 2, 4 y 6 ml.litro⁻¹ de agua de ácidos húmicos de leonardita experimentales (AHE) e igual cantidad de ácidos húmicos comerciales (AHC), con las dosis de 10⁷ y 10⁹ unidades formadoras de colonias (UFC), de la bacteria libre-fijadora de nitrógeno, *Azospirillum* (Az) y solo se usó agua como testigo absoluto (TA). El suelo se mantuvo húmedo durante 120 días y se dejó secar al aire durante 15 días; se colectaron muestras del suelo y se les midieron: materia orgánica (MO), carbonatos totales (CO₃), nitrógeno total (NT), textura y la estabilidad de agregados (Ag). Se encontró que al adicionar 2 ml.litro⁻¹ de los AHE, mezclados con la dosis de 10⁹ UFC de Az, la cantidad de MO sobrepasa en 30 % al TA. Además, hay una alta correlación entre la cantidad de MO y la Ag, ya que esta última variable depende en 88 % de esta última. Así, la mayor Ag fue entre 85 y 90 % y cuando la MO fluctuó entre 2.0 y 2.5 %, se presentó la superior relación de ambas; también, la arena y la arcilla, ejercieron el superior efecto en la Ag. Se concluye que, la mezcla de las dosis bajas de los ácidos húmicos de leonardita experimentales y las concentraciones altas de la

bacteria *Azospirillum*, aumentan la cantidad de materia orgánica y junto con la arena y la arcilla, tienen efecto positivo en la estabilidad de agregados, de un Calcisol.

PALABRAS CLAVES: Estabilidad de Agregados, Substancias Húmicas, Calcisol, bacteria *Azospirillum*.

INTRODUCCIÓN

Los suelos representativos del Noreste mexicano son los Calcisoles, estos suelos representan el 10.4 por ciento de la superficie total del territorio nacional (Base Referencial Mundial del Recurso Suelo, 2000), originados en su mayoría por depósitos aluviales y coluviales ricos en bases en ambientes con elevada evapotranspiración y se caracterizan por poseer pH de 7.8 a 8.7, menos de uno por ciento de materia orgánica (MO), la fracción arcilla es dominada por illitas y montmorillonitas y más del 25 por ciento de carbonatos de calcio (WRB-FAO/UNESCO, 1994). Lo anterior provoca suelos con deficiente estabilidad de agregados (Ag), la que es definida como la resistencia del suelo a la reorganización estructural de los poros y las partículas, cuando están expuestos a diferentes tensiones, por ejemplo, el cultivo, pisoteo, compactación y riego (Krull *et al.* 2004).

Las regiones fisiográficas más distintivas de Calcisoles en México, son las llanuras desérticas de Coahuila y Nuevo León, así como los extensos desiertos de Sonora. En Coahuila, 15 de las 30 unidades de suelos reconocidas por la World Reference Base (Base Referencial Mundial del Recurso Suelo, 2000); cuatro son las unidades más representativas: Leptosol, Regasol, Vertisol y Calcisol, al abarcar el 84.3 por ciento del

territorio estatal. Casi la mitad de los Calcisoles (47.1 por ciento en términos de superficie), tienen fuertes limitantes para la agricultura, por sus condiciones de elevada pedregosidad y presencia de un horizonte petrocálcico generalmente a menos de 50 cm de profundidad.

La materia orgánica sólida humificada (compost) tiene un papel preponderante en la estabilidad de los agregados (Ag), por lo cual Tisdall y Oades (1982), propusieron un modelo conceptual, el cual es ampliamente aceptado. Ésta se basa en tres agentes de unión: 1) transitorios: aquí los polisacáridos son los más importantes, 2) temporales: principalmente raíces, hifas de hongos y bacterias y 3) persistentes: macromoléculas orgánicas complejas con dominios aromáticos y alifáticos resistentes a la biodegradación, denominadas sustancias húmicas (SH), asociadas con cationes polivalentes y fuertemente adsorbidos por la matriz mineral del suelo. Las SH son los ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) y huminas residuales (HR). Los AF son de bajo peso molecular, producen un mayor, más favorable, más fuerte y rápido mecanismo de agregación, porque éstas poseen acidez total superior a los AH, es decir, mayor cantidad de grupos funcionales libres carboxilos, oxhidrilos fenólicos y carbonilos (-COOH, -OH y -COO) (Schnitzer, 2000). Para Oades (1984), los agentes transitorios y temporales son los responsables de la estabilidad de macroagregados, mientras que los persistentes lo hacen con los microagregados.

Los AH y los AF pueden complejar y/o quelatar cationes, los que pueden provenir de los fertilizantes químicos, debido a su alto contenido de grupos funcionales libres oxigenados. En los primeros dominan los grupos funcionales carboxilos (-COOH) y para los segundos, los grupos oxhidrilos fenólicos (OH), porque más del 80 por ciento de la estructura molecular de dichos ácidos, está formada por los grupos funcionales mencionados (Schnitzer, 2000), también López (2002), encontró algo similar al analizar compuestos húmicos extraídos de composta.

López *et al.* (2006), al adicionar diversas cantidades de AH y AF extraídos de un compost elaborado con estiércol de bovino y residuos de cocina y otros de leonardita (mineral fósil de carbón) y concluyeron que los AF (SH de mayor acidez total) tienen influencia significativa en algunas características físicas de un Calcisol como: la porosidad, la estabilidad de agregados y la velocidad de infiltración, pero no hay efecto significativo en la densidad aparente. Además, aunque la mayoría de los trabajos se han centralizado en el uso de materiales orgánicos con SH de diverso peso molecular, para mejorar la estructura, no presentan con claridad el o los mecanismos y factores involucrados en la estabilidad de los agregados.

OBJETIVO

Determinar la efectividad de sustancias húmicas de leonardita y la bacteria *Azospirillum*, en la estabilidad de agregados de un Calcisol.

HIPÓTESIS

Al menos una mezcla de un ácido húmico de leonardita y la bacteria *Azospirillum*, tiene efecto positivo en la estabilidad de agregados de un Calcisol.

REVISION DE LITERATURA

La Materia Orgánica del Suelo (MOS)

Los autores denominan indistintamente materia orgánica (Navarro *et al.* 1995) o humus (Gross y Domínguez, 1992), a la parte orgánica que cumple un papel esencial en el suelo. No existe una definición de humus con la que todos los especialistas estén de acuerdo; pero, en general, el término humus designa a las “sustancias orgánicas variadas, de color pardo y negruzco, que resultan de la descomposición de materias orgánicas de origen exclusivamente vegetal”. Contiene aproximadamente cinco por ciento de nitrógeno, por lo que su valor en el suelo se puede calcular multiplicando por 20, su contenido en nitrógeno total.

Según Mustin (1987), la materia orgánica (MO) representa del 95 al 99 por ciento del total del peso seco de los seres vivos, pero su presencia en los suelos suele ser escasa y son contadas las excepciones en las que supera el dos por ciento (Navarro *et al.* 1995). Para Gross y Domínguez (1992), el nivel deseable de materia orgánica de los suelos arcillosos, es del dos por ciento; puede descender a 1.6 por ciento en suelos limosos y llegar hasta 2.5 por ciento en los arenosos.

La MOS, contiene cerca del cinco por ciento de N total, pero también contiene otros elementos esenciales para las plantas, tales como fósforo, magnesio, calcio, azufre y micronutrientes (Graetz, 1997). Durante la evolución de la MOS se distinguen dos fases: la humificación y la mineralización (Gross y Domínguez, 1992). La humificación es una fase bastante lenta, va desde algunos meses hasta decenas de años, durante la cual los microorganismos del suelo actúan sobre la MO, desde el momento en que es incorporada al suelo.

Primero se forma el humus joven, de evolución rápida, que a su vez da paso al humus estable. Ambos productos forman la llamada materia orgánica total del suelo. Al humus joven también se le llama “lábil” o “libre”, porque todavía no está fijado o ligado a las partículas del suelo, sino simplemente mezclado con ellas; tiene una relación C/N superior a 15, es sede de una intensa actividad microbiana y se le puede considerar como un elemento fundamental de la fertilidad del suelo. En promedio se estima que es entre el 20 y 25 por ciento del humus total y tiene una acción inmediata más importante, desde el punto de vista de la mejora de la estructura y de la actividad microbiana del suelo. El humus estable o “estabilizado” es la materia orgánica ligada al suelo, es decir, sólidamente fijada a los agregados de color oscuro. Su composición es muy compleja (húmina, ácidos húmicos y fúlvicos) y tiene una relación C/N constante entre 9 y 10, y representa en promedio el 75-80 por ciento del humus total. Las sustancias húmicas tiene efecto sobre las propiedades físicas del suelo, al formar agregados y mejorar la estabilidad estructural, ya que se une a las arcillas, forma parte del complejo de cambio,

lo que favorece la penetración del agua, su retención y el intercambio gaseoso (Graetz, 1997) (Figura 1).

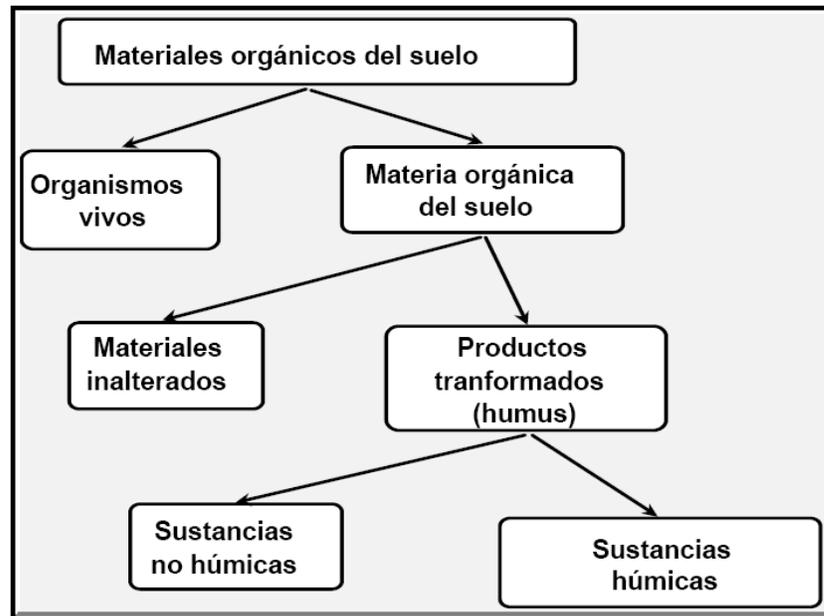


Figura 1.- Evolución de la materia orgánica del suelo.

Las Sustancias Húmicas (SH)

Desde finales del siglo XVIII, las SH han sido designadas como ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) y huminas residuales (HR). Estas fracciones se definen estrictamente por su solubilidad en ácidos o álcalis. Aquí, es importante señalar que no existen profundas divisiones entre las SH; todas ellas forman parte de un sistema supramolecular extremadamente heterogéneo y las diferencias entre las subdivisiones, se deben a variaciones en la acidez, el grado de hidrofobicidad (el contenido de moléculas aromáticas y alquilo de cadena larga) y la entropía movidas por asociaciones de

moléculas. Las SH se caracterizan por su estructura molecular, cromatografía y / o de la separación química de su gran número de diferentes moléculas bioorgánicas (Stevenson, 1984).

El término humus, se utilizó en la antigüedad para hacer referencia a la totalidad del suelo. Posteriormente se ha empleado como sinónimo de MO, mientras que en la actualidad, y como ya se ha mencionado, hace referencia a una fracción de dicha MO, engloba a un grupo de sustancias difícilmente clasificables, de color oscuro, muy resistentes al ataque microbiano, de alto peso molecular, de naturaleza coloidal y propiedades ácidas (Stevenson 1994). En conclusión, las SH, que se encuentran con gran asiduidad en el medio natural, en suelos, sedimentos y aguas (McCarthy *et al.* 1990) son residuos de las plantas y animales en estado de descomposición, unidos a los productos sintetizados por los microorganismos del suelo y ciertos intermedios de dicha síntesis (Ayuso, 1995). Esta composición no es estable sino que presenta gran dinamismo, por lo que más que un grupo de sustancias estamos ante un estado de la MO diferente, según las condiciones de su formación. Entre un 60 y un 90 por ciento de la materia orgánica del suelo está constituida por estos materiales de naturaleza lignoprotéica (Gallardo, 1980).

Pero las SH en el suelo, se encuentran asociadas mediante uniones de carácter débil (puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals...) a otra fracción orgánica, constituida por productos de composición química definida y de alto peso molecular, polisacáridos y proteínas, sustancias simples como azúcares y aminoácidos y otras

pequeñas moléculas. Sin embargo, en algunos casos, esas uniones son de tipo covalente. Todo este heterogéneo grupo de materiales se engloba bajo el término de sustancias no húmicas. En conclusión, el humus está formado por sustancias húmicas y no húmicas, aunque los términos humus y sustancias húmicas son empleados como sinónimos por algunos autores (Stevenson, 1994).

Actualmente se conoce, dentro de ciertos intervalos, la composición elemental de las SH; sin embargo la complejidad específica de estos materiales debida a la variabilidad de factores que intervienen en su formación (material original, microorganismos del suelo, condiciones ambientales...), hace que el estudio de las estructuras químicas que las conforman y de sus efectos sobre las plantas sea realmente complicado. Por consiguiente, la incapacidad de definir las SH en términos químicos específicos, nos fuerza a usar definiciones imprecisas, en base únicamente a las características observadas en los procesos de su fraccionamiento (Stevenson, 1984).

En este sentido, es posible realizar un fraccionamiento de las sustancias húmicas en distintos componentes que presentan propiedades físicas y químicas diversas (Figuras 2 y 3). La técnica de fraccionamiento más común y aceptado es la basada en las diferentes solubilidades en agua a varios valores de pH. Así, Aiken *et al.* (1985) distingue: **Ácidos húmicos**: la fracción insoluble en agua en condiciones ácidas ($\text{pH} < 2$), pero soluble a valores altos de pH. **Ácidos fúlvicos**: es la fracción soluble en agua en todo el intervalo de pH y **Huminas**: es la fracción insoluble a cualquier valor de pH.

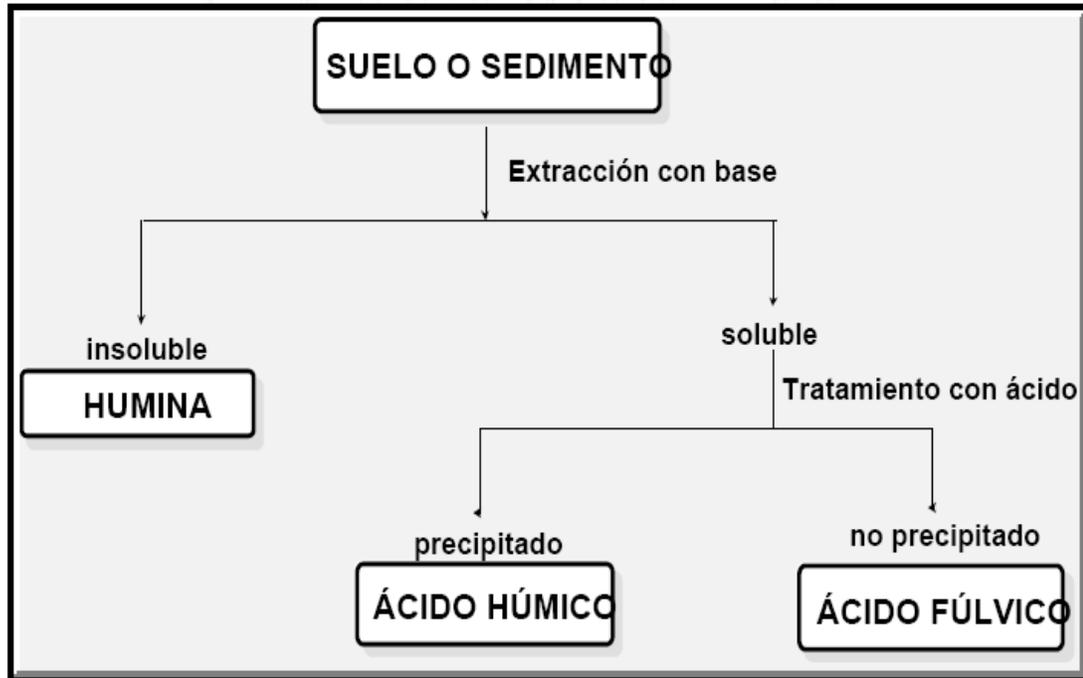


Figura 2. Fraccionamiento de las sustancias húmicas (Stevenson, 1994).

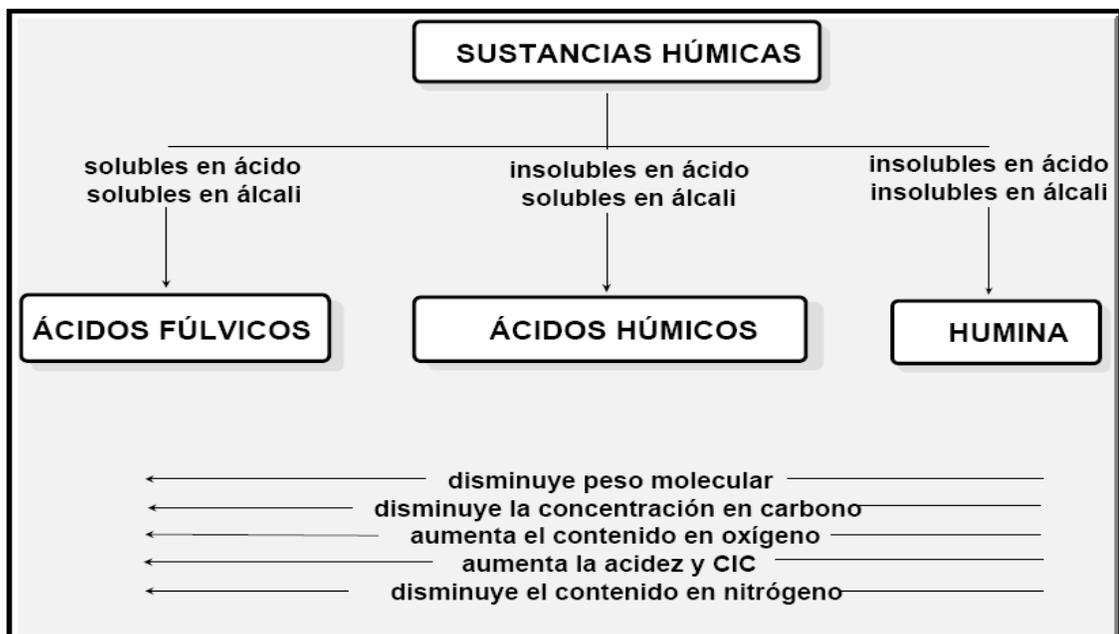


Figura 3. Fraccionamiento de las sustancias húmicas. Propiedades (Cuesta, 1994).

La mayor parte de los estudios acerca de las SH se han llevado a cabo sobre las fracciones húmicas y fúlvicas; mientras que la humina, es la que se ha estudiado en menor extensión (Rice *et al.* 1988). La humina corresponde al 50 por ciento o más de la materia orgánica del suelo, de una gran inercia, está constituida por ácidos húmicos tan íntimamente unidos a la parte mineral del suelo que no pueden separarse de ella; así como también por SH de alta condensación y con un contenido de C superior al 60 por ciento. Por otro lado, los ácidos húmicos y fúlvicos son más activos tanto química como geológicamente (Ayuso, 1995).

Según Stevenson (1994), una vez precipitados los ácidos húmicos, podemos obtener la fracción fúlvica pura, mediante absorción-desorción sobre una resina XAD-8; pero este modelo de fraccionamiento de las sustancias húmicas aunque es, sin duda, el más extendido, no es el único. Los ácidos húmicos son adsorbidos a pH 3 y fraccionados mediante eluciones sucesivas con tampones de pH 7 y 11, agua y etanol (50-90 por ciento).

La gran complejidad que presentan las sustancias húmicas, en cuanto a su composición y estructura, ha hecho necesario grandes esfuerzos para conocer dicha composición. Ésta varía dependiendo de su origen, método de extracción y otros parámetros. Sin embargo, las similitudes entre diversas sustancias húmicas son más numerosas que sus diferencias. Dichas analogías son las que han hecho que estos productos sean identificados como un grupo de sustancias. Además, los resultados de las

mediciones de las propiedades de las sustancias húmicas suelen ser valores medios debido precisamente a esa heterogeneidad (McCarthy *et al.* 1990).

Los análisis elementales de estos compuestos muestran que, en general, el 98-100 por ciento de sus elementos (libres de cenizas) son C, H, O, N, S y P. En general, los ácidos fúlvicos presentan mayores contenidos de oxígeno y menores de carbono. De esa manera las relaciones O/C para los ácidos húmicos presentan un valor aproximado de 0,5, mientras que para ácidos fúlvicos este valor se centra en 0,7 (Steelink, 1985). Este hecho se traduce en mayor contenido en grupos funcionales oxigenados en los ácidos fúlvicos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Intervalos usuales para la composición elemental de las sustancias húmicas

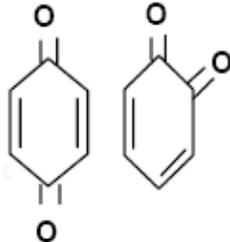
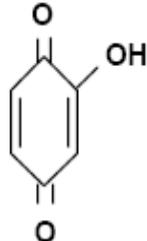
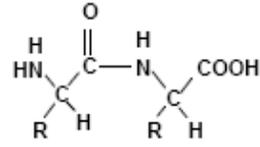
Elemento	Ácidos Húmicos(%)	Ácidos Fúlvicos(%)
Carbono	53,8-58,7	40,7-50,6
Oxígeno	32,8-38,3	39,7-49,8
Hidrógeno	3,2-6,2	3,8-7,0
Nitrógeno	0,8-4,3	0,9-3,3
Azufre	0,1-1,5	0,1-3,6

La reactividad de las SH y por tanto, sus efectos sobre el suelo y las plantas están estrechamente relacionados con el tipo y concentración de grupos funcionales de las mismas. La mayor parte, son de tipo oxigenado: carboxilos, alcoholes, hidroxilos fenólicos y carbonilos. Además, la presencia de grupos nitrogenados está ampliamente

demostrada (Varanini *et al.* 1995). Aunque también están presentes éteres, hidroxiquinonas y lactonas (Stevenson 1994) (Cuadro 2).

Los ácidos fúlvicos contienen mayor número de grupos funcionales de carácter ácido que los ácidos húmicos (Stevenson, 1994; Schnitzer, 1990), particularmente carboxilos y fenoles. Además, en los húmicos la mayor parte del oxígeno forma parte del núcleo o estructura central, en uniones éter o éster, mientras que para los ácidos fúlvicos está como COOH, OH o C=O. Aunque estos datos muestran cierta variabilidad, sí se puede decir que los ácidos fúlvicos presentan mayor acidez total que los húmicos, debido a esa mayor presencia de grupos carboxilo e hidroxilo (Cuadro 3).

Cuadro 2. Grupos funcionales presentes en las sustancias húmicas

Amino	$-\text{NH}_2$	Anhídrido	$\text{R-CO-O-CO-R}'$
Amina	$\text{R-CH}_2\text{-NH}_2$	Imina	R-CHNH
Amida	R-CO-NH_2	Imino	$=\text{NH}$
Alcohol	$\text{R-CH}_2\text{-OH}$	Eter	$\text{R-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-R}'$
Aldehído	R-CHO	Ester	$\text{R-COOR}'$
Carboxilo	R-COOH		
		Quinona	
Carboxilato	R-COO^-		
Enol	R-CH=CH-OH		
Cetona	$\text{R-CO-R}'$	Hidroxiquinona	
Ceto-ácido	R-CO-COOH		
Carbonilo insaturado	$-\text{CH=CH-CHO}$	Péptido	

Cuadro 3. Distribución de grupos funcionales oxigenados en sustancias húmicas (meq/100g). (Stevenson, 1994).

	Ácidos húmicos	Ácidos fúlvicos
Acidez total	560-890	640-1420
COOH	150-570	520-1120
OH ácidos	210-570	30-570
OH alcohólicos y débilmente ácidos	20-490	260-950
C=O cetónicos y de quinonas	30-140	120-420
OCH ₃	30-80	30-120

La mayoría de los datos obtenidos indican que estos materiales están constituidos, en gran medida, por anillos aromáticos unidos entre sí y a otras estructuras de carácter alifático. Estas unidades formarían el esqueleto central o núcleo de las SH (Varanini *et al.* 1995). La unión desordenada de estas estructuras genera la formación de complejas macromoléculas, cuyas dimensiones pueden variar desde unos pocos cientos a varios miles de Dalton (Da) para los ácidos fúlvicos, hasta varios cientos de miles para los ácidos húmicos (Swift *et al.* 1971).

Factores que Intervienen en la Formación de Agregados

La formación de agregados está estrechamente relacionada con la floculación y comportamiento de la doble capa eléctrica. Cuando se los deja solos, los suelos que poseen una doble capa eléctrica favorable, tiende a regenerar agregados y producir una estructura favorable.

Gavande (1982), menciona los factores más importantes que afectan la formación de agregados: Cuando un suelo, contiene más arcillas, se tendrá mayor número de agregados puesto que une a las demás partículas de tamaños mayores para formarlos. La formación de agregados estables no se realiza en arenas y limos en ausencia de coloides. Un requisito indispensable de la formación de agregados es que haya material disponible que pueda ser agregado. El efecto agregante de la arcilla se debe a su acción cementante y a su propiedad de hinchamiento y contracción con los cambios de humedad.

Los iones intercambiables tienen gran efecto en la floculación de las arcillas. Generalmente, Ca^{++} , Mg^{++} y K^+ tienen efecto peptizante. En general, las masas de arcilla floculada solo alcanzan el tamaño de las partículas de limo; esto significa que la arcilla floculada es un medio muy desfavorable para el crecimiento de las plantas, a menos que posteriormente se formen agregados. El Ca^{++} y, en menor grado Mg^{++} , inducen la floculación de la arcilla y, al mismo tiempo, son importantes en la nutrición y en proporcional al suelo una reacción favorable para el crecimiento de raíces y

microorganismos. Un suelo exento de materia orgánica no se agrega fácil y rápidamente al agregarle Ca^{++} . Por otro lado el Na^{+} tiende a deflocular la arcilla y a crear una reacción en la que muchos de los nutrientes presenten no pueden aprovecharse y, por lo tanto, disminuye el crecimiento de raíces y microorganismos, causando una mala aeración.

Dentro de cementantes inorgánicos, los principales son los sesquióxidos de Fe y Al que forman coloides irreversibles, o muy lentamente reversibles, y que ayudan a formar agregados estables a la acción del agua. Este efecto es muy notable en los latosoles de los suelos tropicales que, aunque tienen altos contenidos de arcilla acidas, están generalmente bien agregados.

Las plantas ayudan a agregar las partículas del suelo en muchas formas. La más importante es, quizás, excreción de compuestos orgánicos gelatinosos por las raíces, que servirán como ligamentos entre las sustancias inorgánicas. La presión ejercida por la raíz, el CO_2 producido en la respiración y los minerales excretados también son importantes. Las pequeñas raicillas mantienen juntas las partículas. La deshidratación del suelo por la raíz causa grietas al encogerse el suelo, lo que origina rompimientos y, posteriormente, formación de agregados. El follaje de las plantas y sus residuos cubren el suelo y lo protegen de los cambios bruscos de temperatura y humedad, y de los efectos de las gotas de lluvia. Los residuos vegetales, tanto del follaje como de la raíz, proporcionan la base alimenticia de los microorganismos del suelo, que son uno de los principales factores agregantes.

El efecto agregante de compuestos y cementantes orgánicos, se hace mayor a medida que decrece el contenido de arcilla, además, al promover la agregación, ayuda a estabilizar la estructura del suelo. La materia orgánica forma quelatos con los metales, que, se cree ayudan a la agregación, por ejemplo, el Fe^{+++} en los suelos podzol. No toda la MO estabiliza el suelo; algunos compuestos simples, como los azúcares, son ineficaces hasta que entran a formar parte del tejido microbiano. Las grasas, ceras, ligninas, proteínas, resinas y algunos otros compuestos orgánicos tienen un efecto estabilizador directo.

La materia orgánica cruda no ayuda a que se formen agregados estables. Para que sea efectiva su acción se requiere que los microorganismos del suelo intervengan. Según Gavande (1982), la acción de los microorganismos puede ser directa o indirecta. Durante los periodos de intensa actividad microbiana, la célula y los microorganismos por si mismos pueden mantener unidos en forma mecánica, las partículas del suelo. En forma indirecta ayudan a la agregación, a través de los compuestos producidos durante la descomposición de la MO. La acción microbiana en ambos procesos puede ser muy efímera, ya que tanto las sustancias aglutinantes como los micelios envolventes pueden ser atacados a su vez por acción microbiana subsecuente. Debido a esto, si se quiere mantener un alto nivel de agregación se requerirá de adiciones periódicas de residuos orgánicos.

Los efectos de la temperatura sobre la formación de la estructura del suelo, son generalmente indirectos, ya que: *a)* induce el movimiento del vapor de agua, por crearse una diferencia en presiones de vapor; *b)* afecta la velocidad de las reacciones y, consecuentemente, la descomposición de la materia orgánica; *c)* afecta la actividad de las plantas y los microorganismos; *d)* como factor clima, tiene también mucha influencia en la formación del tipo y cantidad de arcilla, potencial electrocinético, cantidad de sales solubles y cantidad de materia orgánica presente.

El aire, físicamente, desempeña un papel decisivo en la formación de la estructura, al crear tensión superficial y debido a la expansión que sufre al humedecerse una masa de suelo. El aire actúa químicamente, ya que el aire del suelo es rico en CO₂; éste se equilibra con la solución del suelo y ayuda a la solubilidad del Ca, el cual ayuda a la agregación. Biológicamente, el aire es necesario para que las raíces y microorganismos respiren y es tan importante en la formación de la estructura que, con periodos relativamente amplios de inundación, la estructura del suelo se deteriora o llega a destruirse completamente.

El agua participa en la formación de la estructura del suelo en varias formas:

- a) hinchamiento y contracción de coloides, causados por el humedecimiento y secado del suelo. Estos fenómenos causan el desarrollo de planos de debilitamiento, ocasionados por las tensiones y presiones en el suelo.
- b) la tensión superficial que resulta de la presencia de superficies de agua y aire mantiene a las partículas juntas y orientadas (cohesión).

Efecto de las Substancias Húmicas en el Suelo

Como es sabido, los suelos agrícolas clasificados como Calcisol poseen, generalmente, bajos contenidos en materia orgánica, que tienden a disminuir debido a las pérdidas que se producen por mineralización de la misma, a las labores agrícolas, a la relativa poca importancia actual del estercolado, así como al empleo preferente de abonos minerales de origen industrial. Esta disminución de la MO en los suelos, se traduce en un deterioro de las propiedades físico-químicas de los mismos, así como en su mayor erosionabilidad, con la consiguiente pérdida de productividad a medio y largo plazo (Barón *et al.* 1995). Estas prácticas están convirtiendo paulatinamente la agricultura tradicional en un ejercicio de tendencias claramente insostenibles; por ello, la utilización de MO está sobradamente justificada.

Está bien establecido que la adición de materia orgánica al suelo (MOS), no sólo puede reducir la densidad aparente (Da) y aumentar la capacidad de retención de agua, sino también aumentar de manera efectiva la estabilidad de agregados del suelo. Así, Angers y Carter (1996), observaron que la cantidad de agregados estables al agua, se asocian a menudo con un contenido alto de MOS, y en particular a la de carbono lábil y a menudo se relaciona positivamente con la estabilidad macro global. Kay y Angers (1999), informaron que un mínimo del dos por ciento de MOS, es necesario para mantener la estabilidad estructural y observaron que si el contenido de MOS, es de entre 1.2 a 1,5 por ciento, la estabilidad disminuyó rápidamente. También, Boix *et al.* (2003), mostraron que es necesario alcanzar un umbral entre 3 a 3.5 por

ciento de MOS, para lograr aumentar la estabilidad de agregados y observaron que por debajo de este umbral, no hay efectos sobre la estabilidad de agregados. Chaney y Swift (1984), investigaron la estabilidad de agregados de 26 suelos de zonas agrícolas y encontraron una correlación lineal altamente significativa entre la estabilidad de los agregados y el contenido de materia orgánica. De hecho, la mayoría de los estudios indican un aumento lineal de la estabilidad de los agregados y el tamaño global, con niveles crecientes de MOS. Aunque muchos estudios, están de acuerdo en una relación positiva entre la estabilidad de agregados y la MOS; sin embargo, entre los investigadores no hay acuerdo si hay un valor umbral definido. Loveland y Webb (2003), concluyeron, tras una revisión de varios estudios, que no hay niveles de un umbral universal de los contenidos de MOS, que determinen la estabilidad de agregados, pero éstos pueden ser establecidos.

La importancia de los polisacáridos y los hidratos de carbono fácilmente extraíbles en la formación de agregados, se ha señalado en varios estudios (Chaney y Swift, 1984; Haynes y Swift, 1990; Robertson *et al.* 1991). Martens y Frankenberger (1992), demostraron que en un suelo franco-arcilloso con riego y donde se adicionaron 25 t ha⁻¹ por año, de enmiendas orgánicas (paja de cebada, estiércol de aves de corral, lodos de una planta tratadora y alfalfa), el contenido de sacáridos en total, fue el factor más importante en la mejora de la estabilidad de agregado. Otros estudios subrayan la importancia particular de los polisacáridos producidas por microorganismos: Friedel *et al.* (1996), encontraron que la parte “microbiana activa” de la MOS, está estrechamente relacionado con la cantidad de agregados estables al agua, y Rogers *et al.* (1991),

observaron que al inocular un suelo esterilizado con algas unicelulares, dio lugar a un aumento de la estabilidad de los agregados del suelo, acompañado de un aumento en el contenido de polisacáridos. Así mismo, Lynch (1984) demostró que algunos residuos orgánicos sólo son eficaces en la producción de algunos carbohidratos cuando los microbios están activos y abundantes, y Oades (1984) y Degens (1997), declararon que los hidratos de carbono, derivados de la actividad microbiana, son los principales responsables de la estabilización de los agregados de los suelos. Gerzabek (1995), explica que la mayor estabilidad global, después de la adición de polisacáridos, es el resultado de una mayor producción de biomasa microbiana del suelo, debido a las fuentes de carbono fácilmente disponible, y Carter (1992) encontró que la MOS, refleja la actividad biológica, es un mejor indicador de la estabilidad estructural, ya que contribuye directamente a los mecanismos de enlace, entre la MOS y las arcillas del suelo. De estos estudios es evidente que la fracción de carbono lábil, que consiste principalmente de hidratos de carbono, es fundamental en la formación de agregados (Kay y Angers, 1999). Varios estudios han tratado de distinguir aún más los componentes específicos de la fracción de hidratos de carbono lábil, que pueden actuar como factores clave en la formación de agregados.

Haynes y Swift (1990) subrayan que al menos dos etapas importantes están implicadas en la formación de agregados: una fase de acumulación inicial (impulsado por polisacáridos microbianos) y una fase de estabilización (impulsada por los materiales húmicos). Así, Ghani *et al.* (2003), abogó por la utilización de carbohidratos como un indicador sensible para la determinación de los cambios sutiles en la calidad

del suelo, porque éstos promueven la biomasa microbiana, carbohidratos más solubles, aminas y nutrientes lábiles. Mientras que los polisacáridos han sido implicados en la importancia de la formación de agregados, las SH, en particular aquellos con un alto contenido de compuestos aromáticos, a menudo se consideran de menor importancia en la formación de agregados (Shepherd *et al.* 2001).

Sin embargo, varios estudios han encontrado lo contrario, al determinar que componentes aromáticos de los compuestos húmicos, pueden desempeñar un papel fundamental en la formación de agregados y su estabilización. Por ejemplo, Chaney y Swift (1984) mostraron que los coeficientes de correlación para la estabilidad de los agregados, fueron mejores para los materiales húmicos extraídos con hidróxido de sodio y después con una extracción con pirofosfato de sodio. Lo anterior sugiere, que los materiales húmicos de alto peso molecular, son más importantes que los de bajo peso molecular; sin embargo, también encontraron que el contenido de hidratos de carbono, fue altamente correlacionado con la estabilidad de agregados, lo que indica que ambos, hidratos de carbono y sustancias húmicas, son importantes para la estabilidad de agregados. En un estudio posterior, Chaney y Swift (1986) investigaron los efectos de los materiales húmicos adsorbidos sobre la agregación, utilizando suelos saturados con sodio (Na) y calcio (Ca). Encontraron que los ácidos húmicos, por sus características físicas, por si solas, no realizaron ningún efecto en la estabilidad de agregados. También, incubaron el suelo con glucosa y se produjo el mismo efecto, es decir, no hay efecto en la estabilidad de los agregados. Sin embargo, si con la adición de los ácidos húmicos, éstos son adsorbidos por los minerales del suelo y si se incubaba con la

glucosa, la estabilidad de agregados fue alta y persiste con el tiempo. Se observaron resultados similares tanto en la superficie (3,6 % MOS) y el subsuelo (0,5 % MOS). Por lo tanto, la adsorción de los ácidos húmicos parece ser esencial para estabilizar los agregados.

En un estudio posterior, Swift (1991) estudió específicamente los efectos de los polisacáridos producidas por microorganismos (goma xantana y alginato), glucosa y sustancias húmicas sobre la agregación. Suelos se incubaron con glucosa, goma de xantano y alginato para estudiar la producción de agregados estabilizados. Él encontró que los efectos estabilizadores de la goma xantana y alginato, se debieron a la acción de unión de estos compuestos y los efectos del tratamiento de la glucosa no se debieron a la acción de la glucosa en sí, sino debido a la producción de polisacáridos exocelular por microorganismos, como resultado de la metabolización de la glucosa. Todos los tratamientos produjeron agregados estables en las cuatro primeras semanas de la incubación y ésta, disminuyó en el total de incubación, el que fue de 12 semanas. Además, la glucosa produjo agregados más estables, que persistieron durante más tiempo, que los producidos en la goma xantana y el alginato; lo que sugiere que “in-situ” se produjeron polisacáridos microbianos y fueron más efectivos que los añadidos. Sin embargo, donde la incubación del suelo fue con los elementos (Na y Ca), la estructura total original fue destruida por los iones de lavado. Todos los tratamientos como los hidratos de carbono, fueron ineficaces en la estabilización de agregados. Sólo después de la incubación con ácidos húmicos adsorbidos por las arcillas, se produjeron nuevos agregados y la adición de glucosa mejora aún más la producción de nuevos

agregados. Resultados similares fueron observados por Haynes y Naidu (1998), quien señaló que después de la adición de materia orgánica fácilmente degradable, hubo un crecimiento de hongos de color blanco de la actividad microbiana y la producción de polisacáridos extracelulares, lo que dio lugar a un rápido aumento de la estabilidad de agregados. Sin embargo, este efecto fue sólo temporal y además, sólo con el material descompuesto se logró un aumento lento y constante de la estabilidad de agregados; lo anterior sugirió que el resultado se debe a la presencia de las sustancias húmicas.

Piccolo y Mbagwu (1990), investigaron el papel específico de los ácidos húmicos en la formación de agregados, mediante la aplicación de la goma de polisacáridos hidrofílicos e hidrofóbicos, como el ácido esteárico en un suelo con materia orgánica (MO), retenida y con MOS removido por H_2O_2 y con y sin adición de ácidos húmicos. Ellos encontraron que la estabilidad global, fue mayor para la goma de polisacárido cuando la MOS fue eliminada; mientras que la estabilidad global fue mejor para el ácido esteárico, cuando se mantiene en la MOS. La adición de los ácidos húmicos (a $0,2 \text{ g kg}^{-1} = 400 \text{ kg ha}^{-1}$ como el lignito), aumentó el efecto prolongado y la estabilidad de agregados con el ácido esteárico, lo que sugiere un efecto sinérgico de los ácidos húmicos y el ácido esteárico, y demostraron que la estabilidad de agregados del suelo se mejora y mantiene un mejor tiempo de hidrofobicidad de los componentes hidrofílicos. Piccolo *et al.* (1997), investigaron los efectos cíclicos de humedecimiento y secado y tratamiento previo de los suelos con el carbón, derivado de las sustancias húmicas en la estabilidad global. Determinaron que la mineralogía de la arcilla y la química de los compuestos orgánicos, la estabilidad total fue afectada. En virtud de los ciclos de

humedecimiento y secado, los suelos esmectíticos e illíticos perdieron la estabilidad de agregados, pero se mostró una mejora en suelos caoliníticos, después de unos cuantos ciclos. Las mejores cantidades de carbono ($0,10 \text{ g kg}^{-1} = 100 \text{ kg ha}^{-1}$) de las sustancias húmicas, con más de 70 por ciento de grupos aromáticos, mejora la estabilidad global en todos los suelos y redujo el efecto de la desagregación de los ciclos de humedecimiento y secado.

La razón para el efecto beneficioso de las sustancias húmicas, para la estabilidad de agregados, se pensaba que era debido a la formación de complejos arcilla – ácidos húmicos (a través de puentes de cationes polivalentes adsorbidos en las superficies de las arcillas), que orientan los grupos ácidos funcionales de los materiales húmicos (carboxilo y fenoles), hacia el interior de los agregados, dejando grupos alifáticos y aromáticos hidrófobos de cara al exterior. Esto llevaría a la formación de una capa repelente al agua con alta tensión superficial, de manera efectiva la reducción de la infiltración de agua en los agregados. El efecto positivo de los materiales hidrofóbicos, en la estabilidad de agregados, se ha demostrado por Capriel *et al.* (1990), quien encontró alta correlación entre el coeficiente de estabilidad de agregados y el de grupos alifáticos (hidrofóbicos) y la biomasa microbiana del suelo ($r^2 = 0.91$). Parece que la fracción hidrófoba, formó una celosía repelente al agua alrededor de los agregados y mejoró la estabilidad de agua de los agregados.

Los estudios de Piccolo *et al.* (1997) y Piccolo y Mbagwu (1990) y otros estudios (Chaney y Swift, 1986; Fortún *et al.* 1989), sugieren que la aplicación de las sustancias

húmicas (lignito y carbón oxidado) sería una fuente económicamente viable para la rehabilitación de suelos degradados, ya que las sustancias húmicas son relativamente baratas (0.5-1.0 dólares de los EE.UU.) y sólo pequeñas cantidades (100-300 kg ha⁻¹, dependiendo de la sustancia), son obligatorios, en comparación con cantidades mucho más grandes para aplicaciones de estiércol de bovino (50-200 toneladas por hectárea). Sin embargo, Piccolo *et al.* (1997) también encontró que había un límite superior, más allá de los efectos beneficiosos de las sustancias húmicas. Comentan que más de 0.1 g.kg⁻¹ de sustancias húmicas, pueden penetrar en el dominio de arcilla de manera efectiva y a su vez, puede desplazar partículas de arcilla, lo cual puede causar la dispersión de las arcillas, lo que reducirá la estabilidad.

Visser y Caillier (1988), estudiaron el efecto de dispersión de las sustancias húmicas (ácidos húmicos extraídos de un suelo Gleysol húmico a pH 6.7), a concentración de 40 mg.litro⁻¹ (0,004%). En comparación con hexametafosfato de sodio a la misma concentración, los ácidos húmicos fueron 140 veces más eficaces en la dispersión de arcilla fina (<0.6µm) fracción y 1.2 veces más eficaz para la dispersión de la arcilla gruesa (0,6-20µm). Del mismo modo, Durgin y Chaney (1984), encontraron que ácidos húmicos de alto peso, los grupos alifáticos y aromáticos policarboxílicos, fueron capaces de dispersar caolinitas, mediante compensación de la carga positiva en los bordes de las partículas de arcilla y con esto promovió la dispersión de la arcilla. Visser y Caillier (1988), sugirieron que el poder de dispersión de las sustancias húmicas, pueden afectar los procesos del suelo tales como podzolisation, donde las

concentraciones de ácidos húmicos de hasta 60 mg.litro⁻¹, se producen y donde el poder de dispersión podría contribuir a la formación de horizontes con arcilla lixiviada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del Experimento

El trabajo de investigación, se desarrolló en un invernadero donado por la Empresa C B Marketing Group, de Houston, Texas. USA y establecido en terrenos aledaños al Departamento de Ciencias del Suelo del Campus principal de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” (UAAAN) en Buenavista, Saltillo, Coahuila; ubicada a los 25° 23’ de latitud norte, a los 101° 00’ de longitud oeste y a la altitud de 1742 msnm.

Metodología

El horizonte Ap de un Calcisol, del área experimental del Campus principal de la UAAAN, denominada “El Bajío”, fue colectado, secado al aire y después, 10 kg de éste colocado en cada maceta de plástico de color negro. Después de realizado lo anterior, se aplicaron los tratamientos, los cuales consistieron en la mezcla de ácidos húmicos de leonardita experimentales (AHE) y ácidos húmicos comerciales (AHC), con la bacteria libre-fijadora de nitrógeno, denominada *Azospirillum* (Az). Los tratamientos y las dosis

se presentan en el Cuadro 4. Cada cuatro días se regó el suelo de las macetas y durante 120 días se mantuvo húmedo, después se dejó secar al aire durante 15 días, se colectaron muestras del suelo y se midieron las variables siguientes: Materia orgánica (MO) (Walkley y Black, 1948), Carbonatos totales (CO₃) (volumetría), Nitrógeno total (NT) (Kjeldhal), Textura (hidrómetro de Boyoucouos) y la Estabilidad de agregados (Ag), mediante la fórmula propuesta por Monnier (1984):

$$\text{Ag (\%)} = 0.72 + 2.54 (\% \text{ MO} / \% \text{ A}) \times 100$$

Donde:

Ag: Estabilidad de agregados.

MO: Materia orgánica.

A: Arcilla.

El análisis estadístico consistió en el análisis de varianza (ANVA) y la prueba de medias de Tukey ($P \leq 0.05$), para lo cual se empleó el paquete para computador MINITAB, versión 15 para Windows, además, se realizó Análisis de Regresión Lineal Simple y Múltiple, donde la Ag fue la variable dependiente y las demás características medidas, las variables independientes.

Cuadro 4.- Tratamientos y dosis empleados en el experimento.

Número	Tratamientos	Dosis de ácidos húmicos (ml.litro ⁻¹ de agua)	Dosis de <i>Azospirillum</i> (Unidades Formadoras de Colonias)
1	Ácidos húmicos de leonardita experimental + <i>Azospirillum</i>	2	10 ⁷
2	Ácidos húmicos de leonardita experimental + <i>Azospirillum</i>	2	10 ⁹
3	Ácidos húmicos de leonardita experimental + <i>Azospirillum</i>	4	10 ⁷
4	Ácidos húmicos de leonardita experimental + <i>Azospirillum</i>	4	10 ⁹
5	Ácidos húmicos de leonardita experimental + <i>Azospirillum</i>	6	10 ⁷
6	Ácidos húmicos de leonardita experimental + <i>Azospirillum</i>	6	10 ⁹
7	Ácidos húmicos de leonardita comercial + <i>Azospirillum</i>	2	10 ⁷
8	Ácidos húmicos de leonardita comercial + <i>Azospirillum</i>	2	10 ⁹
9	Ácidos húmicos de leonardita comercial + <i>Azospirillum</i>	4	10 ⁷
10	Ácidos húmicos de leonardita comercial + <i>Azospirillum</i>	4	10 ⁹
11	Ácidos húmicos de leonardita comercial + <i>Azospirillum</i>	6	10 ⁷
12	Ácidos húmicos de leonardita comercial + <i>Azospirillum</i>	6	10 ⁹
13	<i>Azospirillum</i>	0	10 ⁷
14	<i>Azospirillum</i>	0	10 ⁹
15	Fertilizante químico	0	0
16	Testigo absoluto (solo agua)	0	0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la materia orgánica (MO), hay efecto altamente significativo de los tratamientos (Cuadro 5). En general, al adicionar los ácidos húmicos experimentales, a razón de 2 ml.litro⁻¹ de agua, mezclados con el *Azospirillum* a las dos dosis (AHE+Az7 y Az9), los valores fueron de 2.2 y 2.7 por ciento de MO; al agregar 4 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos experimentales, con las dos cantidades de *Azospirillum*, no sobrepasaron 1.5 por ciento de MO y al agregar los ácidos húmicos experimentales a la dosis de 6 ml.litro⁻¹ de agua, no sobrepasaron 1.7 por ciento de MO. Con la dosis de 2 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos comerciales y a las dos cantidades del *Azospirillum*, los valores de MO no adelantaron más de 1.9 por ciento; con la dosis media de los ácidos húmicos comerciales y la baja del *Azospirillum*, la cuantía de MO fue de 1.9 por ciento y con la misma cantidad de los ácidos húmicos, pero con la cantidad alta del *Azospirillum*, la MO fue de 2.3 por ciento; mientras que con la dosis alta de los ácidos y la baja de la bacteria, el valor de la MO fue de 2.1 por ciento y disminuyó con la misma cantidad de los ácidos y la dosis alta de la bacteria. Con ambas dosis del *Azospirillum*, el valor de la MO osciló alrededor de 2.3 por ciento; pero disminuyó al adicionar el fertilizante químico (FQ) y solo agua (TA) (Figura 4).

De forma particular, de acuerdo con la mismo tratamiento (Figura 4), al adicionar la mezcla de 2 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos de leonardita experimentales con

la bacteria *Azospirillum*, a la concentración de 10^9 Unidades Formadoras de Colonias (UFC), se presentó la cantidad superior de MO y aventajó al testigo absoluto (TA) en 35 por ciento.

Cuadro 5.- Análisis de varianza para materia orgánica (MO) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y *Azospirillum*.

Fuente	Gl	SC	CM	F	P
Tratamientos	15	3.88144	0.25876	2.78	0.008 **
Repetición	2	0.22404	0.11202	1.20	0.314 NS
Error	30	2.79245	0.09308		
Total	47	6.89792			

C. V. = 15.43 %

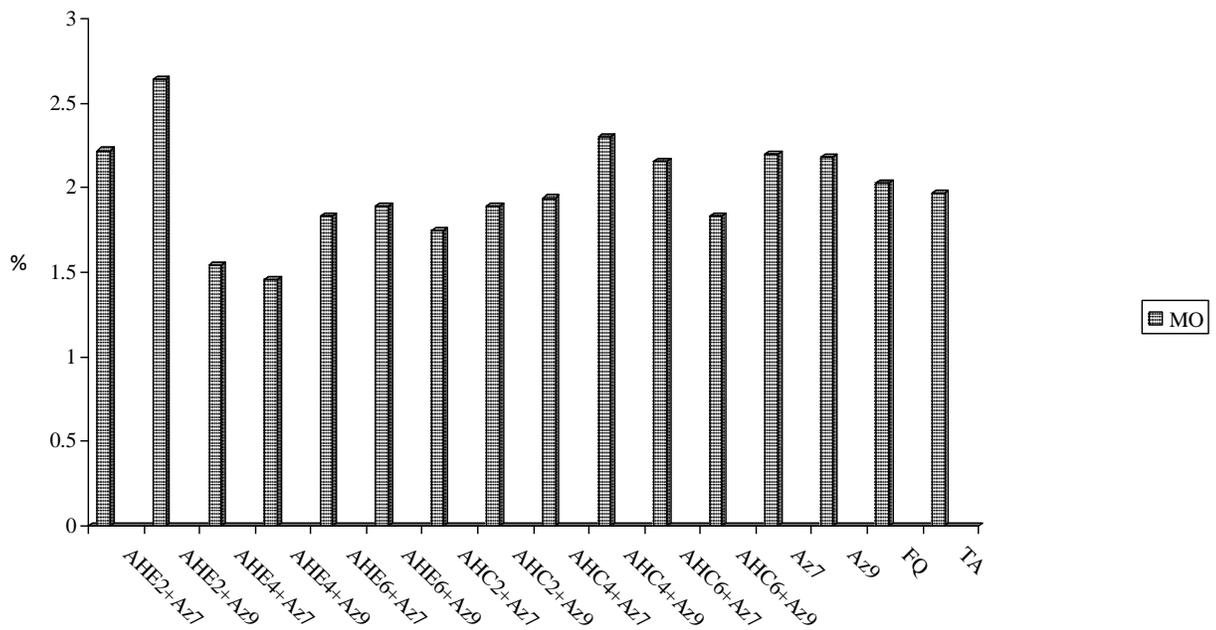


Figura 4.- Contenido de materia orgánica (MO) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita.

Los tratamientos realizaron efecto altamente significativo en la cantidad de carbonatos totales (CO₃) (Cuadro 6). En general, se puede establecer, que al agregar las dos cantidades de las sustancias húmicas de ambos orígenes, mezcladas con las dos dosis de la bacteria *Azospirillum* y con la adición de las dos cantidades de la bacteria sola, los valores de los carbonatos totales (CO₃) fluctuaron entre 16 y 17 por ciento; mientras que con la aplicación del fertilizante químico y en el tratamiento solo con agua (TA), los valores disminuyeron, ya que éstos oscilaron entre 11 y 12 por ciento (Figura 5).

Cuadro 6.- Análisis de varianza para carbonatos totales (CO₃) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y *Azospirillum*.

Fuente	Gl	SC	CM	F	P
Tratamientos	15	101.4525	6.7635	24.64	0.000 **
Repetición	2	2.6863	1.3431	4.89	0.014 *
Error	30	8.2338	0.2745		
Total	47	112.3725			

C. V. = 3.67 %

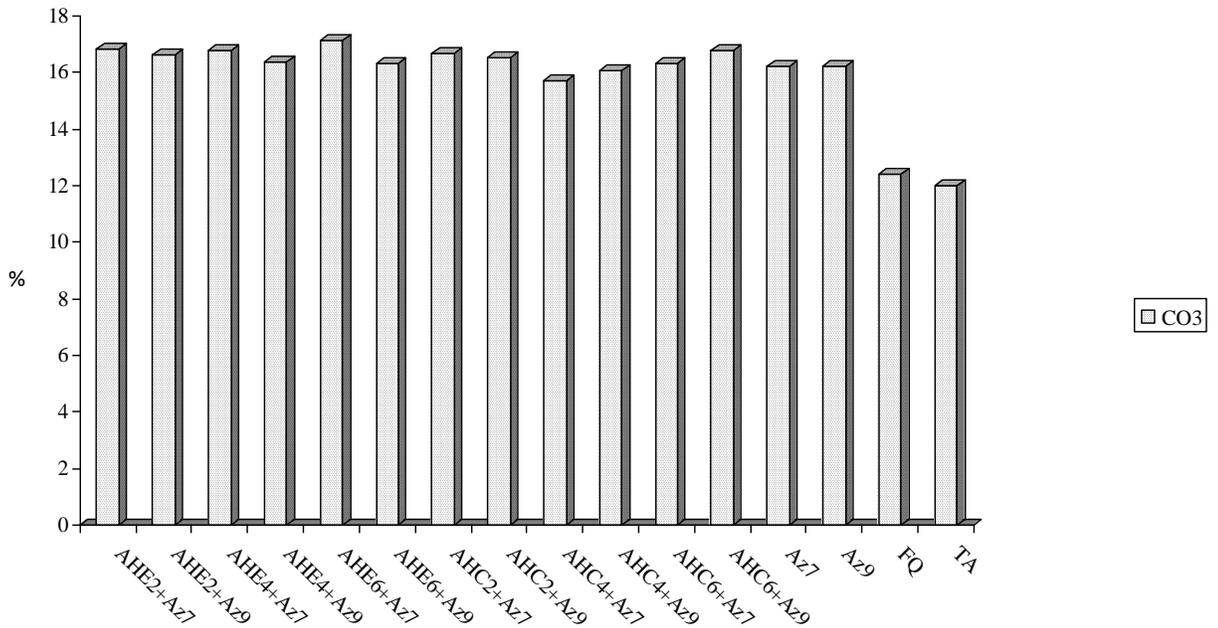


Figura 5.- Contenido de carbonatos totales (CO₃) de un Calciisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita.

Hay relación directa entre el contenido de MO y el de nitrógeno total (NT), solo que aquí hay efecto significativo de los tratamientos (Cuadro 6). Se puede establecer, que al aplicar 2 ml.litro⁻¹ de los ácidos húmicos de leonardita experimentales, con las dos dosis de la bacteria *Azospirillum*, los valores de nitrógeno total (NT) fueron de 0.11 y 0.13 por ciento; pero al agregar las dosis medias de las sustancias húmicas experimentales, con ambas dosis del *Azospirillum*, los valores de NT disminuyeron alrededor de 0.07 por ciento y de ahí con la cantidad alta de los ácidos húmicos, y ambas dosis de *Azospirillum*, las cantidades de NT aumentaron alrededor de 0.09 por ciento. Cuando se aplicaron las cantidades baja y media de los ácidos húmicos comerciales, con la dosis baja de *Azospirillum*, los valores de esta variable disminuyeron en comparación a cuando se aplicaron las mismas cantidades de las sustancias húmicas, pero mezcladas con las dosis altas de la bacteria; mientras que al agregar la dosis alta de

las sustancias húmicas, pero mezcladas con la dosis alta de *Azospirillum*, el valor disminuyó con relación a cuando se mezclaron con la dosis baja de la bacteria (de 0.11 a 0.09 por ciento). Con la aplicación de la bacteria sola, a ambas dosis y el fertilizante químico, los valores de la variable fluctuaron entre 0.10 y 0.11 por ciento. En particular, se establece que al agregar 2 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos de leonardita experimentales, mezclados con la bacteria *Azospirillum* a la dosis de 10⁹ UFC, sobrepasaron en 30 por ciento al testigo absoluto (TA) (Figura 6).

Cuadro 7.- Análisis de varianza para nitrógeno total (NT) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y *Azospirillum*.

Fuente	Gl	SC	CM	F	P
Tratamientos	15	0.0094979	0.0006332	2.41	0.019*
Repetición	2	0.0005292	0.0002646	1.01	0.377 NS
Error	30	0.0078708	0.0002624		
Total	47	0.0178979			

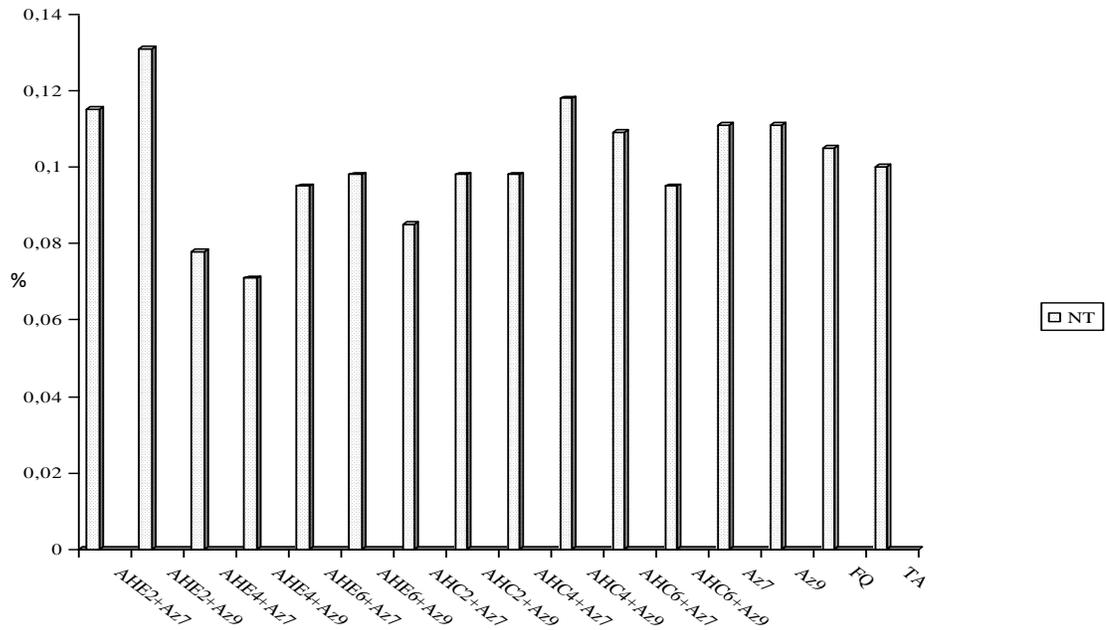


Figura 6.- Contenido de nitrógeno total (NT) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita.

Los tratamientos no muestran efecto significativo en los contenidos de arena y arcilla (Cuadros 8 y 9), pero en el limo si (Cuadro 10). Los valores de la arena fueron constantes, porque no sobrepasaron el 25 por ciento, excepto en el tratamiento donde se agregaron 2 ml.litro^{-1} de agua de los ácidos húmicos de leonardita experimentales, mezclados con la dosis de 10^9 UFC de la bacteria *Azospirillum* (AHE2 + Az9).

Las cantidades de arcilla, fluctuaron entre 30 y 40 por ciento con todos los tratamientos; mientras que los valores superiores de limo, se presentaron donde se adicionaron 6 ml.litro^{-1} de agua de los ácidos húmicos de leonardita comerciales, mezclados con la concentración de 10^7 UFC del *Azospirillum* (AHC6 + Az7); además, con 4 ml.litro^{-1} de agua de los mismos ácidos y bacteria (Figura 7).

Cuadro 8.- Análisis de varianza para el contenido de arena (A) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y *Azospirillum*.

Fuente	Gl	SC	CM	F	P
Tratamientos	15	492.24	32.82	1.36	0.228 NS
Repetición	2	85.19	42.59	1.77	0.188 NS
Error	30	722.62	24.09		
Total	47	1300.04			

Cuadro 9.- Análisis de varianza para el contenido de arcilla (Ar) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y *Azospirillum*.

Fuente	Gl	SC	CM	F	P
Tratamientos	15	182.87	12.19	0.87	0.605 NS
Repetición	2	6.94	3.47	0.25	0.783 NS
Error	30	422.43	14.08		
Total	47	612.24			

Cuadro 10.- Análisis de varianza para el contenido de limo (L) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y *Azospirillum*.

Fuente	Gl	SC	CM	F	P
Tratamientos	15	577.911	38.527	3.86	0.001 **
Repetición	2	43.588	21.794	2.18	0.130 NS
Error	30	299.406	9.980		
Total	47	920.905			

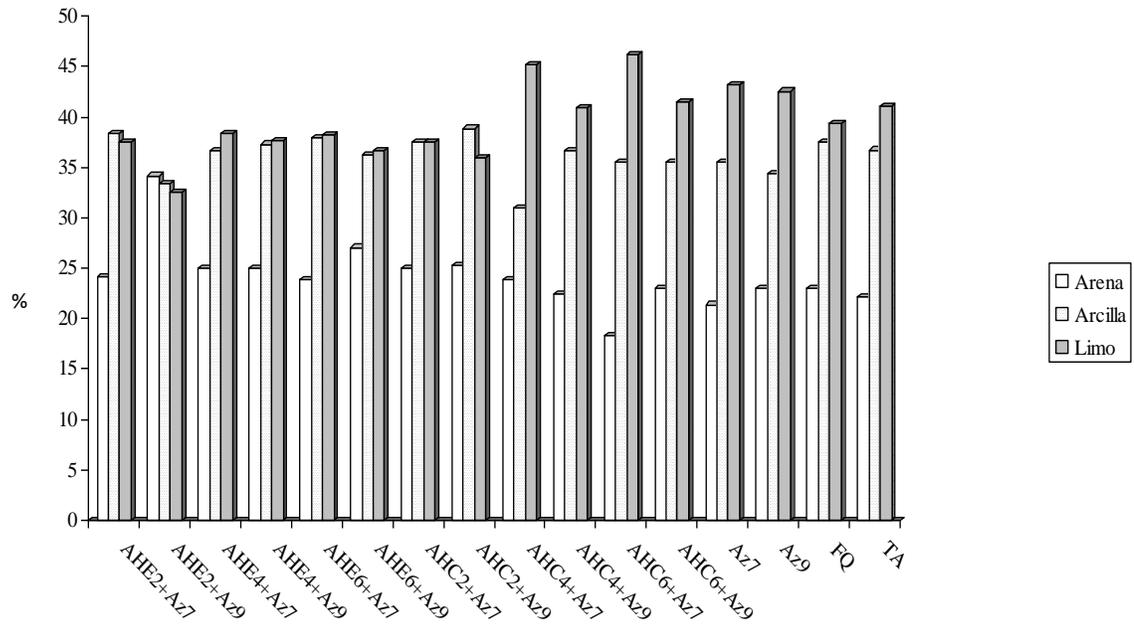


Figura 7.- Contenido de arena, limo y arcilla de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita.

En la estabilidad de agregados (Ag), los tratamientos no presentan efecto significativo (Cuadro 11). Se puede decir que la mezcla de 2 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos de leonardita experimentales y la cantidad baja de la bacteria *Azospirillum* (AHE2 + Az7), el valor de Ag fue de 87 por ciento y con la misma cantidad de la sustancia húmica y la dosis alta de la bacteria, el valor de esta variable aumentó hasta 95 por ciento. Con 4 ml.litro⁻¹ del mismo tipo de ácido húmico y la dosis baja de *Azospirillum*, la Ag fue de 83 por ciento y con la misma cantidad del ácido y la dosis alta de la bacteria, el valor disminuyó. A la adición de 6 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos con la dosis de 10⁷ UFC de la bacteria, la cuantía de Ag fue de 84 por ciento y con la dosis alta de la bacteria y el mismo compuesto húmico, aumentó hasta 86 por ciento. Con la cantidad baja de los ácidos húmicos de leonardita comerciales y ambas dosis de la bacteria, la Ag osciló por el 84 por ciento; con la cantidad media de

este tipo de ácidos húmicos y las dos dosis de la bacteria, el valor de la Ag fue de 88 por ciento y con la cantidad alta de la substancias húmicas y ambas de *Azospirillum*, el valor disminuyó y con solo la bacteria, los valores de la Ag permanecieron constantes con relación al tratamiento anterior (Figura 8).

Cuadro 11.- Análisis de varianza para la estabilidad de agregados (Ag) de un Calcisol, con la adición de substancias húmicas de leonardita y *Azospirillum*.

Fuente	gl	SC	CM	F	P
Tratamientos	15	409.56	27.30	1.50	0.168 NS
Repetición	2	39.99	19.99	1.10	0.347 NS
Error	30	546.18	18.21		
Total	47	995.72			

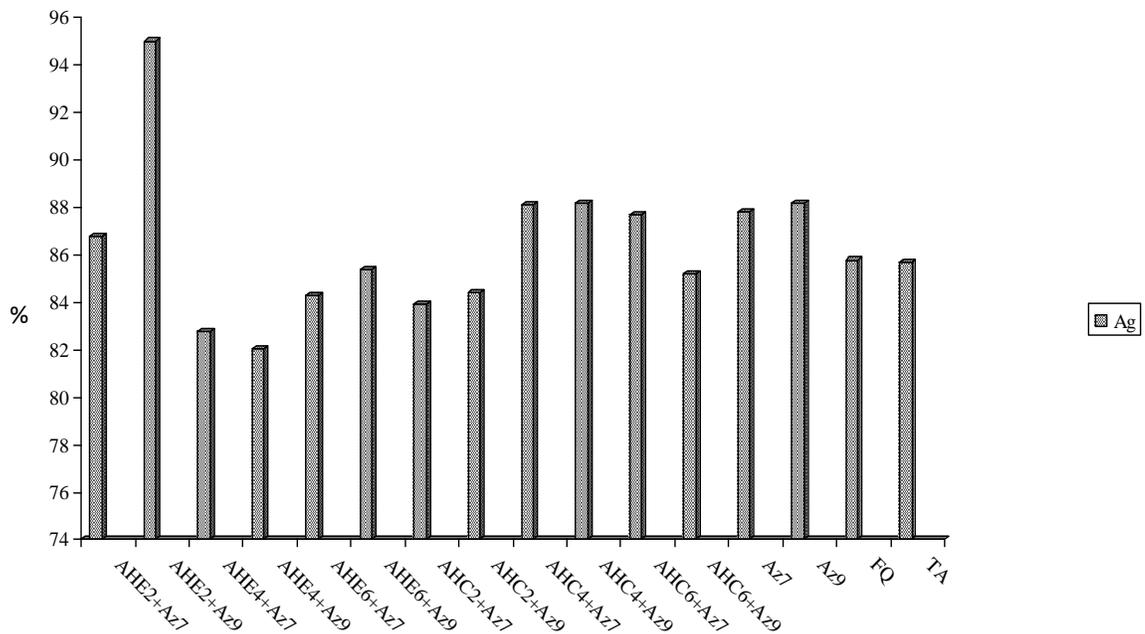


Figura 8.- Estabilidad de agregados de un Calcisol, con la adición de substancias húmicas de leonardita.

El Cuadro 12, muestra que la Ag está altamente correlacionada con los contenidos de MO, la arena y la arcilla; es decir, la Ag depende de la MO en 88 por ciento; de la arena en 67 por ciento y de la arcilla en 71 por ciento. La Ag depende en 97.5 por ciento de todas las variables medidas; así, se tiene la ecuación de Regresión Lineal Múltiple siguiente:

$$\text{Ag \%} = 82.1 + 8.30 \text{ MO} + 0.0022 \text{ CO}_3 + 0.159 \% \text{ Arena} - 0.447 \% \text{ Arcilla}$$

Nota: El factor % LIMO está altamente correlacionado con otras variables X, por lo que el % LIMO se ha eliminado de la ecuación.

Cuadro 12.- Matriz de correlaciones de las variables medidas a un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y *Azospirillum*.

	MO (%)	CO ₃ (%)	Arena (%)	Arcilla (%)	Limo (%)
CO ₃ (Correlación)	-0.091				
Valor de P	0.538				
Arena (%) (Correlación)	0.354	0.130			
Valor de P	0.014	0.377			
Arcilla (%) (Correlación)	-0.379	0.006	-0.556		
Valor de P	0.008	0.279	0.000		
Limo (%) (Correlación)	-0.112	-0.159	-0.735	-0.155	
Valor de P	0.449	0.279	0.000**	0.292	
Estabilidad Agregados (%) (Correlación)	0.888	-0.041	0.621	-0.713	-0.156
Valor de P	0.000**	0.784	0.000**	0.000**	0.288

El contenido de materia orgánica (MO), juega un papel básico en la estabilidad de agregados (Ag); es decir, la Ag está asociada a la cantidad de MO. Así, conforme aumenta la cantidad de MO aumenta la Ag, pero no es una regla general, ya que Kay y Angers (1999), determinaron que cuando la cantidad de MO fluctúa entre 1.5 y 2.0 por ciento, los agregados del suelo son más estables. Sin embargo, Boix-Fayos *et al.* (2003), establecen que los agregados del suelo son más estables cuando la MO, oscila entre 3.0 y 3.5. Para el presente trabajo, hay una alta correlación entre la cantidad de MO y la Ag, ya que esta última variable depende en 88 por ciento de aquella. Así, la mayor Ag fue entre 85 y 90 por ciento cuando la MO fluctuó entre 2.0 y 2.5 por ciento (Figura 9).

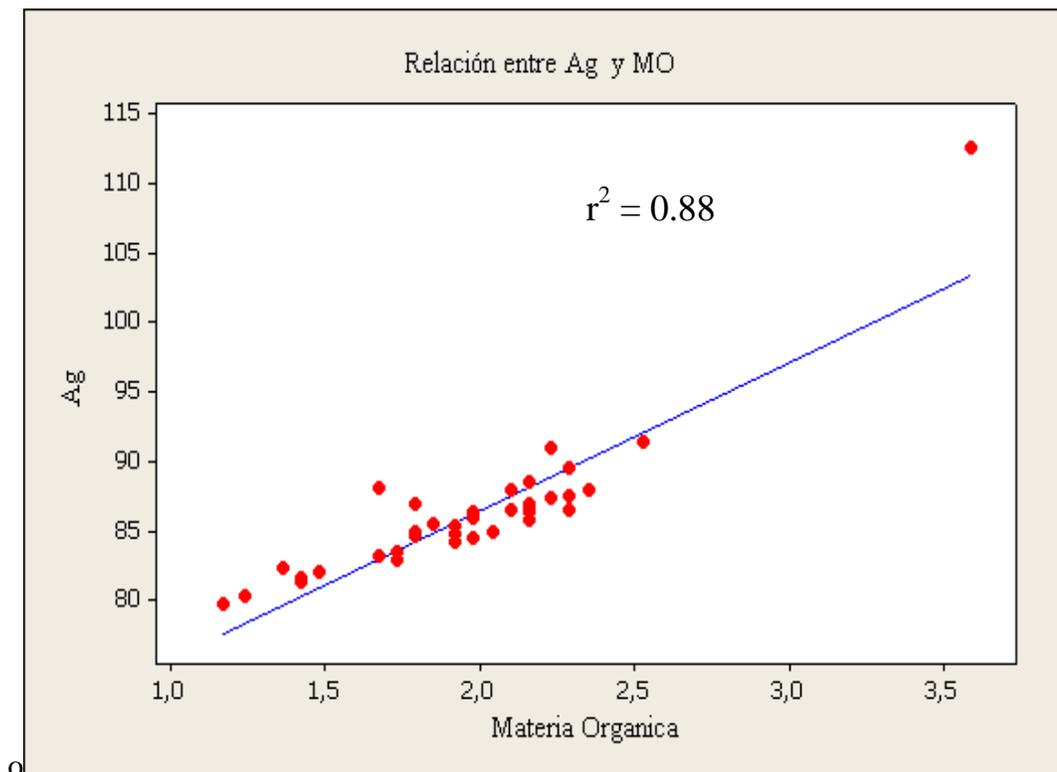


Figura 9.- Correlación entre el contenido de materia orgánica (MO) y la estabilidad de agregados (Ag) de un Calcisol, con la adición de sustancias húmicas de leonardita y la bacteria *Azospirillum*.

En la discusión, se concluye que los contenidos de materia orgánica (MO) aumentan con la mezcla de las cantidades bajas de los ácidos húmicos de leonardita experimentales y las concentraciones altas de la bacteria *Azospirillum*. Lo anterior concuerda con lo establecido por Tisdall y Oades (1982), en su conceptualización sobre la jerarquización de agregados, al establecer que con el incremento en la cantidad de MO y carbón orgánico (CO), se incrementa el tamaño de los agregados, es decir, dominan los macroagregados, los cuales están formados por microagregados, más los agentes de unión. Aquí, los grupos funcionales libres carboxilos ($-\text{COOH}$) (cargas eléctricas negativas) de los compuestos húmicos, actuaron como ligantes naturales de cationes como el calcio, lo cual quiere decir que las sustancias húmicas (SH) están bien polimerizadas y bien oxidadas (Fründ *et al*, 1994), pero, para Evangelou *et al*. (2004), todas las moléculas que sirven como agentes ligantes, sin importar su origen, tiene una capacidad limitada de unir moléculas o iones, dependiente de la cantidad de sitios de unión.

Es necesario establecer que la acidez total (AT), es considerada como la que provee una adecuada medida de la habilidad de las SH para unirse con cationes, sin embargo, existe la posibilidad de que grupos funcionales no oxigenados podrían estar involucrados (Schnitzer, 2000). Así, en el suelo, los ácidos húmicos de leonardita experimentales junto con la arcilla y la MO, formaron complejos órgano-minerales, lo cual produce la buena estabilidad de agregados, lo que muestra que las SH son agentes persistentes de la estabilidad de agregados.

CONCLUSIÓN

La mezcla de las dosis bajas de los ácidos húmicos de leonardita experimentales y las concentraciones altas de la bacteria *Azospirillum*, aumentan la cantidad de materia orgánica y junto con la arena y la arcilla, tienen efecto positivo en la estabilidad de agregados, de un Calcisol.

LITERATURA CITADA

- ANGERS, D. A. AND CARTER, M. R. (1996). Aggregation and organic matter storage in cool, humid agricultural soils. In 'Structure and organic matter storage in agricultural soils. (Eds M. R. Carter and B. A. Stewart) pp.193-211. (CRC Press: Boca Raton.)
- AYUSO, L.M. 1995. Utilización de residuos urbanos como enmiendas orgánicas sólidas y líquidas: Valoración agronómica y efectividad frente a enmiendas tradicionales. Tesis Doctoral. CEBAS-CSIC. Murcia.
- BARÓN, R. BENÍTEZ, I.C. y GONZÁLEZ, J.L. 1995. Influencia de la dosis creciente de un abono orgánico en un cultivo de trigo. *Agrochimica* XXXIX, 5-6; 280-289.
- BOIX-FAYOS, C., CALVO-CASES, A., IMESON, A. C., AND SORIANO-SOTO, M. D. (2001). Influence of soil properties on the aggregation of some Mediterranean soils and the use of aggregate size and stability as land degradation indicators. *Catena* 44, 47-67.
- CAPRIEL, P., BECK, T., BORCHERT, H., AND HÄRTER, P. (1990). Relationship between soil aliphatic fraction extracted with supercritical hexane, soil microbial biomass, and soil aggregate stability. *Soil Science Society of America Journal* 54, 415-420.
- CARTER, M. R. (1992). Influence of reduced tillage systems on organic matter, microbial biomass, macroaggregate distribution and structural stability of the surface soil in a humid climate. *Soil & Tillage Research* 23, 361-372.
- CHANEY, K. AND SWIFT, R. S. (1984). The influence of organic matter on aggregate stability in some British soils. *Journal of Soil Science* 35, 223-230.116
- CHANEY, K. AND SWIFT, R. S. (1986). Studies on aggregate stability. II. The effect of humic substances on the stability of re-formed aggregates. *Journal of Soil Science* 37, 337-343.
- DEGENS, B. P. (1997). The contribution of carbohydrate C and earthworm activity to the water-stable aggregation of a sandy soil. *Australian Journal of Soil Research* 35, 61-72.
- DEGENS, B. P. (1997). Macro-aggregation of soils by biological bonding and binding mechanisms and the factors affecting these: a review. *Australian Journal of Soil Research* 35, 431-460.

- DURGIN, P. B. AND CHANEY, J. B. (1984). Dispersion of kaolinite by dissolved organic matter from Douglasfir roots. *Canadian Journal of Soil Science* 64, 445-455.
- FAO/UNESCO. 1994. *World Reference Base for Soil Resources*. Wageningen/Rome.
- FORTUN, A., FORTUN, C., AND ORTEGA, C. (1989). Effect of farmyard manure and its humic fraction on aggregate stability of a sandy-loam soil. *Journal of Soil Science* 40, 293-298
- FRIEDEL, J. K., MUNCH, J. C., AND FISCHER, W. R. (1996). Soil microbial properties and the assessment of available soil organic matter in a haplic luvisol after several years of different cultivation and crop rotation. *Soil Biology & Biochemistry* 28, 479-488.
- FRÜND, R., K. GÜGGENBERG, K. HAIDER, H. KNICKER, I. KÖGEL-KNABER, H.-D. LÜDEMAN, J. LUSTER, W. ZECH AND M. SPITELLER. 1994. Recent advances in the spectroscopic characterization of soil humic substances and their ecological relevance. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk*, 157: 175-186.
- GALLARDO, J.F. 1980. El Humus. *Investigación y ciencia*. 46, 8-16.
- GAVANDE, SAMPAT A,(1982).Física de suelos: Principios y Aplicaciones. Mexico: Limusa,87-91.
- GERZABEK, M. H., KIRCHMANN, H., AND PICHLMAYER, F. (1995). Response of soil aggregate stability to manure amendments in the Ultuna long-term soil organic matter experiment. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 158, 257-260.
- GHANI, A., DEXTER, M., AND PERROTT, K. W. (2003). Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil Biology & Biochemistry* 35, 1231-1243.
- GRAETZ, H. A., 1997. *Suelos y Fertilización*. Traducido por: F. Luna Orozco. Trillas. México. 80 p.
- GROS, A. Y DOMÍNGUEZ, A., 1992. *Abonos guía práctica de la fertilización*. 8va. edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 450 p.
- HAYNES, R. J. AND NAIDU, R. (1998). Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 51, 123-137.
- HAYNES, R. J. AND SWIFT, R. S. (1990). Stability of soil aggregates in relation to organic constituents and soil water content. *Journal of Soil Science* 41, 73-83.120
- KAY, B. D. AND ANGERS, D. A. (1999). Soil Structure. In '*Handbook of Soil Science*. (Ed M. E. Sumner.) p.A-229 - A-276. (CRC Press: Boca Raton, USA.)

- KRULL, E. S., BALDOCK, J. A., AND SKJEMSTAD, J. O. (2004). Importance of mechanisms and processes of the stabilization of soil organic matter for modelling carbon turnover. *Functional Plant Biology* 30, 207-222.
- LÓPEZ, C. R., A. GALLEGOS DEL T., E. PEÑA C., A. REYES L., R. CASTRO F. Y J. F. J. CHÁVEZ G. 2006. Substancias húmicas de origen diverso en algunas propiedades físicas de un suelo franco-arcillo-limoso. *TERRA Latinoamericana*. Julio-Septiembre. Volumen 24, N° 3. Páginas. 303-310.
- LÓPEZ, C. R. 2002. Comportamiento de Substancias Húmicas de Diverso Origen en al Física de un Suelo Limo-Arcilloso y en la Fisiología del Tomate. Tesis Doctoral en Sistemas de Producción. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- LYNCH, J. M. (1984). Interactions between biological processes, cultivation and soil structure. *Plant and Soil* 76, 307-318.
- MaCCARTHY, P., MALCOLM, R.L., CLAPP, C.E. y BLOOM, P.R. 1990. An introduction to soil humic substances. pp. 1-12. In P. MacCarthy, C.E. Clapp, R.L. Malcolm, P.R. Bloom (Eds.) *Humic substances in soil and crop sciences: Selected readings*. Proceedings of a symposium by th IHSS, Chicago, Illinois, December 1985.
- MARTENS, D. A. AND FRANKENBERGER JR., W. T. (1992). Modification of infiltration rates in an organic-amended irrigated soil. *Agronomy Journal* 84, 707-717.
- MINITAB. 2004. Estadística Práctica. PEARSON EDUCACIÓN, S. A. Ribera del Loira, 28, 28042, Madrid, España.
- MUSTIN, M., 1987. *Le compost*. Ed. François Dubusc. París, 954 p.
- NARRO, F., E. 1994. Física de Suelos. Con Enfoque Agrícola. Editorial Trillas. México. P. 23-28.
- NAVARRO PEDREÑO, J., MORAL HERRERO, GÓMEZ LUCAS Y MATAIX BENEYTO., 1995. Residuos orgánicos y agricultura. Universidad de Alicante. Servicio de Publicaciones. Alicante. España, 108 pp.
- OADES, J. M. 1984. Soil organic matter and structural stability: mechanism and implications for management. *Plant Soil* 76: 319-337.
- PICCOLO, A. y MBAGWU J.S.C. 1997. Exogenous humic substances as conditioners for the rehabilitation of degraded soils. *Agro-Food-Industry Hi-Tech*. Marzo/Abril 2-4.

- PICCOLO, A. AND J. S. C. MBAGWU. 1999. Role of Hydrophobic Components of Soil Organic Matter in Soil Aggregate Stability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63: 1810-181.
- RICE, J.A. y MaCCARTHY, P. 1988. Comments on th literature of the humin fraction of humus. *Geoderma.* 43, 65-73.
- ROBERTSON, E. B., SARIG, S., AND FIRESTONE, M. K. (1991). Cover crop management of polysaccharidemediated aggregation in an orchard soil. *Soil Science Society of America Journal* 55, 734-739.
- ROGERS, S. L., COOK, K. A., AND BURNS, R. G. (1991). Microbial and cyanobacterial soil inoculants and their effect on soil aggregate stability. In 'Advances in soil organic matter research: The impact on agriculture and the environment. (Ed W. S. Wilson.) pp. 175-184. (The Royal Society of Chemistry: Cambridge.)
- SCHNITZER, M. 1990. Selected methods for the characterization of soil humic substances. pp. 65-89. In P. MacCarthy, C.E. Clapp, R.L. Malcolm, P.R. Bloom (Eds.) *Humic substances in soil and crop sciences: Selected readings. Proceedings of a symposium by th IHSS, Chicago, Illinois, December 1985.*
- SHEPHERD, T. G., SAGGAR, S., NEWMAN, R. H., ROSS, C. W., AND DANDO, J. L. (2001). Tillage-induced changes to soil structure and organic carbon fractions in New Zealand soils. *Australian Journal of Soil Research* 39, 465-489.
- STEELINK, C. 1985. Elemental characteristics of humic substances. In G.R. Aiken D.M. McKnight, R.L. Wershaw, P. MacCarthy (Eds.) *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water*, John Wiley, New York, 457-476.
- STEVENSON, F.J. 1994. *Humus chemistry. Genesis, composition, reactions.* Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- SWIFT, R. S. (1991). Effect of humic substances and polysaccharides on soil aggregation. In 'Advances in soil organic matter research: The impact on agriculture and the environment. (Ed W. S. Wilson.) pp. 153-162. (The Royal Society of Chemistry: Cambridge.)
- TISDALL, J. M. AND J. M. OADES. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil Sci.* 33: 141-163.
- SWIFT, R.S. y POSNER, A.M. 1971. *Journal of Soil Science*, 22, 237-249.
- VARANINI, Z. y PINTON, R. 1995. Humic substances and plant nutrition. *Progress in Botany*, 56, 97-116.
- VISSER, S. A. AND CAILLIER, M. (1988). Observations on the dispersion and aggregation of clays by humic substances, I. dispersive effects of humic acids. *Geoderma* 42, 331-337.

WALKLEY, A. AND I. A. BLACK. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*. 37: 29-38.