



Universidad de Valladolid

Máster

Gestión Forestal basada en Ciencia de Datos/
Forest Management based on Data Science
(DATAFOREST)

Estado y disponibilidad del fósforo
edáfico en masas mixtas *versus*
monoespecíficas de *Quercus* y *Pinus*
sylvestris.

Alumno/a: Luisa Fernanda Velásquez Camacho

Tutor/es: María Belén Turrión Nieves; Marina Getino Álvarez

24/06/2019



INDICE /INDEX

RESUMEN.....	8
ABSTRACT	9
1.- INTRODUCCIÓN.....	10
1.1. Bosques y su relación con el suelo.....	10
1.2. Los bosques como generadores de bienes y servicios ecosistémicos.....	11
1.3. Especies de estudio: <i>Pinus sylvestris</i> , <i>Quercus petraea</i> y <i>Quercus robur</i>	12
1.4. El fósforo y su importancia para el desarrollo de los ecosistemas	14
1.4.1. Fósforo orgánico -P _{org} -	16
1.4.2. Fósforo inorgánico -P _{inorg} -	17
2.-OBJETIVOS	19
HIPOTESIS.....	19
3.- MATERIALES Y METODOS.....	20
3.1. Área de estudio	20
3.1.1. Monte Valberzoso-Aguilar de Campoó-Comarca forestal Campoó.....	20
3.1.2. Sierra de Montgrony-Gombré-Girona	22
3.2. Diseño muestral	24
3.2.1. Muestras de suelo.....	31
3.2.2. Caracterización general de los perfiles edáficos de las parcelas estudiadas	32
Suelos de las parcelas del Monte Valberzoso-Aguilar de Campoó-Comarca forestal Campoó	32
Suelos de las parcelas de la Sierra de Montgrony-Gombré-Girona.....	33
3.3. Metodologías de laboratorio para la determinación del fósforo edáfico	34
3.3.3. Fósforo extraíble mediante membranas de intercambio aniónico -P _{AEM} -	35
3.3.4. Fósforo asimilable según el Método Olsen	36
3.3.5. Fósforo de la biomasa microbiana -P _{BM} -	37
3.3.6. Actividad fosfatasa del suelo	37
3.3.7. pH.....	38
3.4. Análisis estadístico	40
3.4.1. Modelo mixto.....	40
3.4.2. Correlación.....	40
4.- RESULTADOS	41

4.1.	Análisis exploratorio de los datos.....	41
4.1.	Estado del fósforo edáfico	42
4.1.1.	Fósforo total -P _{total} -.....	43
4.1.2.	Fracción Inorgánica -P _{inorg} -	44
4.1.3.	Fracción Orgánica	44
4.2.	Disponibilidad del fósforo edáfico	45
4.3.	Actividad enzimática fosfatasa	48
5.	DISCUSIÓN.....	50
	Estado del fósforo edáfico	50
	Fósforo total.....	50
	Fósforo inorgánico y orgánico.....	50
	Disponibilidad del fósforo edáfico	57
	Métodos de medición de P disponible.....	58
	Fósforo de la biomasa microbiana del suelo	58
	Actividad enzimática fosfatasa.....	60
6.	CONCLUSIONES	63
7.	AGRADECIMIENTOS.....	65
8.	REFERENCIAS	66
	ANEXOS 1: DESCRIPCIÓN DE PERFILES EDÁFICOS	74
	ANEXO 2: METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS.....	93
	Anexo 2a.....	94
	Anexo 2b.....	96
	Anexo 2c.....	98
	Anexo 2d.....	100
	Anexo 2e.....	102
	Anexo 2f.....	104

INDICE FIGURAS

Figura 1 Distribución del <i>P. sylvestris</i> en España. (GBIF, 2019a)	12
Figura 2 Distribución del <i>Q. petraea</i> en España. (GBIF, 2019b)	13
Figura 3 Distribución del <i>Q. robur</i> en España. (GBIF, 2019b)	14
Figura 4 Ciclo del fósforo edáfico. (Kruse et al., 2015).....	15
Figura 5 Especiación de los iones de ortofosfatos en la solución de suelo en función del pH. (Hinsinger, 2001)	18
Figura 6 Localización área de estudio.....	20
Figura 7 Localización de las parcelas objeto de estudio.	25
Figura 8 Geoposicionamiento de individuos y polígonos de Tiessen- Parcela mixta 2 Aguilar de Campoó.	26
Figura 9 Ubicación subparcelas - ejemplo Amix21.....	27
Figura 10 Localización y distribución subparcelas tripletes Aguilar de Campoó.	30
Figura 11 Localización y distribución subparcelas triplete Girona.	30
Figura 12 Puntos de muestreo dentro de la subparcela- Aguilar de Campoó (izq). Sierra Montgrony (der). Getino-Álvarez, M. (2018)	31
Figura 13 Recogida de muestras con entubación en subparcelas de Aguilar de Campoó (izq). Perfilado en subparcelas Sierra Montgrony (der). Getino-Álvarez, M.(2018)	31
Figura 14 Preparación de las muestras en laboratorio. Getino-Álvarez, M. (2018).....	32
Figura 15 Espectrofotómetro y matraces correspondientes a la curva de calibrado para la medición de la absorbancia.....	35
Figura 16 Mufla de calcinación y material preparado para realización de la colorimetría en P_{total} , P_{org} y P_{inorg}	35
Figura 17 Membranas de intercambio aniónico en contacto con el extractante Y matraces con los extractos para determinación colorimétrica.	36
Figura 18 Filtrado de los extractos obtenidos en el Método Olsen a los que se le ha añadido carbono activo para eliminar interferencias producidas por la materia orgánica extraída en la determinación colorimétrica posterior.	36
Figura 19 fumigación del suelo con cloroformo en bomba de vacío.	37
Figura 20 Reacción química en la que se basa la determinación de la fosfatasa.	38
Figura 21 Determinación actividad fosfatasa del suelo.	38
Figura 22 Determinación pH del suelo.	39

INDICE TABLAS

Tabla 1 Características generales de las parcelas muestreadas.	25
Tabla 2 Características generales de las subparcelas muestreadas.....	27
Tabla 3 Valores de tendencia central y dispersión para las variables estudiadas.	41
Tabla 4 Pruebas de normalidad de las variables medidas.	41
Tabla 5 Valores de Chi-cuadrado para las variables analizadas.	42
Tabla 6 Resultados generales obtenidos para el P total (P_{total}), P inorgánico (P_{inorg}) y P orgánico (P_{org}).	43
Tabla 7 Resultados obtenidos para el P_{total} , P_{inor} y P_{org} por localidad y tipo de masa.	43
Tabla 8 Resultados para el P_{AEM} , P_{Olsen} y P_{BM}	45
Tabla 9 Resultados obtenidos para el P_{AEM} , P_{Olsen} y P_{BM} por localidad y tipo de masa.	45
Tabla 10 Resultados obtenidos para el P_{AEM} y P_{Olsen} respecto a las fracciones orgánicas e inorgánicas.	47
Tabla 11 Resultados obtenidos para el P_{AEM}/P_{inorg} y P_{Olsen}/P_{inorg} por localidad y tipo de masa.....	47
Tabla 12 Resultados obtenidos para el P_{AEM}/P_{org} y P_{Olsen}/P_{org} por localidad y tipo de masa.....	48
Tabla 13 Resultados obtenidos para el AFA y AFB por localidad y tipo de masa.....	48
Tabla 14 Resultados y significancias obtenidos para AFA y AFB por localidad y tipo de masa.....	49
Tabla 15 Correlaciones lineales de Pearson entre variables consideradas todas en conjunto y por cada localidad.....	60
Tabla 16 Correlaciones entre las diferentes fracciones (P_{org} , P_{inorg} , P_{BM} , AFA, AFB y pH).....	62

INDICE GRÁFICOS

Gráfico 1 Diagrama ombrotérmico de Gausсен del municipio de Aguilar de Campoó.	21
Gráfico 2 Diagrama ombrotérmico de Gausсен de la Sierra de Montgrony.....	23
Gráfico 3 Grafico de correlación de las medidas P_{AEM} y P_{Olsen}	46
Gráfico 4 Concentración de fósforo orgánico por localidad	52
Gráfico 5 Evolución del fósforo orgánico en Aguilar de Campoó respecto al pH.....	53
Gráfico 6 Evolución del fósforo orgánico en Sierra de Montgrony respecto al pH	54
Gráfico 7 Concentración de fósforo orgánico (mg/kg de suelo) en cada tipo de masa	55
Gráfico 8 Concentración de Pinorg respecto al pH.	55
Gráfico 9 Concentración de P_{inorg} por localidades	56
Gráfico 10 Concentración de P inorgánico para cada tipo de masa y por localidad. Der localidad de Aguilar de Campoó. Izq. localidad de Pirineos	57
Gráfico 11 Correlación lineal para las variables analizadas de P labil respecto al P_{BM} . Izq. P_{BM}/P_{AEM} . Der. P_{BM}/P_{Olsen}	59

RESUMEN

Aunque es ampliamente reconocido que los bosques mixtos poseen una gran importancia ecológica y económica es necesario el estudio del efecto de las masas mixtas sobre la disponibilidad de nutrientes y su relación con la estructura microbiana del suelo. Aunque el fósforo -P- es un elemento indispensable para la vida y el desarrollo de la vegetación no siempre se encuentra en formas lábiles, lo que imposibilita su absorción por parte de las plantas. En el presente trabajo se pretende analizar la influencia de masas forestales puras de *Quercus* sp. y *Pinus sylvestris* como mixtas de estas especies y el efecto del porcentaje de mezcla en el estado y disponibilidad de P edáfico. Para ello, se estudió el horizonte superficial de tres grupos de parcelas de *Pinus sylvestris* y *Quercus* sp., cada uno compuesto por dos parcelas monoespecíficas y una mixta (tripletes), ubicadas al norte de la provincia de Palencia, municipio de Aguilar de Campoó, y en el nordeste de Girona, en la Sierra de Montgrony. En estas parcelas se establecieron subparcelas con distintos porcentajes de mezcla, alcanzando un total de 10 subparcelas por triplete. Se determinó el fósforo orgánico (P_{org}), inorgánico (P_{inorg}) y las formas lábiles o disponibles, así como el P presente en la biomasa microbiana edáfica (P_{BM}) y las actividades enzimáticas de la fosfatasa ácida y básica. Tanto las variables químicas como biológicas fueron estadísticamente analizadas mediante un modelo lineal mixto de dos factores. Se exploraron, además, los coeficientes de correlación lineal de Pearson entre variables que pudieran explicar la dinámica del P dentro de estos suelos. El fósforo orgánico llegó a representar más del 52% del P total en los suelos de la Sierra de Montgrony y un 95% del P total en los suelos de Aguilar. Las masas de pino en Pirineos y las de roble en Aguilar mostraron mayores concentraciones de P_{org} . El factor que más influenció el estado y disponibilidad del P fue la localidad, características edáficas y ambientales determinaron el comportamiento del elemento en este estudio. Los resultados obtenidos muestran que los suelos de Aguilar presentaron valores muy bajos de P disponible que implican una posible deficiencia en este elemento, pero un mayor contenido en P_{BM} lo que implica procesos de captura e inmovilización importantes. Por otra parte, se observó que las masas mixtas incrementaron la actividad enzimática, por lo que podemos concluir que la interacción entre especies es importante para la transformación de nutrientes.

Palabras clave: Fósforo edáfico, bosques mixtos, *Quercus petraea*, *Quercus robur*, *Pinus sylvestris*, fósforo lábil, gestión forestal sostenible.

ABSTRACT

Although mixed forests are widely known for their ecological and economic role, a research on nutrient availability and its relationship with the microbial soil structure on mixed forest is required. Phosphorus -P- is an essential element for life and vegetation development. However, not always P can be found in labile form, which inhibits its absorption by plants. This work analyses the influence of pure and mixed forest stands of *Quercus sp.* and *Pinus sylvestris* and the effect of species mixture proportion on the state and availability of soil P. To achieve that, the superficial soil horizon of soil was studied in groups of three plots of *Pinus sylvestris* and *Quercus sp.* Each group (triplet) was formed by two monospecific plots and a mixed one. The plots were located in the north of Palencia province, in the municipality of Aguilar de Campoó, and in the northeast of Girona, in the Montgrony Sierra. In this plots, 10 subplots with different mixture proportion were established. For each subplot, organic P (P_{org}), inorganic P (P_{inorg}), as well as P in soil micro biotic biomass (P_{BM}) and enzymatic activity of acid and basic phosphatase were analysed. Either chemical variable as well as biological variables were analysed using a two factors lineal mixed model. Moreover, Pearson lineal correlation coefficients between variables were calculated to asses and explain P dynamics in this soils. P_{org} represented more than 52% of the total P in the Montgrony Sierra, whereas in Aguilar the Campoó P_{org} composed the 95% of total P. The Pyrenean pine forest and the oak forest from Aguilar showed the highest concentration of P_{org} . The most influential factor for the state and availability of P were the location and the edaphic and environmental characteristics which determined the P behavior. Results showed that Aguilar soils showed very low values of available P suggesting a lack of this element, but a higher content on P_{BM} which points out important processes of immobilization and capture of P. On the other hand, mixed forest stands showed an increase in their enzymatic activity, so we can conclude that species interaction is important for nutrient transformation.

Key words: Soil phosphorus, mixed forest, *Quercus petraea*, *Quercus robur*, *Pinus sylvestris*, available phosphorus, sustainable forest management.

1.- INTRODUCCIÓN

1.1. Bosques y su relación con el suelo

Las plantas son reconocidos agentes modificadores del ambiente, encargadas de regular la disponibilidad de recursos, tanto de nutrientes como luz, agua y otros (Moreno et al., 2012). Pero esta dinámica es debida en gran medida a la interacción de las comunidades vegetales con el suelo (Lillo et al., 2011), las cuales poseen la capacidad de modificar las propiedades físicas, químicas y biológicas del medio edáfico. Procesos como la lixiviación de elementos lábiles, acidificación, estabilización de la estructura, adsorción de nutrientes, y mineralización, entre otros muchos permiten el cambio de las propiedades edáficas hecho que, a su vez, influye en la productividad del ecosistema, así como su desarrollo y consolidación a lo largo del tiempo (Moreno et al., 2012; Sardans & Peñuelas, 2004).

Cada especie que compone los ecosistemas afecta de forma individual y singular al suelo, generando características propias que favorecen sus procesos de regeneración y reproducción (Moreno et al., 2012). La huella edáfica de las especies cobra vital importancia en la creación de microhábitats, tal y como lo expresa Moreno et al (2012), debido principalmente a las diferentes calidades de materia que retorna al suelo (Lucas-Borja et al., 2012). Este aporte de materia y energía suele ser más rico en bosques mixtos, mejorando así la productividad del ecosistema, debido a la optimización de recursos por parte de las especies y la biodiversidad que es mayor en comparación con los bosques monoespecíficos (Cavard et al., 2011). La biodiversidad es incrementada por la estructura heterogénea de las masas forestales mixtas, dando paso a la colonización de nuevas especies fúngicas, especializadas en el tipo de interacción especie-especie, creando características edáficas singulares (Gosselin et al., 2017). La presencia de microorganismos en el suelo suele ser un indicador de buena calidad de los mismos (Stewart, 1987), pues propician por un lado la disponibilidad de nutrientes para las plantas por medio de la degradación y la mineralización, y por otro la estabilización de materiales orgánicos por medio de la humificación (Lucas-Borja et al., 2012). Todo lo anterior, se traduce en árboles con mayor capacidad de adaptación, más resistencia a las plagas y enfermedades, en un llamativo hábitat de confluencia donde la riqueza arbustiva y de fauna conlleva cambios drásticos de entrada de materia y energía al ecosistema (Gosselin et al., 2017).

Varios estudios muestran que las masas forestales mixtas son más productivas que las monoespecíficas (Rosengren et al., 2005; Rothe & Binkley, 2011).

Algunos estudios han mostrado que la transformación de bosques monoespecíficos de coníferas a masas mixtas de pino-roble ha conllevado un incremento en el P_{org} total y en el P disponible (Slazak et al., 2010), sugiriendo que las masas mixtas tienen una influencia positiva en la dinámica del P_{org} debido al efecto de la dinámica de las raíces, ciclos fenológicos, exudados, asociación micorrícica, entre otros (Lucas-Borja et al., 2012).

1.2. Los bosques como generadores de bienes y servicios ecosistémicos

Es ampliamente conocido que los bosques son una fuente de bienes y servicios ecológicos y socio-culturales (Stenger et al., 2009) además de una importante fuente de empleo para la población local (Bravo-Oviedo et al., 2014). Dentro de este contexto, los bosques mixtos están tomando gran protagonismo en la gestión forestal como consecuencia de su mayor potencial para suministrar bienes y servicios (ecológicos, económicos y socio-culturales) en comparación con los bosques monoespecíficos (Bauhus et al., 2017; Gamfeldt et al., 2013; Pretzsch & Schu, 2009). Por otra parte, representan una apuesta más segura ante el ataque de plagas los efectos desfavorables del cambio climático. Todo esto ha conllevado a la consolidación de bosques en Europa con presencia de especies de hoja caduca y coníferas (Arana et al., 2012). No obstante, el creciente interés por las masas mixtas no ha ido acompañado de un aumento suficiente sobre el conocimiento de su dinámica y el efecto que los cambios de manejo conllevan (Andivia, et al., 2016; Carnol et al., 2014), siendo mayor esta deficiencia en los sistemas forestales mediterráneos (Riofrío et al., 2017). Muchos de los ecosistemas mixtos, presentes en la Península Ibérica, están limitados por la disponibilidad de nutrientes y agua (Sardans & Peñuelas, 2004). Esto provoca una fuerte competencia entre las especies forestales, que origina ecosistemas particulares y complejos con una gran variedad de características edáficas (Sardans et al., 2004). Por otro lado, los suelos, como parte de los ecosistemas prestan importantes funciones o servicios que los mantienen y que apoyan las actividades sociales y económicas de los seres humanos (Cram et al., 2008), además de que, debido a su alto dinamismo, los suelos responden ante los cambios de manejo que se realicen sobre ellos (Burbano-Orjuela, 2016). La gestión de los suelos, representa una herramienta poderosa contra la degradación de ecosistemas y el cambio climático (Ludovick et al., 2016). Las prácticas de manejo de suelo contribuyen a entender la complejidad de los sistemas forestales españoles, que están sometidos a situaciones de continuo estrés.

Los bosques mixtos poseen una excepcional importancia en Europa, tanto ecológica como económicamente. Aunque esto es ampliamente reconocido, aún no se ha estudiado en profundidad el efecto de las masas mixtas sobre la disponibilidad de nutrientes y su relación con la estructura microbiana del suelo (Lucas-Borja et al., 2012). Este campo de conocimiento puede ser una herramienta eficaz para la lucha contra el cambio climático, pensando en las reservas de nutrientes, disponibilidad de agua y captura de carbono (Karamesouti & Gasparatos, 2017).

1.3. Especies de estudio: *Pinus sylvestris*, *Quercus petraea* y *Quercus robur*.

Las especies del género *Pinus* y *Quercus* dominan espacialmente la superficie continental europea, ambas son de alto interés maderable y se encuentran en una asociación persistente en casi todo el territorio (Muller, 1992; Slazak et al., 2010).

Pinus sylvestris, es una importante especie forestal europea; se ha expandido desde Asia a Europa occidental desde el Holoceno, convirtiéndose en la especie de pino más ampliamente establecida en este territorio, debido principalmente a su tolerancia al estrés hídrico (Nikolov & Helmisaari, 1992). Las comunidades forestales dominadas por *P. sylvestris*, proporcionan refugio a especies poco competitivas y con niveles de tolerancia aceptables a las condiciones de acidez del suelo (Kelly & Connolly, 2000). En España, las poblaciones de *P. sylvestris* se ubican al norte, como se observa en la Figura 1. Aproximadamente el 96% de las plantaciones de *P. sylvestris* de España se localizan en la comunidad autónoma de Castilla y León (establecidas principalmente en rodales de *Quercus pyrenaica*); mientras que las masas naturales se ubican en Cataluña (Bueis, 2017).



Figura 1 Distribución del *P. sylvestris* en España. (GBIF, 2019a)

El roble albar se encuentra desde Noruega hasta Sicilia y desde las montañas del Cáucaso hasta Irlanda. En España, las principales masas de *Q. petraea* se encuentran principalmente sobre la cordillera Cantábrica y en la cornisa Pirenaica, menguando su presencia al occidente, en la comunidad gallega (López et al., 2012) como se puede ver en la Figura 2 (GBIF, 2019b). Gracias a su resistencia a condiciones adversas, puede crecer tanto en suelos con pH muy ácidos como muy básicos de forma correcta, aunque los bosques maduros se encuentran principalmente en suelos con características calcáreas. Esta especie soporta además condiciones de sequía extremas, altas pendientes y terrenos pedregosos evitando los fondos de los valles pues no es una buena competidora (López et al., 2012).

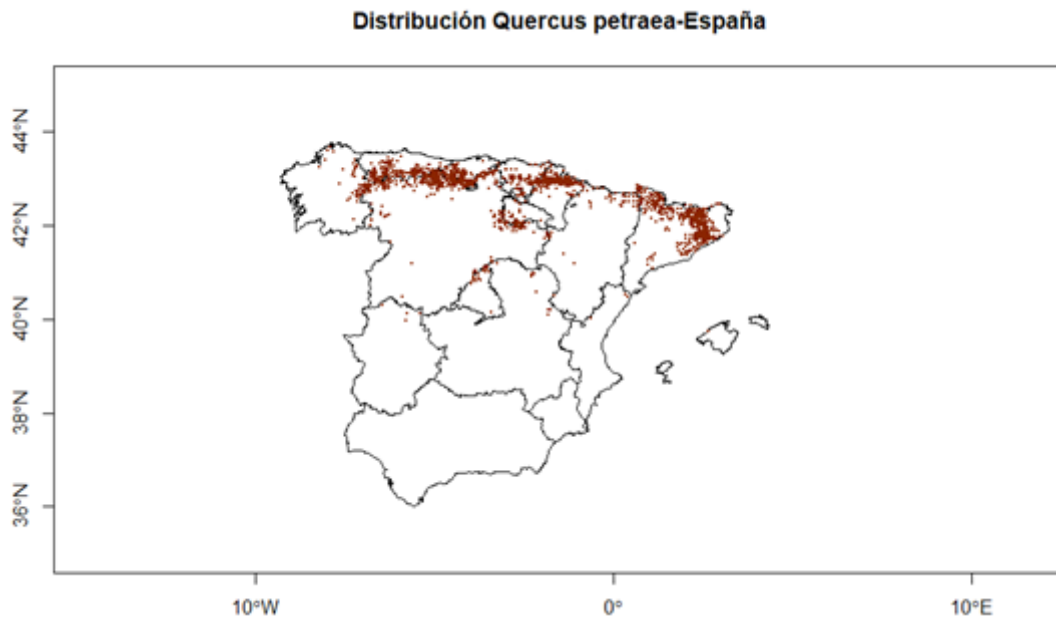


Figura 2 Distribución del *Q. petraea* en España. (GBIF, 2019b)

Por otra parte, *Quercus robur* (roble europeo), posee una amplísima distribución natural, que alcanza una buena porción de Asia menor y casi toda Europa. En España, las masas más numerosas se encuentran en Galicia (ver Figura 3), durante toda la cordillera cantábrica y apareciendo esporádicamente en pequeños niños a través de los Pirineos (López et al., 2012; Muller, 1992). Esta especie no soporta una cubierta forestal densa, pero es una especie con gran tolerancia al clima continental y un amplio rango de pH, prefiriendo los suelos ácidos. (López et al., 2012)

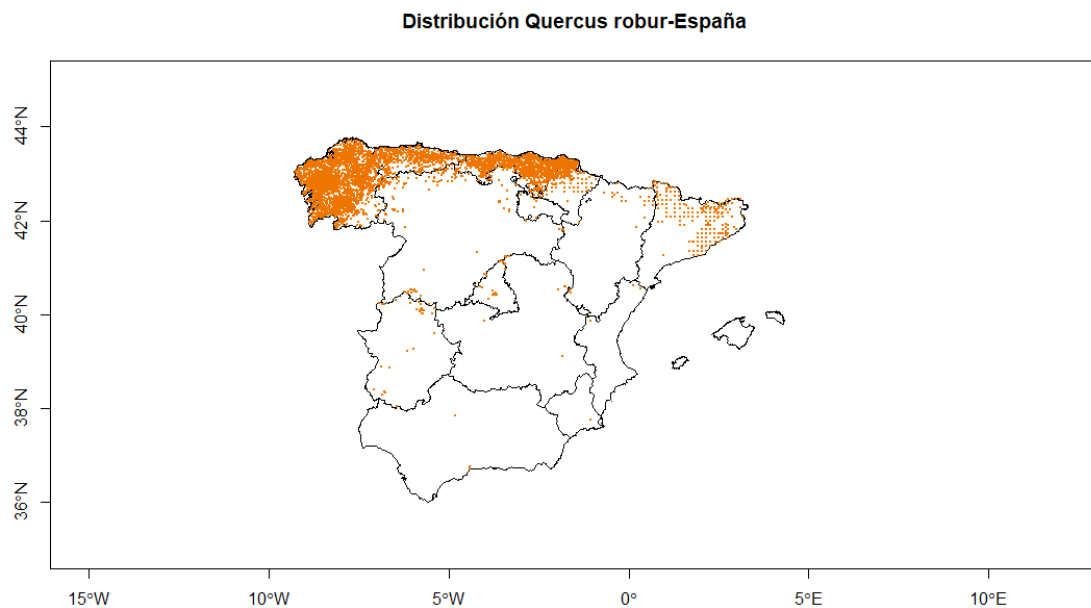


Figura 3 Distribución del *Q. robur* en España. (GBIF, 2019b)

1.4. El fósforo y su importancia para el desarrollo de los ecosistemas

El fósforo -P- es un nutriente esencial para el establecimiento de la vida en el planeta, está presente en las células vivas a través de los ácidos nucleicos, trifosfato de adenosina -ATP- y las membranas celulares (Rossel & Bui, 2016). Su presencia está estrechamente relacionada con la fertilidad del suelo y la productividad de la flora (Rivero et al., 2007). Su papel relevante ecológica, biológica y económicamente es muy importante pues sustenta la producción de materias primas, alimentos y la productividad de sistemas naturales (Vitousek et al., 2010).

El desarrollo de los bosques está ligado directamente con la presencia de P en los suelos (Rossel & Bui, 2016). Si bien las formas en que se encuentran en el suelo no son escasas, solo una pequeña fracción está disponible para ser absorbido por las plantas debido a su alta reactividad y demanda de la biota (Tapia-Torres & García-Oliva, 2013) lo que lo convierte en un elemento limitante (Karamesouti & Gasparatos, 2017). Las formas disponibles de este elemento son los ortofosfatos, $H_2PO_4^-$ y $H_2PO_4^{2-}$ (Fox et al., 2011a) La Biota adquiere este elemento principalmente de las formas orgánicas que son mineralizadas por la comunidad bacteriana de los suelos (Tapia-Torres & García-Oliva, 2013)

El fósforo forma parte principalmente de la fracción sólida del suelo y está relacionado directamente con el ciclo del carbono, controlándolo junto con el ciclo del nitrógeno, lo que supone una vital relevancia en la lucha contra el cambio climático (Ludovick et al., 2016). Para entender mejor el comportamiento cíclico del P, se presenta Figura 4, donde se observan los principales grupos y procesos básicos de su ciclo en el suelo:

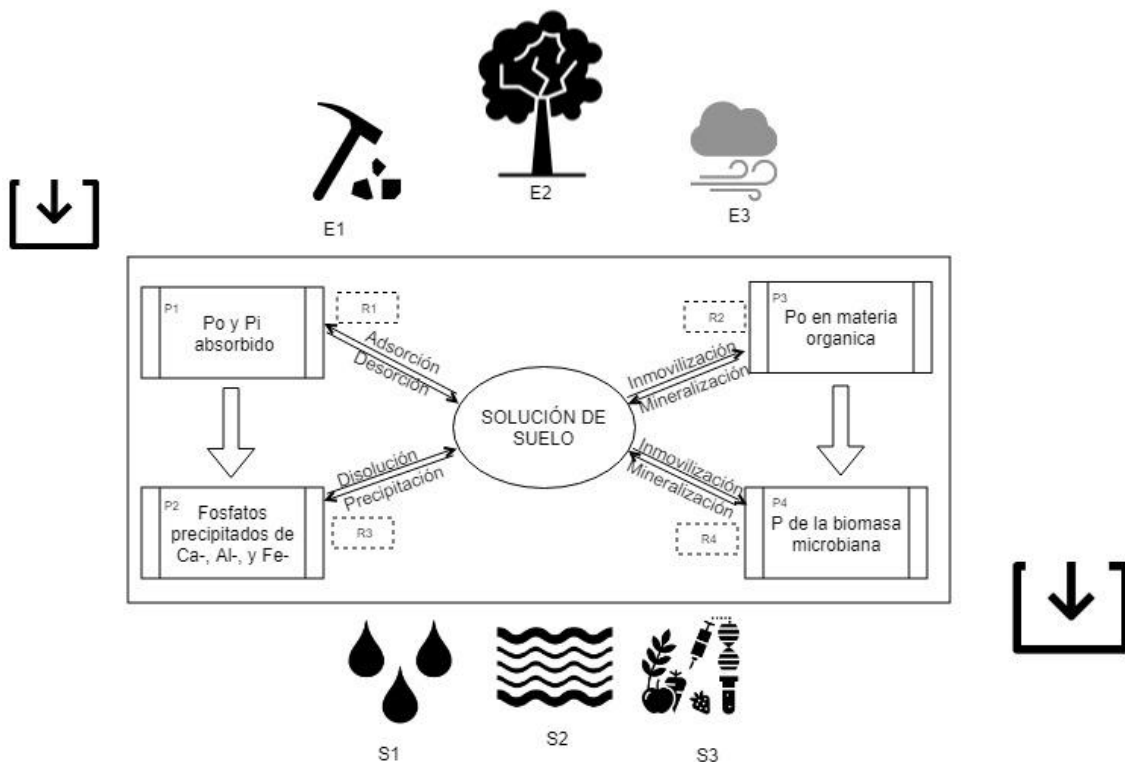


Figura 4 Ciclo del fósforo edáfico. (Kruse et al., 2015)

Dónde: E representan las entradas; S representan las salidas, P tipifica los reservorios en el suelo, R equilibrios y procesos que rigen los contenidos de P en la solución de suelo.

El P edáfico proviene de varias fuentes como se puede observar en la Figura 4; se tiene una entrada constante por la alteración de la roca, generalmente de tipo apatita (E1). Una segunda y muy importante entrada al ciclo del P sucede a través de los residuos de las plantas, como hojarasca, raíces y troncos entre otros, además de fertilizantes y bioproductos (E2). Finalmente, la última adición de P (E3) proviene del polvo atmosférico y la lluvia seca que es rica en (PO_4^{3-}).

Una vez dentro del sistema las fracciones de fósforo forman parte de diferentes reservorios de este elemento. Así, el reservorio P1: representa el pool de P adsorbido sobre los coloides edáficos, tanto en formas orgánicas como inorgánicas. El reservorio P2: hace referencia al pool de P inorgánico precipitado con Ca, Fe y Al, el que predominen

unos precipitados u otros va a estar altamente relacionado con el pH edáfico. El reservorio P3: representa al P incluido dentro de la materia orgánica edáfica no viva y finalmente el reservorio P4 que se corresponde con el P que forma parte de la biomasa microbiana viva.

En la Figura 4 se muestran con el término R los equilibrios y procesos que afectan a la concentración de P en la solución del suelo. Concretamente, R1 se corresponde con los procesos de adsorción/desorción, R2 con los procesos de mineralización/inmovilización, R3 representa los procesos de precipitación/disolución y finalmente R4 los procesos de mineralización/inmovilización en la biomasa microbiana).

Las salidas del sistema están representadas en tres grandes grupos: las pérdidas por erosión hídrica y eólica (S1); los procesos de lixiviación y escorrentía (S2) que provocan la pérdida y lavado del P más soluble; y finalmente lo que es absorbido por las plantas (S3). Las pérdidas por S1 y S2, suelen ocurrir en zonas de montaña, con pendientes que propician la escorrentía superficial y desgasta la erosión del suelo por acción eólica, acumulándose el P en suelos de valle.

El ciclo del P es complejo y los procesos de inmovilización, mineralización y liberación ocurren simultáneamente (Arenberg & Arai, 2018), por lo que su estudio resulta también complejo. Los diferentes porcentajes de las fracciones orgánica, inorgánica y disponible dan cuenta de la calidad de los suelos. A continuación, se especifican las diferentes fracciones de P edáfico.

1.4.1. Fósforo orgánico -P_{org}-

La materia orgánica edáfica posee una vital importancia en la estructura del suelo, en los contenidos de nutrientes, así como la capacidad de intercambio de estos con los seres vivos, sin mencionar el papel fundamental en la regulación de los ciclos (Bureau et al., 1984). Una pequeña parte de esta fracción orgánica está activa dentro del ciclo del P, por lo que la liberación y distribución de este elemento está dependiendo de condiciones exógenas como microorganismos, acción climática y adición de P de fuentes externas entre otros (Stewart, 1987). Los compuestos orgánicos fosforados presentes en el suelo pueden llegar a representar entre un 20 y un 90% del fósforo total del suelo dependiendo del tipo de suelo y de su composición (Picone & Zamuner, 2002) representando una mayor proporción en cuanto a presencia cuando la masa forestal es adulta (Fox et al., 2011a).

La fracción orgánica del P, está ligada casi en su mayoría a la biomasa microbiana y a la materia orgánica no viva y en menor medida a las formas adsorbidas, que se corresponden con los reservorios P4, P3 y P1 respectivamente que se han mostrado en el ciclo del P edáfico (Figura 4). Las formas orgánicas se transforman en formas disponibles para la vegetación gracias a la previa inmovilización y posterior mineralización del P, la hidrólisis celular y la acción enzimática (R2 y R4).

El P de la biomasa microbiana $-P_{BM}$, se convierte entonces, en la más importante fuente de P ya que puede ser incorporado directamente al ciclo por depredación u adsorción, recortando sustancialmente el tiempo de liberación y distribución. La biomasa puede contener una fracción importante del P total, alcanzando a albergar hasta el 8% del Ptotal en los bosques de coníferas, mientras que en los bosques de latifoliadas puede llegar hasta el 47% (Spohn et al., 2018)

La acción enzimática también tiene un rol importante en la transformación de complejos orgánicos a inorgánicos o más lábiles y solubles (Trasar et al., 2003). La actividad fosfatasa es la encargada de la mineralización de las formas orgánicas del suelo por medio de la catalización de los ésteres y anhídros de ácido fosfórico. La actividad fosfatasa está directamente relacionada con el pH del suelo, así pues, las fosfatasas ácidas actuarán principalmente en suelos con pH ácidos y las alcalinas en suelos de pH básicos como los calcáreos. Estas enzimas provienen de fuentes vivas, como microorganismos, plantas e insectos (Fernández et al., 2008).

1.4.2. Fósforo inorgánico $-P_{inorg}$

El P_{inorg} puede estar presente en diversas formas, como apatita, precipitados de fosfatos, ortofosfatos, entre otros (Dou et al., 2009). Proviene esencialmente de la alteración de la roca, que al unirse con otros elementos de la solución del suelo puede formar dichos precipitados, que se corresponde con el reservorio P2 que se ha mostrado en el ciclo del P edáfico (Figura 4) (Kruse et al., 2015).

Estas formas de P, es preciso que se disuelvan para estar disponibles (procesos de precipitación / disolución, denominados R3 en la figura correspondiente al ciclo del P). Finalmente, con los procesos de sorción y desorción (R1) que ocurren en las fracciones orgánicas e inorgánicas del suelo el P desorbido, puede pasar a formar parte directamente de la solución del suelo o de precipitados (Kruse et al., 2015).

Aunque no es un mineral escaso, su poca movilidad lo hace un factor limitante para el crecimiento de las plantas (Fox et al., 2011b). Este bajo movimiento es debido a la alta reactividad de los iones fosfatos con los demás elementos presentes en el suelo (Hinsinger, 2001), como el nitrógeno, calcio, magnesio, aluminio y hierro (Fernandez, 2007).

El P_{inorg} del suelo puede llegar a ocupar entre el 35 y 70% del P_{total} (Fox et al., 2011a), dependiendo directamente del tipo de material parental, del pH, de la cobertura vegetal y el tiempo de establecimiento de esta (Binkley, 1982). El fosfato inorgánico representa la forma fundamental en que el P es absorbido por las plantas, pero, además, es la forma más escasa de este mineral en el suelo, lo que denominamos P_{labil} . Este se incrementa con el desarrollo del suelo hasta alcanzar su punto de acumulación más alto durante un tiempo pero posteriormente las reservas empiezan a declinar rápidamente por la erosión (Fox et al., 2011b).

Algunos autores afirman que en las primeras etapas de desarrollo del suelo, el fósforo inorgánico juega un papel indispensable en la acumulación de materia orgánica, debido a los procesos de mineralización, lo que conlleva a una disminución en las reservas de P lábil durante los procesos de formación del suelo (Stewart, 1987; Walker & Syers, 1976)

Además de la pedogénesis, otros factores que limitan la disponibilidad de los iones P, suelen ser el pH, presencia de Ca, Fe y Al como es mencionado anteriormente compiten con mucha más fuerza en las reacciones de intercambio (Hinsinger, 2001). El relevante rol del pH en la formación de suelos, así como en el ciclo del fósforo; específicamente en las formas en que le encontramos, las cuales pueden variar según la especiación del mineral como se puede observar en la Figura 5.

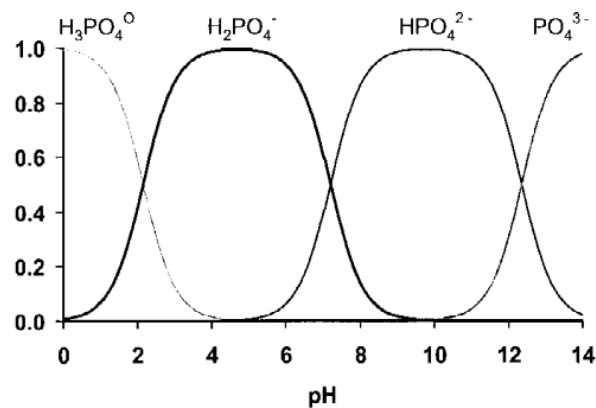


Figura 5 Especiación de los iones de ortofosfatos en la solución de suelo en función del pH. (Hinsinger, 2001)

2.-OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo fin de máster, es evaluar el estado y disponibilidad del fósforo edáfico en masas mixtas frente a masas monoespecíficas de *Pinus sylvestris* L. y *Quercus*, localizadas en el norte España.

Los objetivos específicos de este trabajo son:

1. Establecer la influencia del sitio en el estado y disponibilidad del fósforo edáfico.
2. Determinar el efecto del tipo de masa (mixta *versus* monoespecífica) en el estado y disponibilidad del fósforo edáfico.
3. Determinar el efecto que tiene el porcentaje de mezcla en el estado y disponibilidad del fósforo edáfico.

HIPOTESIS

Como hipótesis de trabajo en el presente TFM se han planteado las siguientes:

Hipótesis 1: Los bosques mixtos favorecen el incremento en las concentraciones de las fracciones de fósforo edáfico, así como la disponibilidad de este, frente a la acción ejercida por los bosques monoespecíficos.

Hipótesis 2: El porcentaje de mezcla, juega un papel importante en la transformación de las fracciones y por ende en la disponibilidad del fósforo edáfico en los bosques mixtos.

3.- MATERIALES Y METODOS

3.1. Área de estudio

El área de estudio se localizó en las comunidades autónomas de Castilla y León y Cataluña, en el norte y noroeste español respectivamente. Las masas estudiadas en Castilla y León se localizan en el norte de la provincia de Palencia, en el municipio de Aguilar de Campoó. El bosque estudiado en los pirineos catalanes, se ubica en el noreste de la provincia de Girona, en la Sierra de Montgrony (Figura 6).

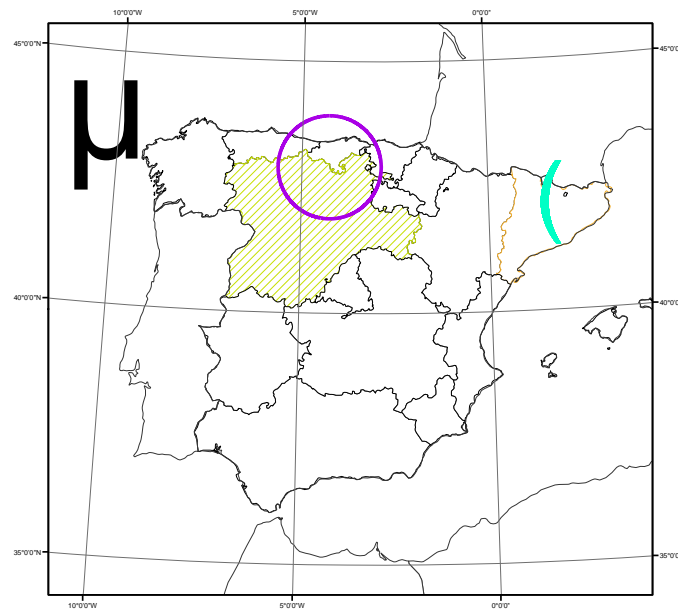


Figura 6 Localización área de estudio.

3.1.1. Monte Valberzoso-Aguilar de Campoó-Comarca forestal Campoó

El monte estudiado en la montaña palentina se encuentra ubicado dentro de la Cordillera cantábrica. El material parental de esta zona tienen su origen en el periodo triásico, y está compuesto principalmente de areniscas y conglomerados, encontrando pequeñas zonas de lutitas en el sector occidental que tienen su origen en el carbonífero superior (Baggley et al., 2001a).

Se tomaron datos climatológicos históricos del observatorio termopluviométrico de Aguilar de Campoó (indicativo 2243), con una serie temporal de 32 años. El Gráfico 1 muestra el diagrama ombrotérmico de la zona. El clima se caracteriza por poseer una gran oscilación térmica con valores máximos medios de 25,3 °C alcanzados en el mes de julio y mínimos de -1,9 °C siendo enero el mes más frío. La temperatura media anual es de 9,9 °C.

La precipitación media anual es 682 mm presentando los valores más altos de las precipitaciones medias mensuales en octubre y noviembre con 75 mm y 82 mm, respectivamente. El mes más seco es julio con 29 mm en promedio.

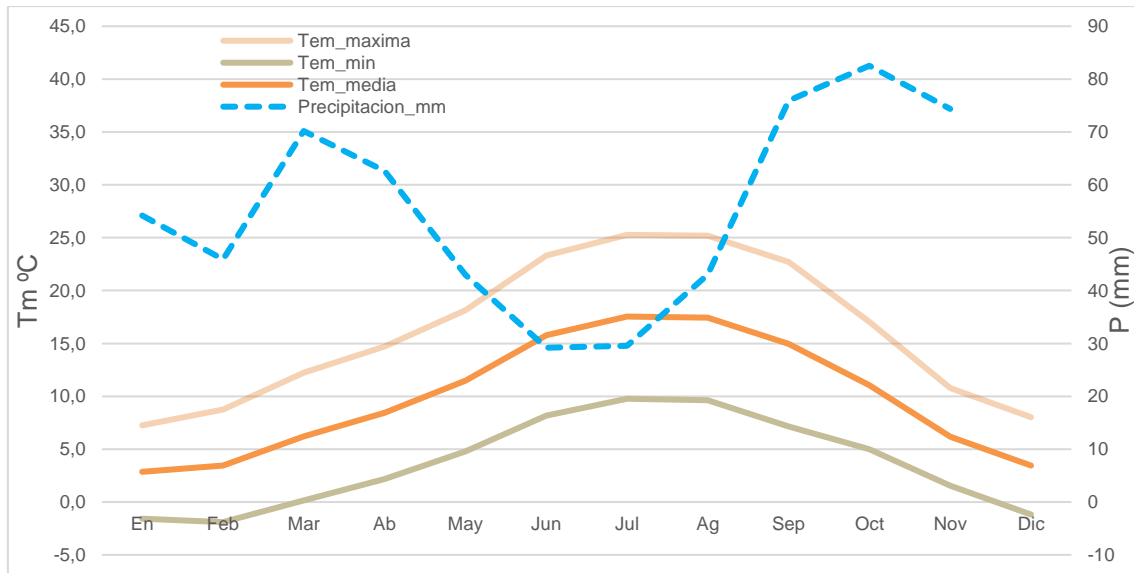


Gráfico 1 Diagrama ombrotérmico de Gausson del municipio de Aguilar de Campoó

Según la clasificación de Köppen, el área de estudio se ubica en una zona **Csb**: con un clima templado con su media del mes más frío entre -3 y 18°C , una subregión s, con un mes seco con menos de 30 mm; y finalmente una tercera clasificación b: que corresponde a la temperatura media del mes más cálido inferior a 22°C .

La vegetación del área de estudio, se corresponde a las asociaciones resultantes de la evolución del paisaje en la cordillera cantábrica; se caracteriza principalmente por presencia de especies caducifolias, especialmente de grandes robledales y hayedos. Se puede encontrar de forma muy singular pequeñas poblaciones naturales de *Pinus sylvestris*, sin embargo, si existen grandes repoblaciones de *Pinus sp* en la región, lo que ha enriquecido el ecosistema de transición a la meseta (Lopez et al., 2009).

En relación a los suelos existentes en general en la zona de estudio, los factores formadores en esta zona de montaña (clima frío, fuertes pendientes e intensa deforestación) conllevan el que los suelos que nos encontremos tengan limitaciones para su desarrollo. No obstante, las zonas en las que las pendientes son menos acusadas y se mantiene la cubierta vegetal, la elevada humedad permite la existencia de suelos forestales profundos bien desarrollados y ácidos, del tipo inceptisol o cambisoles según sean clasificados por la Clasificación americana (USDA, 2014) o por la Word Reference Base for

soil Resources (WRB, 2014). En las zonas más llanas los suelos pueden evolucionar a suelos agrícolas tipo alfisoles (clasificación americana) o luvisoles (clasificación WRB). No obstante, en las zonas de más pendiente abundan los suelos poco desarrollados sobre roca madre, tipo entisoles (clasificación americana) o regosoles y leptosoles (clasificación WRB). Todos ellos ácidos. Estos suelos sólo son aptos en general para pastizales y bosques, excepto los alfisoles-luvisoles, que admiten prados y cultivos hortícolas por sus buenas condiciones (Palacios Rodríguez et al., 2010)

3.1.2. Sierra de Montgrony-Gombré-Girona

El bosque de la segunda zona de estudio se encuentra ubicado en la cordillera de los Pirineos. En esta zona se tienen formaciones geológicas más recientes pertenecientes al Eoceno inferior, y predominan las calizas, margas esquistosadas grises y algunas areniscas carbonatadas (Baggley et al., 2001b). Las altas pendientes propician la erosión lo que dificulta la formación de suelo en zonas de montaña, favoreciendo la acumulación en zonas de bajas (Walker & Syers, 1976).

Se tomaron datos climatológicos históricos del observatorio termopluviométrico de Ripoll (0324A) y de La Molina (9585), con una serie temporal de 42 años. El Gráfico 2 muestra el diagrama ombrotérmico de la zona. El clima se caracteriza por poseer una gran oscilación térmica con valores máximos medios de 20,1 °C alcanzados en el mes de julio y mínimos de 3,6 °C, siendo enero el mes más frío. La temperatura media anual es de 10,9 °C.

La precipitación anual es 951 mm con máximas precipitaciones en los meses de mayo con 111,25 mm en promedio y agosto con 108 mm. El mes más seco es febrero con 36,9 mm en promedio.

Estado y disponibilidad del fósforo edáfico en masas mixtas *versus* monoespecíficas de *Quercus* y *Pinus sylvestris*.

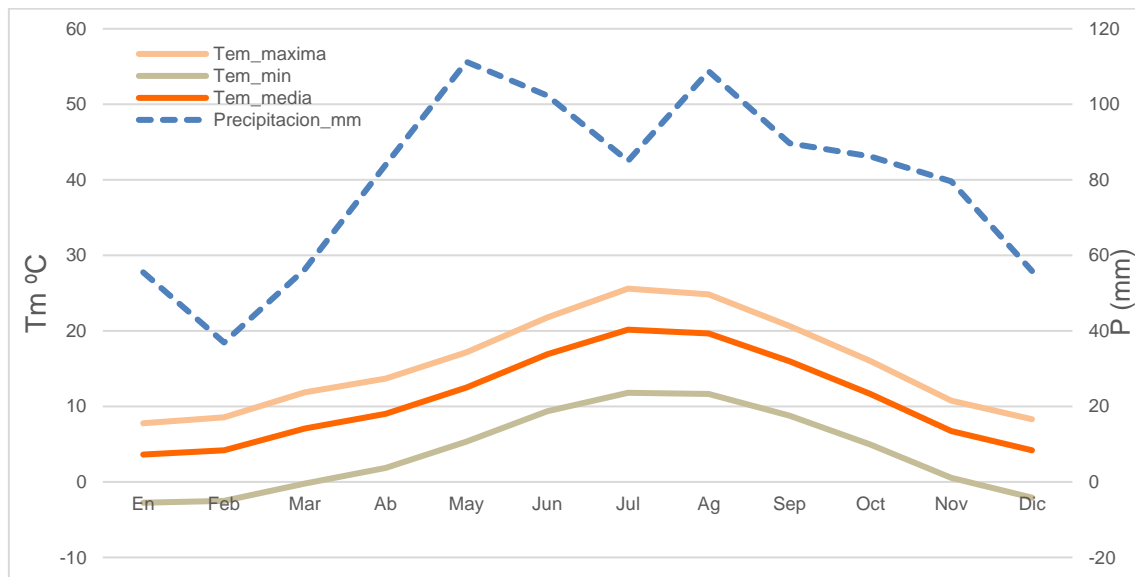


Gráfico 2 Diagrama ombrotérmico de Gausson de la Sierra de Montgrony.

Según la clasificación de Köppen, estas parcelas se ubican en una zona bioclimática **Cwb**: con un clima templado con su media del mes más frío entre -3 y 18°C, una subregión w con el mes más seco en invierno (febrero); y finalmente una tercera clasificación b: que corresponde a la temperatura media del mes más cálido inferior a 22°C.

La vegetación del área de estudio corresponde al piso montano con una altitud entre los 1000 y 1600 msnm, donde se encuentran principalmente grandes pinares de *Pinus sylvestris* en asociación con el roble con un sotobosque rico en matorrales y arbustales (Poch et al., 2011).

En relación a los suelos existentes en la Sierra de Montgrony, los factores formadores que son (fuertes precipitaciones, pendientes abruptas, clima frío), lo que ha limitado la formación de los suelos de montaña en la región. Encontramos suelos superficiales, poco formados, con pedregosidad y una baja profundidad efectiva, clasificados como entisoles (USDA, 2014). Podemos encontrar también en las zonas bajas y de valles, suelos profundos, con pH ligeramente básicos (Udorthent, 33% de superficie), hasta pH moderadamente ácidos (Cryumbrept 29%), ricos en materia orgánica, muy fértiles con un uso intensivo en producción agropecuaria (Fernandez, 2012).

3.2. Diseño muestral

En el presente trabajo fin de master se aborda el efecto de las características de las masas forestales (tipo de masa y porcentaje de distribución de las distintas especies) sobre el estado y la disponibilidad del P edáfico en dos zonas con características edáficas y climáticas contrastadas. Con el planteamiento del ensayo en cada una de las dos zonas estudiadas se pretende mantener fijos los factores formadores de los suelos (litología, clima, relieve, tiempo) y el factor que varía es el factor vegetación.

Esta investigación se ha realizado utilizando parte de las muestras de la tesis doctoral de Marina Getino Álvarez, denominada: “*Cantidad y calidad de la materia orgánica edáfica de bosques mixtos versus bosques monoespecíficos*” que comprende el estudio del efecto de las masas (bosques mixtos y monoespecíficos) y el porcentaje de mezcla en la disponibilidad de materia orgánica edáfica, por lo que el diseño de muestreo coincide con el de la mencionada tesis para las muestras localizadas en la península Ibérica. La autora del presente trabajo fin de master participó en el muestreo realizado tanto en la zona de Aguilar de Campoó como en Pirineos.

Las parcelas utilizadas para esta investigación son administradas por el Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible (iuFOR) de la Universidad de Valladolid, y por el Centro tecnológico Forestal de Cataluña (CTFC), y pertenecen a la red Europea de Bosques Mixtos (EuMIXFOR).

Para el presente trabajo se ha utilizado la metodología de “tripletes” planteada por la red EuMIXFOR consistente en el establecimiento de ternas de parcelas (denominadas tripletes). Cada triplete consta de una parcela mixta y una parcela pura de cada una de las especies consideradas. Este tipo de dispositivos permite analizar el efecto de la mezcla (mixing effect) sobre una variable o proceso de interés (Bravo-Oviedo & Ruiz-Peinado, 2017) Concretamente, se seleccionó el conjunto de tripletes de *Pinus sylvestris* y *Quercus* que la mencionada red tiene localizados en la Península Ibérica.

Cada uno de los tripletes está compuesto por una parcela pura de *P. sylvestris* con una dimensión de 25 m X 25m, otra parcela monoespecífica de *Quercus* con iguales dimensiones, y una tercera parcela de mezcla de ambas especies (parcela mixta) con al menos 40 individuos de cada una, esta parcela tiene un tamaño de 30m X 30m. El número de tripletes utilizado en el presente trabajo son tres, dos tripletes localizados en la provincia de Palencia, municipio de Aguilar Campoó a 1140 y 1220 msnm en el que la

especie de *Quercus* existente es *Q. Petraea*. El tercer triplete está ubicado en los pinares catalanes, provincia de Girona en la Sierra de Montgrony con una elevación que oscila entre 1080 hasta 1230 msnm, en el que la especie de *Quercus* existente es *Quercus robur*. En la Figura 7 se muestra la localización de los tripletes utilizados en el estudio.

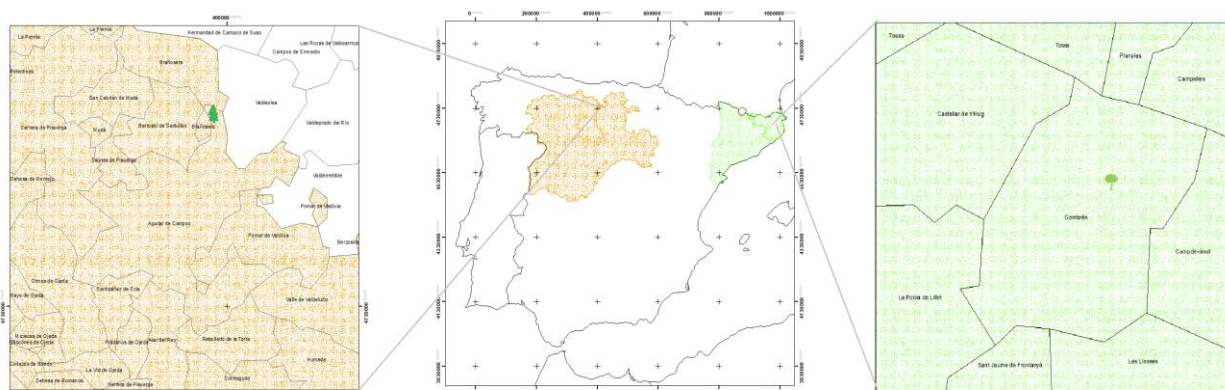


Figura 7 Localización de las parcelas objeto de estudio.

En la Tabla 1 se muestran las características generales de las parcelas seleccionadas.

Tabla 1 Características generales de las parcelas muestreadas.

Localidad	Parcela	N	Edad (años)	D (m)	Ho (m)	AB (m ² *ha ⁻¹)	Mezcla (%Psy)
Monte de Valberzoso	Oak 1	100	50	0,20	16,5	50,3	3
	Oak 2	103	50	0,19	17,6	44,0	10
	Pine1	87	50	0,25	15,5	71,0	97
	Pine2	92	50	0,29	17,0	66,3	89
	Mixed 1	122	50	0,22	0	54,9	54
	Mixed 2	127	50	0,23	17,9	55,0	57
Sierra de Montgrony	Oak 1	84	50	0,13	8,92	25,8	0
	Pine1	61	50	0,20	10,4	22,7	100
	Mixed 1	109	50	0,19	9,9	10,1	42

N: número de individuos por parcela; Edad: edad aproximada del rodal; D diámetro medio de la parcela; Ho: Altura total; AB: Área basimétrica de la parcela; Mezcla: porcentaje de mezcla de cada una de las parcelas. Psy: *Pinus sylvestris*.

El muestreo se realizó en los meses de septiembre de 2017 y entre mayo y junio de 2018 para las parcelas de Aguilar de Campoó y en septiembre de 2018 se muestreó el triplete de la Sierra de Montgrony.

Con el fin de poder estudiar el efecto del porcentaje de mezcla sobre el estado y la disponibilidad del P se establecieron subparcelas de 5 metros de radio, cubriendo así,

todo el gradiente de mezcla posible de ambas especies. Tres subparcelas en cada una de las parcelas monoespecíficas y 4 subparcelas en cada una de las parcelas mixtas, y se calculó el porcentaje de mezcla local y el área basimétrica local en cada una de ellas. El porcentaje de mezcla se expresó en función del porcentaje de *P. sylvestris* de manera que se asignó el 100% para las subparcelas monoespecíficas de *P. sylvestris* y el 0% para las subparcelas monoespecíficas de *Quercus*.

La ubicación de las subparcelas se realizó a través de un análisis espacial. Por medio del geoposicionamiento de los individuos. Se crearon polígonos de interpolación (polígonos Tiessen o Voronoi) basándose en distancia euclídea entre cada vecino, determinando de esta forma su área de influencia dentro de la parcela (ver Figura 8), asignándole un valor relativo de área basimétrica –AB- respecto a la parcela que las contiene. En la Figura 8 se muestra el caso concreto de la parcela mixta 2 de Aguilar de Campoó, donde se encuentran posicionados los polígonos de Tiessen.

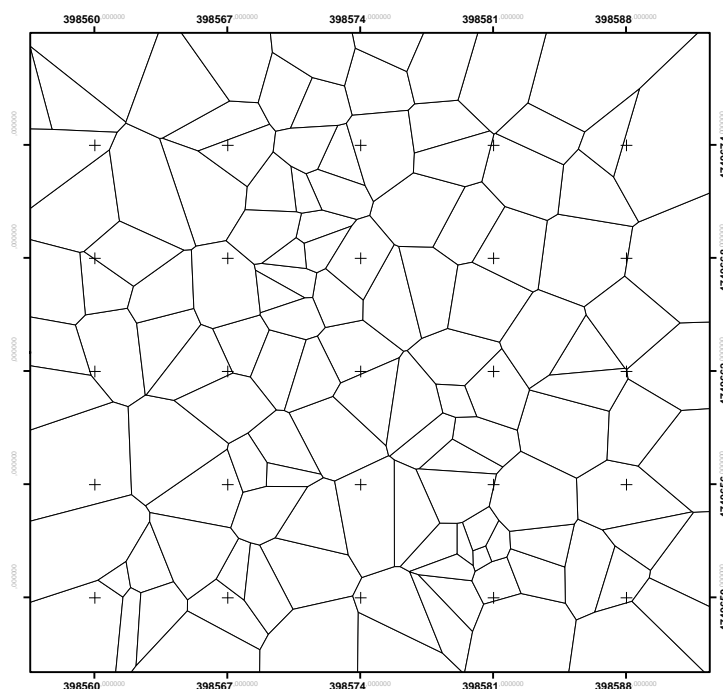


Figura 8 Geoposicionamiento de individuos y polígonos de Tiessen- Parcela mixta 2 Aguilar de Campoó.

Una vez obtenida la división del terreno por la distancia euclídea entre los individuos, se procedió a determinar, por criterio de AB relativa (área de cada polígono respecto al área total), las subparcelas de 5 metros de radio (ver Figura 9) con diferentes porcentajes de mezcla representativos. La localización de las subparcelas se decidió en base a dos criterios elementales: (1) evitar el solapamiento entre subparcelas y (2) abarcar los distintos porcentajes de mezcla existentes. También se intentó, allí donde fue posible,

que la subparcela englobase un mínimo de 5 individuos (se cumplió para todas las parcelas excepto para PPine13).

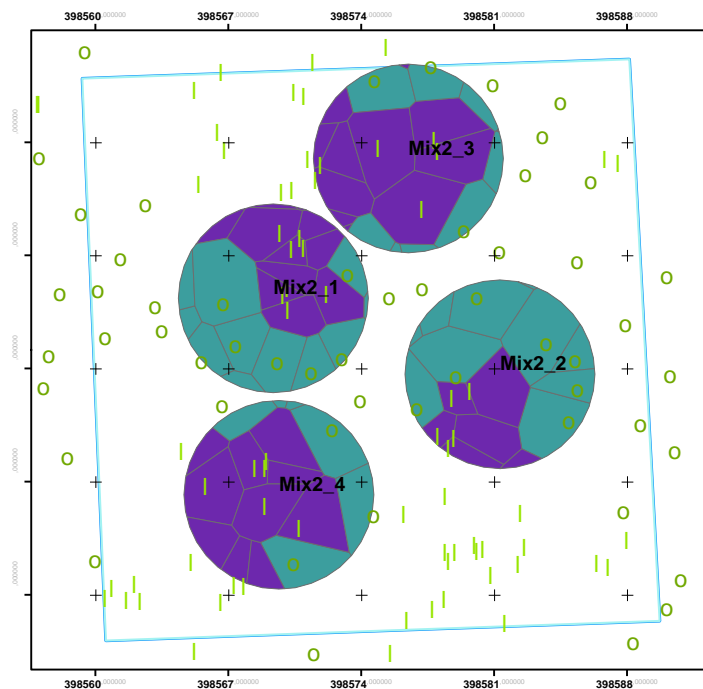


Figura 9 Ubicación subparcelas - ejemplo Amix21.

Con esta distribución se garantiza como se observa en la imagen, que las subparcelas contengan diferentes porcentajes de mezcla, cumpliendo uno de los objetivos de este trabajo. Las subparcelas mixtas 1 y 2 (Amix21 y Amix22), poseen un porcentaje de pino de 57% y 70% respectivamente (tabla 2) que es bastante superior al que presentan las parcelas 3 y 4 (Amix23 y Amix24) con un 30 y 18 % respectivamente. La calicata fue ubicada aleatoriamente en campo. En la Tabla 2, se observan las características de todas las subparcelas muestreadas en ambas localidades.

Tabla 2 Características generales de las subparcelas muestreadas

Estado y disponibilidad del fósforo edáfico en masas mixtas *versus* monoespecíficas de *Quercus* y *Pinus sylvestris*.

Localidad	Tipo de masa	Subparcela	N	D (m)	AB (m ² *ha-1)	Mezcla P/A (%Psy)	Mezcla Tam (%Psy)	
Aguilar	Monoespecífica Oak	AOak11	15	0,21	72,61	0	0	
		AOak12	10	0,21	48,88	0	0	
		AOak13	15	0,19	63,51	0	0	
	Triplete 1 Pine	Monoespecífica	APine11	9	0,33	101,80	100	100
			APine12	7	0,32	75,77	100	100
			APine13	10	0,24	68,26	100	100
	Mixta Oak-Pine		AMix11	8	0,27	62,92	90	95
			AMix12	11	0,21	55,19	36	45
			AMix13	8	0,23	50,22	51	48
			AMix14	6	0,22	33,56	22	27
	Triplete 2	Monoespecífica Oak	AOak21	10	0,19	42,76	0	0
			AOak22	18	0,16	57,67	0	0
			AOak23	8	0,18	27,78	0	0
		Monoespecífica Pine		APine21	6	0,36	79,45	100
APine22				10	0,30	100,60	100	100
APine23				7	0,31	73,39	100	100
Mixta Oak-Pine			AMix21	15	0,22	78,09	57	64
			AMix22	12	0,24	78,03	70	73
			AMix23	9	0,21	43,34	30	25
			AMix24	11	0,23	61,67	18	15
Pirineos	Triplete 3 Oak	Monoespecífica	POak11	15	0,15	37,39	0	0
			POak12	14	0,13	23,99	0	0
			POak13	12	0,11	16,15	0	0
	Pine	Monoespecífica	PPine11	8	0,26	57,65	100	100
			PPine12	9	0,18	32,36	100	100

Estado y disponibilidad del fósforo edáfico en masas mixtas *versus* monoespecíficas de *Quercus* y *Pinus sylvestris*.

	PPine13	3	0,22	16,03	100	100
	PMix11	9	0,16	25,78	11	11
Mix	PMix12	7	0,17	29,67	67	85
Oak-Pine	PMix13	8	0,20	36,26	21	95
	PMix14	5	0,22	25,74	44	61

N: número de individuos por subparcela; D diámetro medio de la subparcela en metros; AB: Área basimétrica de la parcela en m²/ha; Mezcla (P/A): porcentaje de mezcla de cada una de las subparcelas teniendo en cuenta presencia y ausencia de los individuos; Mezcla tam: porcentaje de mezcla de las subparcelas teniendo en cuenta el tamaño de los individuos o AB; Oak: Parcelas de *Quercus*; Pine: Parcelas de *P. sylvestris*.

Finalmente, la ubicación exacta de cada subparcela muestreada se puede observar en la Figura 10 y Figura 11.

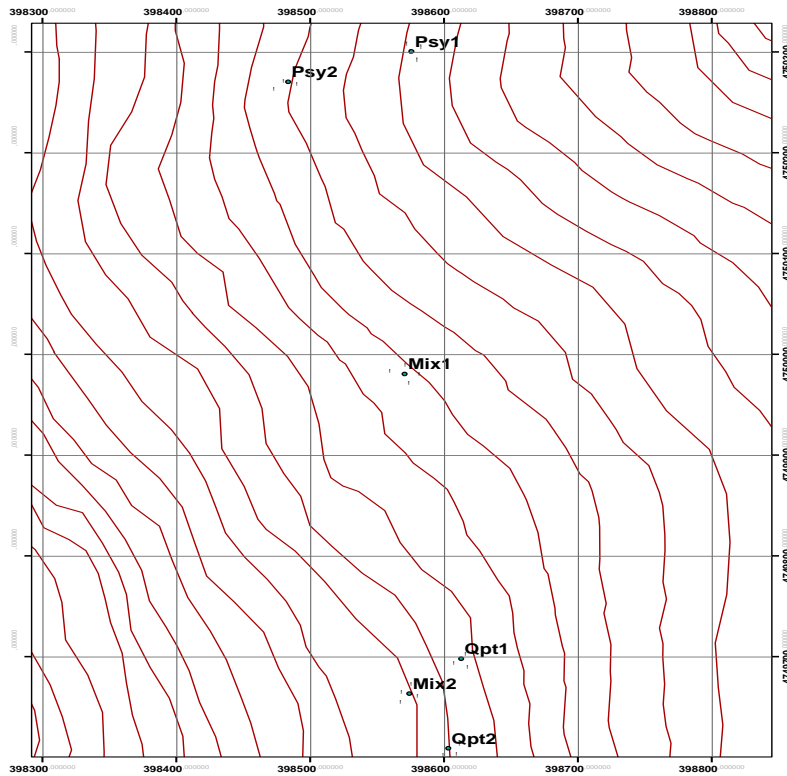


Figura 10 Localización y distribución subparcelas triplete Aguilar de Campoó.

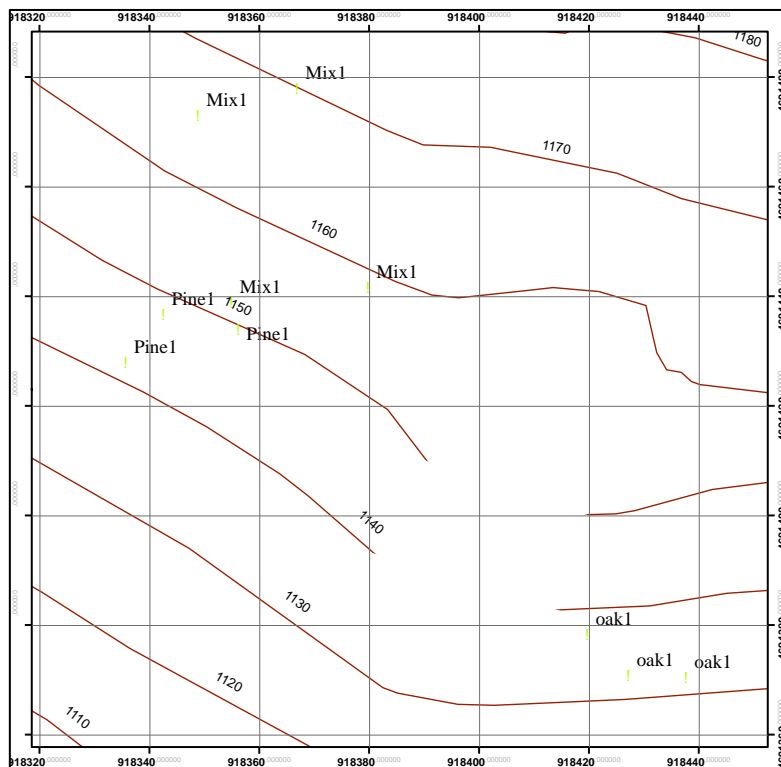


Figura 11 Localización y distribución subparcelas triplete Girona.

3.2.1. Muestras de suelo

En cada subparcela se tomó 1 muestra de suelo representativa formada por tres submuestras. En la Figura 12 se puede ver la distribución de los tres puntos de muestreo, que fueron ubicados a 1 metro aproximadamente del centro de la subparcela. De esta forma nos aseguramos recoger la posible variabilidad del suelo.



Figura 12 Puntos de muestreo dentro de la subparcela- Aguilar de Campoó (izq). Sierra Montgrony (der). Getino-Álvarez, M. (2018)

En Aguilar, el suelo fue recogido con un “muestreador de suelos para entubación SB” de Eijkelkamp, que permite tomar muestras inalteradas del horizonte superior entre 20 y 30 cm de profundidad cada toma (horizonte utilizado en esta investigación). En las parcelas de Pirineos no fue posible utilizar el muestreador, pues la pedregosidad era muy elevada. Por ello, se decidió abrir calicatas en el terreno como se ve en la Figura 13 (realizándose también 3 por cada subparcela).



Figura 13 Recogida de muestras con entubación en subparcelas de Aguilar de Campoó (izq). Perfilado en subparcelas Sierra Montgrony (der). Getino-Álvarez, M.(2018)

Finalmente, las tres muestras de cada subparcela se mezclaron, teniendo de esta forma una muestra representativa para cada uno de los horizontes edáficos. El suelo muestreado fue llevado a laboratorio, donde se preparó para los posteriores análisis de laboratorio realizados (Figura 14). Concretamente se secaron al aire, se tamizaron con un tamiz de 2 mm, se determinó el porcentaje en peso de elementos gruesos y tierra fina y se molió una pequeña porción del suelo tamizado.



Figura 14 Preparación de las muestras en laboratorio. Getino-Álvarez, M. (2018)

Además de las muestras de suelo recogidas en las subparcelas, en cada parcela se realizó una calicata para la descripción del perfil edáfico (ANEXO 1: Descripción de perfiles edáficos). Dicha calicata se localizó en una zona representativa de la parcela objeto de estudio, pero fuera de las subparcelas establecidas para el estudio del efecto del porcentaje de mezcla. Se realizó una primera diferenciación y descripción de los horizontes en campo anotando sus características principales y espesor, así como el espesor de cada capa de mantillo. Adicionalmente, se recogieron cilindros para determinar la densidad aparente y muestras de suelo en cada horizonte.

3.2.2. Caracterización general de los perfiles edáficos de las parcelas estudiadas

Suelos de las parcelas del Monte Valberzoso-Aguilar de Campoó-Comarca forestal Campoó

En general encontramos en las parcelas, una geomorfología de montaña con pendientes suaves no superiores al 25%, con materiales parentales que incluyen lutitas, areniscas y conglomerados. Los suelos de las parcelas tienen una profundidad media de

65 cm, con textura franco arenosa, un pH medio de 4,5, régimen de temperatura méxico y údico en cuanto al régimen humedad del suelo. Clasificados según la USDA (2014) como inceptisoles

Suelos de las parcelas de la Sierra de Montgrony-Gombré-Girona

Las parcelas estudiadas, posee una geomorfología de montaña con pendientes abruptas que oscilan entre el 50% y materiales parentales calizos. Los suelos de las parcelas tienen una profundidad efectiva muy baja, presentan una textura franco-limosa, un pH medio de 8, y su régimen de temperatura es méxico y el régimen de humedad del suelo es ústico. Los suelos son clasificados según la USDA (2014) como entisoles.

3.3. Metodologías de laboratorio para la determinación del fósforo edáfico

En relación a las formas de fósforo edáfico se llevaron a cabo las siguientes determinaciones: el fósforo total (P_{total}), el fósforo orgánico total (P_{org}), el fósforo inorgánico total (P_{inorg}), el P asimilable Olsen (P_{Olsen}), el P extraíble por membranas de Intercambio iónico (P_{AEM}) y el P de la biomasa microbiana (P_{BM}). En todos estos análisis, para la determinación final de las concentraciones de P en los extractos obtenidos se siguió el método colorimétrico descrito por Murphy & Riley (1962).

También se llevaron a cabo los análisis correspondientes a las actividades fosfatásicas: actividad de la fosfatasa ácida (AFA) y actividad de la fosfatasa básica (AFB).

En los apartados siguientes se indicarán los fundamentos de los distintos procedimientos utilizados y en los anexos correspondientes al presente TFM se muestran de manera detallada la metodología analítica seguida, comenzando por la determinación colorimétrica del P en los extractos. Todas las determinaciones analíticas fueron realizadas por duplicado.

3.3.1. Determinación colorimétrica del P en los extractos

La determinación de la concentración en todos los extractos obtenidos en el estudio de las formas del P edáfico se realizó siguiendo el método de colorimetría descrito por Murphy & Riley (1962). Este método consiste en la formación de un complejo entre el molibdato amónico y el ion fosfato que presenta una coloración azul al reducirse con ácido ascórbico. El color desarrollado es directamente proporcional a la cantidad de fósforo presente en los extractos (Ley de Lambert-Beer), lo que facilita su medición a través de la absorbancia medida por espectrofotometría. En este caso concreto se utilizó un espectrofotómetro Thermo Genesys 20 (Figura 17). Para conocer las concentraciones de fósforo existentes en las muestras, se realizan curvas de calibrado utilizándose la misma matriz que la que presenten los extractos que se vayan a analizar y se determina la ecuación de ajuste por mínimos cuadrados.

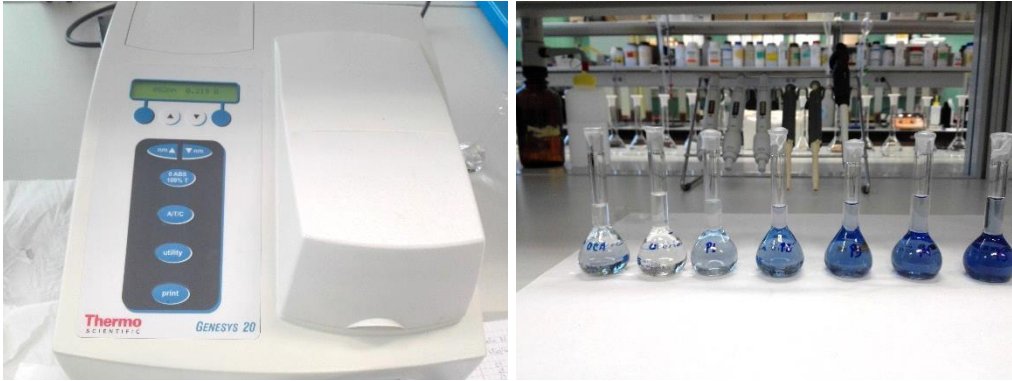


Figura 15 Espectrofotómetro y matraces correspondientes a la curva de calibrado para la medición de la absorbancia.

3.3.2. Fósforo total, P orgánico y P inorgánico - P_{total} , P_{inorg} y P_{org} -

Para la determinación del fósforo total (P_{total}) y el fósforo inorgánico (P_{inorg}), se utilizó el procedimiento descrito por Saunders & Williams (1955). En este procedimiento el P_{total} se obtiene después de haber sometido a calcinación el suelo (Figura 16) y de disolver el P de las cenizas utilizando ácido sulfúrico 1,5 M. El P_{inorg} total se determina por disolución directa del suelo con ácido sulfúrico 1,5 M y el P_{org} se determina de forma indirecta como la diferencia entre los valores de P_{total} y de P_{inorg} (Eleizalde & Heras, 1978). La metodología detallada seguida para estas determinaciones se muestra en el Anexo 2a.



Figura 16 Mufla de calcinación y material preparado para realización de la colorimetría en P_{total} , P_{org} y P_{inorg} .

3.3.3. Fósforo extraíble mediante membranas de intercambio aniónico - P_{AEM} -

Para la determinación del P lábil se utilizaron membranas de intercambio aniónico (P_{AEM}). Estas membranas actúan como una superficie intercambiadora de aniones a las que se adhieren los iones fosfato del suelo, simulando la acción de las raíces de la vegetación (Zamuner, 1999). Este es un método muy utilizado en los análisis de elementos lábiles pues representan un acercamiento confiable a la fracción disponible para las plantas, ya que funciona de forma parecida a las raíces de las plantas (Schoenau & Huang, 2015). Para el presente estudio se utilizaron membranas de intercambio planas

(Figura 17), que fueron previamente acondicionadas con anión hidrógeno carbonato HCO_3^- . Las membranas en forma bicarbonato se ponen en contacto con el suelo durante 2h y los iones fosfato adsorbidos sobre la membrana son posteriormente desorbidos utilizando una disolución de HCl 0,5M (Anexo 2b)

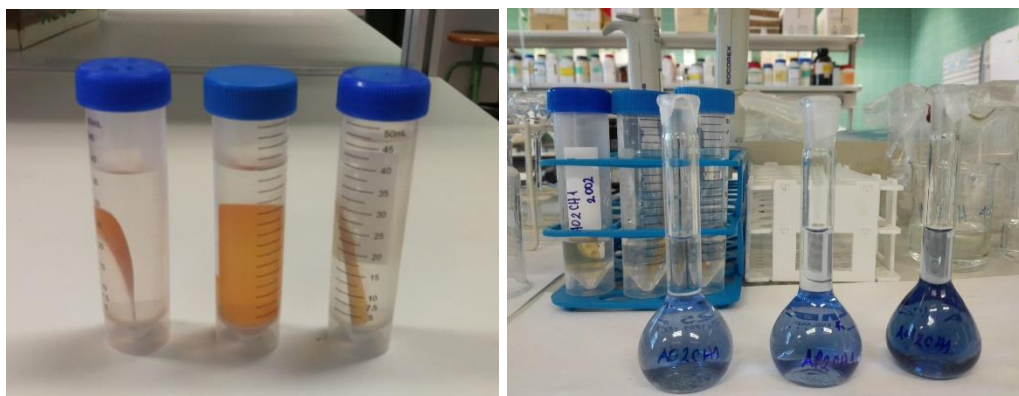


Figura 17 Membranas de intercambio aniónico en contacto con el extractante Y matraces con los extractos para determinación colorimétrica.

3.3.4. Fósforo asimilable según el Método Olsen

Para la determinación del P asimilable se siguió el método de Olsen (P_{Olsen}) que utiliza una extracción con bicarbonato sódico 0,5M a pH 8,5 (Olsen et al., 1954). La disolución alcalina de bicarbonato sódico cuando se aplica a suelos ricos en materia orgánica como es el caso de los suelos forestales estudiados va a extraer una cantidad importante de sustancias húmicas que interfieren en la posterior determinación colorimétrica del P, por lo que es preciso eliminarlas utilizando para ello carbono activo (Figura 18). La metodología detallada seguida para este análisis se muestra en el Anexo 2c

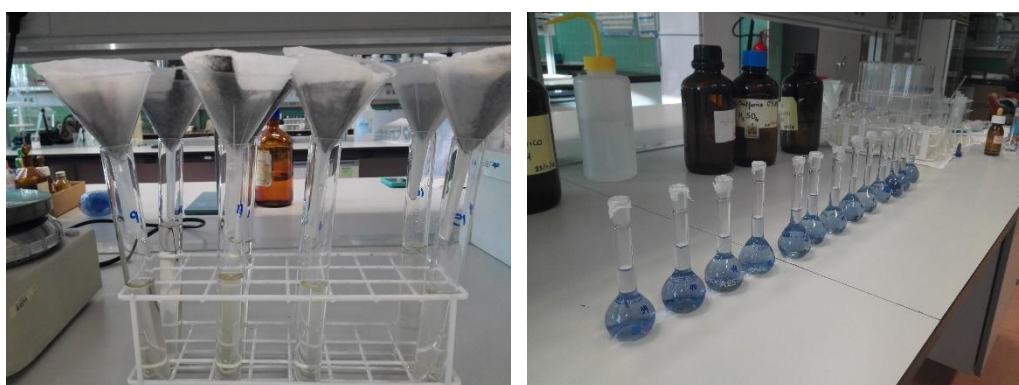


Figura 18 Filtrado de los extractos obtenidos en el Método Olsen a los que se le ha añadido carbono activo para eliminar interferencias producidas por la materia orgánica extraída en la determinación colorimétrica posterior.

3.3.5. Fósforo de la biomasa microbiana - P_{BM} -

Para la determinación del P de la biomasa microbiana (P_{BM}) se siguió el método de fumigación-extracción descrito por Brookes et al (1982) que tiene por principio la muerte de las células por fumigación con cloroformo (Figura 19). Este hecho provoca la rotura de las membranas celulares, lo que permite la liberación del P que posteriormente es extraído utilizando una disolución de bicarbonato 0,5M.



Figura 19 fumigación del suelo con cloroformo en bomba de vacío.

La extracción con bicarbonato 0,5M se lleva a cabo tanto en los suelos fumigados como en los no fumigados y se realiza posteriormente la determinación colorimétrica del P extraído siguiendo la metodología de Murphy & Riley, (1962). En el transcurso de la determinación parte de los fosfatos liberados por la fumigación pueden ser adsorbidos por los coloides del suelo, para corregir esta fracción se incorporó una cantidad conocida de KH_2PO_4 durante la extracción, calculándose la eficiencia de recuperación del P añadido (Anexo 2d).

Existen distintos factores que permiten transformar la concentración de P calculado por diferencia entre la muestra fumigada y la no fumigada, en P de la biomasa microbiana. El factor utilizado en este trabajo fue el de 0,40 sugerido por Brookes et al., (1982).

3.3.6. Actividad fosfatasa del suelo

Se determinó la actividad de las fosfatasas del suelo siguiendo la metodología de Tabatabai & Bremner (1969). El método se basa en la determinación espectrofotométrica del *p*-nitrofenol de coloración amarilla (Figura 20 y Figura 21), liberado cuando se incuba el suelo a 37 °C durante 1 hora con una disolución tamponada de nitrofenil fosfato disódico, incoloro. Se realiza un tratamiento previo con cloruro de calcio e hidróxido de

sodio, que además de realizar la extracción contribuyen a la dispersión de arcillas y eliminación de la materia orgánica respectivamente (Marx et al., 2001; Trasar et al., 2003). La incubación se lleva a cabo a pH 6,5 para la fosfomonoesterasa ácida y pH 11,0 para la alcalina.

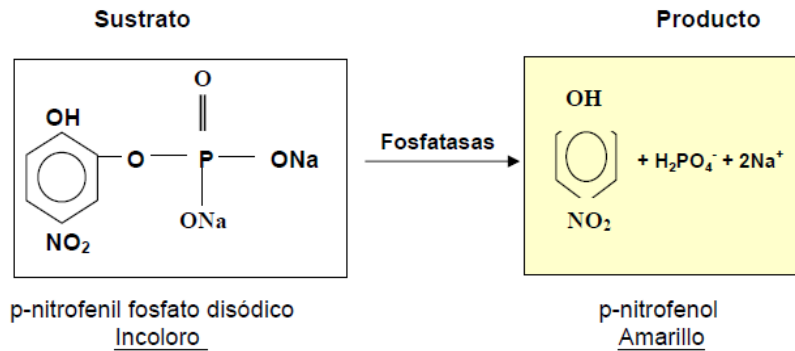


Figura 20 Reacción química en la que se basa la determinación de la fosfatasa.

Este tipo de determinación presenta varios aspectos que deben ser tenidos en consideración. El P liberado durante la incubación puede ser adsorbido rápidamente por otros componentes del suelo, lo que requiere una rápida adición de neutralizadores como el NaOH (Marx et al., 2001), y además el pH influye en la actividad enzimática, por lo que se debe determinar bajo sustratos tamponantes (Trasar et al., 2003) tanto para el caso de la fosfomonoesterasa ácida (pH6,5) como para la básica (pH 11). Para mayor detalle de la metodología seguida en esta determinación puede consultarse el Anexo 2e.

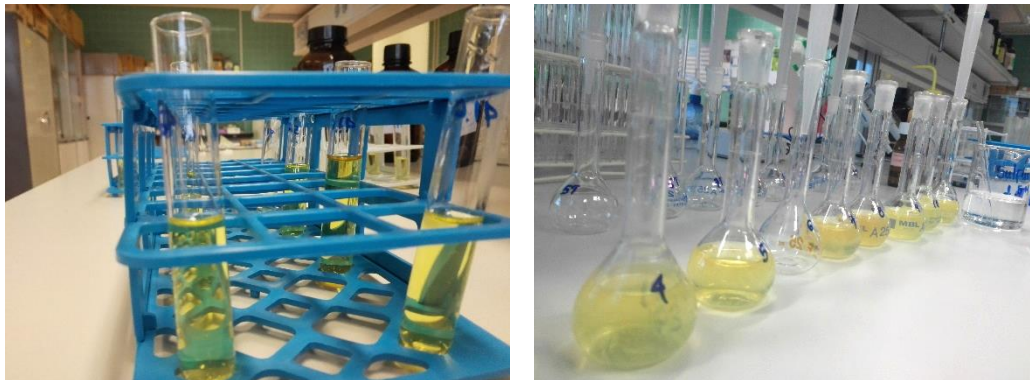


Figura 21 Determinación actividad fosfatasa del suelo.

3.3.7. pH

El potencial de hidrogeno (pH), es un logaritmo que mide la actividad molar de los iones de hidrogeno. Los protones de hidroxilos en el suelo se encuentran unidos a otros elementos mediante enlaces libres. Cuando se determina el pH en agua; los hidrogeniones e hidroxilos libres se determinan, esto recibe el nombre de actividad de iones de H_3O^+ presentes en estado de la solución acuosa. La medida corresponde al potencial eléctrico de la membrana del electrodo en función a la actividad de los iones de H (Figura 22

Determinación pH del suelo.(Garrido Valero, 1993). Para ver la metodología completa ver el Anexo 2f.

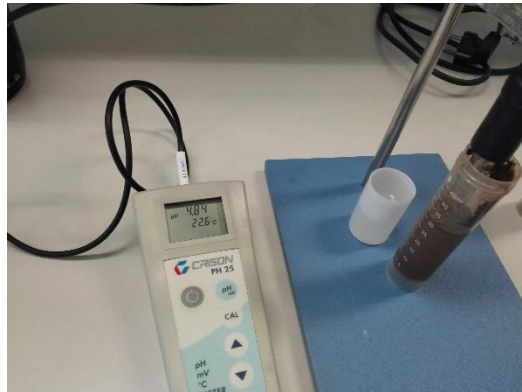


Figura 22 Determinación pH del suelo.

3.4. Análisis estadístico

3.4.1. Modelo mixto

Las variables analizadas fueron P_{total} , P_{org} , P_{inorg} , P_{AEM} y P_{Olsen} y P_{BM} , además de la actividad fosfatásica ácida y básica (AFA, AFB, respectivamente).

Con el fin de estudiar el efecto de la localización, del tipo de masa, el porcentaje de mezcla se usó un análisis de la varianza con un modelo lineal mixto que tiene la siguiente formulación:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \lambda_{i(j)}P_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Los subíndices responden a los siguientes factores:

i = Localización. Dónde: 1 = Aguilar de Campoó; 2= Sierra de Montgrony.

j = Masa. Dónde: 1= Masa mixta; 2= Masa de roble; 3= Masa de pino.

k = subparcelas. Donde: 1, 2, 3 y 4 representan las subparcelas de pino y roble; 1, 2, 3, 4 y 5 representan las subparcelas mixtas.

Las variables y parámetros del modelo propuesto son:

y_{ijk} = Medida de fósforo observada en la subparcela k de la masa j en la localización i .

P_{ijk} = Porcentaje de pino en la subparcela k de la masa j en la localización i .

μ = Media global para la medición del fósforo.

α_i = Efecto de la localidad i .

β_j = Efecto de la masa j .

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción de la masa j y la localidad i .

$\lambda_{i(j)}$ = Efecto lineal del porcentaje de pino en la variable, en la ubicación i y el soporte j (solo en la base mixta, porque en los soportes puros el porcentaje de pino se fija en 0 o 100)

ε_{ijk} = Error aleatorio

σ_{ij}^2 = Varianza del error

El tratamiento estadístico de este trabajo, así como el código y las salidas fueron generados con el programa estadístico SAS 9.4.

3.4.2. Correlación

Además, se utilizó el coeficiente de correlación lineal de Pearson como medida de asociación para evaluar la relación de las variables P_{Olsen} , P_{AEM} , P_{BM} respecto al pH.

4.- RESULTADOS

4.1. Análisis exploratorio de los datos

Antes de comenzar a mostrar los resultados obtenidos para cada una de las variables y su posterior discusión se va a mostrar el análisis exploratorio de los datos realizado. Para este análisis se utilizaron pruebas descriptivas (Tabla 3) y se comprobó la dispersión, normalidad, así como puntos influyentes o datos incoherentes para cada una de las variables estudiadas.

Tabla 3 Valores de tendencia central y dispersión para las variables estudiadas.

Análisis Exploratorio de los datos												
Sitio	AC	SM	AC	SM	AC	SM	AC	SM	AC	SM	AC	SM
Variable	Mediana		Media		Min		Max		error		Desv	
P _{total}	361	307	358	293	321	273	396	312	18.2	9.53	75	39
P _{org}	345	182	344	173	164	120	340	218	0,4	0,18	75	31
P _{inorg}	13,4	116	14	119	12	106	16,9	133	1.14	6.56	4	27
P _{AEM}	7,2	6,7	7,9	7,1	6,5	5,9	9,3	8,3	0,67	0,58	2,8	2,4
P _{Olsen}	3	8,4	3,3	8,5	2,8	7,6	3,9	9,4	0,26	0,43	1,4	1,6
P _{BM}	7	1,6	9,4	1,6	6,2	1,1	12,6	2	1,5	0,23	6,4	0,83
AFA	0,79	0,84	0,91	0,93	0,78	0,77	1	1	0,06	0,07	0,2	0,3
AFB	0,03	2,43	0,04	2,5	0,03	2,2	0,05	2,8	0,006	0,01	0,02	0,66
pH	4,5	8,2	4,5	8,1	4,1	7,8	5,2	8,3	0,06	0,02	0,2	0,1

Dónde: AC: Aguilar de Campoó; SM: Sierra de Montgrony; P_{AEM}: P extraído con membrana de intercambio aniónico [mg P/kg suelo]; P_{Olsen}: P extraído con método Olsen [mg P/kg suelo]; P_{total}: Fósforo total [mg P/kg suelo]; P_{org}: Fósforo orgánico [mg P/kg suelo]; P_{inorg}: Fósforo inorgánico [mg P/kg suelo]; AFA: Actividad enzimática fosfatasa acida [mg P-nitrofenol liberado/kg suelo]; AFB: Actividad enzimática fosfatasa alcalina acida [mg P-nitrofenol liberado/kg suelo]; P_{BM}: fósforo de la biomasa microbiana [mg P/kg suelo].

Se evalúo además la normalidad de cada variable original por medio de la prueba Kolmogorov Smirnov (Tabla 4).

Tabla 4 Pruebas de normalidad de las variables medidas.

Variable	Kolmogorov D Pr > D
P _{total}	0,061
P _{org}	>0,150
P _{inorg}	0,0100
P _{aem}	>0,150
P _{olsen}	>0,150
P _{BM}	>0,150
AFA	0,0427
AFB	>0,150

Dónde: P_{total}: Fósforo total [mg P/kg suelo]; P_{org}: Fósforo orgánico [mg P/kg suelo]; P_{inorg}: Fósforo inorgánico [mg P/kg suelo]; P_{AEM}: P extraído con membrana de intercambio aniónico [mg P/kg suelo]; P_{Olsen}: P extraído con método Olsen [mg

P/kg suelo]; AFA: Actividad enzimática fosfatasa acida [mg P-nitrofenol liberado/kg suelo]; AFB: Actividad enzimática fosfatasa alcalina acida [mg P-nitrofenol liberado/kg suelo]; P_{BM}: fósforo de la biomasa microbiana [mg P/kg suelo].

Como era de esperarse la distribución de la AFA y la AFB no provienen de una distribución normal, ya que los valores mínimos y máximos para cada localidad son muy diferentes en ambos casos, pues se tienen pruebas diferenciadas para cada grupo de pH. Las demás variables tienen un Pr > 0,05, razón por la cual se puede afirmar que provienen de una distribución normal.

Se ha optado por el uso de modelos lineales mixtos para cada una de las variables estudiadas, pues los datos no gozan de las condiciones mínimas de homogeneidad de varianzas, lo que limita la obtención de buenos predictores en modelos lineales. Evaluando, además, varios factores que afectan a la variable dependiente como localidad, masa y porcentaje de mezcla.

En la Tabla 5, se pueden observar los valores del Chi-cuadrado para todos los modelos analizados, encontrando que solamente la variable AFA podría ser tratada con un modelo lineal general, aunque esta no goza de linealidad. Las demás variables tienen una estructura de varianza de 6 estimadores que mejoran la calidad del ajuste por medio de un modelo lineal mixto.

Tabla 5 Valores de Chi-cuadrado para las variables analizadas.

X modelo	Chi-cuadrado	Pr > ChiSq
P _{total}	17,71	0,0033
P _{inorg}	31,68	<,0001
P _{AEM}	12,55	0,0280
P _{Olsen}	2,86	<,0001
P _{BM}	36,53	<,0001
AFA	2,61	0,7604
AFB	92,29	<,0001

Dónde: P_{total}: Fósforo total [mg P/kg suelo]; P_{org}: Fósforo orgánico [mg P/kg suelo]; P_{inorg}: Fósforo inorgánico [mg P/kg suelo]; P_{AEM}: P extraído con membrana de intercambio aniónico [mg P/kg suelo]; P_{Olsen}: P extraído con método Olsen [mg P/kg suelo]; AFA: Actividad enzimática fosfatasa acida [mg P-nitrofenol liberado/kg suelo]; AFB: Actividad enzimática fosfatasa alcalina acida [mg P-nitrofenol liberado/kg suelo]; P_{BM}: fósforo de la biomasa microbiana [mg P/kg suelo].

4.1. Estado del fósforo edáfico

El estado del P se evaluó a través del cálculo de las concentraciones del P_{total}, P_{org}, P_{inorg} en el suelo. En la

Tabla 6 se muestra la significancia de cada uno de los factores considerados en el modelo Lineal Mixto aplicado para las fracciones total, orgánica e inorgánica del fósforo edáfico.

Tabla 6 Resultados generales obtenidos para el P total (P_{total}), P inorgánico (P_{inorg}) y P orgánico (P_{org}).

Factor	P_{total}	P_{inorg}	P_{org}
Sitio	***	***	***
Masa	NS	***	**
Sitio* Masa	NS	***	***
% Mezcla	NS	NS	NS

Niveles de significancia: NS: Sin diferencia significativa; · Significancia a un $P < 0.1$ *: Significativo a un $P < 0.05$; **: Significativo a un $P < 0.01$; ***: Significativo a un $P < 0.001$

El efecto del porcentaje de mezcla que se incluyó dentro del modelo como un efecto lineal (véase apartado 3.4 Análisis estadístico) no mostró diferencias significativas para ninguna de las tres variables que se muestran en la tabla (P_{total} , P_{inorg} y P_{org}).

4.1.1. Fósforo total - P_{total} -

Aunque la interacción entre los distintitos tipos de masa no fue significativa en el P_{total} , se observa una alta significancia en el sitio, así como en las otras fracciones. Por lo anterior se desglosan los resultados obtenidos por localidades (Tabla 7).

Tabla 7 Resultados obtenidos para el P_{total} , P_{inorg} y P_{org} por localidad y tipo de masa

Masa	P_{total} (mg P/kg suelo)		P_{inorg} (mg P/kg suelo)		P_{org} (% respecto al P_{total})	
	AC	SM	AC	SM	AC	SM
Oak	322 a	287 b	16,6 a	90,77 b	94,8 b	68,5 a
Pine	352 a	318 a	11,4 b	153,6 a	96,7 a	51,5 b
Mix	393 a	277 b	15,4 ab	116,1 b	96,2 b	58,6 b

Nota: AC: Aguilar de Campoo; SM: Sierra de Montgrony; Oak: roble, Pine: pino y Mix: masa mixta de roble y *Pinus sylvestris*. Medias sin letra en común (a, b, c) son significativamente distintas con un nivel de significación de 0.05.

Las concentraciones de P_{total} existentes en los suelos de Aguilar de Campoó fueron significativamente más altas que en los suelos de la Sierra de Montgrony. Concretamente las concentraciones de P_{total} en los suelos bajo las masas puras de roble y de *Pinus sylvestris* de los suelos de Aguilar de Campoó estudiados presentaron concentraciones del orden del 12% más elevadas que las de los suelos de la Sierra de Montgrony (los incrementos absolutos en las masas puras fueron de 35 mgP/kg suelo tanto para las de *Pinus sylvestris* como para las de roble), mientras que en el caso de las masas mixtas estas diferencias fueron todavía mayores, llegando a alcanzar el 42% (diferencias de 116 mgP/kg suelo en las masas mixtas entre ambas zonas).

En Aguilar de Campoó no se encontraron diferencias significativas en los contenidos de P_{total} entre los diferentes tipos de masa. Sin embargo, en el triplete de la Sierra de Montgrony se observó que P_{total} en las masas de pino fue significativamente mayor que en las de roble y en las masas mixtas con 41,3 y 30,7 mg P/kg de suelo más respectivamente.

4.1.2. Fracción Inorgánica - P_{inorg} -

Las concentraciones del P_{inorg} edáfico también mostraron diferencias significativas cuando se compararon las dos localizaciones. Se observó que los suelos de las parcelas localizadas en los Pirineos (Tabla 7) presentaron valores significativamente más altos en el P inorgánico que las de los suelos de las parcelas de la Cordillera Cantábrica (llegando a presentar concentraciones del orden de 10 veces mayores). El porcentaje que representa el P inorgánico respecto al P_{total} en estos suelos es muy distinto según localizaciones, así en los suelos de las parcelas de Aguilar de Campoó las formas inorgánicas representaron solo en torno al 4 % del P_{total} y en los suelos de las parcelas de la Sierra de Montgrony superaron el 40% del P_{total} .

En los suelos de Aguilar de Campoó las parcelas bajo roble mostraron los valores más altos para la concentración de P_{inorg} siendo significativamente más alto que el existente en las masas puras de pino. Sin embargo, en los suelos de la Sierra de Montgrony las parcelas bajo masas puras de pino fueron las que presentaron concentraciones significativamente más altas de P_{inorg} que los suelos de las parcelas puras de roble y las mixtas. Aunque el porcentaje de mezcla no mostró diferencias significativas cuando se consideraron ambas localizaciones en conjunto, sin embargo, al considerarlas por separado se observó para la Sierra de Montgrony un efecto positivo del porcentaje de mezcla en la concentración de P_{inorg} . El porcentaje de mezcla correspondiente a la subparcela Mix 13 de la localidad de Pirineos mostro un claro efecto en la disponibilidad de P_{inorg} hasta en 1,13 mg P/kg de suelo más que las demás parcelas mixtas.

4.1.3. Fracción Orgánica

Los suelos de las parcelas estudiadas localizadas en Aguilar de Campoó mostraron mayores concentraciones de P_{org} con una fracción que representó más del 95% del P total edáfico, mientras que en los suelos de Pirineos el P orgánico representó en torno al 60% del P total (Tabla 7).

En Aguilar de Campoó, se encontró que las parcelas mixtas tienen una mayor concentración de P_{org} hasta en 24% superior que las masas de roble. Por otra parte, en la Sierra

de Montgrony las masas mixtas poseen hasta un 18% menos P_{org} que las parcelas de roble.

4.2. Disponibilidad del fósforo edáfico

La disponibilidad del fósforo edáfico se evaluó a través del método Olsen (1954), P_{AEM} y el P_{BM} . En la Tabla 8 se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los factores considerados en el modelo lineal Mixto aplicado.

Tabla 8 Resultados para el P_{AEM} , P_{Olsen} y P_{BM} .

Factor	P_{AEM}	P_{Olsen}	P_{BM}
Sitio	NS	***	***
Masa	NS	NS	NS
Sitio* Masa	NS	NS	NS
% Mezcla	NS	NS	NS

Niveles de significancia: NS: Sin diferencia significativa; · Significancia a un $P < 0.1$; *: Significativo a un $P < 0.05$; **: Significativo a un $P < 0.01$; ***: Significativo a un $P < 0.001$.

El análisis de P medido con AEM, no mostró diferencias significativas entre localidades, ni entres masas, ni para el porcentaje de mezcla. En las concentraciones encontradas con método Olsen, se observaron diferencias significativas entre las localidades, así como en el P_{BM} . Por lo anterior se desglosan los resultados generales por localidad y masa en la Tabla 9 para estas tres variables.

Tabla 9 Resultados obtenidos para el P_{AEM} , P_{Olsen} y P_{BM} por localidad y tipo de masa.

Masa	P_{AEM} (mg P/kg suelo)		P_{Olsen} (mg P/kg suelo)		P_{BM} (mg P/kg suelo)	
	AC	SM	AC	SM	AC	SM
Oak	6,5 a	7,8 a	4,1 a	9,1 a	12,2 a	2,1 a
Pine	7,7 a	7,2 a	2,6 b	8,9 a	7,3 a	1,4 a
Mix	9,2 a	6,5 a	3,3 b	7,7 a	8,8 a	1,3 a

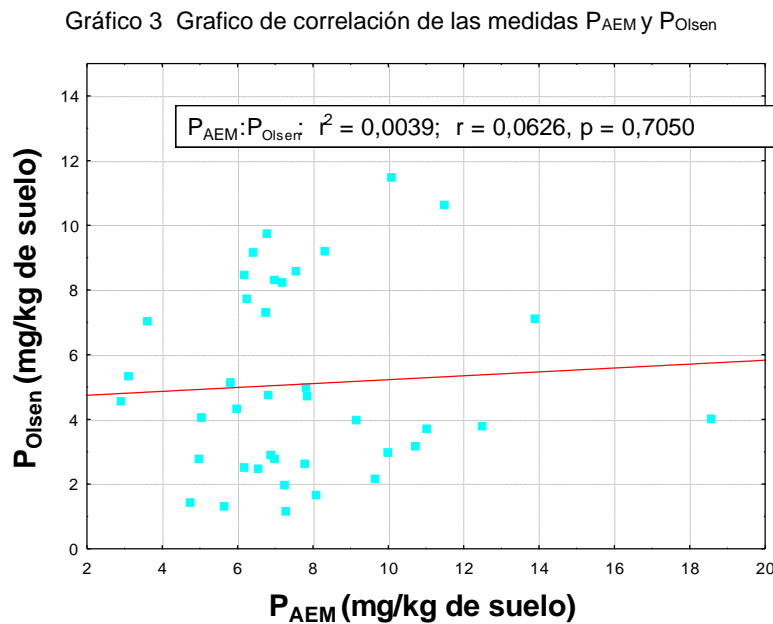
Nota: AC: Aguilar de Campoo; SM: Sierra de Montgrony; Oak: roble, Pine: pino y Mix: masa mixta de roble y *Pinus sylvestris*. Medias sin letra en común (a, b, c) son significativamente distintas con un nivel de significación de 0,05.

Tanto el P_{Olsen} como el P_{AEM} presentaron valores muy bajos (Tabla 9) menores en todos los casos al 10 mg P/kg suelo, lo que representa menos del 3% del P total existente en el suelo.

Con la prueba de Olsen, se encontraron diferencias entre las localidades y en la interacción sitio*masa. En los tripletes de Aguilar de Campoó, se observa que las masas de roble poseen mayor concentración de P lábil, sin que exista diferencia entre las mixtas

y las de pino. Mientras que en la Sierra de Montgrony, no se encontraron diferencias entre tipos de masa.

Además, se encontraron diferencias significativas en el sitio (Tabla 9) para los contenidos donde el P_{BM} tiene concentraciones medias mayores en 7,8 mg/kg de suelo más en Aguilar de Campoó. Siendo mayores en las masas de roble y una menor actividad microbiana en las masas de pino. Se realizó un estudio de las correlaciones entre las concentraciones de P_{MIA} y P_{Olsen} y se obtuvo una correlación baja ($r=0,0626$ $Pr>0,70$) como se puede observar en el Gráfico 3.



Se encontró que la prueba de P_{Olsen} está totalmente correlada con el pH ($Pr<0,0001$), con un coeficiente de correlación superior a 0,7; observando, además, que la variable que menos se ve influenciada por el pH del suelo es el P_{AEM} . Se puede observar en el grafico 4 que la dispersión de las mediciones es mucho mayor en la localidad de Aguilar de Campoó (a la que corresponde los valores de pH entre 4 y 5). Tanto el P_{BM} y el P_{AEM} , tienen valores atípicos que conllevan a una pérdida importante de ajuste. Otro aspecto a resaltar, es el comportamiento inverso entre las mediciones de P_{Olsen} y el P_{BM} , que presentan tendencias opuestas.

Se evaluaron además las fracciones lábiles respecto a las fracciones inorgánicas y orgánicas estudiadas. En la Tabla 10, se muestran los resultados correspondientes a las significancias de los distintos factores considerados en el modelo mixto para estos coeficientes.

Tabla 10 Resultados obtenidos para el P_{AEM} y P_{Olsen} respecto a las fracciones orgánicas e inorgánicas.

Factor	P_{AEM}/P_{inorg}	P_{Olsen}/P_{inorg}	P_{AEM}/P_{org}	P_{Olsen}/P_{org}
Sitio	***	***	***	***
Masa	**	NS	NS	NS
Sitio* Masa	**	NS	NS	NS
Mezcla	NS	NS	NS	NS

Niveles de significancia: NS: Sin diferencia significativa; · Significancia a un $P < 0.1$ *: Significativo a un $P < 0.05$; **: Significativo a un $P < 0.01$; ***: Significativo a un $P < 0.001$.

El factor sitio fue significativo en el modelo aplicado para los cocientes entre las fracciones disponibles y las formas inorgánicas y orgánicas del P indicando un comportamiento distinto entre las localidades. Sin embargo, el resto de los factores solo fueron significativos para el cociente entre el P extraído con las membranas de intercambio y el P inorgánico. El efecto del porcentaje de mezcla no fue significativo para ninguno de los cocientes considerados.

Es importante destacar que la fracción de P extraída con las membranas representó un porcentaje muy bajo del P inorgánico total en los suelos de las parcelas de Pirineos (menos del 8%) mientras que en los suelos de Aguilar de Campoó fue superior al 40% (Tabla 11).

Tabla 11 Resultados obtenidos para el P_{AEM}/P_{inorg} y P_{Olsen}/P_{inorg} por localidad y tipo de masa.

Masa	P_{AEM}/P_{inorg}		P_{Olsen}/P_{inorg}	
	(%)		(%)	
	AC	SM	AC	SM
Oak	40 a	8,5 a	69 a	10,0 a
Pine	76 b	3,5 c	85 a	5,7 c
Mix	64 b	5,5 b	87 a	7,1 b

Nota: AC: Aguilar de Campo; SM: Sierra de Montgrony; Oak: roble, Pine: pino y Mix: masa mixta de roble y *Pinus sylvestris*. Medias sin letra en común (a, b, c) son significativamente distintas con un nivel de significación de 0.05.

Se encontró que todas las parcelas de Sierra de Montgrony tienen distinto comportamiento en cuanto al P_{AEM} respecto al P_{inorg} . Las masas de roble poseen mayor porcentaje de $P_{lábil}$, siendo muy diferente a las masas de Aguilar. El P_{Olsen}/P_{inorg} , mostró diferencias solamente en la localidad pirenaica, donde las masas de roble albergan mayor concentración de P lábil respecto al reservorio inorgánico. Lo más llamativo de estos resultados obtenidos es el alto porcentaje que representan frente al P inorgánico las fracciones extraídas con las membranas de intercambio y el P_{Olsen} en los suelos de Aguilar de Campoó. En los suelos estudiados de esta localidad las fracciones lábiles de P representan proporciones muy altas, concretamente entre el 40 y el 87% del P inorgánico.

También se calcularon los ratios de las formas de P lábil frente al P orgánico y los resultados obtenidos para las comparaciones entre tipos de masa para cada zona de estudio se muestran en la siguiente tabla (Tabla 11). Dado que existen diferencias significativas entre las localidades, se muestran los valores obtenidos para tipo de masa por sitio en la Tabla 12.

Tabla 12 Resultados obtenidos para el P_{AEM}/P_{org} y P_{Olsen}/P_{org} por localidad y tipo de masa.

Masa	P_{AEM}/P_{org} (%)		P_{Olsen}/P_{org} (%)	
	AC	SM	AC	SM
Oak	2,0 a	3,9 a	3,6 a	4,6 a
Pine	2,3 a	3,5 a	2,5 a	5,5 a
Mix	2,4 a	3,7 a	3,3 a	5,1 a

Nota: AC: Aguilar de Campoo; SM: Sierra de Montgrony; Oak: roble, Pine: pino y Mix: masa mixta de roble y *Pinus sylvestris*. Medias sin letra en común (a, b, c) son significativamente distintas con un nivel de significación de 0.05.

La fracción P_{AEM} y la P_{Olsen} respecto al P_{org} es significativamente menor en las parcelas de Aguilar de Campoó que en las de la Sierra de Montgrony y no se observaron diferencias significativas entre masas para ninguno de estos cocientes.

4.3. Actividad enzimática fosfatasa

La actividad enzimática se evaluó con tampones de pH de 6,5 y 11; lo que explica resultados distintos para ambas pruebas en las localidades.

Tabla 13 Resultados obtenidos para el AFA y AFB por localidad y tipo de masa.

Factor	AFA	AFB
Sitio	NS	***
Masa	NS	**
Sitio* Masa	***	***
Mezcla	NS	NS

Niveles de significancia: NS: Sin diferencia significativa; · Significancia a un $P < 0.1$ *: Significativo a un $P < 0.05$; **: Significativo a un $P < 0.01$; ***: Significativo a un $P < 0.001$.

La actividad enzimática acida, se comportó de forma similar en ambas localidades, mientras que la básica mostró diferencias significativas para los factores sitio, masa y para la interacción masa*sitio. Por lo anterior se desglosaron los resultados por zonas obtenidos para estas determinaciones.

Tabla 14 Resultados y significancias obtenidos para AFA y AFB por localidad y tipo de masa.

Masa	AFA		AFB	
	(g p-nitrofenol/kg)		(g p-nitrofenol/kg)	
	AC	SM	AC	SM
Oak	0,74 b	1,09 a	0,02 b	2,6 a
Pine	1,04 a	0,55 b	0,06 a	1,9 b
Mix	0,94 b	1,12 a	0,04 b	2,9 a

Nota: AC: Aguilar de Campoo; SM: Sierra de Montgrony; Oak: roble, Pine: pino y Mix: masa mixta de roble y *Pinus sylvestris*. Medias sin letra en común (a, b, c) son significativamente distintas con un nivel de significación de 0.05.

Se encontró que la AFA, analizada para la localidad de Aguilar de Campoó, es mayor en las masas de pino de en 0,1 y 0,3 g de *p*-nitrofenol liberado/kg de suelo respecto a las masas mixtas y las de roble. La AFA también mostró diferencias significativas entre los tipos de masa en la localidad de Pirineos, donde la masa mixta mostró una mayor actividad enzimática acida.

En la Tabla 14 Resultados y significancias obtenidos para AFA y AFB por localidad y tipo de masa., también se puede observar la AFB, que mostró diferencias significativas entre las localidades, pues la reacción en los suelos de Aguilar de Campoó fue muy baja. Se observa una actividad importante en el triplete de la Sierra de Montgrony y se mantiene la tendencia de mayor actividad en la mezcla, seguida por el roble.

5. DISCUSIÓN

Estado del fósforo edáfico

Los suelos sobre los que se desarrollan las masas forestales estudiadas presentan características contrastadas. Nuestros resultados ponen de manifiesto diferencias en el estado y en la disponibilidad de P entre ambas zonas. Estas diferencias eran previsibles ya que los suelos estudiados, se encuentran ubicados en regiones con condiciones climáticas, litológicas, pedogénesis y tratamientos silvícolas diferentes. Los suelos de Aguilar de Campoó se caracterizan por tener un pH medio de 4,5, están libres de carbonatos y todas las subparcelas presentan una pendiente suave y exposición similar. Por el contrario, en el triplete de la Sierra de Montgrony, se encontraron pendientes abruptas, afloramientos rocosos, suelos pobremente formados y mayor densidad arbórea, además su pH es fuertemente básico y presenta carbonatos.

Fósforo total

Las concentraciones de P_{total} presentes en los suelos estudiados son relativamente bajas en ambas zonas y representan la mitad de la concentración de P total existente en Umbrisoles cámbicos de la Sierra de Gata (Salamanca) bajo masas puras de *Quercus Pyrenaica* (Turrión et al., 2008). Sin embargo, es del orden del doble del existente en suelos bajo masas de *Pinus sylvestris* y *Quercus petraea* puras y mixtas situadas en el Noreste de Alemania en suelos tipo podzol o débilmente podzolizados (Slazak et al., 2010). El efecto del sitio fue significativo, presentando los suelos de las parcelas Aguilar de Campoó concentraciones de P_{total} significativamente superior a los de las parcelas localizadas en los Pirineos. Sin embargo, el resto de los factores estudiados no fueron significativos. Tal como afirma Tiessen et al. (1984), la concentración total de P es una propiedad que depende del tipo de material del que procede el suelo principalmente y no depende de otras variables naturales, por lo que el reservorio de este mineral será prácticamente constante en los suelos de la misma localización. El mayor contenido de P en Aguilar de Campoó, es coherente con las pendientes leves encontradas en la zona, las cuales evitan el lavado de los minerales y permiten procesos de acumulación. (Kruse et al., 2015) Al contrario de lo que sucede en los suelos de la Cordillera Pirenaica, donde las pendientes (mayores del 50%) propician la pérdida de materiales edáficos por erosión y dificultan el desarrollo del perfil edáfico.

Fósforo inorgánico y orgánico

Antes de comenzar a discutir el efecto de los distintos factores considerados (% mezcla, tipo de masa, sitio, y su interacción) sobre el Pinorg y el Porg, es importante señalar la diferente proporción que estas fracciones representan frente al P total en los dos tipos

de suelos considerados. El P_{org} en los suelos de Aguilar representó en torno al 95 % del P total edáfico mientras que en los suelos de los Pirineos representó entre el 52 y el 69 % del P_{total}. (Harrison (1987) en su revisión sobre el contenido de P orgánico en suelos europeos señala que generalmente se encuentra entre valores comprendidos entre 50 y 500 mgP/kg suelo, valores entre los que se encuentran los suelos estudiados. Un gran número de autores, han considerado que los contenidos en C y N están bien correlacionados con el contenido en P orgánico de los suelos. Por otro lado, según Gil Sotres & Diaz-Fierros (1980) se puede considerar que las diferencias en el contenido en P orgánico de los suelos son función del contenido en materia orgánica y este contenido, a su vez, es función del balance acumulación-mineralización de ésta. La acumulación de restos orgánicos lentamente mineralizables en el suelo vendrá dada tanto por las características climáticas, como por las relaciones entre nutrientes del suelo y por la posible acción de algún elemento potenciador-inhibidor de la flora bacteriana o por la estabilización de la materia orgánica edáfica debida a la formación de complejos de difícil mineralización (Brunner & Blaser, 1989; Bueis et al., 2018). Las condiciones ambientales como clima, geomorfología y cobertura entre otras, son factores que afectan a los procesos de mineralización e inmovilización de los compuestos inorgánicos del suelo, pues están relacionados directamente con la actividad microbiana, la actividad enzimática y la relación entre C:P (Arenberg & Arai, 2018).

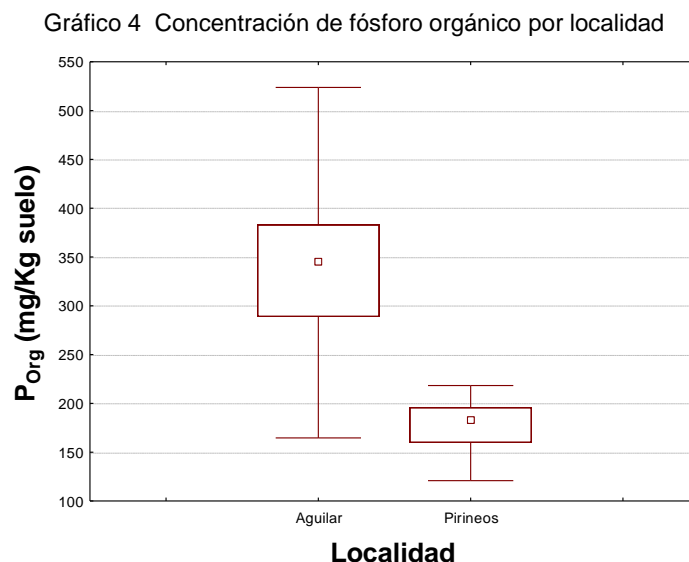
El porcentaje de mezcla no afectó significativamente ni al P_{inorg} ni al P_{org}, sin embargo, el factor interacción sitio*masa si mostró diferencias significativas para ambos parámetros, lo cual obliga a estudiar por separado el efecto de la masa en cada una de las localizaciones consideradas.

La temperatura juega un papel clave en la concentración de P_{org} en el suelo (Gallardo et al., 2009). Los procesos de inmovilización están inversamente correlacionados con la temperatura, mientras que la mineralización aumenta con esta (Arenberg & Arai, 2018; Gallardo et al., 2009). En Pirineos el contenido en P orgánico es menor, lo que indica una mayor mineralización del P_{org}, directamente relacionada con la temperatura media de esta localidad, que es mayor que la de Aguilar de Campoó.

Por otro lado, la temperatura mostrada en el apartado 3.1. Área de estudio se corresponde con los datos de la estación Aguilar de Campoó que se encuentra a unos 150m más baja de altitud que las parcelas forestales estudiadas, por lo que tendremos valores de temperatura en las parcelas de estudio de entorno a un grado menos que los mostrados que se obtienen en el observatorio. Sin embargo, los datos climáticos mostrados para las parcelas de la Sierra de Montgrony se corresponden con los existentes en las

parcelas, pues los observatorios se sitúan a una altitud y orientación similar. Atendiendo a estos datos climáticos se puede afirmar que en las parcelas de la Sierra de Montgrony las temperaturas medias son más altas (del orden de 2°C más) y las precipitaciones también son superiores, por lo que se dan condiciones climáticas que favorecen la mineralización de la materia orgánica y por lo tanto cabría esperar valores inferiores del P orgánico si consideramos valores de P total del mismo orden o inferiores. Los resultados mostrados en el Gráfico 4 Concentración de fósforo orgánico por localidad Muestran valores significativamente más bajos en los suelos de Montgrony que en los de Aguilar..

Algunos autores (Merino et al., 2019) indican que un predominio del P_{org}, con porcentaje mayor al 70% respecto al P totales típico de suelos forestales, lo que supone una actividad microbiana y de inmovilización de los fosfatos. En nuestros suelos los porcentajes de P_{org} respecto al P total son superiores al 52% en los suelos de los Pirineos y del 95% en los suelos de Aguilar. Además, estos resultados van acompañados también con altas concentraciones de P en la biomasa microbiana que además fueron significativamente mayores en la localidad de Aguilar de Campoó que en la de la Sierra de Montgrony. Esta proporción de P_{org} es normal en suelos con mayor grado de evolución, donde la disponibilidad de fosfatos primarios disminuye (Boschetti & Quintero, 2003). Los suelos de Aguilar de Campoó, aunque son suelos en formación pertenecientes al orden inceptisoles (USDA, 2014), son más evolucionados que los de la Sierra de Montgrony (leptosoles) y presentan al menos dos horizontes bien formados y de mayor profundidad.

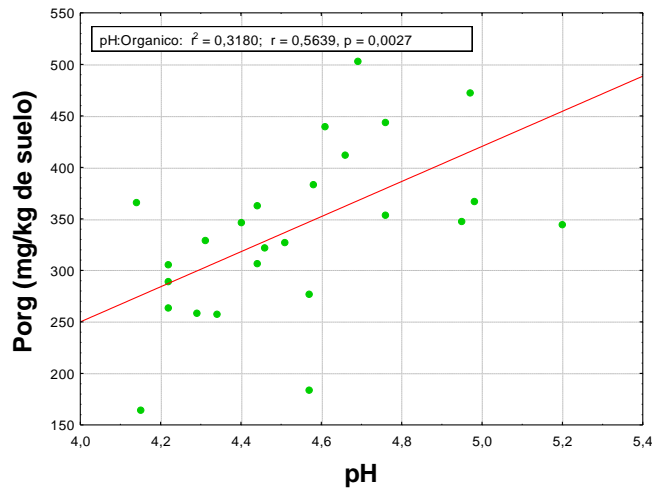


Otra propiedad química importante es el pH, que influye directamente en las tasas de mineralización. Los suelos con pH más altos, suelen presentar menores concentracio-

nes de P_{org} extraíbles (Tiessen et al., 1984), pero a su vez presentan tasas de mineralización mucho mayores (Harrison, 1982). Esto explica el comportamiento mostrado por la fracción orgánica en los tripletes estudiados. Se encontró que las parcelas de Aguilar de Campoó poseen significativamente más P_{org} , hasta un 30%, que en la Sierra de Montgrony, aunque tiene una gran variabilidad espacial.

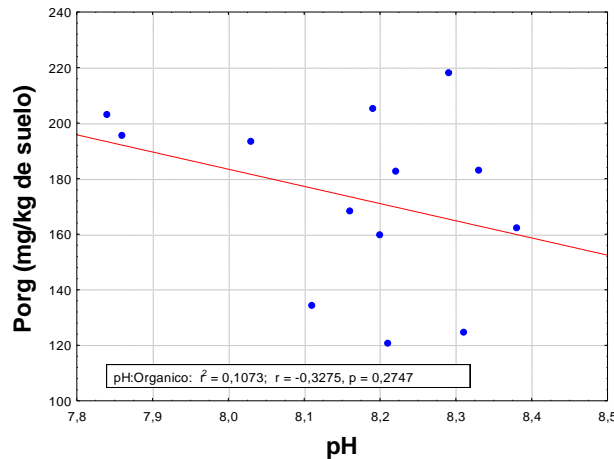
Aunque los suelos de Aguilar de Campoó muestran una dispersión más amplia en cuanto a concentraciones de P_{org} , se ve un claro aumento en la fracción orgánica a medida que el pH incrementa entre 4,5 y 5. Se observa, además, que los pH más bajos de 4,5 presentan las menores concentraciones de P_{org} resultado que es coherente con lo descrito por Stewart (1987).

Gráfico 5 Evolución del fósforo orgánico en Aguilar de Campoó respecto al pH



En el estudio realizado por Haynes (1982), este autor observó una disminución de la concentración de P_{org} del 10% al modificar el pH del suelo en una unidad de 5,5 a 6,5). Nuestros resultados en las parcelas de Aguilar muestran una tendencia contraria, aumentando el contenido de P orgánico a medida que el pH va aumentando dentro del rango de pH de 4,0 a 5,4 (Gráfico 5). En los suelos de la Sierra de Montgrony, se observa la tendencia contraria disminuyendo el contenido en P_{org} a medida que el pH edáfico es más básico (Gráfico 6).

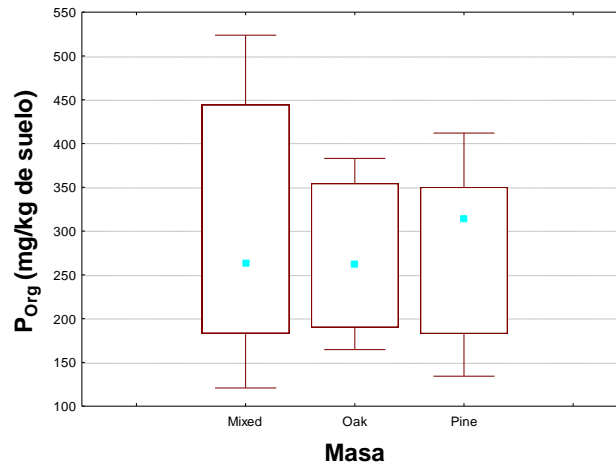
Gráfico 6 Evolución del fósforo orgánico en Sierra de Montgrony respecto al pH



El P_{org} también muestra comportamientos diferentes atendiendo al tipo de masa forestal Gráfico 7. En Aguilar de Campoó, las mayores concentraciones de P_{org} se obtuvieron en las parcelas mixtas, pero sin diferencias significativas; mientras que en la Sierra de Montgrony fueron las de roble las que presentaron mayores concentraciones.

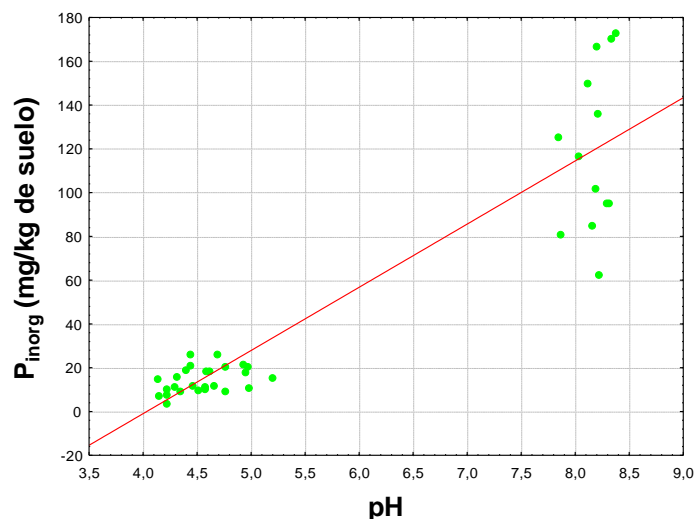
Slazak et al. (2010) en su trabajo con masas puras y mixtas de *Pinus sylvestris* y *Quercus* en el noreste de Alemania concluyó que las reservas de P_{org} estaban condicionadas por el tamaño de los robles y el porcentaje de este en la asociación. Por un lado, en la presente investigación no se ha encontrado ningún efecto significativo del porcentaje de mezcla en la concentración del P_{org} y por otro lado el tamaño de los robles no ha sido un factor a considerar pues los robles de todas las masas estudiadas tienen la misma edad aproximadamente.

Gráfico 7 Concentración de fósforo orgánico (mg/kg de suelo) en cada tipo de masa



La fracción inorgánica del P es mayor en los suelos de las parcelas de Pirineos en un 32% que en los suelos de Aguilar de Campoó. Los suelos de la Sierra de Montgrony se asientan sobre un material parental de origen calcáreo, el cual propicia la formación de precipitados de fosfato de calcio que inmovilizan las formas inorgánicas de los compuestos de P (Fox et al., 2011a). En el Gráfico 8 se puede observar las diferencias entre las concentraciones de P_{inorg} en las dos zonas estudiadas. La Gráfico 8 muestra que los contenidos de P inorgánico son menores en los suelos con pH ácidos (Aguilar de Campoó), que en los suelos calcáreos. Se observa además en el que los suelos de Pirineos que presentan pH altos presentan también mucha mayor Gráfico 8 variabilidad espacial.

Gráfico 8 Concentración de Pinorg respecto al pH.

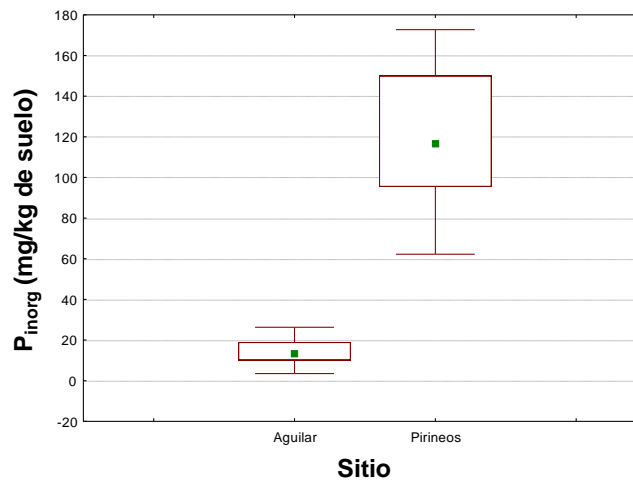


Los procesos de precipitación del ión fosfato con el catión Ca^{+2} podría explicar los altos valores de P_{inorg} existentes en los suelos de Pirineos (Gráfico 9). La acumulación de materia orgánica, así como las fracciones orgánica e inorgánica de fósforo, presentan

patrones de acumulación diferentes en suelos ácidos que en los calcáreos (Stewart, 1987).

Stewart (1987) afirma que la presencia de carbonatos y de precipitados de Ca en el suelo propicia la mineralización del P_{org} , aumentando de esta forma el cociente de la fracción inorgánica respecto al total, pero limitando mucho más la fracción lábil del P en el suelo, condición que sufren los suelos de la Sierra de Montgrony (Arenberg & Arai, 2018).

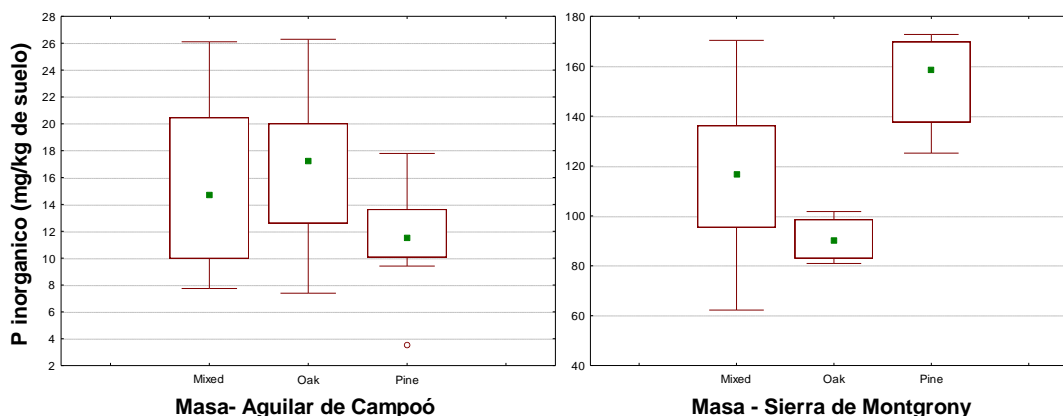
Gráfico 9 Concentración de P_{inorg} por localidades



Por otra parte, la fracción inorgánica mostró diferencias significativas entre los tipos de masa en ambas zonas de estudio. Las masas de pino en Aguilar de Campoó poseen una reserva de P_{inorg} significativamente menor que las masas mixtas y las de roble. Por el contrario, en las parcelas de la Sierra de Montgrony, se encontró que las masas de pino son las que tienen una fracción inorgánica significativamente mayor que el resto de las masas (Tabla 7, Gráfico 10).

El efecto de la materia orgánica juega un papel importante en la mineralización del P; las masas de roble de Aguilar de Campoó, tienen un diámetro y altura media mayor que las masas de roble de la Sierra de Montgrony, las cuales aportan una mayor cantidad de hojarasca al suelo, que en condiciones de acidez favorecen procesos de acumulación (Spohn et al., 2018).

Gráfico 10 Concentración de P inorgánico para cada tipo de masa y por localidad. Der localidad de Aguilar de Campoó. Izq. localidad de Pirineos



Disponibilidad del fósforo edáfico

Como ha sido mencionado en repetidas ocasiones a lo largo de este documento, las características propias de cada suelo determinan la solubilidad y la capacidad de adsorción de nutrientes por parte de los suelos (Stewart, 1987). Los óxidos de Al y Fe juegan un papel importante en el control de la dinámica del P en los suelos ácidos, mientras que en los suelos calizos lo hace el catión Ca^{+2} , y en ambos tipos de suelo la materia orgánica condiciona en gran medida la disponibilidad de fósforo (Ludovick et al., 2016). En aquellos suelos en los que haya una baja disponibilidad de P, las plantas y los microorganismos compiten por las cantidades limitadas de ese elemento a través de procesos de precipitación - solubilización y absorción - desorción (liberación del fósforo adsorbido) (Da Silva & Nahas, 2002; Pineda,-Beltrán, 2014). En el ciclo microbiano del fósforo se producen transformaciones de formas inorgánicas a formas orgánicas que pasan a formar parte de los tejidos microbianos y también tiene lugar la conversión de formas inmóviles insolubles a compuestos solubles cuando los microorganismos mueren y sus compuestos orgánicos se mineralizan. La conversión de fosfatos inorgánicos disponibles para la planta y microorganismos en formas orgánicas no disponibles se denomina inmovilización; el proceso contrario es la mineralización. Esto es claramente observable en este estudio; la localidad con menor cantidad de P_{olsen} (Aguilar de Campoó), tiene también la mayor cantidad de P capturado e inmovilizado por la biomasa microbiana como se observa en la Tabla 9 Resultados obtenidos para el PAEM P Olsen y PBM por localidad y tipo de masa.

Aunque en este trabajo no se realizaron análisis de otro tipo de elementos presentes en el suelo, se asume que hay una presencia alta de óxidos de Al y de Fe en los suelos con pH más ácidos (Haynes, 1982) como es el caso de las parcelas de Aguilar de Clos suelos ácidos Aunque las cantidades totales de P en los suelos estudiados se pueden

considerar medias-altas, sin embargo apenas un 10% del P_{total} , puede llegar a estar disponible para las plantas, lo que lo convierte en un elemento limitante (Boschetti & Quintero, 2003). Esta situación se cumple en todas las parcelas estudiadas, donde el P lábil osciló entre el 2 y el 11% del P total.

Métodos de medición de P disponible.

El P disponible fue evaluado a través de los métodos Olsen y de las membranas de intercambio aniónico. Se puede destacar la influencia del extractante en la medición del P disponible según el tipo de suelos. Mientras que el Olsen funcionó mejor en los suelos calcáreos de Pirineos, en los suelos de Aguilar los resultados muestran una gran variabilidad. Las membranas mostraron un comportamiento independiente del tipo de suelo, y los resultados obtenidos no están correlacionados con el pH. El método Olsen por otra parte presentó dificultades metodológicas, sobre todo en la eliminación de la materia orgánica del suelo con el carbón activo.

De acuerdo con los estudios realizados por Schoenau & Huang (2015), la extracción con bicarbonato de sodio muestra gran variabilidad y poca correlación con las concentraciones obtenidas con la AEM. Por otra parte, la extracción con bicarbonato suele ser una aproximación importante para determinar el P disponible de la fracción orgánica del suelo, y suele ser un acercamiento fiel a procesos de mineralización (Johnson et al., 2003; Schoenau & Huang, 2015), condición que se refleja en esta investigación.

Las concentraciones de P_{Olsen} mostraron menor variabilidad dentro de cada grupo considerado, como se evidencia en la Tabla 9. Se observa, además, un diferente comportamiento entre las fracciones medidas por ambos métodos en este estudio. Así la extracción con las membranas (AEM) mostro poca interferencia del pH, el método Olsen, correlacionó de manera muy significativa en los suelos calcáreos con el P_{BM} y el P_{AEM} . Por otro lado, los suelos ácidos mostraron bajas concentraciones de P lábil medido con las membranas de intercambio. Menon et al., (1988) en su trabajo cuestiona las concentraciones de P extraíble con bicarbonato, pues considera que estas no representan la disponibilidad relativa cuando se comparan suelos con características fisicoquímicas distintas.

Fósforo de la biomasa microbiana del suelo

La biomasa microbiana del suelo constituye la parte viva de la materia orgánica excluyendo la fauna macroscópica y las raíces (García & Moron, 1992) su estudio es muy interesante porque además de tratarse de una fracción muy activa del suelo al intervenir

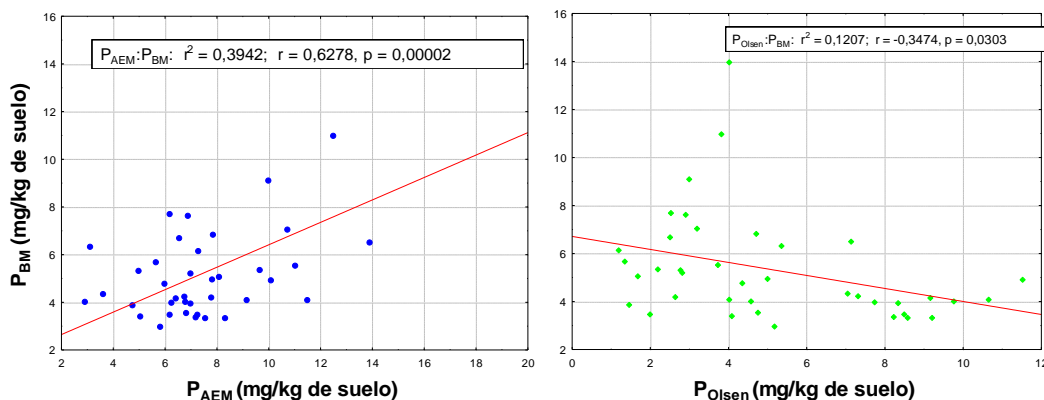
en los procesos de mineralización constituye en sí misma una reserva importante de nutrientes que al morir quedan disponibles para el resto de organismos (Bueis et al., 2018). Acotar el termino biomasa microbiana puede ser complejo, pues en el suelo existen gran variedad de microorganismos, con diferencias fisiológicas y fisionómicas, que juegan un papel importante en la dinámica y funcionamiento ecosistémico, por ejemplo en el reciclaje de nutrientes (Albiach et al., 2003). Conocer su actividad resulta muy importante en el estudio de suelos, pues es un indicador de estimación del stock de nutrientes. Para el caso del fósforo, se estima que el reciclaje de este en un año puede alcanzar hasta 40 kg/ha (Marumoto & Domsch, 1982).

Es importante resaltar la relación directa existente entre la biomasa microbiana, las formas asimilables del P edáfico y el contenido en P orgánico en el suelo. Estas últimas representan la principal fuente de este nutriente que pasa a estar disponible para la vegetación gracias a la mineralización bioquímica que es llevada a cabo principalmente por la comunidad bacteriana de los suelos (Tapia-Torres & García-Oliva, 2013)

En nuestro estudio el P de la biomasa microbiana, mostró una correlación positiva muy débil con las fracciones orgánicas e inorgánicas (

Tabla 16), pero una buena correlación con las formas lábiles (Gráfico 11).

Gráfico 11 Correlación lineal para las variables analizadas de P labil respecto al P_{BM} . Izq. P_{BM}/P_{AEM} . Der. P_{BM}/P_{Olsen}



A priori observamos una significativa correlación positiva del P_{BM} con las formas lábiles medidas con AEM, mientras que el P_{Olsen} no muestra una correlación significativa cuando se consideran todas las muestras en conjunto. Pero al evaluar las localidades por separado, las correlaciones entre las variables P_{BM} y P_{Olsen} son mayores que las observadas entre P_{BM} y P_{AEM} (Tabla 15).

Tabla 15 Correlaciones lineales de Pearson entre variables consideradas todas en conjunto y por cada localidad.

variables correlación	Sitio	Valor r
P_{Olsen} versus P_{MIA}	Pirineos + Aguilar	0,06
	Aguilar	0,2
	Pirineos	0,7
P_{Olsen} versus P_{BM}	Pirineos + Aguilar	-0.34
	Aguilar	0,14
	Pirineos	0,91
P_{AEM} versus P_{BM}	Pirineos + Aguilar	0,62
	Aguilar	0,10
	Pirineos	0,83

Es altamente conocido que la asimilación o inmovilización microbiana es un proceso crítico que controla la disponibilidad de N edáfico para las plantas y que junto con la relación C/N en plantas y suelo son variables que afectan las tasas de mineralización de este elemento (Brookes et al., 1984; Gallardo et al., 2009). Nuestros resultados muestran que en los suelos estudiados también se dan procesos de inmovilización por parte de los microorganismos edáficos para el P edáfico y esta inmovilización es superior en los suelos donde este elemento es limitante. Los suelos estudiados de las parcelas de Aguilar de Campoó poseen concentraciones relativamente altas de P_{BM} y concentraciones bajas de P_{Olsen} . La posibilidad de que en estos suelos ácidos se produzca una inmovilización del fósforo en la biomasa microbiana explicaría estos resultados.

Actividad enzimática fosfatasa

El fósforo orgánico puede ser mineralizado por dos vías. Una de ellas como consecuencia de la mineralización de la materia orgánica del suelo, siendo en este caso un subproducto del proceso de mineralización general de la materia orgánica edáfica y la otra mediante la acción de enzimas específicas que actúan sobre las formas orgánicas del P directamente y que son reguladas por la demanda de este nutriente (Picone & Zamuner, 2002; Pineda-Beltrán, 2014). Cuando se determinan las actividades fosfatásicas ácidas y básicas se está determinando el segundo de estos procesos de mineralización de P indicado.

La fosfatasa del suelo es un grupo de enzimas catalizadoras de la hidrólisis del ácido fosfórico, que son las encargadas de la mineralización del fósforo orgánico. Comúnmente se determina las fosfomonoesterasas que actúan bajo dos pH (básicos y ácidos).

Esta parte del ciclo del elemento P, está estrechamente relacionada con todos los organismos vivos que tienen relación directa con el suelo (Trasar et al., 2003).

En este trabajo se determinaron ambas actividades fosfatásicas la ácida y básica y se observó que, como era de esperar, que la actividad fosfatásica básica fue mayor en los suelos de Pirineos, mientras que la ácida mostró valores similares en ambas localidades.

De acuerdo a la bibliografía, los suelos forestales pueden presentar un amplio rango de valores de la actividad fosfatasa (Trasar et al., 2003). Algunos autores afirman que los rangos normales pueden ir desde 0,3 hasta 19,1 g de p-nitrofenol liberado por kg de suelo (Harrison, 1983); otros en cambio, señalan valores de hasta 38,1 moles de p-fenol liberado en el análisis de suelos forestales ácidos utilizando el mismo método de medición (Badalucco et al., 1992; Trasar et al., 2003). En la

Tabla 16, se muestran las correlaciones entre fracciones orgánica e inorgánica con las actividades enzimáticas ácida y básica. La AFA no presenta correlación con ninguna otra medición, situación descrita por (Harrison, 1983), este autor no encontró relación entre la AFA y las fracciones generales de P (orgánica e inorgánica) en el suelo. Mientras que la AFB muestra una correlación positiva altamente significativa con el P_{inorg} y negativa con el P_{org} , además que alcanza hasta 0,945 unidades de correlación con el pH (

Tabla 16); por otra parte, Harrison (1983) describió la influencia en la capacidad enzimática del suelo de factores medio ambientales como temperatura, precipitación, exposición, tipo de suelo y tipo de vegetación.

La actividad enzimática básica (AFB) en la Sierra de Montgrony fue mucho más alta que la registrada en las parcelas de Aguilar de Campoó. En las parcelas de pino, roble y mixtas de Pirineos se obtuvieron valores de 1,6; 2,6 y 2,9 mg p-fenol liberado/hora respectivamente. Lucas-Borja et al (2012), encontró que la actividad enzimática en suelos de pH neutro, es mayor en bosques mixtos que en bosques monoespecíficos. Lo anterior cobra valor en los análisis para la localidad de Pirineos, donde la parcela mixta muestra una mayor actividad enzimática sobre los monocultivos, a pesar de que estos suelos sean calcáreos (Tabla 14).

La AFA tiene su origen en la actividad de descomposición vegetal y en la acción de microorganismos del suelo, por lo que es más difícil que el residual de esta actividad enzimática desaparezca de los suelos donde el pH es más básico; caso de los suelos de Pirineos, donde se encontró una alta actividad enzimática ácida (AFA), mientras que

la AFB fue casi nula para los suelos de Aguilar de Campoó, pues la actividad enzimática básica es probable que no persista en pHs bajos (Dick & Tabatabai, 1984).

Nuestros resultados muestran un comportamiento claramente diferenciado en relación a las actividades enzimáticas fosfatásicas tanto ácidas como básicas de los dos tipos de suelo. En el caso de los suelos ácidos, los suelos bajo pinar mostraron valores significativamente mayores que para el resto de las masas estudiadas tanto para la AFA como para la AFB. Estos suelos de Aguilar fueron los que presentaron menores valores de P asimilable medido por el método Olsen, y el P asimilable de los suelos bajo pino de estos suelos fue significativamente inferior al existente en los suelos del resto de las masas, esto explicaría que la mayor deficiencia de P disponible haya ocasionado mayores valores de las actividades fosfatásicas en estos suelos (Tabla 14).

En el caso de los suelos básicos (Pirineos) también fueron los suelos bajo las masas de pinar los que mostraron diferencias significativas para ambas actividades fosfatásicas presentando valores significativamente más bajos que el resto de las masas. En este caso se puede explicar porque los suelos de Pirineos presentaron valores de actividades fosfatásicas más de dos veces superiores a los existentes en los suelos de Aguilar, pudiéndose considerar que en los suelos de Pirineos estudiados no hay deficiencia de P disponible, aspecto que es también corroborado por la menor tasa de inmovilización del P en la biomasa microbiana en estos suelos

Tabla 16 Correlaciones entre las diferentes fracciones (P_{org}, P_{inorg}, P_{BM}, AFA, AFB y pH)

Parámetro	P _{inorg}	P _{org}	AFA	AFB	P _{BM}	PH
P _{inorg}	1	-0,667	-0,0569	0,839	-0,443	0,921
P _{org}		1	0,307	-0,698	0,36	-0,691
AFA			1	0,209	0,153	0,111
AFB				1	-0,477	0,945
P _{BM}					1	-0,469
PH						1

Nota: P_{org}, P_{inorg} y P_{BM} medidos en mg/kg de suelo; AFA y AFB medidos en mg de p-fenol liberado/h

6. CONCLUSIONES

Atendiendo de la primera hipótesis planteada en este TFM, que señala que las masas mixtas mejoran el estado y la disponibilidad del fósforo edáfico aumentando las concentraciones tanto de las formas totales como de las disponibles nuestros resultados muestran que el tipo de masa no afectó en las concentraciones totales de fósforo. El fósforo orgánico juega un papel muy importante en la dinámica del fósforo en estos suelos forestales, llegando a representar más del 52% del P total en los suelos de la Sierra de Montgrony y un 95% del P total en los suelos de Aguilar. Sin embargo, el P orgánico fue afectado por el tipo de masa en ambas zonas, Así para los suelos calizos de los Pirineos las concentraciones más altas para el P orgánico las mostraron las masas monoespecíficas de pino y en los suelos ácidos de Aguilar fueron las masas monoespecíficas de roble. Este comportamiento viene marcado por las características físico-químicas del suelo, las condiciones climáticas del sitio y de la cantidad y calidad de la materia orgánica procedente de la hojarasca.

Los resultados obtenidos muestran que los suelos de Aguilar presentaron valores muy bajos de P disponible que implican una posible deficiencia en este elemento. La dinámica del P en este suelo está condicionada tanto por las bajas tasas de mineralización del P orgánico debido a las condiciones climáticas y a las características físico químicas del suelo como por la inmovilización del P edáfico por la biomasa microbiana del suelo. que se encuentra del suelo.

Para este estudio, las masas mixtas no parecen favorecer el aumento de los reservorios de fósforo orgánico e inorgánico, aunque cabe resaltar que no se han tenido en cuenta factores silviculturales importantes como edad del rodal, tratamientos de claras entre otros.

Únicamente en la actividad enzimática, las masas mixtas mostraron mayor actividad, lo que podría suponer que la interacción entre especies favorece la producción de enzimas catalizadoras.

El porcentaje de mezcla no afectó a ninguna de las variables evaluadas. Se requiere mayor intensidad de muestreo en las parcelas mixtas para comprobar nuestro resultado.

La dinámica del P dentro de los suelos está fuertemente influenciada por la interacción ambiental, las propiedades fisicoquímicas y biológicas. El sitio demostró tener una gran influencia sobre las fracciones orgánicas e inorgánicas del fósforo, así como en la disponibilidad de este.

La disponibilidad del P en los suelos estudiados está controlada tanto por los procesos de mineralización de las formas orgánicas del P como por las actividades enzimáticas Dado que el P_{org} está controlado directamente por el C, es necesario realizar investigaciones que permitan comprender el manejo adecuado de los suelos. Se recomienda, además, mayor intensidad de

muestreo para atenuar la dispersión de los datos y de esta forma obtener resultados más fiables en cuanto al comportamiento y características de los suelos.

7. AGRADECIMIENTOS

Al banco Santander, que con su programa Iberoamérica + Asia me dio la oportunidad de formarme en este máster.

A mis padres, hermanos y abuelas; sin ellos no sería ni la mitad de lo que soy. Esto es más de ellos que mío.

A mi tutora M^a Belén Turrión por la paciencia y la disposición cada vez que la necesité.

A Marina Getino, por permitirme trabajar con ella y por su amistad.

A Valentín Pando por su ayuda en los análisis estadísticos, por sus clases y consejos.

A las personas del departamento de Edafología y Química Agrícola de la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de Palencia, por toda la colaboración y conocimientos que me dieron durante esos meses interminables de análisis.

A mis compañeros de clase, que se convirtieron en mi familia en España

A Fer.

A todos muchas gracias.

8- REFERENCIAS

- AENOR. (2012). *Calidad de suelo. Determinación de pH. Norma UNE-ISO 10390*.
- Albiach, R., Canet, R., Ribó, M., & Pomares, F. (2003). Determinación del carbono y nitrógeno de la biomasa microbiana del suelo. In C. Garcia, F. Gil, T. Hernandez, & C. Trasar (Eds.), *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana*. (pp. 247–281). Barcelona.
- Andivia, E., Rolo, V., Jonard, M., Formánek, P., & Ponette, Q. (2016). Tree species identity mediates mechanisms of top soil carbon sequestration in a Norway spruce and European beech mixed forest. *Annals of Forest Science*, *73*(2), 437–447.
<https://doi.org/10.1007/s13595-015-0536-z>
- Arana, T. M., Perales, C. A., Pérez-ramos, I. M., Ibáñez, B., Teresa, M., Núñez, D., ... Mercedes, R. (2012). Interacciones árbol-suelo y funcionamiento del bosque mediterráneo: Síntesis del proyecto INTERBOS. *Cuadernos de La SECF*, *89*, 81–89.
- Arenberg, M. R., & Arai, Y. (2018). Uncertainties in soil physicochemical factors controlling phosphorus mineralization and immobilization processes. In *Advances in Agronomy* (1st ed.). <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2018.11.005>
- Badalucco, L., Grego, S., Dell'orco, S., & Nannipieri, P. (1992). Effect of liming on some chemical, biochemical, and microbiological properties of acid soils under spruce (*Picea abies* L.). *Biology and Fertility of Soils*, *14*, 76–83.
- Baggley, K. a, Berning, B., Brachert, T. C., Hultsch, N., Knoerich, A. C., Krautworst, U. M. R., ... Rydberg, O. (2001a). Mapa geológico de España- Barruelo de Santullán. *Instituto Geológico y Minero de España*, *175*(3–4), 107–127.
<https://doi.org/10.1016/j.sedgeo.2007.01.020>
- Baggley, K. a, Berning, B., Brachert, T. C., Hultsch, N., Knoerich, A. C., Krautworst, U. M. R., ... Rydberg, O. (2001b). Mapa geológico de España-población de Lillet. *Instituto Geológico y Minero de España*, *175*(3–4), 107–127.
<https://doi.org/10.1016/j.sedgeo.2007.01.020>
- Bauhus, J., Forrester, D. J., Gardiner, B., & Vallejo, H. J. (2017). Ecological Stability of Mixed-Species Forests. In H. Pretzsch & D. J. Forrester (Eds.), *Mixed-Species Forests* (pp. 337–382). Berlin: Springer-Verlag.
- Binkley, D. (1982). *Nutrición forestal. Practicas de manejo* (Primera; J. Wile, ed.). Oregon: Grupo Limusa SA.
- Boschetti, G., & Quintero, C. E. (2003). cuantificación de las fracciones orgánicas e inorgánicas de fósforo en suelos de la Mesopotamia Argentina. *Cienc. Suelo*, *21*(1).
- Bravo-oviedo, A., Pretzsch, H., Ammer, C., Andenmatten, E., Barbati, A., Barreiro, S., ... Sterba, H. (2014). European Mixed Forests : definition and research perspectives. *Forest*

- Siytems*, 23(3), 518–533.
- Bravo-Oviedo, A., & Ruiz-Peinado, R. (2017). La red Europea de Bosques Mixtos EuMIXFOR. Oportunidades y perspectivas de Gestión e Investigación en masas mixtas. 7º Congreso Forestal Español: Gestión Del Monte: Servicios Ambientales y Bioeconomía. Plasencia.
- Brookes, P. C., Powlson, D. S., & Jenkinson, D. S. (1984). Phosphorus in the soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 16(2), 169–175. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(84\)90108-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(84)90108-1)
- Brookes, P., Powlson, D., & Jenkinson, D. (1982). Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 14(1966), 319–329.
- Brunner, W., & Blaser, P. (1989). Mineralization of Soil Organic Matter and Added Carbon Substrates in Two Acidic Soils with High non-exchangeable Aluminum Summary - Zusammenfassung. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 367–372. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jpln.19891520405>
- Bueis, T. (2017). *Relationships between the dynamics of Pinus halepensis Mill. and Pinus sylvestris L. plantations and environmental parameters: a basis for sustainable management of stands*. Universidad de Valladolid.
- Bueis, T., Turrión, M.-B., Bravo, F., Pando, V., & Muscolo, A. (2018). Factors determining enzyme activities in soils under *Pinus halepensis* and *Pinus sylvestris* plantations in Spain : a basis for establishing sustainable forest management strategies. *Annals of Forest Science*, 75(34), 1–13.
- Burbano-Orjuela, H. (2016). El suelo y su relación con los servicios ecosistémicos y la seguridad alimentaria. *Ciencias Agrícolas*, 33(2), 117–124.
- Bureau, N. Z. S., Hutt, L., & Zealand, N. (1984). The biological transfonnation of P in soil. *Plant and Soil*, 256(79), 245–246.
- Carnol, M., Baeten, L., Branquart, E., Grégoire, J. C., Heughebaert, A., Muys, B., ... Verheyen, K. (2014). Ecosystem services of mixed species forest stands and monocultures: Comparing practitioners and scientists perceptions with formal scientific knowledge. *Forestry*, 87(5), 639–653. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpu024>
- Cavard, X., Macdonald, S. E., Bergeron, Y., & Chen, H. Y. H. (2011). Importance of mixedwoods for biodiversity conservation : Evidence for understory plants , songbirds , soil fauna , and ectomycorrhizae in northern forests. *Enviromental Review*, 161, 142–161. <https://doi.org/10.1139/A11-004>
- Cram, S., Cotler, H., Morales, L. M., & Sommer, I. (2008). Identificación de los servicios ambientales potenciales de los suelos en el paisaje urbano del Distrito Federal Identification of the potential soil environmental services in the urban landscape of Mexico City. *Investigaciones Geograficas, Boletín Del Instituto de Geografía, UNAM*, 66(Mx).

- Da Silva, P., & Nahas, E. (2002). Bacterial diversity in soil in response to different plants, phosphate fertilizer and liming. *Brazilian Journal of Microbiology* (2002), 33, 304–310.
- Dick, W. ., & Tabatabai, M. . (1984). Kinetic parameters of phosphatases in soils and organic waste materials. *Soil Science*, 137(1), 7–15.
- Dou, Z., Ramberg, C. F., Toth, J. D., Wang, Y., Sharpley, A. N., Boyd, S. E., ... Xu, Z. H. (2009). Phosphorus Speciation and Sorption-Desorption Characteristics in Heavily Manured Soils. *Soil Science Society of America Journal*, 73, 93–101.
<https://doi.org/10.2136/sssaj2007.0416>
- Eleizalde, M. B., & Heras, L. (1978). Evaluación del fósforo orgánico total en varios grupos de suelos. In *Fósforo orgánico en los suelos* (pp. 104–127). Zaragoza: AulaDei.
- Fernandez, J. (2012). Caracterización de las comarcas agrarias de España. In C. de P. de la A. G. del Estado (Ed.), *Provincia de Girona*. Retrieved from <http://comarcasagrarias.chil.me/download-doc/93402>
- Fernández, L. A., Sagardoy, M. A., & Gómez, M. A. (2008). Estudio de la fosfatasa ácida y alcalina en suelos de la región norte del área sojera Argentina. *Cienc. Suelo*, 26(1), 35–40.
- Fernandez, M. T. (2007). Fósforo: Amigo o enemigo. *Red de Revistas Científicas de América Latina y El Caribe, España y Portugal*, (2), 51–57.
- Fox, T. R., Miller, B. W., Rubilar, R., Stape, J. L., & Albaugh, T. J. (2011a). Phosphorus Nutrition of Forest Plantations: The Role of Inorganic and Organic Phosphorus. In E. K. Büemann, A. Oberson, & E. Frossard (Eds.), *Soil Biology, Phosphorus in Action* (1st ed., Vol. 26, pp. 317–338). New York: Springer.
- Fox, T. R., Miller, B. W., Rubilar, R., Stape, J. L., & Albaugh, T. J. (2011b). Solubilization of Phosphorus by Soil Microorganisms. In E. K. Büemann, A. Oberson, & E. Frossard (Eds.), *Soil Biology, Phosphorus in Action* (pp. 169–199). New York.
- Gallardo, A., Covelo, F., Morillas, L., & Delgado, M. (2009). *Ciclos de nutrientes y procesos edáficos en los ecosistemas terrestres : especificidades del caso mediterráneo y sus implicaciones para las relaciones*. 18(2), 4–19.
- Gamfeldt, L., Sna, T., Bagchi, R., Jonsson, M., Gustafsson, L., & Kjellander, P. (2013). are found in forests with more tree species. *Nature Communication*.
<https://doi.org/10.1038/ncomms2328>
- Garcia, A., & Moron, A. (1992). Estudios de C, N y P en la biomasa microbiana del suelo en tres sistemas de rotación agrícola. In INIA (Ed.), *Revista INIA investigaciones agrícolas* (1st ed.). Madrid.
- Garrido Valero, Ma. S. (1993). *Interpretación de análisis de suelos*.
- GBIF. (2019a). *Descarga de Registros de GBIF-Pinus sylvestris*.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.15468/dl.uuzd7k>
- GBIF. (2019b). *Descarga de Registros de GBIF-Quercus petraea*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.15468/dl.tfes3c>
- Gil Sotres, F., & Diaz-Fierros, F. (1980). El Fósforo en los suelos forestales de la sierra del Barbanza. *Agrochimica*, XXIV(5–6), 482–491.
- Gosselin, M., Fourcin, D., Dumas, Y., Gosselin, F., Korboulewsky, N., Toïgo, M., & Vallet, P. (2017). In fluence of forest tree species composition on bryophytic diversity in mixed and pure pine (*Pinus sylvestris* L .) and oak (*Quercus petraea* (Matt .) Liebl .) stands. *Forest Ecology and Management*, 406(June), 318–329.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.09.067>
- Harrison, A. . (1982). Labile organic phosphorus mineralization in relationship to soil properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 14(1967), 343–351.
- Harrison, A. . (1987). *Soil organic phosphorus : a review of world literature* (7a ed.; Commonwealth Agricultural Bureaux International, Ed.). Wallingford, U.K.
- Harrison, A. F. (1983). Relationship between intensity of phosphatase activity and physico-chemical properties in woodland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 15(1), 93–99.
- Haynes, R. J. (1982). *Effects of liming on phosphate availability in acid soils A critical review*. 308, 289–308.
- Hinsinger, P. (2001). *Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes : a review*. 173–195.
- Johnson, A. H., Frizano, J., & Vann, D. R. (2003). Biogeochemical implications of labile phosphorus in forest soils determined by the Hedley fractionation procedure. *Oecologia*, 135, 487–499. <https://doi.org/10.1007/s00442-002-1164-5>
- Karamesouti, M., & Gasparatos, D. (2017). Sustainable Management of Soil Phosphorus in a Changing World. In *Adaptive Soil Management: From Theory to Practices* (pp. 189–214). https://doi.org/10.1007/978-981-10-3638-5_9
- Kelly, D. L., & Connolly, A. (2000). A review of the plant communities associated with scots pine (*Pinus syvestris* L.) in Europe, and an evaluation of putative indicador/specialist species. *Forest Systems*, 9(1), 15–35.
- Kruse, J., Abraham, M., Amelung, W., Baum, C., Bol, R., Ku, O., ... Leinweber, P. (2015). Innovative methods in soil phosphorus research : A review. *Soil Science and Plant Nutrition*, 178, 43–88. <https://doi.org/10.1002/jpln.201400327>
- Lillo, A., Ramírez, H., Reyes, F., Ojeda, N., & Alvear, M. (2011). Actividad biológica del suelo de bosque templado en un transecto altitudinal, Parque Nacional Conguillío (38° S), Chile. *Bosque*, 32(1), 46–56.
- Lopez Leiva, C., Espinosa Rincón, J., & Bongoa, J. (2009). *Mapa de vegetación de Castilla y*

- León. (Junta de Castilla y León. Consejería de Medio Ambiente, Ed.). Madrid.
- López, M. J., Anta, M., Álvarez-Álvarez, P., López Varela, B., Antonio, J., & Fernández, G. (2012). *Quercus petarea* (Matt.) Liebl *Quercus robur* L.
- Lucas-Borja, M., Candel, D., Jindo, K., Moreno, J., Bastida, F., & Andrés, M. (2012). Soil microbial community structure and activity in monospecific and mixed forest stands, under Mediterranean humid conditions. *Plant and Soil*, 354, 359–370. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-1072-8>
- Ludovick, D., Noe, A., & Augusto, L. (2016). Soil properties controlling inorganic phosphorus availability: general results from a national forest network and a global compilation of the literature. *Biogeochemistry*, 127, 255–272. <https://doi.org/10.1007/s10533-015-0178-0>
- Marumoto, T., & Domsch, K. H. (1982). Mineralization of nutrients from soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 14.
- Marx, M., Wood, M., & Jarvis, S. C. (2001). A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 1633–1640.
- Menon, R. G., Hammond, L. L., & Sissingh, H. A. (1988). Determination of Plant-available Phosphorus by the Iron Hydroxide-impregnated Filter Paper (P,) Soil Test. *Soil Science Society of America Journal*, 52, 110–115.
- Merino, A., Jiménez, E., Fernández, C., Fontúrbel, M. T., Campo, J., & Vega, J. A. (2019). Soil organic matter and phosphorus dynamics after low intensity prescribed burning in forests and shrubland. *Journal of Environmental Management*, 234, 214–225. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.12.055>
- Moreno, B. I., Manuel, J., Castuera, Á., Rojas, A. P., Gómez, L., García, L. V., ... Mercedes, R. (2012). Efecto especie-específicos en la distribución espacial de variables edáficas en bosques mixtos mediterráneos. *Cuadernos de La SECF*, 35, 91–96.
- Muller, S. (1992). Natural acidophilous *Quercus* and *Pinus* forests in the northern Vosges, France, from a geographical perspective. *Vegetation Science*, 3, 631–636.
- Murphy, J., & Riley, P. (1962). A modified single solution method for determination of phosphate in natural water. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31–36.
- Nikolov, N., & Helmisaari, H. (1992). Silvics of the circumpolar boreal forest tree species. In S. H. & B. G. Leemans R. (Eds.), *A systems analysis of the Global Boreal Forest* (pp. 13–84). New York: Cambridge University Press.
- Olsen, S., Cole, C., Watanabe, F., & Dean, L. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *United States Department of Agriculture USDA*, 939, 1–19.
- Palacios Rodríguez, A., García Cisnal, C., & Roman Ortega, B. (2010). Volumen I, recursos naturales. In *Diagnostico ambiental de la provincia de Palencia* (1st ed.).

- Picone, L., & Zamuner, E. (2002). Fósforo orgánico y fertilidad fosfórica. *Informaciones Agronómicas Del Cono Sur*, 16(7620), 11–15. Retrieved from [http://www.ipni.net/publication/ia-lacs.nsf/0/E8E2F139150F1B6D8525799C0058C6C3/\\$FILE/nota3.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-lacs.nsf/0/E8E2F139150F1B6D8525799C0058C6C3/$FILE/nota3.pdf)
- Pineda,-Beltrán, E. M. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal Phosphate solubilization as a microbial strategy for promoting plant growth. *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria*, 15, 101–113.
- Poch, R., Simó, L., & Boixadera, J. (2011). 3. Itinerario por la comarca de la Cerdanya. In 28ª Reunión de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo O (Ed.), *Itinerarios edáficos por Cataluña: el Priorat, la Cerdanya y el Penedès* (Reunión de). Barcelona.
- Pretzsch, H., & Schu, Æ. G. (2009). Transgressive overyielding in mixed compared with pure stands of Norway spruce and European beech in Central Europe : evidence on stand level and explanation on individual tree level. *Journal of Forest Resources*, 183–204. <https://doi.org/10.1007/s10342-008-0215-9>
- Riofrío, J., del Río, M., Pretzsch, H., & Bravo, F. (2017). Changes in structural heterogeneity and stand productivity by mixing Scots pine and Maritime pine. *Forest Ecology and Management*, 405(June), 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.09.036>
- Rivero, R. G., Grunwald, S., & Bruland, G. L. (2007). Incorporation of spectral data into multivariate geostatistical models to map soil phosphorus variability in a Florida wetland. *Geoderma*, 140, 428–443. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.04.026>
- Rosengren, I., Andersson, M., Dahlin, B., Erikers, K., Salinas, O., Andersson, M., & Sallnäs, O. (2005). Functional Biodiversity Aspects on the Nutrient Sustainability in Forests- Importance of Root Distribution. *Journal of Sustainable Forestry*, 9811(June). <https://doi.org/10.1300/J091v21n02>
- Rossel, R. A. V., & Bui, E. N. (2016). A new detailed map of total phosphorus stocks in Australian soil. *Science of the Total Environment*, The, 542 B, 1040–1049. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.119>
- Rothe, A., & Binkley, D. (2011). Nutritional interactions in mixed species forests: a synthesis. *Canadian Journal of Forest Research*, 31(11), 1855–1870. <https://doi.org/10.1139/x01-120>
- Sardans, J., & Peñuelas, J. (2004). Increasing drought decreases phosphorus availability in an evergreen Mediterranean forest. *Plant and Soil*, 267, 367–377.
- Sardans, J., Roda, F., & Peñuela, J. (2004). Phosphorus Limitation and Competitive Capacities of *Pinus halepensis* and *Quercus ilex* subsp. *rotundifolia* on Different Soils. *Plant Ecology*, 174(2), 305–317.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1023/B:VEGE.0000049110.88127.a0>
- SAS institute Inc. (2019). SAS. Cary, NC, USA.
- Saunders, W., & Williams, E. (1955). Observation on the determination of total phosphorus en soils. *European Journal of Soil Science*, 6(2).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1955.tb00849.x>
- Schoenau, J. J., & Huang, W. Z. (2015). Analysis Anion - exchange membrane , water , and sodium bicarbonate extractions as soil tests for phosphorus. *Soil Science and Plant*, (January 2015), 37–41. <https://doi.org/10.1080/00103629109368432>
- Slazak, A., Freese, D., Matos, S., & Hüttl, R. F. (2010). Soil organic phosphorus fraction in pine – oak forest stands in Northeastern Germany. *Geoderma*, 158(3–4), 156–162.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.04.023>
- Spohn, M., Nassal, P., Bergkemper, F., Schulz, S., Marhan, S., Schloter, M., ... Polle, A. (2018). Temporal variations of phosphorus uptake by soil microbial biomass and young beech trees in two forest soils with contrasting phosphorus stocks. *Soil Biology and Biochemistry*, 117, 191–202. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.10.019>
- Stenger, A., Harou, P., & Navrud, S. (2009). Valuing Environmental Goods and Services Derived from the Forests. In *Journal of Forest Economics* (Vol. 15).
<https://doi.org/10.1016/j.jfe.2008.03.001>
- Stewart, J. W. B. (1987). Dynamics of soil organic phosphorus *. *Biogeochemistry*, 60(4), 41–60.
- Tabatabai, M. A., & Bremner, J. M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1, 301–307.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0038-0717\(69\)90012-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0038-0717(69)90012-1)
- Tapia-Torres, Y., & García-Oliva, F. (2013). La disponibilidad del fósforo es producto de la actividad bacteriana en el suelo en ecosistemas oligotrofos: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana*, 31(3), 231–242. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57328903007>
- Tiessen, H., Stewart, J. W. B., & Cole, C. V. (1984). Pathways of Phosphorus Transformations in Soils of Differing Pedogenesis1. *Soil Science Society of America Journal*, 48(4), 853.
<https://doi.org/10.2136/sssaj1984.03615995004800040031x>
- Trasar, C., Gil, F., & Leiros, M. del C. (2003). Determinación de la actividad fosfatasa del suelo. In C. Garcia, F. Gil, T. Hernandez, & C. Trasar (Eds.), *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana*. (1st ed., pp. 52–76). Barcelona.
- Turrión, M.-B., Schneider, K., & Gallardo, J. F. (2008). Soil P availability along a catena located at the Sierra de Gata Mountains , Western Central Spain. *Forest Ecology and*

- Management*, 255, 3254–3262. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.01.076>
- USDA. (2014). *Claves para la Taxonomía de Suelos Servicio de Conservación de Recursos Naturales*. Retrieved from https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_051546.pdf
- Vitousek, P., Porder, S., Chadwick, O. A., & Barbara, S. (2010). Terrestrial phosphorus limitation : mechanisms , implications , and nitrogen – phosphorus interactions. *Ecological Application*, (January). <https://doi.org/10.1890/08-0127.1>
- Walker, T. W., & Syers, J. K. (1976). The fate of phosphorus during pedogenesis. *Geoderma*, 15, 1–19.
- WRB. (2014). Base Referencial mundial del recurso suelo 2014, actualización 2015. In *Actualización 2015. Sistema internacional de clasificación de suelos para la nomenclatura de suelos y la creación de leyendas de mapas de suelos. Informes sobre recursos mundiales de suelo 106*.
- Zamuner, E. (1999). Efecto de la fertilización en la capacidad de sorción de fósforo. *Investigación Agraria y Producción Vegetal*, 14(September), 108–116.

ANEXO 1: DESCRIPCIÓN DE PERFILES EDÁFICOS

Parcela/Subparcela:

APine1

Tipo de masa: Mono-específica (Pino)

1. Descripción del sitio

Descrito por: Marina Getino Álvarez

Fecha: 10/07/18

Condiciones meteorológicas: Húmedo y soleado

Tmax 24°C; Tm 18°C; Tmin 13°C; lluvia en días previos

Datos climáticos: Temperatura media anual 9,9°C; Precipitación media anual 658 mm

Sitio de estudio: Monte utilidad pública nº1 "Aguilar"

Localización: Valberzoso, Aguilar de Campoó (Palencia)

Coordenadas (UTM, WGS84): 30T 398583 4750297

Altitud: 1155 msnm

Geomorfología: Montaña de gradiente medio

Pendiente: Inclinación moderada; 25,6%

Orientación: Sur-Este

Material original: Areniscas, conglomerados y lutitas

Uso del suelo y vegetación: Repoblación de *Pinus sylvestris*. Sotobosque dominado por zarzales y helechos. Desarrollo MEDIO.

Profundidad efectiva: 72 cm

Pedregosidad superficial: Baja

Afloramientos rocosos: Sin afloramientos rocosos

Clima del suelo (Soil Taxonomy):

Régimen de humedad: Ustico

Régimen de temperatura: Mésico

Drenaje: Bueno

Evidencias de erosión: Sin evidencias

Influencia humana: Zona cercada

Salinidad: Sin evidencias

Costra superficial: Sin evidencias

Tipo de suelo (WRB y Soil Taxonomy): Cambic Umbrisol (WRB); Typic humustep (USDA)



Figura 1 Parcela APine1. Getino-Álvarez, M. (2018)

Especie dominante: *Pinus sylvestris* Parcela APine1. Getino-Álvarez, M. (2018)

N Pino (pies por parcela)	N Roble (pies por parcela)	N (pies ha ⁻¹)	dm (mm)	AB (m ² ha ⁻¹)	Edad (años)
60	6	1101,86	250	66,17	50

Tabla 1 Información dasométrica de la parcela.

N Pino: pies de *Pinus sylvestris* por parcela; N Roble: pies de *Quercus petraea* por parcela; N: pies totales por Ha; dm: diámetro medio; AB: área basimétrica; Edad: edad de la masa.

Descripción de la hojarasca: Material fresco (L): 1 cm, Fragmentado (F): 1 cm, Humificado (H): 2 cm
Cantidad de hojarasca total: 30,2 Mg/ha

2. Descripción de los horizontes

- A** (0-24 cm) brown (7.5YR 4/2) en seco, very dark brown (10YR 2/2) en húmedo; pocos elementos gruesos (1,13%);
textura franco-arenosa; estructura granular, moderada-fuerte; duro, friable; no adherente; porosidad (muy alta) 57,19%; act. biológica no aparente; pocas raíces finas, abundantes medias; límite difuso.
- B** (24-43 cm) brown (7.5YR 4/2) en seco, dark brown (10YR 3/3) en húmedo; muy pocos elementos gruesos (0,65%); textura franco-arenosa; estructura en bloques angulares, moderada; duro, friable; ligeramente adherente; porosidad (muy alta) 37,82%; actividad biológica no aparente; frecuentes raíces medias y gruesas; límite gradual, plano.
- C** (43-72 cm) strong brown (7.5YR 5/6) en seco, strong brown (7.5YR 5/6) en húmedo; frecuentes manchas negruzcas; frecuentes elementos gruesos (14,90%); textura franco-arenosa; estructura en bloques angulares, fuerte; muy duro, firme; ligeramente adherente; porosidad (muy alta) 34,85%; actividad biológica no aparente; pocas raíces gruesas.



Figura 2. Perfil edáfico APine1. Getino-Álvarez, M. (2018)

3. Datos analíticos

Propiedades físicas

	Depth (cm)	Textura USDA (%)				CC (%)	PMP (%)	CRAD (m3/ha)	da (g/cm3)	dr (g/cm3)	EG (%)	R (%)
		Arena	Limo	Arcilla	Clase textural							
A	0-24	63,0	22,2	14,8	franco-arenosa	24,26	9,93	327,39	0,96	2,40	0,54	0,27
B	24-43	71,3	13,3	15,4	franco-arenosa	19,71	8,85	302,05	1,47	2,37	0,65	0,12
C	43-72	65,5	18,4	16,1	franco-arenosa	23,24	8,29	579,84	1,57	2,41	14,89	0,03

Tabla 2. Propiedades físicas del perfil edáfico.

CC: capacidad de campo, PMP: punto de marchitez permanente, CRAD: capacidad de retención de agua disponible, da: densidad aparente, dr: densidad real, EG: elementos gruesos, R: raíces

Propiedades físico-químicas

	Depth (cm)	pH	CE (μS/cm)	M _{fox} (%)	COT (%)	P _{MIA} (mg P/Kg suelo)
A	0-24	5,5	103,9	3,79	2,85	8,9
B	24-43	6	94,7	2,30	1,73	7,0
C	43-72	6,4	91,9	0,48	0,36	0,7

Tabla 3 Propiedades físico-químicas del perfil edáfico.

CE: conductividad eléctrica, MO_{fox}: materia orgánica fácilmente oxidable, COT: carbono orgánico total, P_{MIA}: fósforo en membrana de intercambio iónico

Parcela/Subparcela:

AOak1

Tipo de masa: Mono-específica (Roble)

1. Descripción del sitio

Descrito por: Marina Getino Álvarez

Fecha: 23/11/2017

Condiciones meteorológicas: Seco y soleado

Tmax 13°C; Tm 10°C; Tmin 8°C; sin precipitaciones

Datos climáticos: Temperatura media anual 9,9°C; Precipitación media anual 658 mm

Sitio de estudio: Monte utilidad pública nº1 "Aguilar"

Localización: Valberzoso, Aguilar de Campoó (Palencia)

Coordenadas (UTM, WGS84): 30T 398608 4749704

Altitud: 1213m

Geomorfología: Montaña de gradiente medio

Pendiente: Inclinación moderada, 21,7%

Orientación: Sur-Este

Material original: Areniscas, conglomerados y lutitas

Uso del suelo y vegetación: Parcela natural de *Quercus petraea*. Sotobosque dominado por zarzas y rebrotes de roble. Desarrollo MEDIO.

Profundidad efectiva: 62 cm

Pedregosidad superficial: Muy baja

Afloramientos rocosos: Algunos afloramientos rocosos

Clima del suelo (Soil Taxonomy):

Régimen de humedad: Ústico

Régimen de temperatura: Mésico

Drenaje: Bueno

Evidencias de erosión: Sin evidencias

Influencia humana: Zona cercada

Salinidad: Sin evidencias

Costra superficial: Sin evidencias

Tipo de suelo (Soil Taxonomy): Cambic Umbrisol (WRB); Typic humustep (USDA)



Figura 3 Parcela AOak1. Getino-Álvarez, M. (2017)

Especie dominante: *Quercus petraea*

N Pino (pies por parcela)	N Roble (pies por parcela)	N (pies ha ⁻¹)	dm (mm)	AB (m ² ha ⁻¹)	Edad (años)
2	83	1460,95	203	47,65	50

Tabla 4 Información dasométrica de la parcela.

N Pino: pies de *Pinus sylvestris* por parcela; N Roble: pies de *Quercus petraea* por parcela; N: pies totales por Ha;

dm: diámetro medio; AB: área basimétrica; Edad: edad de la masa.

Descripción de la hojarasca: Material fresco (L): 4 cm, Fragmentado (F): 2 cm, Humificado (H): 1 cm
Cantidad de hojarasca total: 19,1 Mg/ha

2. Descripción de los horizontes

- A (0-20 cm) brown (7,5YR 5,5/2) en seco, dark brown (7,5YR 3,5/2) en húmedo; muy pocos elementos gruesos (0,10%); textura franco-arenosa; estructura granular; ligeramente duro, muy friable; ligeramente adherente; bastante act. biológica apreciable; abundantes raíces finas y medias; límite gradual, plano-ondulado.
- B (20-40 cm) very pale brown (10YR 7/3) en seco, brown (7,5YR 4,5/3) en húmedo; muy pocos elementos gruesos (0,83%); textura franco-arenosa; estructura angular, moderada; muy duro, friable; ligeramente adherente; porosidad (muy alta) 44,5%; bastante act. biológica apreciable; abundantes raíces finas y medias; límite difuso.
- C (40-62 cm) very pale brown (10YR 7/4) en seco, light brown (7,5YR 5,5/4) en húmedo; frecuentes manchas marrón oscuro; abundantes elementos gruesos (39,24%); textura franco-arenosa; sin estructura roca madre; muy duro-extraduro, friable; ligeramente adherente; act. biológica no aparente.



Figura 4 Perfil edáfico AOak1. Getino-Álvarez, M. (2017)

3. Datos analíticos

Propiedades físicas

	Depth (cm)	Textura USDA (%)				CC (%)	PMP (%)	CRAD (m3/ha)	da (g/cm3)	dr (g/cm3)	EG (%)	R (%)
		Arena	Limo	Arcilla	Clase textural							
A	0-20	62,7	23,7	13,6	franco-arenosa	22,22	7,44	310,60	1,24	1,29	0,10	0,51
B	20-40	62,2	24,3	13,4	franco-arenosa	15,25	6,89	239,60	1,25	2,30	0,95	0,03
C	40-62	62,6	24,3	13	franco-arenosa	13,63	6,56	NA	NA	2,30	39,24	0,01

Tabla 5 Propiedades físicas del perfil edáfico.

CC: capacidad de campo, PMP: punto de marchitez permanente, CRAD: capacidad de retención de agua disponible, da: densidad aparente, dr: densidad real, EG: elementos gruesos, R: raíces

Propiedades físico-químicas

	Depth (cm)	pH	CE (μ S/cm)	M _{fox} (%)	COT (%)	P _{MIA} (mg P/Kg suelo)
A	0-20	4,1	94,4	3,97	2,99	11,4
B	20-40	4,36	44,2	1,31	0,99	3,9
C	40-62	4,5	32,3	0,84	0,64	3,3

Tabla 6 Propiedades físico-químicas del perfil edáfico.

CE: conductividad eléctrica, MO_{fox}: materia orgánica fácilmente oxidable, COT: carbono orgánico total, PMIA: fósforo en membrana de intercambio iónico

Parcela/Subparcela:

AMix2

Tipo de masa: Mixta (Pino-Roble)

1. Descripción del sitio

Descrito por: Marina Getino Álvarez

Fecha: 20/11/07

Condiciones meteorológicas: Seco y soleado

Tmax 16°C; Tm 8°C; Tmin 4°C; sin precipitaciones

Datos climáticos: Temperatura media anual 9,9°C; Precipitación media anual 658 mm

Sitio de estudio: Monte utilidad pública nº1 "Aguilar"

Localización: Valberzoso, Aguilar de Campoó (Palencia)

Coordenadas (UTM, WGS84): 30T 398601 4749644

Altitud: 1239 msnm

Geomorfología: Montaña de gradiente medio

Pendiente: 22,6%

Orientación: Sur-Este

Material original: Areniscas, conglomerados y lutitas

Uso del suelo y vegetación: Parcela mixta de *Pinus sylvestris* y *Quercus petraea*. Sotobosque herbáceo, algún zarzal. Desarrollo BAJO.

Profundidad efectiva: 52 cm

Pedregosidad superficial: Escasa

Afloramientos rocosos: Algún afloramiento rocoso (muchos en los alrededores)

Clima del suelo (Soil Taxonomy):

Régimen de humedad: Ústico

Régimen de temperatura: Mésico

Drenaje: Bueno

Evidencias de erosión: Sin evidencias

Influencia humana: Zona cercada

Salinidad: Sin evidencias

Costra superficial: Sin evidencias

Tipo de suelo: Cambic Umbrisol (WRB, 2014); Typic humustep (USDA, 2014)



Figura 5 Parcela AMix2. Getino-Álvarez, M. (2017)

Especie dominante: *Pinus sylvestris* / *Quercus petraea*

N Pino (pies por parcela)	N Roble (pies por parcela)	N (pies ha ⁻¹)	dm (mm)	AB (m ² ha ⁻¹)	Edad (años)
39	65	1202,78	227	54,95	50

Tabla 7 Información dasométrica de la parcela.

N Pino: pies de *Pinus sylvestris* por parcela; N Roble: pies de *Quercus petraea* por parcela; N: pies totales por Ha;

dm: diámetro medio; AB: área basimétrica; Edad: edad de la masa.

Descripción de la hojarasca: Material fresco (L): 3 cm, Fragmentado (F): 1 cm, Humificado (H): 2 cm
Cantidad de hojarasca total: 24,9 Mg/ha

2. Descripción de los horizontes

- A (0-21 cm) brown (7,5YR 4,5/2) en seco, very dark gray (7,5YR 3/1) en húmedo; frecuentes manchas negruzcas; sin elementos gruesos (0%); textura franco-arenosa; estructura granular, moderada; ligeramente duro-duro, muy friable; ligeramente adherente; porosidad (muy alta) 46,05%; no mucha act. biológica apreciable; abundantes raíces finas y medias; límite difuso.
- B (21-46 cm) pinkish gray (7,5YR 5,5/2) en seco, brown (7,5YR 4/2) en húmedo; algunas manchas negruzcas; muy pocos elementos gruesos (0,08%); textura franco-arenosa; estructura en bloques angulares, moderada; duro-muy duro, friable; ligeramente adherente-adherente; porosidad (muy alta) 52,42%; no mucha act. biológica apreciable; abundantes raíces finas; límite difuso.
- C (46-53 cm) light brown (7,5YR 6/3) en seco, brown (7,5YR 5/3) en húmedo; muy pocos elementos gruesos (0,09%); textura franco-arenosa; sin estructura roca madre; muy duro-extraduro, friable; ligeramente adherente-adherente; no mucha act. biológica apreciable.



Figura 6 Perfil edáfico AMix2. Getino-Álvarez, M. (2017)

3. Datos analíticos

Propiedades físicas

	Depth (cm)	Textura USDA (%)				CC (%)	PMP (%)	CRAD (m3/ha)	da (g/cm3)	dr (g/cm3)	EG (%)	R (%)
		Arena	Limo	Arcilla	Clase textural							
A	0-21	67,1	14,9	18,0	franco-arenosa	24,97	9,77	310,0	1,14	2,11	0,00	0,55
B	21-46	64,0	20,9	15,1	franco-arenosa	22,14	7,49	470,2	1,15	2,41	0,08	0,03
C	46-53	62,8	21,6	15,6	franco-arenosa	17,57	6,45	NA	0,00	2,39	0,09	0,01

Tabla 8 Propiedades físicas del perfil edáfico.

CC: capacidad de campo, PMP: punto de marchitez permanente, CRAD: capacidad de retención de agua disponible, da: densidad aparente, dr: densidad real, EG: elementos gruesos, R: raíces

Propiedades físico-químicas

	Depth (cm)	pH	CE (μ S/cm)	M _{fox} (%)	COT (%)	P _{MIA} (mg P/Kg suelo)
A	0-21	4,7	123,7	5,74%	4,32	15,4
B	21-46	4,6	70,0	2,23%	1,68	7,9
C	46-53	4,7	62,0	1,27%	0,95	3,5

Tabla 9 Propiedades físico-químicas del perfil edáfico.

CE: conductividad eléctrica, M_{Ofox}: materia orgánica fácilmente oxidable, COT: carbono orgánico total, P_{MIA}: fósforo en membrana de intercambio iónico

Parcela/Subparcela:

PPine1

Tipo de masa: Mono-específica (Pino)

1. Descripción del sitio

Descrito por: Marina Getino Álvarez, Luisa Fernanda Velásquez Camacho

Fecha: 26/09/2018

Condiciones meteorológicas: Seco y soleado

Tmax 16°C; Tm 11°C; Tmin 8°C; sin precipitaciones

Datos climáticos: Temperatura media anual 10,9°C; Precipitación media anual 933 mm

Sitio de estudio: Sierra de Montgrony, Pirineos catalanes

Localización: Gombrén (Girona)

Coordenadas (UTM, WGS84): 31 T 423399 4679384

Altitud: 1140 msnm

Geomorfología: Montaña con alta pendiente

Pendiente: Escarpado, 40,1%

Orientación: Sur-Oeste

Material original: Calizas, margas esquistosadas y areniscas

Uso del suelo y vegetación: Repoblación de *Pinus sylvestris*. Sotobosque dominado por estrato arbustivo (*Buxus sempervirens*). Desarrollo ALTO.

Profundidad efectiva: 47 cm

Pedregosidad superficial: Abundante

Afloramientos rocosos: Sin afloramientos rocosos

rocosos:

Clima del suelo (Soil Taxonomy):

Régimen de humedad: Udico

Régimen de temperatura: Mésico

Drenaje: Bueno

Evidencias de erosión: Erosión superficial media (escorrentía)

Influencia humana: Sin evidencias

Salinidad: Sin evidencias

Costra superficial: Sin evidencias

Tipo de suelo: Lithic eutrudept (USDA, 2014) calcaric leptic Regosol (WRG, 2014)



Figura 7 Parcela PPine1. Getino-Álvarez, M. (2018)

Especie dominante: *Pinus sylvestris*

N Pino (pies por parcela)	N Roble (pies por parcela)	N (pies ha ⁻¹)	dm (mm)	AB (m ² ha ⁻¹)	Edad (años)
50	11	614,58	200	24,19	50

Tabla 10 Información dasométrica de la parcela.

N Pino: pies de *Pinus sylvestris* por parcela; N Roble: pies de *Quercus petraea* por parcela; N: pies totales por Ha;
dm: diámetro medio; AB: área basimétrica; Edad: edad de la masa.

Descripción de la hojarasca: Material fresco (L): 0,5 cm, Fragmentado (F): 2 cm, Humificado (H): 5,5 cm
Cantidad de hojarasca total: 23,5 Mg/ha

2. Descripción de los horizontes

- A (0-22 cm) grayish brown (10YR 5/2) en seco, very dark grayish brown (10YR 3/2) en húmedo; frecuentes elementos gruesos (14,70%); textura franco-limosa; estructura granular, moderada; blando; ligeramente adherente; porosidad (muy alta) 55,53%; act. biológica no aparente; abundantes raíces medias y finas; límite difuso.
- B (22-32 cm) brown (10YR 5/3) en seco, dark grayish brown (10YR 4/2) en húmedo; pocos elementos gruesos (1,15%); textura franca; estructura en bloques angulares, moderada; muy duro; no adherente; porosidad (muy alta) 36,20%; act. biológica no aparente; algunas raíces medias y pocas finas; límite gradual, plano.
- Ck (32-47 cm) yellowish brown (10YR 5/4) en seco, dark yellowish brown (10YR 4/4) en húmedo; muchos elementos gruesos (20,16%); textura franco-arcillosa; estructura en bloques angulares, fuerte; muy duro; no adherente; porosidad (muy alta) 28,90%; act. biológica no aparente; pocas raíces medias y gruesas.



Figura 8 Perfil edáfico PPine1. Getino-Álvarez, M. (2018)

3. Datos analíticos

Propiedades físicas

	Depth (cm)	Textura USDA (%)				CC (%)	PMP (%)	CRAD (m3/ha)	da (g/cm3)	dr (g/cm3)	EG (%)	R (%)
		Arena	Limo	Arcilla	Clase textural							
A	0-22	18,9	55,0	26,1	franco-limosa	33,80	13,66	379,60	1,01	2,27	14,70	0,42
B	22-32	36,2	41,4	22,3	franca	22,36	8,97	203,30	1,54	2,41	1,15	0,21
Ck	32-47	22,6	41,9	35,5	franco arcillosa	30,97	15,48	309,54	1,67	2,35	20,16	0,10

Tabla 11 Propiedades físicas del perfil edáfico.

CC: capacidad de campo, PMP: punto de marchitez permanente, CRAD: capacidad de retención de agua disponible, da: densidad aparente, dr: densidad real, EG: elementos gruesos, R: raíces

Propiedades físico-químicas

	Depth (cm)	pH	CE (μ S/cm)	M _{fox} (%)	COT (%)	P _{MIA} (mg P/Kg suelo)
A	0-22	7,8	166,7	3,97	2,99	1,8
B	22-32	8,8	110,9	1,71	1,29	1,7
C	32-47	8,4	161,6	1,34	1,01	0,9

Tabla 12 Propiedades físico-químicas del perfil edáfico.

CE: conductividad eléctrica, M_{fox}: materia orgánica fácilmente oxidable, COT: carbono orgánico total, P_{MIA}: fósforo en membrana de intercambio iónico

Parcela/Subparcela:

POak1

Tipo de masa: Mono-específica (Roble)

1. Descripción del sitio

Descrito por: Marina Getino Álvarez, Luisa Fernanda Velásquez Camacho

Fecha: 28/09/2018

Condiciones meteorológicas: Seco y soleado

Tmax 22°C; Tm 15°C; Tmin 10°C; sin precipitaciones

Datos climáticos: Temperatura media anual 10,9°C; Precipitación media anual 933 mm

Sitio de estudio: Sierra de Montgrony, Pirineos catalanes

Localización: Gombrén (Girona)

Coordenadas (UTM, WGS84): 31T 423485 4679319

Altitud: 1143 msnm

Geomorfología: Montaña con alta pendiente

Pendiente: Muy escarpado, 63,6%

Orientación: Sur-Oeste

Material original: Calizas, margas esquistosadas y areniscas

Uso del suelo y vegetación: Parcela natural de *Quercus robur*. Sotobosque dominado por *Crataegus* y rebotes de roble. Desarrollo MEDIO.

Profundidad efectiva: 88 cm

Pedregosidad superficial: Abundante

Afloramientos rocosos: Algunos afloramientos rocosos

Clima del suelo (Soil Taxonomy):

Régimen de humedad: Údico

Régimen de temperatura: Mésico

Drenaje: Bueno

Evidencias de erosión: Erosión superficial media (escorrentía)

Influencia humana: Sin evidencias

Salinidad: Sin evidencias

Costra superficial: Sin evidencias

Tipo de suelo: Humic eutrudept (USDA, 2014), Calcaric leptic regosol (WRB, 2014)



Figura 9 Parcela POak1. Getino-Álvarez, M. (2018)

Especie dominante: *Quercus robur*

N Pino (pies por parcela)	N Roble (pies por parcela)	N (pies ha ⁻¹)	dm (mm)	AB (m ² ha ⁻¹)	Edad (años)
1	83	1475,73	130	25,80	50

Tabla 13 Información dasométrica de la parcela.

N Pino: pies de *Pinus sylvestris* por parcela; N Roble: pies de *Quercus petraea* por parcela; N: pies totales por Ha;

dm: diámetro medio; AB: área basimétrica; Edad: edad de la masa.

Descripción de la hojarasca: Material fresco (L): 1 cm, Fragmentado (F): 0,5 cm, Humificado (H): 0,5 cm
Cantidad de hojarasca total: 16,9 Mg/ha

2. Descripción de los horizontes

- A (0-28 cm) brown (7.5YR 4/4) en seco, dark brown (7.5YR 3/3) en húmedo; abundantes elementos gruesos (36,32%); textura franco-arcillosa; estructura granular, fuerte; duro; ligeramente adherente; porosidad (muy alta) 36,39%; act. biológica no aparente; frecuentes raíces finas y algunas medias; límite difuso.
- AC (28-65 cm) brown (10YR 4/3) en seco, dark brown (7.5YR 3/3) en húmedo; algunas manchas blanquecinas; abundantes elementos gruesos (39,89%); textura franco-limosa; estructura granular, moderada; muy duro; ligeramente adherente; porosidad (muy alta) 32,09%; act. biológica no aparente; abundantes raíces finas; límite difuso.
- Ck (65-88 cm) brown (10YR 5/3) en seco, dark grayish brown (10YR 4/2) en húmedo; frecuentes elementos gruesos (9,19%); textura franco-limosa; estructura en bloques angulares, débil; ligeramente duro; ligeramente adherente; porosidad (muy alta) 25,82%; act. biológica no aparente; pocas raíces medias.



Figura 10 Perfil edáfico POak1. Getino-Álvarez, M. (2018)

3. Datos analíticos

Propiedades físicas

	Depth (cm)	Textura USDA (%)				CC (%)	PMP (%)	CRAD (m ³ /ha)	da (g/cm ³)	dr (g/cm ³)	EG (%)	R (%) Aren a
		Arena	Limo	Arcilla	Clase textural							
A	0-28	23,6	49,0	27,4	franco-arcillosa	28,85	19,79	229,95	1,43	2,24	36,32	0,17
AC	28-65	25,2	51,3	23,4	franca	24,86	15,42	539,37	1,49	2,28	27,58	0,06
Ck	65-88	39,3	50,7	10,0	franco-limosa	14,70	5,77	229,95	1,84	2,49	9,19	0,04

Tabla 14 Propiedades físicas del perfil edáfico.

CC: capacidad de campo, PMP: punto de marchitez permanente, CRAD: capacidad de retención de agua disponible, da: densidad aparente, dr: densidad real, EG: elementos gruesos, R: raíces

Propiedades físico-químicas

	Depth (cm)	pH	CE (μS/cm)	MO _{fox} (%)	COT (%)	P _{MIA} (mg P/Kg suelo)
A	0-28	8,1	187,6	3,03	2,28	2,6
AC	28-65	8,4	133,2	1,84	1,38	1,5
Ck	65-88	9,0	91,5	0,62	0,47	0,60

Tabla 15 Propiedades físico-químicas del perfil edáfico.

CE: conductividad eléctrica, MO_{fox}: materia orgánica fácilmente oxidable, COT: carbono orgánico total, P_{MIA}: fósforo en membrana de intercambio iónico

Parcela/Subparcela: **PMix1**

Tipo de masa: Mixta (Pino-Roble)

1. Descripción del sitio

Descrito por: Marina Getino Álvarez, Luisa Fernanda Velásquez Camacho

Fecha: 25/09/2018

Condiciones meteorológicas: Ligeramente húmedo y soleado
Tmax 15°C; Tm 12°C; Tmin 9°C; lluvia en días previos

Datos climáticos: Temperatura media anual 10,9°C; Precipitación media anual 933 mm

Sitio de estudio: Sierra de Montgrony, Pirineos catalanes

Localización: Gombrén (Girona)

Coordenadas (UTM, WGS84): 31T 423428 4679387

Altitud: 1142 msnm

Geomorfología: Montaña con alta pendiente

Pendiente: Escarpado, 36,8

Orientación: Sur-Oeste

Material original: Calizas, margas esquistosadas y areniscas

Uso del suelo y vegetación: Parcela mixta de *Pinus sylvestris* y *Quercus robur*. Sotobosque dominado por estrato arbustivo (*Buxus sempervirens*). Desarrollo ALTO.

Profundidad efectiva: 75 cm

Pedregosidad superficial: Abundante

Afloramientos rocosos: Algunos afloramientos rocosos

Clima del suelo (Soil Taxonomy):

Régimen de humedad: Udico

Régimen de temperatura: Mésico

Drenaje: Bueno

Evidencias de erosión: Erosión superficial media (escorrentía)

Influencia humana: Sin evidencias

Salinidad: Sin evidencias

Costra superficial: Sin evidencias

Tipo de suelo: Humic eutrudept (USDA, 2014) Calcaric leptic regosol (WRG, 2014)



Figura 11 Parcela PMix1. Getino-Álvarez, M. (2018)

Especie dominante: *Pinus sylvestris* / *Quercus robur*

N Pino (pies por parcela)	N Roble (pies por parcela)	N (pies ha ⁻¹)	dm (mm)	AB (m ² ha ⁻¹)	Edad (años)
46	63	485,54	190	10,10	50

Tabla 16 Información dasométrica de la parcela.

N Pino: pies de *Pinus sylvestris* por parcela; N Roble: pies de *Quercus petraea* por parcela; N: pies totales por Ha; dm: diámetro medio; AB: área basimétrica; Edad: edad de la masa.

Descripción de la hojarasca: Material fresco (L): 0,1 cm, Fragmentado (F): 0,5 cm, Humificado (H): 2 cm
Cantidad de hojarasca total: 23,1 Mg/ha

2. Descripción de los horizontes

- A (0-20 cm) brown (10YR 4/3) en seco, dark yellowish brown (10YR 3/4) en húmedo; muchos elementos gruesos (20,50); textura franco-arcillosa; estructura granular, fuerte; ligeramente duro; no adherente; porosidad (muy alta) 51,03; act. biológica no aparente; muy pocas raíces gruesas; límite difuso.
- AC (20-58 cm) brown (7.5YR 4/3) en seco, dark yellowish brown (10YR 3/4) en húmedo; muchos elementos gruesos (34,38); textura franco-arcillosa; estructura granular, fuerte; ligeramente duro; no adherente; porosidad (muy alta) 36,89; act. biológica no aparente; abundantes raíces medias y pocas gruesas; límite difuso.
- Ck (58-75 cm) grayish brown (10YR 5/2) en seco, dark grayish brown (10YR 4/2) en húmedo; muchos elementos gruesos (32,85); textura franca; estructura en bloques angulares, fuerte; muy duro; no adherente; porosidad (muy alta) 30,57; act. biológica no aparente; pocas raíces finas.



Figura 12 Perfil edáfico PMix1. Getino-Álvarez, M. (2018)

3. Datos analíticos

Propiedades físicas

	Depth (cm)	Textura USDA (%)				CC (%)	PMP (%)	CRAD (m ³ /ha)	da (g/cm ³)	dr (g/cm ³)	EG (%)	R (%)
		Arena	Limo	Arcilla	Clase textural							
A	0-20	26,3	37,4	36,3	franco-limosa	36,73	18,93	224,06	1,06	2,17	40,84	0,06
AC	20-58	21,2	40,9	37,8	franco-limosa	28,26	16,36	488,06	1,45	2,27	26,70	0,34
Ck	58-75	39,1	39,8	21,1	franca	16,65	7,49	165,38	1,69	2,43	36,91	0,13

Tabla 17 Propiedades físicas del perfil edáfico.

CC: capacidad de campo, PMP: punto de marchitez permanente, CRAD: capacidad de retención de agua disponible, da: densidad aparente, dr: densidad real, EG: elementos gruesos, R: raíces

Propiedades físico-químicas

	Depth (cm)	pH	CE (μS/cm)	MO _{fox} (%)	COT (%)	P _{MIA} (mg P/Kg suelo)
A	0-20	8,2	189,6	3,79	2,86	3,3
AC	20-58	8,3	167,2	1,80	1,36	1,16
C	58-75	8,7	111,9	0,62	0,47	0,74

Tabla 18 Propiedades físico-químicas del perfil edáfico.

CE: conductividad eléctrica, MO_{fox}: materia orgánica fácilmente oxidable, COT: carbono orgánico total, P_{MIA}: fósforo en membrana de intercambio iónico

ANEXO 2: METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS

Anexo 2a

DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL, INORGÁNICO Y ORGÁNICO.

METODO SAUNDERS Y WILLIAMS

Principio

Este método se basa en la determinación del fósforo total mediante la calcinación del suelo liberando así las formas orgánicas del P que serán extraídas junto con las inorgánicas con ácido sulfúrico. El fósforo inorgánico obtiene solamente con la extracción con el ácido, sin calcinación. El Fósforo orgánico será entonces la diferencia entre el P total y P inorgánico (Saunders & Williams, 1955).

Equipo

- Balanza
- Tubos de centrifuga 50 ml
- Crisoles
- Mufla
- Desecador
- Agitador mecánico
- Frasco lavador
- Pipeta automática
- Matraces 25 ml
- Vasos de precipitados

Reactivos

Disolución de ácido sulfúrico 0,5M: Disolver ml de ácido sulfúrico en un litro de agua. Dejar enfriar en campana y trasvasar a una botella de vidrio.

Disolución patrón de fósforo 1000 ppm: disolver 4,394 g de KH_2PO_4 en un litro de agua.

Reactivo colorimétrico A: Disolver 12 g de molibdato amónico (NH_4) en 250 ml de agua destilada; disolver 0,2908 g de tartrato de antimonio y potasio en 100 ml de agua; En un vaso de dos litros poner 500 ml de agua destilada; en vaso de un litro verter 500 ml de agua destilada y 138,8 ml ácido sulfúrico concentrado (97%), en este orden y dejar enfriar en campana durante una hora aproximadamente, llevándolo a 1l. Mezclar las disoluciones y llevar en matraz aforado a 2l. Almacenar en botella de vidrio oscura en la nevera.

Reactivo colorimétrico B: Disolver 0,528 g de ácido ascórbico en 100 ml de reactivo colorimétrico A. No se puede almacenar.

Ajuste del pH

- Paranitrofenol 1g/l: Disolver 1 g de 4-nitrofenil en agua y se lleva a un litro.
- Ácido sulfúrico 1.5M
- Sosa 40%

PROCEDIMIENTO

1. Pesar 0,5 g de suelo molido en crisoles, anotando el peso exacto de la medición.
2. Llevar los crisoles a la mufla donde se someten a calcinación (540 °C) durante 16 ho-ras.
3. Dejar enfriar en estufa y llevar a desecador durante una hora.
4. Poner el suelo calcinados en tubos de centrifuga y añadir 40 ml de ácido sulfúrico 0.5M.
5. Someter a agitación durante dos horas.
6. Centrifugar a 2500 rpm durante 10 minutos, buscando separar el suelo del extracto.
7. Filtrar en tubos de ensayo de vidrio con papel de filtro.
8. Se tomaron 3 ml de alícuota en el análisis del P total en matraz aforado de 25 ml. Para el P inorgánico se tomó una alícuota de 10 ml.

9. Ajustar el pH con el indicador colorímetro paranitrofenol, hasta conseguir un medio neutro-acido.
10. Añadir 4 ml de reactivo colorimétrico B.
11. Enrasar el matraz.
12. Esperar 30 minutos para que el color se estabilice.

Para el fósforo inorgánico se realiza el mismo procedimiento sin someter las muestras a calcinación.

Preparación de patrones y curva de calibrado

Disolución 5 ppm: Tomar una alícuota de 5 ml de la disolución del patrón de fósforo de 1000 ppm en matraz de 500 ml, enrasar con agua destilada.

1. En matraces de 25 ml añadir 0, 0.25, 0.5, 1 y 2 ml de la disolución de 5 ppm.
2. Añadir de 10 ml de extractante.
3. Ajustar el pH con el indicador colorímetro paranitrofenol, hasta conseguir un medio neutro-acido.
4. Añadir 4 ml de reactivo colorimétrico B.
5. Enrasar el matraz.
6. Esperar 30 minutos para que el color se estabilice.

Tabla 19 Concentraciones recomendadas curva patrón

Patron ml)	Patron (ml)	Conce. Ppm
10	0	0
10	0,5	0,2
10	1	0,4
10	1,5	0,6
10	2	0,8
10	2,5	1

Anexo 2b

DETERMINACIÓN FÓSFORO LÁBIL. MEMBRANAS DE INTERCAMBIO ANIÓNICO

Principio

Las membranas de intercambio aniónico actúan como una superficie que adhiere los iones de P de suelo, simulando la acción de las raíces de la vegetación (Zamuner, 1999). Este es un método muy utilizado en los análisis de P lábil pues son un acercamiento confiable en cuanto a la disponibilidad de este nutriente para las plantas se refiere, ya que su estructura funciona de forma parecida a los coloides del suelo.

Equipo

- Balanza
- Tubos de centrifuga 50 ml
- Tubos de centrifuga 25 ml
- Pinzas
- Membranas de intercambio iónico
- Agitador mecánico
- Frasco lavador
- Pipeta automática
- Matraces 25 ml
- Vasos precipitado

Reactivos

Disolución de NaHCO₃ 0.5M: Disolver 42g de bicarbonato en un litro de agua. Ajustar el pH a 8,5 con sosa 40%

Disolución HCL 0.3M: Disolver 49,68 ml de HCL al 37% en dos litros de agua.

Disolución patrón de fósforo 1000 ppm: disolver 4.394 g de KH₂PO₄ en un litro de agua.

Reactivo colorimétrico A: Disolver 12 g de molibdato amónico (NH₄) en 250 ml de agua destilada; disolver 0,2908 g de tartrato de antimonio y potasio en 100 ml de agua; En un vaso de dos litros poner 500 ml de agua destilada; en vaso de un litro verter 500 ml de agua destilada y 138,8 ml ácido sulfúrico concentrado (97%), en este orden y dejar enfriar en campana durante una hora aproximadamente, llevándolo a 1l. Mezclar las disoluciones y llevar en matraz aforado a 2l. Almacenar en botella de vidrio oscura en la nevera.

Reactivo colorimétrico B: Disolver 0,528 g de ácido ascórbico en 100 ml de reactivo colorimétrico A. No se puede almacenar.

Ajuste del pH

- Paranitrofenol 1g/l: Disolver 1 g de 4-nitrofenil en agua y se lleva a un litro.
- Ácido sulfúrico 1.5M
- Sosa 40%

Membranas de intercambio aniónico -MIA-

Membranas de resina de 10 cm² de superficie. Las MIA deben almacenarse en una solución de bicarbonato de sodio 0,5 M. Antes de ser usadas deben acondicionarse en agitación con la misma disolución durante una hora mínimo.

PROCEDIMIENTO

1. Pesar 2 g de suelo tamizado en tubo de centrifuga de 50 ml, anotando el peso exacto del suelo.
2. Añadir 30 ml de agua destilada.

3. Introducir con pinzas estériles (o forradas en Parafilm estéril) una MIA prelavada con agua destilada, usar el frasco lavador.
4. Someter a agitación por volteo durante 16 horas.
5. Extraer las membranas con ayuda de pinzas estériles, se deben limpiar con agua destilada buscando eliminar residuos de suelos y raicillas.
6. Introducir la MIA en tubo de centrifuga de 30ml, añadiendo 20 ml de HCL 0,3 M con pipeta automática.
7. Agitar el bote durante 2 horas.
8. Extraer las MIA con pinzas estériles y almacenar.
9. Se tomaron 10 ml de alícuota en matraz de 25 ml.
10. Ajustar el pH con el indicador colorímetro paranitrofenol, hasta conseguir un medio neutro-acido.
11. Añadir 4 ml de reactivo colorimétrico B.
12. Enrasar el matraz.
13. Esperar 30 minutos para que el color se estabilice.

Preparación de patrones y curva de calibrado

Disolución 5 ppm: Tomar una alícuota de 5 ml de la disolución del patrón de fósforo de 1000 ppm en matraz de 500 ml, enrasar con agua destilada.

Disolución 1 ppm: Tomar una alícuota de la disolución de 5 ppm de 50 ml en matraz de 500 ml, enrasar con agua destilada.

1. En matraz de 25 ml, añadir 10 ml de HCL 0,3M (para cada patrón)
2. Ajustar el pH con el indicador colorímetro paranitrofenol, hasta conseguir un medio neutro-acido.
3. Añadir 4 ml de reactivo colorimétrico B.
4. Enrasar el matraz.
5. Esperar 30 minutos para que el color se estabilice.

Tabla 20 Concentraciones recomendadas curva patrón

Matriz (ml)	Patron (ml)	Conce. Ppm
5	0	0
5	0,5	0,1
5	1	0,2
5	2	0,4
5	3	0,6
5	4	0,8

Anexo 2c

DETERMINACIÓN FÓSFORO LABIL.

MÉTODO OLSEN

Principio

El método Olsen es uno de los más conocidos y utilizados para la extracción del fósforo. Este se basa en la extracción del fósforo de complejos de la fase sólida del suelo (Ca, Al o Fe) con bicarbonato de sodio 0.5 M (Olsen et al., 1954). Se ha demostrado que tiene mayor eficacia en suelos de pH básicos, pero funciona bien en suelos neutros y ácidos.

Equipo

- Balanza
- Tubos de centrifuga 50 ml
- Tubos de centrifuga 25 ml
- Agitador mecánico
- Frasco lavador
- Pipeta automática
- Matraces 25 ml
- Vasos de precipitados

Reactivos

Disolución de NaHCO₃ 0.5M: Disolver 42g de bicarbonato en un litro de agua. Ajustar el pH a 8.5 con sosa 40%

Disolución patrón de fósforo 1000 ppm: disolver 4,394 g de KH₂PO₄ en un litro de agua.

Reactivo colorimétrico A: Disolver 12 g de molibdato amónico (NH₄) en 250 ml de agua destilada; disolver 0,2908 g de tartrato de antimonio y potasio en 100 ml de agua; En un vaso de dos litros poner 500 ml de agua destilada; en vaso de un litro verter 500 ml de agua destilada y 138,8 ml ácido sulfúrico concentrado (97%), en este orden y dejar enfriar en campana durante una hora aproximadamente, llevándolo a 1l. Mezclar las disoluciones y llevar en matraz aforado a 2l. Almacenar en botella de vidrio oscura en la nevera.

Reactivo colorimétrico B: Disolver 0,528 g de ácido ascórbico en 100 ml de reactivo colorimétrico A. No se puede almacenar.

Ajuste del pH

- Paranitrofenol 1g/l: Disolver 1 g de 4-nitrofenil en agua y se lleva a un litro.
- Ácido sulfúrico 1.5M
- Sosa 40%

PROCEDIMIENTO

1. Pesar 2 g de suelo tamizado en tubo de centrifuga de 50 ml, anotando el peso exacto del suelo.
2. Añadir 40 ml de bicarbonato de sodio 0,5 M.
3. Someter a agitación por volteo durante 30 minutos.
4. Centrifugar a 2500 rpm durante 10 minutos, buscando separar el suelo del extracto.
5. Filtrar en tubos de ensayo de vidrio con papel de filtro.
6. Si el extracto tiene mucho color, adicionar 1g de carbón activo agitándolo vigorosamente con la mano y dejar reposar.
7. Filtrar nuevamente el extracto en tubos de centrifuga.
8. Centrifugar a 3000 rpm durante 10 minutos para asegurar que el extracto no contiene carbón activo.
9. Se tomaron alícuotas de 10 y 15 ml. En matraces aforados de 25 ml.

10. Ajustar el pH con el indicador colorímetro paranitrofenol, hasta conseguir un medio neu-tro-acido. Adicionar el ácido (sulfúrico 1,5M) lentamente, controlando la efervescencia y pérdida de extracto.
11. Dejar en reposo 5 minutos el extracto, buscando que no exista efervescencia cuando se añada el RCB.
12. Añadir 4 ml de reactivo colorimétrico B.
13. Enrasar el matraz.
14. Esperar 30 minutos para que el color se estabilice.

Preparación de patrones y curva de calibrado

Disolución 5 ppm: Tomar una alícuota de 5 ml de la disolución del patrón de fósforo de 1000 ppm en matraz de 500 ml, enrasar con agua destilada.

Disolución 1 ppm: Tomar una alícuota de la disolución de 5 ppm de 50 ml en matraz de 500 ml, enrasar con agua destilada.

1. En dos tubos de centrifuga, poner 40 ml de bicarbonato sódico 0,5 M (en cada uno) y añadir 1mg de carbón activo, dándole el mismo tratamiento que a las muestras.
2. Filtrar y centrifugar buscando separar totalmente el carbón activo del bicarbonato.
3. En matraz de 25 ml, añadir 15ml del bicarbonato filtrado.
4. Ajustar el pH con el indicador colorímetro paranitrofenol, hasta conseguir un medio neu-tro-acido.
5. Añadir 4 ml de reactivo colorimétrico B.
6. Enrasar el matraz.
7. Esperar 30 minutos para que el color se estabilice.

Tabla 21 Concentraciones recomendadas curva patrón

Matriz (ml)	Patron (ml)	Conce. Ppm
15	0	0
15	0,5	0,1
15	1	0,2
15	1,5	0,3

Anexo 2d

DETERMINACIÓN FÓSFORO DE LA BIOMASA MICROBIANA.

MÉTODO BROOKES

Principio

La diferencia entre la concentración de P extraído con NaHCO_3 0.5 M de un suelo fumigado con cloroformo y la concentración obtenida de un suelo sin fumigar por medio del mismo método de extracción se usa para determinar el P de la biomasa microbiana (Brookes et al., 1982).

Equipo

- Balanza
- Tubos de centrifuga 50 ml
- Agitador mecánico
- Estufa
- Frasco lavador
- Pipeta automática
- Matraces 25 ml
- Vasos de precipitado

Reactivos

Disolución de NaHCO_3 0,5M: Disolver 42g de bicarbonato en un litro de agua. Ajustar el pH a 8,5 con sosa 40%

Disolución patrón de fósforo 1000 ppm: disolver 4,394 g de KH_2PO_4 en un litro de agua.

Reactivo colorimétrico A: Disolver 12 g de molibdato amónico (NH_4) en 250 ml de agua destilada; disolver 0,2908 g de tartrato de antimonio y potasio en 100 ml de agua; En un vaso de dos litros poner 500 ml de agua destilada; en vaso de un litro verter 500 ml de agua destilada y 138,8 ml ácido sulfúrico concentrado (97%), en este orden y dejar enfriar en campana durante una hora aproximadamente, llevándolo a 1l. Mezclar las disoluciones y llevar en matraz aforado a 2l. Almacenar en botella de vidrio oscura en la nevera.

Reactivo colorimétrico B: Disolver 0,528 g de ácido ascórbico en 100 ml de reactivo colorimétrico A. No se puede almacenar.

PROCEDIMIENTO

1. Llevar a capacidad de campo el suelo.
2. Incubar durante una semana a 20°C suelo de cada una de las muestras suficiente para el análisis de fumigación, patrones y controles.
3. Primera muestra. Se pesan 2 g del suelo previamente incubado y se le adiciona 40 ml de NaHCO_3 0,5M.
4. Seguir el método Olsen (Anexo 1c).
5. Segunda muestra. Se pesan 4 g se lleva a fumigación en un desecador que pueda ser llevado a vacío con 25 ml de cloroformo durante 24 h.
6. Se pesan 2 g del suelo previamente incubado y fumigado y se le adiciona 40 ml de NaHCO_3 0,5M
7. La concentración de P resultante se determina por medio del método Olsen (Anexo 2c).
8. Tercera muestra. Se pesan 2 g del suelo previamente incubado y fumigado y se le adiciona 40 ml de NaHCO_3 0.5M y 1 ml de KH_2PO_4 que servirá como control.

Preparación de patrones y curva de calibrado

Disolución 5 ppm: Tomar una alícuota de 5 ml de la disolución del patrón de fósforo de 1000 ppm en matraz de 500 ml, enrazar con agua destilada.

Disolución 1 ppm: Tomar una alícuota de la disolución de 5 ppm de 50 ml en matraz de 500 ml, enrazar con agua destilada.

1. En matraz de 25 ml, añadir 10 ml de NaHCO₃ 0,5M (para cada patrón)
2. Ajustar el pH con el indicador colorímetro paranitrofenol, hasta conseguir un medio neutro-acido.
3. Añadir 4 ml de reactivo colorimétrico B.
4. Enrasar el matraz.
5. Esperar 30 minutos para que el color se estabilice.

Tabla 22 Concentraciones recomendadas curva patrón

Matriz (ml)	Patron (ml)	Conce. Ppm
10	0	0
10	0,25	0,1
10	0,5	0,2
10	1	0,4
10	1,5	0,6
10	2	0,8

Anexo 2e

DETERMINACIÓN ACTIVIDAD FOSFATASICA DEL SUELO.

MÉTODO TABATABAI Y BREMMER

Principio

Se utiliza la medida colorimétrica del p-nitrofenol liberado por acción de la actividad enzimática fosfatasa en la incubación con la solución tampón. Esta actividad está fuertemente relacionada con el pH del suelo, siendo mucho más fuerte la actividad enzimática acida en suelos ácidos y la básica en suelos alcalinos (Tabatabai & Bremner, 1969).

Equipo

- Balanza
- Tubos de centrifuga 30 ml
- Agitador mecánico
- Estufa
- Frasco lavador
- Pipeta automática
- Matraces 25 ml
- Vasos de precipitados

Reactivos

Tampón universal modificado MUB: Se disuelve en un vaso precipitado 12,2 g de tris-hidroxi-metil-aminometano, 11,6 g de ácido maleico, 14 g de ácido cítrico y 6,28 g de ácido bórico en agua destilada. Adicionar 488 ml de NaOH 1M y enrasar a 1L. Envasar en recipiente de plástico y llevar al refrigerador.

MUB, pH 6.5: Llevar 200 ml de la disolución anterior con HCl 0,1 a pH 6,5, agitándolo constantemente. Llevar a 1L en matraz aforado, trasvasar y refrigerar a 4°C.

MUB, pH 11: Llevar 200 ml de la disolución anterior con NaOH 0,1 a pH 6,5, agitándolo constantemente. Llevar a 1L en matraz aforado, trasvasar y refrigerar a 4°C.

P-nitrofenil fosfato 0.025 M -sustrato-: Disolver 0,4638 g de p-nitrofenil fosfato en 30 ml del tampón MUB. No se debe almacenar.

p-nitrofenol 1000 µf*ml -1: disolver 1 g de p-nitrofenol en 1000 ml de agua destilada, embotellar y conservar refrigerado.

CaCl₂ 0.5M

NaOH 0.5M

PROCEDIMIENTO

1. Pesar 1 g de suelo tamizado en tubos de centrifuga de 30 ml. 4 veces por cada muestra de suelo, pues se deben medir la AFA y la AFB y estas deben tener su réplica.
2. Añadir 4 ml de MUB (pH 6,5 o pH 11) a dos de las muestras. Dos deberán contener MUB de pH 6,5 y dos de pH11.
3. Añadir 1 ml de sustrato, 6,5 u 11 según corresponda, a una de las muestras. La otra será el control.
4. Agitar vigorosamente con la mano.
5. Incubar el suelo en estufa a 37°C mientras se somete a agitación, durante 1 hora (si la actividad fosfatasa es muy baja, se puede incubar por más tiempo, pero se debe anotar con exactitud el tiempo utilizado)
6. Retirar los tubos de la estufa y dejar enfriar.
7. Añadir a las muestras patrón el sustrato correspondiente.

8. Añadir 4 ml de CaCl_2 a todos los tubos de centrifuga y agitar bien para que la suspensión se mezcle completamente.
9. Añadir inmediatamente 4 ml de NaOH 0,5 M.
10. Filtrar con papel de filtro en tubos de vidrio.
11. En caso de que la absorbancia supere a la curva patrón, diluir una alícuota en agua des-tilada hasta que entre en la curva da.

Anexo 2f

DETERMINACIÓN DEL pH DEL SUELO.

MEDICIÓN EN AGUA

Principio UNE77305

Los protones e hidroxilos en el suelo se pueden encontrar unidos mediante enlaces químicos a los distintos constituyentes, pueden ser adsorbidos por los coloides libres en la solución de suelo. Al determinar el pH en la suspensión de agua, los hidrogenios e hidroxilos que están determinados, son los libres en la solución del suelo (actividad de los iones H_3O^+ presentes en estado disociado en la fase acuosa sobrenadante) (AENOR, 2012).

Equipo

- Frascos de plástico
- Tubos de centrifuga 50 ml
- Balanza
- pHmetro

Procedimiento

1. Pesar 5 g de suelo en el tubo de centrifuga.
2. Añadir 25 ml de agua destilada.
3. Agitar la suspensión durante 1 hora.
4. Dejar reposar entre 1 y 3 horas.
5. Calibrar el pHmetro previamente calibrado.
6. Agitar la suspensión con varilla evitando que el aire entre.
7. Sumergir el electrodo
8. Esperar a que se estabilice la medición