

EFECTO DEL MATERIAL ORIGINAL Y DEL HORIZONTE DEL SUELO SOBRE LA ESTRUCTURA QUÍMICA DE LAS SUSTANCIAS HÚMICAS EXTRAIDAS DE DOS SUELOS ÁCIDOS DE BOSQUE DE GALICIA (NW SPAIN)

R. LÓPEZ, D. GONDAR, A. IGLESIAS, J. ANTELO, S. FIOL, F. ARCE

Departamento de Química Física. Facultad de Química. Universidad de Santiago de Compostela. E15782 Santiago de Compostela. Spain. qffarce2@usc.es

Abstract. Humic and fulvic acids were extracted from the surface and a deeper (>45 cm) Ah horizon of two acid forest soils developed from amphibolites and granites, under five different types of vegetation. Elemental analysis and UV-vis and NMR spectroscopy were used to determine the chemical structures. The concentration of humic acid in the soil decreased with increasing depth, whereas that of the fulvic acid increased. The humic substances extracted from the AM soil contained a higher percentage of carbon, had a higher content of alkyl C and a higher concentration of N than those extracted from the GR soil. The content of O-alkyl C decreased with increasing depth. The most marked effect of depth was revealed in the increase in the carbonyl C content, particularly in the content of carboxylic groups. The type of vegetation was not observed to have any effect on the properties of the humic substances.

Key words: humic substances, chemical structure, soil horizon, parent material

Resumen. Se extrajeron los ácidos húmicos y los ácidos fúlvicos del horizonte superficial y de un horizonte Ah más profundo (>45 cm) de dos suelos ácidos de bosque, desarrollados sobre anfíbolitas y granitos (Umbrisol y Andisol, respectivamente), bajo cinco tipos de vegetación diferentes. Para la determinación de la estructura química se empleó el análisis elemental, y espectroscopias UV-vis y RMN. Al aumentar la profundidad disminuye la concentración de ácido húmico en el suelo, mientras que aumenta la de ácido fúlvico. Las sustancias húmicas extraídas del suelo AM tienen mayor % de C, un contenido en C alifático más alto y mayor concentración de N que los extraídos del suelo GR. El contenido en O-C alifático disminuye al aumentar la profundidad. El efecto más acusado de la profundidad se refleja en el aumento del contenido en C carbonílico, en especial en el contenido en grupos carboxilo. No se observó efecto del tipo de vegetación sobre las propiedades de las sustancias húmicas.

Palabras clave: Sustancias húmicas, estructura química, profundidad del suelo, material original

INTRODUCCIÓN

La materia orgánica del suelo (MOS) influye de manera significativa en las propiedades químicas y biológicas de los suelos, es un factor determinante de su fertilidad, y constituye la más importante reserva de carbono orgánico sobre la superficie terrestre. En particular, es conocido que las fracciones humificadas -los ácidos fúlvicos (AF) y los ácidos húmicos (AH)- interactúan activamente con diversos compuestos orgánicos e inorgánicos presentes en el suelo, afectando en consecuencia a su movilidad,

biodisponibilidad, degradación etc. (Stevenson, 1994). Algunos autores (Yonebayashi y Hatori, 1988, 1989; Conte *et al.*, 2003) han intentado correlacionar, para algunos tipos de suelos, las características de las sustancias húmicas con las propiedades pedológicas del suelo.

En los bosques de Galicia (NO de España) se han desarrollado suelos ácidos a partir de una amplia variedad de materiales originales, y la diferente alterabilidad de estos materiales influye de modo importante en la extensión en la que los complejos humus-Al se forman y se acumulan en los horizontes superficiales. Los suelos de

Galicia formados a partir de materiales metabásicos presentan con frecuencia propiedades ándicas y muestran típicamente baja acidez orgánica, mientras que una elevada acidez orgánica predomina en los horizontes superficiales de suelos de bosque originados a partir de rocas ácidas (García-Rodeja *et al.*, 1987). Recientemente, Camps *et al.* (2003) encontraron que las disoluciones del suelo en suelos de bosque de Galicia desarrollados a partir de rocas ácidas (e.g. granito) se diferenciaban de las de suelos desarrollados a partir de rocas básicas (gabro) y metabásicas (anfíbolita) en términos de su acidez orgánica. De acuerdo con Camps *et al.* (2004) la acidez de la materia orgánica en suelos graníticos disminuye con la profundidad a medida que se hace más intensa la interacción de la disolución del suelo con la fase mineral, y la materia orgánica está más saturada de metal; como resultado, las diferencias de saturación metálica entre suelos desarrollados sobre granito y sobre anfíbolita desaparecen con la profundidad.

Sin embargo, en estos estudios se recoge únicamente el tanto por ciento de carbono orgánico de los suelos, y no se dispone de información sobre la estructura química de la materia húmica existente en ellos. Por ello, en el presente trabajo nos proponemos dar una información estructural detallada de las sustancias húmicas, ácidos húmicos y ácidos fúlvicos, presentes en dos suelos ácidos de bosque desarrollados a partir de roca granítica y material anfíbolítico bajo cinco tipos diferentes de vegetación. Ambos tipos de suelo están localizados en las proximidades de Santiago de Compostela (Galicia, España), y por tanto bajo condiciones climáticas análogas. Teniendo en cuenta que la mayor parte de los datos disponibles sobre la composición de la materia húmica están referidos a sustancias húmicas extraídas del horizonte superficial, y que se ha dedicado escasa atención a horizontes más profundos (Kögel-Knabner,

2000), se tomaron muestras de suelo de horizontes superficiales y de horizontes en contacto con el material original, con el fin de contribuir a la interpretación del posible efecto de la profundidad sobre el pH de la disolución del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de suelo

Se tomaron muestras en suelos de bosque ácidos originados sobre granito (GR) y anfíbolita (AM) localizados en un radio de 5 km alrededor de Santiago de Compostela, y por lo tanto bajo iguales condiciones climáticas húmedo-templadas. Los suelos AM (Lithic Hapludands, Andic Dystrudept) se muestrearon bajo vegetaciones de *Eucalyptus globulus* (EG), *Quercus robur* (QR) y *Pinus radiata* (PR), y los suelos GR (Typic Dystrudept) bajo *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus camaldulensis* (EC), *Quercus robur*, *Pinus radiata* y *Betula celtiberica* (BC). En cada perfil se tomaron muestras a dos profundidades (i) en la capa superficial (U) de los horizontes úmbricos A₁, y (ii) en una capa inferior (L), bien de horizontes A₃ en los suelos GR o bien de horizontes B en los suelos AM. En adelante, al hacer referencia a cada una de las muestras se hará uso de la combinación de letras mayúsculas empleadas para designar el tipo de suelo, la vegetación y el horizonte, superficial o profundo. La descripción de la localización de los suelos, sus características generales, y el análisis químico de los mismos han sido publicados recientemente (Camps Arbustain *et al.*, 2003, 2004).

Extracción y purificación de los ácidos húmicos y fúlvicos

El procedimiento empleado para la extracción de las sustancias húmicas y para la separación y purificación de las fracciones ácidos húmicos y ácidos fúlvicos, fue el

recomendado por la International Humic Substances Society (Swift, 1996). Brevemente, las sustancias húmicas fueron extraídas con NaOH 0,1 M, bajo atmósfera de N₂, con una relación disolución extractora:suelo de 10:1 (volumen:masa). Las sustancias húmicas extraídas se separaron en las fracciones húmica y fúlvica acidificando el extracto hasta pH 1 por medio de HCl 6 M. El precipitado (ácido húmico) y el sobrenadante (ácido fúlvico) se separaron por centrifugación. La fracción húmica se trató con una disolución 0,1 M HCl / 0,3 M HF para disolver los restos de impurezas de materia mineral, y a continuación se dializó hasta la eliminación total de Cl⁻. La fracción fúlvica se purificó por medio de una resina de adsorción XAD-8, y el eluato alcalino se pasó a través de una columna de cambio catiónico saturada con H⁺.

Caracterización de las fracciones húmica y fúlvica

La composición elemental de las sustancias húmicas se determinó en un analizador elemental Fisons Elemental Analyzer EA 1108.

Los espectros UV-vis de los AH y de los AF se registraron con un espectrofotómetro Jasco V-530. Los valores de la relación E₄/E₆ se calcularon a partir de las absorbancias a 465 nm y 665 nm, tal como propusieron Chen *et al.* (1977).

Los espectros de RMN de ¹³C para las muestras sólidas se registraron con un espectrómetro Bruker AMX 300 a 750 MHz empleando la técnica de Cross Polarization Magic Angle Spinning (CPMAS), con una velocidad de rotación de 5 KHz. El tiempo de contacto fue de 1 ms y el tiempo de relajación de 5 s. Al menos se realizaron 24000 barridos para cada muestra. Los desplazamientos químicos fueron referidos a la resonancia de la glicina a 176 ppm. Para analizar los datos (Malcolm, 1989; Mahieu *et al.*, 1999; Mathers *et al.*, 2000) se distinguieron cuatro

regiones de desplazamiento químico en el espectro de RMN: (i) el intervalo 0-50 ppm, en el que se registra la señal correspondiente a carbonos alifáticos, (ii) 50-110 ppm, que incluye los carbonos alifáticos unidos a átomos de O, junto con carbonos unidos a nitrógeno por enlaces sencillos (derivados aminados), (iii) 110-160 ppm, que corresponde a carbonos aromáticos y carbonos fenólicos, y (iv) 160-220 ppm debida a carbonos carbonílicos, incluyendo estructuras carboxílicas, ésteres y amidas. Se midieron las áreas de las cuatro regiones de desplazamiento químico, y se expresaron como tanto por ciento del área total.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hay que indicar, en primer lugar, que el tipo de cubierta vegetal del suelo de bosque no influye significativamente ni en el contenido, ni en las propiedades estructurales de las sustancias húmicas extraídas, por lo que en el análisis de resultados que se hace a continuación se hará referencia únicamente al efecto del material original y de la profundidad del horizonte.

Concentración de sustancias húmicas en el suelo

Los resultados de la Tabla 1 muestran que el rendimiento de la extracción (expresado como g de sustancia húmica por kg de suelo) es muy inferior para los ácidos fúlvicos que para los ácidos húmicos, siendo la relación g AF/ g AH < 1/10 prácticamente para todas las muestras. Los rendimientos de la extracción son similares para los horizontes superficiales de los dos tipos de suelo, GR y AM, sin embargo, mientras que para los suelos GR los rendimientos de extracción de las dos fracciones húmicas no varían significativamente con la profundidad, para las muestras de los suelos AM el rendimiento de la extracción para el horizonte inferior, B, es mucho menor que

para el horizonte superficial, A₁. Este comportamiento está de acuerdo con los valores encontrados por Camps *et al.* (2004) para el contenido total de C en estos mismos suelos. A partir del contenido total de C en el suelo (% C en el suelo), del rendimiento de las extracciones (g de SH por kg de suelo), y del contenido de C de las muestras de ácidos fúlvicos y húmicos (% C en SH), se calcularon las fracciones de sustancias húmicas en la materia orgánica del suelo expresadas como tanto por ciento del C total (g de C en las SH / 100 g de C en el suelo), obteniéndose valores análogos para ambos tipos de suelo, GR y AM. Tal como se muestra en la Tabla 1 la fracción de C total presente en los ácidos húmicos varía entre 17,4 % y 56,5 % (excepto en la muestra AMEGL), y, en general, disminuye al aumentar la profundidad en el suelo. La fracción de C total presente en los ácidos fúlvicos está entre 1,3 % y 2,3 % (excepto en la muestra GRPRL), y aumenta con la profundidad del suelo. La diferente variación del contenido en ácidos húmicos y ácidos fúlvicos con la profundidad se atribuye usualmente a la distinta solubilidad de estas dos fracciones (Ussiri y Johnson, 2003).

Composición elemental

La composición elemental media de cada una de las sustancias húmicas se muestra en la Tabla 1. No se observó influencia de la profundidad del suelo sobre el contenido de C para los ácidos húmicos, ni para los ácidos fúlvicos. Ambas fracciones húmicas presentan valores análogos del % C, lo que hace que el contenido en C de los ácidos fúlvicos sea algo mayor, y el de los ácidos húmicos algo menor que los valores medios estadísticos recogidos por Rice y Mac Carthy (1991). Es de destacar que las muestras de ácido fúlvico del suelo AM presentan un contenido de C más alto que las del suelo GR, mientras que para las de ácido húmico el contenido de C es más alto en el

suelo GR. Este resultado se ve corroborado por los contenidos en C alifático que se obtienen de los espectros de RMN, como se verá más adelante.

El contenido de H es prácticamente igual para los ácidos húmicos y para los ácidos fúlvicos, y no depende de la profundidad del suelo. Como consecuencia de los contenidos de C y de H encontrados, la relación H/C presenta valores análogos para las dos fracciones de las sustancias húmicas, lo que indica que ambas tienen un análogo carácter alifático. Con anterioridad Rice y MacCarthy (1991) indicaron que los ácidos fúlvicos del suelo, en general, eran más alifáticos que los ácidos húmicos, contrariamente a lo encontrado por Ussiri y Johnson (2003). Se observa que las sustancias húmicas del suelo AM presentan un contenido de H más elevado que las del suelo GR.

Los ácidos húmicos presentan un contenido de N significativamente más alto y una relación atómica C/N significativamente menor que los ácidos fúlvicos, lo que refleja probablemente la presencia de fragmentos de péptidos o de proteínas (Stevenson, 1994), y está de acuerdo, como sugieren Ussiri y Johnson (2003), con que los ácidos húmicos acumulan N en comparación con la materia orgánica del suelo, mientras que los ácidos fúlvicos lo pierden. Por otra parte, las sustancias húmicas, tanto ácidos húmicos como ácidos fúlvicos, extraídas del suelo AM presentan un contenido en N más alto que las fracciones equivalentes aisladas del suelo GR, lo que se ve reflejado en el valor excepcionalmente alto que se encontró para la relación C/N de los ácidos fúlvicos extraídos de este último suelo. No se observó efecto de la profundidad del suelo sobre el contenido en N de las sustancias húmicas.

En la Figura 1 se correlacionan las relaciones atómicas H/C y O/C. Como es de esperar esta representación muestra las diferencias entre la composición elemental de los ácidos fúlvicos y de los ácidos

húmicos, pero en este caso pone de manifiesto además las diferencias en las composiciones elementales de las sustancias

húmicas extraídas de los suelos GR y AM.

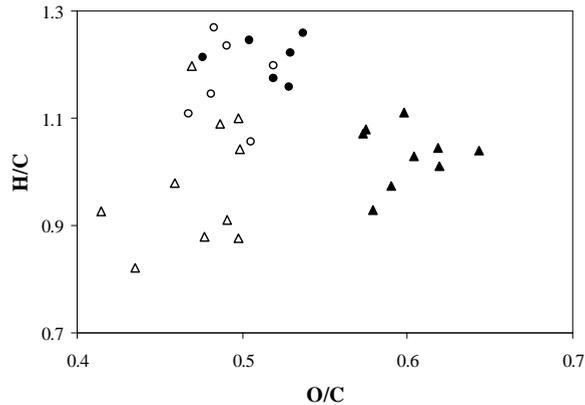


FIGURA 1. Correlación entre las relaciones atómicas O/C y H/C de las sustancias húmicas. (▲) FA, suelo GR, (△) HA, suelo GR, (●) FA, suelo AM, (○) HA, suelo AM.

Análisis espectrofotométrico

Los valores encontrados para la relación E_4/E_6 son mayores para los ácidos fúlvicos que para los ácidos húmicos. En todas las muestras de ácido húmico se determinaron valores análogos de esta relación y todos inferiores a 5, lo que constituye un valor típico para estas sustancias (Kononova, 1966). Los ácidos fúlvicos extraídos de las muestras del suelo GR presentan valores de la relación E_4/E_6 más altos que los extraídos de las muestras de suelo AM. Hay que tener en cuenta que cuanto más alta sea la relación E_4/E_6 de una sustancia húmica menor será su grado de humificación, lo que sugiere un menor grado de condensación aromática y/o un tamaño de partícula relativamente menor (Chen *et al.*, 1977). Teniendo en cuenta los valores de la Tabla 1 también se puede decir que en el caso de los ácidos fúlvicos la relación E_4/E_6 aumenta con la profundidad del suelo.

Análisis de los espectros RMN ^{13}C

Se sabe que los espectros de las sustancias húmicas que se obtienen por aplicación de la técnica CPMAS ^{13}C RMN, en el mejor de los casos, son semicuantitativos (Mathers *et al.*, 2000). No obstante, como señalaron Kinchesh *et al.* (1995), resulta razonable hacer uso de estos espectros para comparar muestras extraídas de suelos con diferentes usos o con distintas cubiertas vegetales, o de diferentes horizontes del suelo. En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos por integración de los espectros ^{13}C RMN de los ácidos húmicos y fúlvicos estudiados en el presente trabajo. El nombre con que se designa cada una de las fracciones de C es indicativo de los diferentes tipos de C que predominan en las mismas. Es importante tener en cuenta que los valores de los desplazamientos químicos que se eligen como límites de cada una de las regiones del

espectro son convencionales, ya que sin duda hay solapamiento entre las regiones adyacentes. A pesar de lo expuesto, es posible comparar los resultados obtenidos para muestras análogas bajo idénticas condiciones de trabajo.

El C alifático y el O-C alifático son las fracciones predominantes para todas las muestras de ácido húmico y de ácido fúlvico, lo que está dentro del intervalo estadístico de contenido de grupos funcionales en AH y AF extraídos de suelos de bosque, obtenidos a partir del análisis de espectros de RMN, recopilados por Mahieu *et al.* (1999). El contenido en C alifático no está influenciado por el horizonte, siendo de destacar el elevado contenido de C alifático en todos los ácidos fúlvicos extraídos de las muestras del suelo AM, en coincidencia con el % de C encontrado en el análisis elemental, como se indicó anteriormente.

El contenido en O-C alifático de los ácidos fúlvicos estudiados, entre 25-30 %, es coincidente con los resultados de Mahieu *et al.* (1999), quienes encontraron para ácidos fúlvicos extraídos de suelos de bosque una proporción de O-C alifático mayor que la encontrada en ácidos fúlvicos extraídos de suelos con usos diferentes. Prácticamente en todas las muestras de suelo se encontró que el contenido en O-C alifático disminuye al aumentar la profundidad del suelo, tanto en AH como en AF, lo que puede ser atribuido a la preferente degradación biológica de los hidratos de carbono, que es el principal componente de la fracción O-C alifático (Kögel-Knabner, 1992, 1993).

Los porcentajes de C aromático en los ácidos húmicos y en los ácidos fúlvicos estudiados coinciden con los valores más bajos de los intervalos estadísticos recogidos por Mahieu *et al.* (1999), siendo ligeramente más altos para los ácidos húmicos que para los fúlvicos. No se observó variación del contenido en C aromático con la profundidad del suelo para los AH, mientras que en el caso de los AF el contenido en C aromático

aumenta ligeramente con la profundidad para todas las muestras de suelo estudiadas, lo que es consistente con los resultados encontrados por Gressel *et al.* (1996).

El análisis de los espectros de ^{13}C RMN indica un contenido de C carbonilo (160-220 ppm) menor en los ácidos húmicos que en los ácidos fúlvicos, diferencia que se hace mucho más acusada cuando se compara sólo el contenido en C carboxílico (160-190 ppm). Este comportamiento se ha encontrado en suelos de todo el mundo (Stevenson, 1994), y es consistente con la menor solubilidad de los ácidos húmicos. En todos los ácidos fúlvicos y en los ácidos húmicos de los suelos GR, el contenido en C carbonílico aumenta con la profundidad. De nuevo los horizontes de los suelos AM presentan un comportamiento diferente, ya que esta tendencia no se observó en los ácidos húmicos extraídos de ellos.

Las propiedades ácidas de las sustancias húmicas tienen un interés intrínseco, y las concentraciones de grupos carboxílicos y fenólicos están entre las propiedades de las sustancias húmicas más frecuentemente medidas. Las concentraciones de grupos funcionales carboxílicos y fenólicos están directamente relacionadas con las fracciones del espectro ^{13}C RMN de las sustancias húmicas (Tabla 2) que corresponden a los intervalos asignados a los grupos carboxílicos (16-190 ppm) y fenólicos (145-160 ppm), respectivamente. El contenido de grupos carboxilo es significativamente más elevado en los ácidos fúlvicos que en los ácidos húmicos, y para los dos tipos de sustancias húmicas la concentración de grupos carboxílicos aumenta al aumentar la profundidad del suelo. Por otra parte estas concentraciones son análogas para las sustancias húmicas extraídas de los dos tipos de suelos, AM y GR.

El contenido de grupos fenólicos es mucho menor que el de grupos carboxílicos tanto para los ácidos húmicos como para los

ácidos fúlvicos. En este caso son los ácidos húmicos los que tienen un contenido más alto de grupos ácidos, si bien la diferencia entre los dos tipos de sustancias es mucho menor.

No se observó efecto ni del tipo de suelo, ni

de la profundidad en el suelo sobre la concentración de grupos fenólicos de las sustancias húmicas.

Tabla 1. Carbono orgánico del suelo en %C (COS), rendimiento de la extracción en g de SH por kg de suelo (Rend. Ext.), concentración de sustancia húmica en el suelo expresada como g de C de SH por 100 g de C en el suelo ($[SH]_{\text{suelo}}$), análisis elemental de las sustancias húmicas (%), relación atómica C/N, y relación E_4/E_6 .

Muestra	COS*		Rend. Ext. $[SH]_{\text{suelo}}$				% C		% N		% H		C/N		E_4/E_6	
	AF	AH	AF	AH	AF	AH	AF	AH	AF	AH	AF	AH	AF	AH	AF	AH
AMEGU	13.1	3.4	45.4	1.4	18.3	54.0	52.9	2.3	4.7	5.2	5.3	27.1	13.2	11.4	4.7	
AMEGL	2.54	0.8	4.3	1.7	9.0	55.4	53.7	3.5	5.6	5.6	5.7	18.7	11.2	10.5	5.1	
AMQRU	7.94	2.9	52.2	2.0	35.7	54.2	54.4	2.7	5.2	5.3	5.2	23.2	12.2	6.4	4.2	
AMQRL	3.05	0.8	16.5	1.4	28.9	54.1	53.6	3.6	5.1	5.6	4.7	17.5	12.2	7.4	4.4	
AMPRU	4.31	1.2	25.5	1.5	31.6	53.0	53.5	3.1	5.6	5.6	5.5	20.0	11.2	9.4	4.3	
AMPRL	3.08	1.1	14.5	1.9	25.7	53.2	54.7	3.5	5.8	5.4	5.0	17.9	11.1	11.6	4.4	
GREGU	6.04	2.3	39.8	1.9	36.7	51.2	55.7	1.3	4.5	4.2	4.1	46.7	14.3	12.6	4.1	
GREGL	4.49	2.4	24.9	2.8	32.6	53.2	58.9	1.4	3.8	4.1	4.5	45.3	18.1	13.2	4.0	
GRECU		2.2	25.2			51.5	54.7	1.5	4.7	4.3	4.0	39.9	13.4	10.7	4.0	
GRECL		4.6	42.3			50.5	56.4	1.7	4.3	4.4	4.6	35.2	15.3	16.4	4.4	
GRQRU	8.5	2.6	59.2	1.6	38.1	51.9	54.6	1.8	3.9	4.8	5.0	34.3	16.4	9.5	4.5	
GRQRL	6.89	2.6	56.8	2.0	45.5	52.8	55.2	1.8	4.3	4.8	4.2	35.0	14.9	10.2	4.1	
GRPRU	6.36	3.1	68.7	2.5	59.8	51.9	55.4	1.7	3.4	4.4	5.0	35.7	19.1	12.8	4.9	
GRPRL	4.07	6.2	41.6	7.8	55.9	51.3	54.8	1.8	3.8	4.5	4.8	33.9	16.6	12.6	4.6	
GRBCU		3.2	56.6			52.8	55.5	2.0	4.1	4.7	5.5	30.7	15.9	10.3	4.4	
GRBCL		3.3	26.8			52.5	57.8	1.8	4.5	4.3	3.9	34.6	14.9	16.7	3.9	

* Camps Arbestain *et al.* (2004)

Tabla 2. Distribución, en tanto por ciento, de los distintos tipos de C en los ácidos húmicos (AH) y en los ácidos fúlvicos (AF) obtenida del análisis de los espectros de RMN de ^{13}C

Muestra	C-Alifático (0-50 ppm)		O-C Alifático (50-110 ppm)		C-Aromático (110-160 ppm)		C-Carbonilo (160-220 ppm)		C-Carboxílico (160-190 ppm)		C-Fenólico (145-160 ppm)	
	AF	AH	AF	AH	AF	AH	AF	AH	AF	AH	AF	AH
AMEGU	38	24	23	33	15	21	23	23	18	12	3	5
AMEGL	34	28	26	29	16	22	24	21	18	14	3	5
AMQRU	32	32	31	42	16	13	21	12	15	10	3	2
AMQRL	35	27	23	33	16	21	26	20	18	12	3	5
AMPRU	34	24	30	26	14	25	21	25	17	14	2	5
AMPRL	34	27	26	30	16	20	24	23	19	14	3	5
GREGU	36	32	29	28	15	21	21	19	17	9	2	4
GREGL	34	38	25	26	18	20	23	18	19	11	2	4
GRECU	29	33	29	31	18	20	23	16	17	10	3	4
GRECL	31	31	23	27	19	19	27	23	18	13	3	5
GRQRU	29	31	26	29	19	19	26	22	16	11	5	4
GRQRL	30	26	25	26	20	22	26	26	17	13	4	4
GRPRU	29	31	30	35	17	18	24	16	16	11	4	4
GRPRL	27	30	30	33	18	18	25	19	17	12	4	4
GRBCU	30	27	31	37	16	21	22	15	18	9	4	5
GRBCL	30	27	25	25	19	24	27	24	20	13	3	3

REFERENCIAS

- Camps Arbostain, M., Barreal, M.E., Mourenza, C., Alvarez, E., Kidd, P., Macías, F. (2003): Rhizosphere chemistry in acid forest soils that differ in their degree of Al-saturation of organic matter. *Soil Sci.* 168, 267-279.
- Camps Arbostain, M., Mourenza, C., Álvarez, E., Macías, F. (2004): Influence of parent material and soil type on the root chemistry of forest species grown on acid soils. *Forest Ecol. Management* 193, 307-320.
- Chen, Y., Senesi, N., Schnitzer, M. (1977): Information provided on humic substances by E_4/E_6 ratio. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41, 352-358
- Conte, P., Spaccini, R., Chiarella, M., Piccolo, A. (2003): Chemical

- properties of humic substances in soils of an Italian volcanic system. *Geoderma* 117, 243-250.
- García-Rodeja, E., Silva, B.M., Macías, F. (1987): Andosol development from non-volcanic materials in Galicia, NW Spain. *J. Soil Sci.* 38, 573-591.
- Gressel, N., McColl, J.G., Preston, C.M., Newman, R.H., Powers, R.F. (1996): Linkages between phosphorous transformations and carbon decomposition in a forest soil. *Biogeochemistry* 33, 97-123.
- Kinches, P., Powlson, D.S., Randall, E.W. (1995): ^{13}C NMR studies of organic matter in whole soils: II. A case study of some Rothamsted soils. *Eur. J. Soil Sci.* 46, 139-146.
- Kögel-Knabner, I. (1992): Forest Soil Organic Matter: Structure and Formation. Bayreuther Bodenkundliche Berichte. University of Bayreuth, Germany.
- Kögel-Knabner, I. (1993): Biodegradation and humification processes in forest soils in <<Soil Biochemistry, vol. 8>>, J.M. Bollag, J.M. and G. Stostky eds., Marcel Dekker, New York, pp. 101-135.
- Kögel-Knabner, I. (2000): Analytical approaches for characterizing soil organic matter. *Org. Geochem.* 31, 609-625.
- Kononova, M.M. (1966): Soil Organic Matter, 2nd Ed.. Pergamon, Oxford, pp 544.
- Mahieu, N., Powlson, D.S., Randall, E.W. (1999). Statistical analysis of published carbon-13 NMR spectra of soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 307-319.
- Malcolm, R.M. (1989): Applications of solid-state ^{13}C -NMR spectroscopy to geochemical studies of humic substances in <<Humic Substances. II>>, M.H.B. Hayes, P. MacCarthy, R.L. Malcolm and R.S. Swift eds., John Wiley & Sons, New York, pp339-372.
- Mathers, N.J., Mao, X.A., Xu, Z.H., Saffina, P.G., Berners-Price, S.J., Perera, M.C.S. (2000): Recent advances in the application of ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy to soil organic matter studies. *Aust. J. Soil Res.* 38, 769-787.
- Rice, J.A., Mac Carthy P. (1991): Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. *Org. Geochem.* 17, 635-648.
- Stevenson, F.J. (1994): Humus Chemistry: Genesis, Composition, and Reactions, 2nd ed. Wiley, New York.
- Swift, R.S. (1996): Organic matter characterization in <<Methods of Soil Analysis :Part 3. Chemical Methods>>, D.L. Sparks *et al.* eds. Book Series No. 5, Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Ussiri, D.A.N., Johnson, C.E. (2003): Characterization of organic matter in a northern hardwood forest soil by ^{13}C NMR spectroscopy and chemical methods. *Geoderma* 111, 123-149.
- Yonebayashi, K., Hattori, T. (1988): Chemical and biological studies on environmental humic acids: I. Composition of elemental and functional groups of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.* 34, 571-584.
- Yonebayashi, K., Hattori, T. (1989): Chemical and biological studies on environmental humic acids. II: ^1H -NMR and IR spectra of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.* 35, 383-392.