

# Evaluación de propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo después de ser usado como sustrato en humedales artificiales

Physical, chemical and biological properties of a soil assessment after being used as a substrate in constructed wetlands

COLCIENCIAS TIPO 1. ARTÍCULO ORIGINAL

RECIBIDO: AGOSTO 16, 2015; ACEPTADO: SEPTIEMBRE 20, 2015

Angélica María Lugo Cardona  
ange-21-@hotmail.com

Laura Catalina Plaza Alzate  
catalina\_plaza@hotmail.com

Carlos A. Cisneros Rojas, M.Sc  
cacisnerosr@gmail.com

Luz Dary Caicedo Bejarano, M.Sc  
luz.caicedo@correounivalle.edu.co

Universidad Santiago de Cali, Colombia

## Resumen

El suelo a pesar de ser indispensable para el desarrollo de la vida es un recurso no renovable por esta razón es importante el análisis de sus propiedades para determinar su fertilidad. Se evaluaron algunas propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo comercial usado como sustrato en humedales artificiales de flujo subsuperficial para la biorremediación de aguas residuales domésticas, estimando la intervención del *Penicillium sp.* y la planta *Stipa ichu*. Los resultados se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) y prueba Tukey con una significación del 95%. Se encontró que el tratamiento con *Stipa ichu* presentó mayor remoción de N y proliferación de hongos solubilizadores de fosfato (HSF). Por otra parte, la *Stipa ichu* y el *Penicillium sp* favorecieron la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y la concentración de Fe, además beneficiaron las propiedades físicas (densidades y porosidad) y proporcionaron un pH óptimo para la disponibilidad de P y Mg. En cuanto a los metales, presentaron en todos los tratamientos pérdidas por lixiviación de Ca, K y Mg y un aumento en la concentración de Fe.

## Palabras Clave

Suelo; propiedades físicas; propiedades químicas; propiedades biológicas; *Stipa ichu*, *Penicillium sp*; humedal artificial.

## Abstract

The soil despite being essential for the development of life is a nonrenewable resource for this reason is important the analysis of their properties to determine their fertility. Some physical, chemical and biological properties of a commercial soil used as substrate in subsurface flow constructed wetlands for domestic wastewater bioremediation were evaluated, considering the intervention of *Penicillium sp.* and *Stipa ichu* plant. The results were subjected to analysis of variance (ANOVA) and Tukey test with a significance of 95%. It was found that treatment with *Stipa ichu* N showed higher removal proliferation and phosphate solubilising fungi (HSF). Moreover, the *Stipa ichu* and *Penicillium sp* favored the cation exchange capacity (CEC) and the concentration of Fe, also benefited the physical properties (density and porosity) and provided an optimum pH for the availability of P and Mg. Regarding metals, presented in all treatments leaching losses of Ca, Mg and K and an increase in the concentration of Fe.

## Keywords

Soil physical properties; chemical properties; biological properties; *Stipa ichu*; *Penicillium sp*; artificial wetland.



## I. INTRODUCCIÓN

El agua es uno de los recursos naturales más importantes puesto que interviene en el desarrollo de cualquier país, además de ser indispensable para el proceso de la vida. Sin embargo, su disponibilidad cada día es menor y sólo una pequeña proporción está destinada al consumo doméstico, debido a la contaminación de las fuentes hídricas como efecto de diversas actividades humanas, lo que la ha convertido en el centro de una significativa problemática ambiental, especialmente en los países latinoamericanos, por su inapropiado ordenamiento de las aguas residuales domésticas, problemáticas que se evidencian en los trabajos de: Borrero, Montoya, y González (2013); Camargo y Mariscal (2012); Costa (2005); de Almeida et al., (2015); Madera, Silva, y Peña (2005); Ocampo y Tigreros (2013); Ospina y Moyano (2015); Pérez y González (2014); y Tejada, Villabona, y Buevas (2013), entre otros.

Pese a esto, se han desarrollado técnicas amigables con el medio ambiente con el fin de garantizar la disponibilidad de este recurso en cantidades y calidades mínimas que permitan satisfacer su demanda, entre ellas, se destacan los humedales artificiales, por ser de fácil implementación, económicos y efectivos (Vargas, 2012). Además, su estructura es sencilla, el suelo es uno de sus principales componentes en la depuración de las aguas residuales al actuar como filtro biológico y facilitar la degradación, inmovilización, complejación o adsorción de agentes contaminantes, mediante reacciones físico-químicas y acción microbiana (Torrente, 2007).

De acuerdo con lo anterior, en este trabajo se estudiaron las propiedades físicas (densidad aparentes, densidad real y porosidad), químicas (pH, Fe, Ca, Mg, K, N, P, capacidad de intercambio catiónico y materia orgánica) y microbiológicas (estimación de hongos solubilizadores de fosfatos, HSF) de un suelo abonado de procedencia comercial, con el fin de establecer la modificación de sus características físico-químicas y biológicas después de ser usado en humedales construidos.

Con ese propósito, el suelo fue sometido a diferentes condiciones en los humedales artificiales, en los que la presencia de la planta sembrada (*Stipa ichu*) y el hongo solubilizador de fósforo inoculado (*Penicillium sp*) intervinieron en las propiedades del sistema edáfico, contribuyendo en la eliminación o ganancia de ciertos contaminantes químicos que se encuentran en ellas.

## II. METODOLOGÍA

Este trabajo de investigación se desarrolló en los Laboratorios de Bioquímica y Microbiología y en un invernadero de 12 cm<sup>2</sup> en la Universidad Santiago de Cali. Algunos análisis se realizaron con el apoyo de la firma Ingesam (P disponible), el laboratorio de suelos y tejido foliar del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia, Cenicaña (metales), y el laboratorio fisicoquímico de compostaje del Ingenio del Cauca (materia orgánica y Capacidad de Intercambio Catiónico).

Para cumplir con los objetivos propuestos, se seleccionó una muestra de suelo de procedencia comercial de marca Timac Agro, para ser utilizado en la construcción de humedales artificiales de flujo subsuperficial, bajo condiciones de invernadero.

Los análisis de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo se realizaron en dos etapas:

- antes del ensayo –análisis preliminar–, se estableció como condición inicial el suelo comercial aplicado en los humedales artificiales sin planta *Stipa ichu*<sup>1</sup> y sin *Penicillium sp*<sup>2</sup>;
- después del ensayo –análisis final–, se estableció como condición final el suelo usado en los tratamientos T2 – T6 (ver Tabla 1).

En la Tabla 1 se presenta el diseño experimental que correspondió a bloques completos al azar con seis tratamientos y tres repeticiones (por tratamiento), por un período de 60 días para establecer el efecto del *Penicillium sp* y la planta *Stipa ichu* sobre las propiedades físico- químicas y microbiológicas del suelo objeto de estudio.

Tabla 1. Tratamientos establecidos en los humedales artificiales de flujo subsuperficial

Sigla	Planta	<i>Penicillium sp</i>	Alimentado con...
T1	No	No	Agua de la llave
T2	No	No	Agua residual
T3	Si	No	Agua de la llave
T4	Si	No	Agua residual
T5	Si	Si	Agua de la llave
T6	Si	Si	Agua residual

<sup>1</sup> La planta *Stipa ichu* fue identificada en el herbario Josep Cuatrecasas de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira (Ardila & Machado, 2013).

<sup>2</sup> El hongo *Penicillium sp.*, fue aislado de la rizósfera de plantas de café (*Coffea arábica* variedad caturra) sembradas en un Andisol del municipio de Cajibío (Cauca), el cual, en ensayos previos *in vitro* mostró una efectiva capacidad solubilizadora de fosfatos de calcio, aluminio y hierro. Dicho hongo fue identificado por técnicas de biología molecular (Cisneros, 2015).



Para la construcción de los humedales se usaron recipientes plásticos rectangulares con medidas de 13 cm de altura (h), 33 cm de largo (L) y 26 cm de ancho (a), con un orificio en la parte inferior que permitía el paso del agua. A estos se les añadió grava (grande y pequeña), tela gruesa y el suelo objeto de estudio, en el cual se sembró la planta *Stipa ichu* (Ardila & Machado, 2013); finalmente se le agregó arena.

Los humedales se dejaron estabilizar por cuatro meses, proporcionando de forma constante agua control (agua de grifo); posteriormente, fueron alimentados con agua residual de procedencia doméstica.

Una vez preparados y estabilizados los humedales, se procedió a tomar 30.0 g de suelo para los análisis físico-químicos y microbiológicos. El muestreo se realizó de forma aleatoria a 3.0 cm de profundidad, hasta completar lo requerido. Posteriormente, cada muestra se homogenizó y se almacenó en una bolsa plástica.

En la Tabla 2 se indican los métodos utilizados en el estudio del suelo de los humedales del tratamiento T1 para los análisis físicos, químicos y biológicos (Rojas, 1993).

Tabla 2. Análisis físico-químico (Rojas, 1993) y microbiológico (Khan, Zaidi, & Musarrat, 2014)

Propiedad	Método
Densidad aparente	Cilindro
Densidad real	Picnómetro
Porosidad	Relación entre densidades
pH	Potenciométrico
Metales (Fe, Ca, K y Mg)	Absorción atómica
CIC	Acetato de amonio, pH 7
Materia Orgánica	Titulación Walkley- Black
Nitrógeno total	Kjeldhal
Fósforo disponible	Bray II
Estimación población de hongos	Diluciones seriadas en medio
Solubilizadores de fosfatos	Pikovskaya

Una vez estabilizados los humedales artificiales se procedió con la inoculación del hongo *Penicillium sp.* Se utilizó el medio líquido Peptona especial para la inoculación de *Penicillium sp.*, y se dejó en un agitador horizontal de referencia Heidolph PROMAX 1020, a temperatura ambiente por diez días. Posteriormente, se pasó por un colador metálico, completando el volumen a 1200 mL, con agua destilada. Después se tomó 1 mL de esta solución, se pasó a 9 mL de agua peptonada contenida en un tubo de ensayo y se adicionó 0.1 mL de tween 80 (dilución  $10^{-1}$ ).

De esa dilución se tomaron 0.01 mL para ser leídos en la cámara de Neubauer de referencia OLYMPUS y se procedió a realizar el conteo de las células presentes, cuyo resultado fue multiplicado por el factor de la cámara (10.000) y por el volumen de muestra utilizado (10) (Khan et al., 2014). Finalmente, se inoculó 200.0 mL de esta solución en los tratamientos T5 y T6.

Los seis humedales artificiales estuvieron aproximadamente quince días sin recibir agua control, con el fin de lograr una mayor retención del hongo *Penicillium sp.*, en el suelo (Khan et al., 2014).

Para los análisis físico, químico y microbiológico finales, se utilizaron las técnicas descritas en los análisis preliminares.

En cuanto al análisis estadístico, se evaluaron las diferencias significativas entre los datos reportados para agua control y agua residual mediante el análisis de varianza ANOVA. Como análisis post hoc se empleó el test Tukey con una significación del 95%.

### III. RESULTADOS

#### A. Análisis preliminar

En la Tabla 3 se consignan los resultados obtenidos de las propiedades evaluadas para el tratamiento sin planta, alimentado con agua control (T1).

Tabla 3. Análisis preliminar de las propiedades físicas, químicas y biológicas

Propiedad	Muestra			
	R1	R2	R3	Promedio
Densidad aparente (g/mL)	0.89	0.90	1.04	0.94
Densidad real (g/mL)	1.48	1.48	1.49	1.48
Porosidad (%)	39.96	39.19	30.08	36.41
pH	6.75	6.69	6.78	6.74
Fe (ppm)	16.23	16.37	16.32	16.31
Ca (ppm)	19.20	19.10	19.20	19.20
Mg (ppm)	4.69	4.72	4.71	4.71
K (ppm)	1.00	2.10	1.20	1.40
CIC (meq/100g)	0.80	1.00	1.40	1.07
M.O (%)	7.11	7.13	5.77	6.67
P (ppm)	74.51	58.37	69.21	67.36
N (ppm)	0.16	0.17	0.22	0.18
HSF (UFC/g)	$8.9 \times 10^3$	$4.00 \times 10^4$	$4.90 \times 10^4$	$3.26 \times 10^4$



## B. Análisis final

### Propiedades físicas

#### Densidad aparente

Se obtuvo valores dentro del intervalo en la densidad aparente (Figura 1) para cada condición en el suelo, es decir, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre ellos.

#### Densidad real

El tratamiento inicial (RSD 0.32%) presentó diferencias significativas con el tratamiento sin planta alimentado con agua residual, con un RSD de 7.07%, así como con los tratamientos con planta de agua control (RSD 0.52%) y residual (RSD 18.49%), y con los humedales inoculados con *Penicillium sp.*, de agua control (RSD 5.31%) y residual (RSD 12.34%). Teniendo en cuenta la Figura 2, el tratamiento control fue menor en todos los casos, principalmente en comparación con los humedales a los que se les suministró agua residual.

#### Porosidad

Se determinó la porosidad con base en los valores obtenidos en la densidad aparente y en la densidad real, graficados en la Figura 3. Se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento control (RSD 8.01%) y el tratamiento sin planta alimentado con agua residual, con un porcentaje de desviación de 3.76%. También hubo diferencias significativas entre la porosidad inicial y los tratamientos con planta de agua control (RSD 4.69%) y residual (RSD 5.49%) así como con los tratamientos con planta y hongo, que consistían de agua control (RSD 3.73%) y residual (RSD 5.05%).

### Propiedades químicas

#### pH

En la Figura 4 se muestran los valores promedio obtenidos en la lectura del pH realizada a la muestra de suelo usada en los humedales establecidos. El pH del suelo en el tratamiento control, con un porcentaje de desviación de 0.56, fue estadísticamente diferente al tratamiento sin planta con agua residual (RSD 1.64%), asimismo, éste presentó diferencias con los humedales con la *Stipa ichu* alimentados con agua control (RSD 0.88%) y residual (1.04%), y también con los tratamientos con planta y hongo, que consistían de agua control (RSD 0.38%) y residual (0.84%).

#### Metales (Fe, Ca, K y Mg)

El comportamiento de los metales en los humedales se caracterizó por ser altamente variable. En el análisis de hierro se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos control y finales (con un RSD de 0.58, 0.03, 0.04, 0.30, 0.03 para los tratamientos T2, T3, T4, T5 y T6, respectivamente).

En la Figura 5 se observa que la concentración de hierro fue mayor en los humedales abastecidos con agua residual. Dentro de estos tratamientos, la presencia de la planta *Stipa ichu* y el *Penicillium sp* fueron factores importantes en la disminución del contenido de este catión. Lo mismo sucedió en los humedales con agua control, en los cuales la planta y el hongo utilizaron el hierro como nutriente.

También se presentaron diferencias significativas en la concentración de calcio en el suelo entre los tratamientos inicial y finales (con un bajo RSD de 0.00, 0.01, 0.02, 0.00 y 0.00 para los tratamientos T2, T3, T4, T5 y T6 respectivamente). El contenido de calcio fue mayor en los tratamientos que incluyeron la *Stipa ichu* y el *Penicillium sp.*, por lo que se puede inferir que estos generaron condiciones que favorecieron la solubilidad del calcio (Figura 6).

En la Figura 7 se muestra la concentración del potasio en el suelo, valor que presentó diferencias significativas entre los tratamientos control (RSD 0.68%) y sin planta alimentado con agua residual, con un porcentaje de desviación de 2.18%.

También hubo diferencias significativas entre la porosidad inicial y los tratamientos con planta de agua control (RSD 0.37%) y residual (RSD 0.54%), así como con los tratamientos con planta y hongo, que consistían de agua control (RSD 0.44%) y residual (RSD 0.24%).

La concentración de magnesio tuvo una disminución significativa, como se indica en la Figura 8; se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento control (RSD 0.42%) y el tratamiento sin planta con agua residual (RSD 0.29%), así como con los tratamientos con planta de agua control (RSD 0.08%) y residual (RSD 0.09%) y con los humedales inoculados con *Penicillium sp.*, de agua control (RSD 0.15%) y residual (RSD 0.16%).

#### Capacidad de intercambio catiónico

La Figura 9 ilustra los resultados obtenidos en la Capacidad de Intercambio Catiónico [CIC] del suelo,



aplicado en los diferentes humedales tratados. Esta propiedad tuvo diferencias significativas entre el tratamiento control (RSD 1.17%), y el tratamiento sin planta de agua residual (RSD 0.29%), al igual que con los tratamientos con la *Stipa ichu* de agua control (RSD 0.08), residual (0.09%) y los inoculados con el *Penicillium sp.*, por los que pasaba agua control y agua residual (RSD 0.15% y 0,16%, respectivamente).

#### Materia orgánica

En la Figura 10 se presenta el porcentaje de materia orgánica obtenido en el suelo, aplicado a los diferentes humedales tratados. Se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento control (RSD 9.54%) y el tratamiento sin planta alimentado con agua residual (RSD 5.50%), también con los tratamientos con la *Stipa ichu* con agua residual (RSD igual 5.97%) y con el tratamiento con planta y *Penicillium sp.*, y agua residual (RSD 12.08%).

#### Nitrógeno

En la Figura 11 se señalan los valores promedio del porcentaje de nitrógeno total obtenido en el suelo aplicado a los diferentes tratamientos. Sólo se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos control (RSD 9.62%) y con *Stipa ichu* alimentado con agua residual, que presentó un RSD igual a 20.30%.

#### Fósforo disponible

Para la determinación del fósforo disponible se construyó una curva de calibración a partir de patrones de fósforo con concentraciones de 0.5-10 ppm (ver Figura 12). Se aprecia una variabilidad lineal en función de la concentración del mismo, de acuerdo con el valor de  $R^2$  (0.9987) obtenido, lo que garantiza la obtención de datos experimentales adecuados y permite un ajuste lineal preciso de los mismos. La concentración del fósforo obtenido en el suelo aplicado a los diferentes tratamientos se presenta en la Figura 13. El uso de las herramientas ANOVA y Tukey refleja diferencias significativas entre el tratamiento inicial con respecto a los tratamientos T2, T3, T5 y T6, los cuales presentaron una porcentaje de desviación de 3.10, 7.13, 8.75, 8.94 respectivamente.

#### Propiedades microbiológicas

##### Hongos solubilizadores de fósforo

En la Figura 14 se ilustran las unidades formadoras de colonia de hongos solubilizadores de fosfatos presentes en el suelo en los diferentes tratamientos. En este parámetro

se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa entre el tratamiento control (RSD 52.64%) y el humedal con planta de agua residual (RSD 92.95%).

## IV. DISCUSIÓN

### A. Propiedades físicas (Densidad aparente y real, y porosidad)

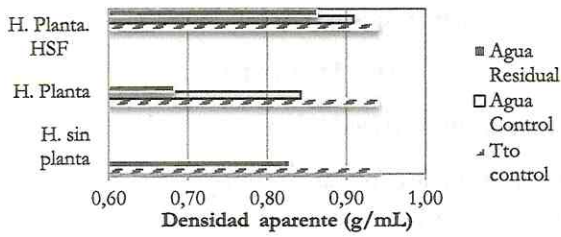
Las propiedades físicas evaluadas presentaron baja variación y su comportamiento estuvo sujeto, principalmente, al contenido de materia orgánica en el suelo de los diferentes tratamientos.

A pesar de que los resultados en la densidad aparente del suelo de los distintos tratamientos no presentan diferencias estadísticamente significativas, dicha propiedad tuvo un comportamiento inverso con la materia orgánica (Figura 1); así, los tratamientos con agua control presentaron una densidad aparente superior en comparación con los humedales alimentados con agua residual, que se caracterizaron por un alto contenido de material orgánico (Hernández & Ramos, 2015). Estos resultados coinciden con otros estudios que han encontrado que la densidad aparente presenta una correlación logarítmica negativa con la materia orgánica; lo contrario sucede con la densidad real y la porosidad, que tienen una relación directa con esta (Salamanca & Sadeghian, 2005).

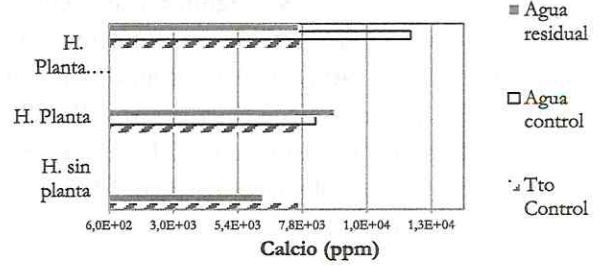
Valores de densidad aparente superiores a 1.30 g/mL indican problemas de compactación del sistema edáfico, mientras que valores menores, como se encontró en todos los tratamientos establecidos, están relacionados con un alto contenido de materia orgánica, puesto que los suelos orgánicos son menos pesados que la fracción mineral del suelo; además, la materia orgánica tiende a aumentar el espacio poroso e incrementa la formación y estabilidad de los agregados del suelo (Jaramillo, 2002) mediante el recubrimiento de sus partículas, lo que conlleva a un aumento en los puntos de contacto y en las uniones órgano minerales.

Adicionalmente, los tratamientos con la *Stipa ichu* también presentaron una menor densidad aparente por la presencia de sistemas radicales extendidos, los cuales forman canastillos alrededor de agrupaciones de partículas y, a través de la exudación de compuestos orgánicos, promueve la agregación, causando una disminución en esta propiedad. No obstante, se obtuvo una relación lineal entre la densidad aparente y la concentración de magnesio (ver Figura 8).

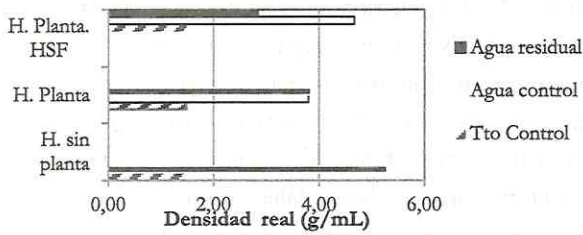
**Figura 1. Densidad aparente del suelo**



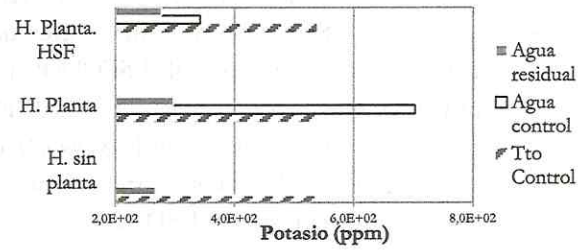
**Figura 2. Concentración de calcio**



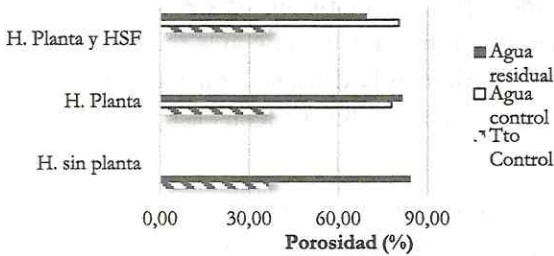
**Figura 3. Densidad real del suelo**



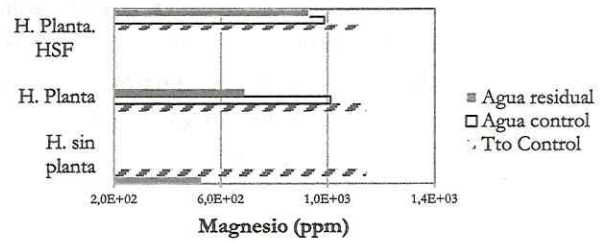
**Figura 4. Concentración de potasio del suelo**



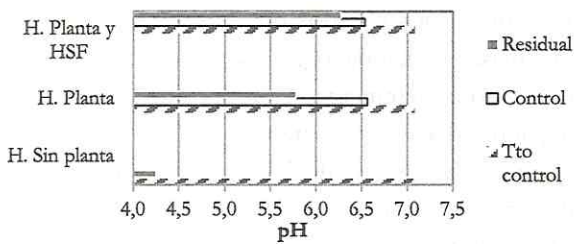
**Figura 3. Porosidad del suelo**



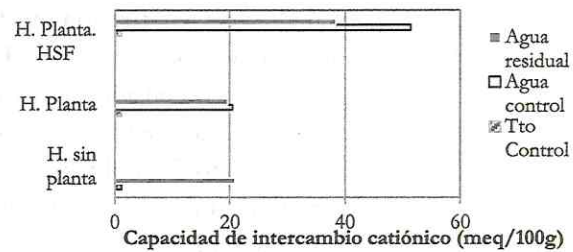
**Figura 5. Concentración de magnesio**



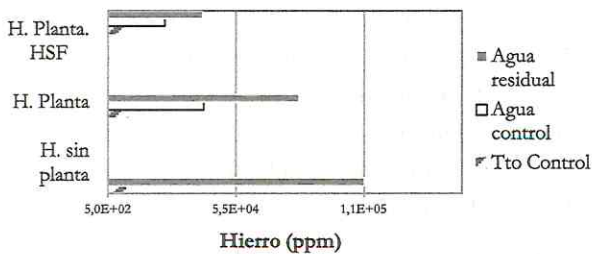
**Figura 6. Valores de pH en el suelo**



**Figura 7. Diferencia en la CIC del suelo**



**Figura 8. Concentración de hierro**



**Figura 9. Porcentaje de materia orgánica del suelo**

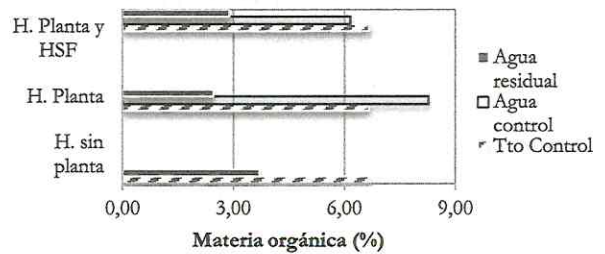




Figura 10. Nitrógeno total del suelo

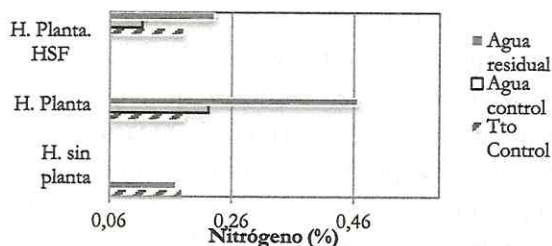


Figura 11. Concentración del fósforo disponible del suelo

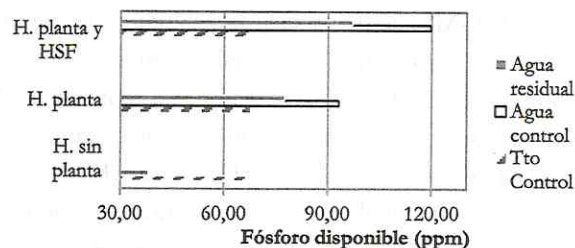


Figura 12. Curva de calibración para estimar la concentración (ppm) del fósforo disponible en las muestras de suelo

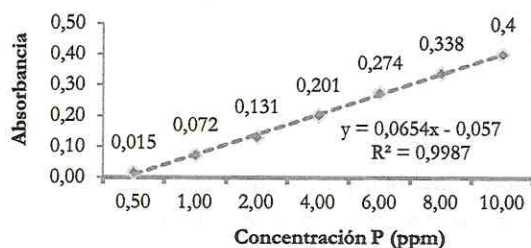
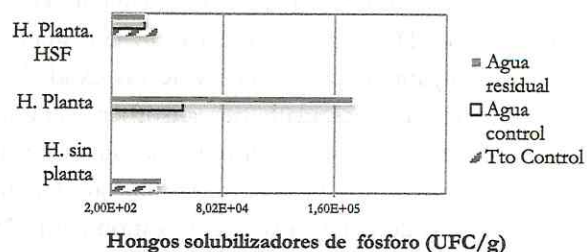


Figura 13. Unidades formadoras de colonia de HSF



Resultados similares obtuvo Torrente (2007), quien encontró que el aumento de contenido de magnesio en un suelo favorecía a la densidad aparente del mismo debido a que las altas concentraciones de iones como  $Mg^{+2}$  propician la dispersión de las arcillas, depositándose en los poros del suelo, por lo que su diámetro disminuye y provoca el aumento de la densidad aparente.

En un suelo poroso el valor de la densidad aparente es aproximadamente la mitad de la densidad real (García & García, 2013), esto evidencia la relación inversa entre las densidades aparente y real, y por tanto, la proporcionalidad de ésta última con la porosidad y la materia orgánica.

La densidad real y la porosidad tuvieron un comportamiento similar, presentaron diferencias significativas entre los tratamientos control y finales, con mayor valor principalmente en los tratamientos alimentados con aguas residuales domésticas (Figura 2), las cuales, según la caracterización de Hernández y Ramos (2015), presentaron un porcentaje alto de materia orgánica.

Conforme con la relación directa que tienen entre sí la densidad real, la porosidad y la materia orgánica, la alteración de una de ellas conllevará a la modificación de las otras. Así, las Figuras 2 y 3 denotan una mayor densidad real y porosidad en los tratamientos que fueron abastecidos con agua residual, frente al tratamiento control, puesto que la materia orgánica proveniente de ésta

le proporciona estabilidad a los agregados del suelo y mayor capacidad de soporte a las presiones; consecuentemente, el suelo adquiere mayor resistencia a la compactación y a la erosión, aumentando la porosidad (Murray-Núñez et al., 2011).

Como se mencionó, la generación de compuestos orgánicos por las raíces favorece la formación de agregados en el suelo y, por tanto, aumenta la densidad aparente y la porosidad del suelo, acorde con los resultados obtenidos con dichas propiedades en los tratamientos sembrados con la *Stipa ichu* (Peng, Yin, Bo, Jin-Fa, & Ren-Xue, 2015). Por su parte, los hongos solubilizadores de fosfatos forman micelios que se extienden a través de los espacios porosos y contribuyen significativamente a la formación de agregados estables, manteniendo una buena estructura mediante la liberación de exudados radicales de diferente tipo, el incremento de policonaciones en la rizósfera y la producción de agentes cementantes, lo que genera un aumento en la porosidad (Peng et al., 2015).

## B. Propiedades químicas

### pH

Como se ilustra en la Figura 4, el tratamiento control (inicial) presenta pH neutro, lo que se atribuye, principalmente, a la composición del agua, que por ser potable tiene un pH entre 6.5 y 8.5, para que el contenido



de ciertos metales no ocasiona daños a sus consumidores, de acuerdo con lo establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2010). Asimismo, hay una disminución significativa del pH en el humedal sin planta alimentado con agua residual frente al tratamiento control, debido principalmente a su composición química, caracterizada por un pH fuertemente ácido (pH= 3.60) (Hernández & Ramos, 2015). De igual manera, los humedales con la *Stipa ichu* mostraron diferencias significativas con el tratamiento control, con una caída en el pH ocasionada por la existencia de la planta, debido principalmente a los procesos responsables del balance catión-anión realizados a través de sus raíces, relacionado probablemente con una extrusión de iones  $H^+$ , por la acumulación y la degradación de los ácidos orgánicos provenientes de los exudados de las raíces, por la necesidad de adsorber cantidades desiguales de cationes y aniones a través de sus raíces para mantener la electroneutralidad entre la interfaz del suelo-raíz. Es decir, cuando la raíz adsorbe un catión como  $Mg^{+2}$  ella, para conservar el equilibrio, intercambia un ion por otro, excretando iones  $H^+$ , que son los encargados del descenso en el pH (Behera, Singdevsachan, Mishra, Dutta, & Thatoi, 2013).

También se reporta que el suelo contiene partículas sólidas (micelas) de arcilla o de naturaleza orgánica cargadas negativamente. Cuando estas cargas exceden en número a las cargas positivas de cationes presentes en el medio ( $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ), son las raíces de la planta las encargadas de proporcionar los iones  $H^+$  para equilibrar las cargas de las partículas coloidales presentes en el suelo, lo que genera acidez en el mismo (Navarro & Navarro, 2003).

Otra causa de la reducción en el pH es la liberación de dióxido de carbono por la respiración de la raíz, que origina ácido carbónico que, al ponerse en contacto con la disolución del suelo, se disocia para formar  $H^+$  y  $HCO_3^-$ , estos iones  $H^+$  se difunden hasta el coloide y son intercambiados con los cationes adsorbidos sobre su superficie. Los cationes son liberados a la disolución del suelo, donde las raíces de las plantas los pueden absorber como nutrientes y a cambio excretan iones  $H^+$ ; estos son, junto con los retenidos en las partículas coloidales, los encargados de la disminución del pH (Martínez, Fuentes & Acevedo, 2008).

Los humedales con *Penicillium sp.*, originaron una acidez significativa en el suelo, comparado con el tratamiento control, precisamente debido al mecanismo de solubilización de fosfatos, que comprende la liberación de

ácidos orgánicos de bajo peso molecular (e.g., ácido láctico, cítrico, succínico y malónico), en la cual, a través de los grupos carboxilo e hidroxilo presentes en sus estructuras quelan los cationes (Al, Fe y Ca) unidos al fosfato. Whitelaw (1999) encontró que, por gramo de crecimiento micelial en un medio de sacarosa, el hongo *Penicillium cyclopium* produce el mismo número de moles  $H^+$ , proporcional a las moles de amonio consumido, representando otra fuente de acidez. Además se ha demostrado que la utilización de la glucosa parece correlacionarse directamente con la caída en el pH, ya que ella es utilizada como fuente de energía por los microorganismos, produciendo ácido glucónico en el espacio periplásmico, y disminuyendo así el pH (Behera *et al.*, 2013).

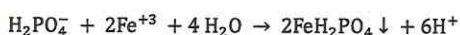
#### Metales (K, Mg, Ca y Fe)

La Figura 5 denota que la concentración de hierro en el suelo fue mayor en los tratamientos finales con respecto al control, con diferencias estadísticamente significativas, primordialmente, en los de agua residual, los cuales contenían altas concentraciones de hierro (Hernández & Ramos, 2015). Esto indica que este metal es retenido por el sistema edáfico, es decir, no existe pérdida por lixiviación y, por el contrario, se fija entre las partículas minerales y coloidales del suelo, generando una mayor concentración de estos ( $Fe^{+2}$  soluble y  $Fe^{+3}$  insoluble). De acuerdo con Pérez -Esteban, Escolástico, Masaguer, Vargas, & Moliner (2013), los cationes metálicos, al no ser complejados por la materia orgánica, precipitan como óxidos, hidróxidos o sales, quedando fijados en la matriz del suelo; además, los cationes son retenidos en el suelo por complejo de intercambio o inmovilizados por los ácidos húmicos procedentes de la descomposición/ degradación de la materia orgánica ( Park *et al.*, 2011). Adicionalmente, estos cationes metálicos ( $Fe^{+2}$  y  $Fe^{+3}$ ) tienen la potencialidad de formar complejos de coordinación con las moléculas orgánicas del suelo, sin embargo, el bajo contenido de materia orgánica en los humedales tratados con agua residual, reduce la presencia de estos ligandos orgánicos para formar los complejos de coordinación, estos cationes metálicos precipitan y, por ende, no se mueven en el perfil del suelo o, en su defecto, la materia orgánica procedente del agua residual estabiliza estos cationes en el suelo al ser adsorbidos sobre superficies de sólidos y formar complejos estables con las sustancias húmicas presentes, las cuales proporcionan un número importante de grupos funcionales, tales como carboxílico, hidroxílico y fenólico,



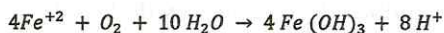
con alta afinidad por los metales (Osorio, 2010). Se ha comprobado que los ácidos húmicos pueden originar, con relativa facilidad, hidrosoles férrico-húmicos con el óxido férrico y de esta forma favorecer su conservación del suelo (Bolan, 2014).

A su vez, el pH interviene en la solubilidad del hierro, presenta alta disponibilidad a valores inferiores a 5; es decir que en los humedales tratados con agua residual aumenta la probabilidad de ser fijado o retenido por tener mayor acidez. La literatura también indica que en suelos ácidos y ricos en hierro, como corresponde a los humedales tratados con agua residual, el fosfato presente en los acuíferos residuales precipita con  $\text{Fe}^{+3}$  o con sus hidróxidos correspondientes, aumentando la concentración del hierro en el suelo (Navarro & Navarro, 2003).



**Ecuación 1. Precipitación del fosfato ácido de hierro (II)**

Otra causa de inmovilización del hierro en el suelo es el oxígeno producido por la raíz y los microorganismos mediante la oxidación de Fe(II), que precipita como hidróxidos de Fe (III) (ver Ecuación 2), lo que resulta en una acumulación de Fe(III) en la rizósfera y la simultánea generación de protones ( $\text{H}^+$ ) que, consecuentemente, disminuyen el pH. Durante este estudio se observó una coloración rojiza precisamente cerca de la raíz, con mayor intensidad en el humedal sin planta de agua residual, lo que indica una mayor precipitación de hidróxido de hierro (III) (Behera *et al.*, 2013).



**Ecuación 2. Precipitación del hidróxido de hierro (III)**

De igual manera, los humedales tratados con agua control (humedal con *Stipa ichu* y tratamiento con planta y *Penicillium sp.*) también presentaron un mayor contenido de hierro frente al tratamiento inicial (control), puesto que las sustancias producidas por la actividad biológica de la planta y el hongo tienen una alta capacidad quelatante y, por tanto, retienen el hierro presente en el suelo y el procedente del agua control. Estas sustancias facilitan el flujo de cationes metálicos a los cuerpos de agua; entre ellas están los aminoácidos, que forman complejos con cationes metálicos como el hierro (Osorio, 2010).

Por otra parte, las Figura 6, 7 y 8 indican que la concentración de calcio, potasio y magnesio en los

tratamientos finales se caracterizó por ser menor en comparación con su contenido en el tratamiento control. Esto se observó principalmente en el suelo de los humedales alimentados con agua residual, que como se discutirá más adelante, presentaron menor concentración de materia orgánica, por lo que pueden ocurrir dos procesos que explican la disminución en la concentración de estos metales. En el primero, los cationes como el  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Mg}^{+2}$  no podrán ser retenidos en el suelo por el complejo de intercambio mediante la desprotonación de los grupos carboxílico, hidroxílico y fenólico de los coloides electronegativos del suelo, arcillas y compuestos húmicos, porque al existir un bajo contenido de materia orgánica, no se retendrán con facilidad, favoreciendo el lavado de estos por el agua (Zapata, 2004). El segundo, tiene que ver con la composición del agua residual, que se caracteriza por un alto contenido de materia orgánica, asumiendo que es rica en carbono orgánico soluble y en ácidos fúlvicos, aumenta la movilidad del metal al formar complejos metal-orgánico solubles y al estar ligados a la molécula coloidal en la solución del suelo, se facilita su absorción por las raíces de la planta o en su defecto, son lavados por el paso del agua residual (Park *et al.*, 2011; Pérez, 2013).

La materia orgánica del suelo y del agua residual son una fuente de gas carbónico que libera, por oxidación lenta, dióxido de carbono, el cual contribuye en la solubilización de algunos complejos estables entre los metales y las sustancias húmicas; una vez liberados los cationes metálicos de los minerales, permanecen en la solución del suelo al ser acomplejados por la materia orgánica procedente del agua residual, facilitando así su absorción por la planta o lavado por el paso del agua (Domínguez, 2012). Además, por la descomposición de estos minerales y la degradación de la materia orgánica procedente del agua residual, parte del magnesio pasa al estado de sales solubles, como cloruros y sulfatos, formas propensas a la lixiviación o absorción por los organismos del suelo. Lo mismo sucede con el calcio, pues el agua disuelve las bases solubles perdiéndose por lixiviación en gran proporción; además el calcio, al igual que el potasio y el magnesio, puede ser desplazado del complejo absorbente por el hidrógeno, aumentando la posibilidad de encontrarse en la solución del suelo y ser drenado por el paso del agua (García & García, 2013).

Esta disminución está relacionada con la composición del agua residual, reflejada en la pérdida del metal, sea por



procesos de lixiviación o por aumento en la absorción del metal por parte de planta, la población microbiana presente en el suelo y en la interfase suelo-raíz (Bolan, 2014). Esto quiere decir que la capacidad de adsorción y, por ende, de fijación del metal en el suelo es muy pequeña, por lo que los metales no adsorbidos son fácilmente eliminados por drenaje, lo que explica porque grandes cantidades de metales se pierden por lixiviación. Otro factor que influye es la presencia de compuestos orgánicos en el suelo y compuestos procedentes del agua residual, porque el humus presente en el suelo posee una gran capacidad para retener cationes en forma intercambiable, protegiéndolos de procesos de lixiviación, debido a la presencia de cargas negativas procedentes de los grupos carboxílicos y fenólicos, de los cuales el hidrógeno puede ser reemplazado por intercambio de cationes, lo que quiere decir que el suelo no cuenta con suficientes ligandos orgánicos para retener los cationes, por lo que se van ser susceptibles a pérdidas por lixiviación (Navarro & Navarro, 2003). Estos procesos, que al final llevan a la lixiviación de los cationes, generan una disminución en el contenido de estos metales en la disolución del suelo, porque parte de los cationes que han sido absorbidos sobre las superficies coloidales tienden a pasar a la disolución para restablecer el equilibrio; bajo estas condiciones se favorece aún más la pérdida de estos cationes ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{K}^{+}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ ) en el suelo (Navarro & Navarro, 2003).

Otra posible causa de la disminución de la concentración de estos metales es su asimilación por la planta y la población microbiana presente en el suelo. Muchas plantas pueden absorber más cationes de los requeridos para su funcionamiento, generan así una acumulación del elemento El potasio es el catión más abundante en el citoplasma y regula el potencial osmótico de las células (Condi, 2000); el magnesio es un constituyente metálico indispensable en la molécula de clorofila; y el calcio resulta importante para el desarrollo de las raíces, porque ejerce funciones en la multiplicación y crecimiento celular (Arias, 2007).

El pH del suelo también incide en la concentración de los metales. El potasio presenta alta solubilidad y, por tanto, alta asimilación en todos los valores de pH considerados, por lo que puede perderse por lixiviación a cualquier valor de pH; entre tanto el  $\text{Mg}^{+2}$  y el  $\text{Ca}^{+2}$  son más asimilables a intervalos de pH de 7.0-8.0. Los humedales con agua residual arrojaron un pH entre 4.25 y

6.28 (ver Figura 4), un grado de acidez que provoca la lixiviación de dichos metales, por lo que se obtuvo una menor concentración de  $\text{Mg}^{+2}$  y  $\text{Ca}^{+2}$ , principalmente en el tratamiento (Kass, 2004).

Otro factor influyente es el grado de hidratación, que aplica únicamente cuando existe una valencia similar; los cationes menos hidratados son los que presentan un mayor radio iónico, por lo que se fijan intensamente en las partículas coloidales del suelo; de este modo, el  $\text{Mg}^{+2}$  tiene menor radio iónico que el  $\text{Ca}^{+2}$ , por lo que este último, al ser menos hidratado, estará más fuertemente adsorbido, mientras que el  $\text{Mg}^{+2}$  se intercambiará con mayor facilidad. Teniendo en cuenta los resultados señalados en las Figuras 6 y 8, las pérdidas de  $\text{Ca}^{+2}$  en los humedales tratados con agua residual, a simple vista, son más pequeñas que las generadas por el  $\text{Mg}^{+2}$ , lo que quiere decir que la teoría del grado de hidratación del ión se cumple, pues el  $\text{Ca}^{+2}$  es adsorbido con mayor fuerza, dificultando la liberación del catión a la disolución del suelo, disminuyendo las pérdidas por lixiviación (García & García, 2013; Kass, 2004).

No obstante, la concentración de calcio en el tratamiento control fue menor a la del tratamiento con *Stipa ichu* abastecido con agua residual, pues las concentraciones de este nutriente en el suelo normalmente superan a las requeridas por las plantas. Sumado a lo anterior, la concentración de calcio fue alta en las aguas residuales (Hernández & Ramos).

La mayor concentración de calcio (T3 y T5) en comparación con el tratamiento control, es atribuida a las raíces, que pueden modificar la composición química del elemento, cambiando también las de la solución del suelo mediante el exudado de protones y agentes orgánicos quelantes, que acomplejan el catión, disminuyendo su concentración en forma libre, pero aumentan la cantidad de este metal en la solución del suelo. Además, en su proceso respiratorio las plantas y los microorganismos producen dióxido de carbono, lo que provoca la aparición de iones  $\text{H}^{+}$ , generando condiciones ácidas que igualmente favorecen la solubilidad de complejos minerales, con la consecuente liberación del catión a la solución del suelo (Whitelaw, 1999).

La intensa actividad biológica de los microorganismos en compañía de las raíces de las plantas produce sustancias con alta capacidad quelante (ácidos alifáticos de cadena corta, i.e., aminoácidos, fenoles, ácidos fórmicos, acéticos y oxálicos), los cuales, a pesar de su poca duración en la



solución del suelo, se producen continuamente y tienen la capacidad de transformar sólidos insolubles en formas solubles, lo que favorece el flujo de cationes metálicos a los cuerpos de agua. La comunidad microbial además sintetiza sustancias que aportan grupos ácidos, hidroxilos y aminos que actúan como base de Lewis, con capacidad de complejar cationes metálicos, dando lugar a la formación de estructuras solubles, aumentando así la concentración de cationes en el suelo (Zapata, 2004).

#### Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

Como se ilustra en la Figura 9, el tratamiento control presentó menor CIC comparada con el humedal sin planta tratado con agua residual; en contraste, la presencia de la *Stipa ichu* y del *Penicillium sp.*, aumentó considerablemente la CIC en los humedales tratados con agua control y con agua residual frente al tratamiento control. Esta variabilidad se puede explicar en función del pH, dado que la magnitud de la capacidad de cambio de la arcilla y las partículas coloidales presentes en el suelo dependen parcialmente del mismo, pues en condiciones ácidas los iones  $H^+$  son los responsables de la ionización, ya que los grupos  $OH^-$  tienden a tomar un  $H^+$ , proporcionando a las partículas coloidales del suelo cargas positivas, favoreciendo la posibilidad de adsorber aniones y no cationes, y disminuyendo así la CIC del suelo. Sumado a ello, en condiciones ácidas los iones  $H^+$  transforman en  $OH^-$  algunos iones  $O^{2-}$  expuestos en la superficie del suelo, reduciendo la capacidad de cambio (García & García, 2013). Sin embargo, esta relación directa pH - CIC no se ajusta a los resultados obtenidos, pues el humedal sin planta de agua residual tuvo un pH de 4,25 (Figura 1) y presentó un aumento en la CIC, mientras a pH neutro (7.08), como es el caso del tratamiento control, la CIC fue muy pequeña. Resultados similares obtuvo Saidi (2012) al determinar dicha propiedad a pH 6 y 7, con una variación en la CIC de 17 a 25 meq.kg<sup>-1</sup> y 12 a 20 meq.kg<sup>-1</sup> respectivamente; es decir que a pH neutro se obtuvo un rango de CIC menor, pero se encontró que las bases intercambiables ( $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ) eran más altas a pH 7 por la disolución de una parte de carbonatos presentes en el suelo, por lo que concluyeron que un pH de 7 no es apto para medir los cationes intercambiable.

No obstante, el suelo del humedal sin planta tratado con agua residual se encuentra en condiciones ácidas y su CIC aumentó significativamente respecto del tratamiento control, por efecto de la composición del agua residual, que tiene un alto contenido de compuestos orgánicos

(Hernández & Ramos, 2015). Otero, Ortega y Morales (2000) demostraron que la materia orgánica presenta gran influencia sobre la CIC, al encontrar que en los complejos órgano-minerales en los suelos gran parte de las sustancias orgánicas está unida fuertemente a la red cristalina del mineral arcilloso y solo una menor cantidad está en los espacios interlaminares, limitando la participación de la materia orgánica en el intercambio catiónico. Esto quiere decir que gran parte de la materia orgánica proveniente del agua residual se complementa mutuamente con minúsculas porciones de arcilla y partículas coloidales cargadas negativamente presentes en el suelo, lo que le permite actuar como un enorme anión, favoreciendo la retención y el intercambio de cierta cantidad de metales presentes en la solución del mismo (Otero et al., 2000).

También la presencia de varios tipos de grupos reactivos en la materia orgánica del agua residual proporciona capacidad para atraer y retener metales presentes en la solución del suelo, porque se enlazan con partículas de arcilla, proporcionando al material orgánico mayor resistencia a la descomposición y favoreciendo el intercambio catiónico. Por su parte, la ionización de los grupos  $-COOH$  y  $-OH$  fenólicos, enólicos y otros con carácter ácido presentes en las partículas coloidales del suelo procedentes del agua residual, genera cargas eléctricas de naturaleza análoga a las arcillas con capacidad de atraer cationes. Por consiguiente, el contenido de materia orgánica puede explicar hasta el 60% de variabilidad en la CIC del suelo (García & García, 2013).

Por otra parte, como se mencionó, la presencia de la planta genera un aumento significativo de la CIC en los humedales tratados con agua control y residual, ya que mediante sus raíces produce compuestos orgánicos provenientes de procesos como la fotosíntesis (fotosintatos) (Daynes, 2013) y desempeña mecanismos de adaptación, como la producción de enzimas fitasa y fosfatasa ácidas en la raíz, con la consecuente liberación de ácidos orgánicos a través de sus raíces (Zheng et al., 2009). Esto ocasiona un impacto en la carga superficial del suelo, pues muchos de ellos contienen grupos carboxilo e hidroxilo que al ionizarse generan cargas negativas, aumentando la CIC. Las raíces de las plantas no sólo absorben cationes útiles para ella, sino también segregan sustancias dotadas de cierto carácter ácido que les permite solubilizar compuestos difícilmente solubles, generando, de alguna forma, un intercambio de nutrientes catiónicos (Bolan, 2014).



Asimismo, se ha evidenciado el intercambio por contacto y por ácido carbónico, procesos desarrollados por las raíces de la planta para la adquisición de los nutrientes. El primer mecanismo sucede entre los espacios de oscilación de los iones adsorbidos, que son transferidos de las partículas coloidales a la raíz; en el segundo, el dióxido de carbono liberado por la respiración de la raíz origina ácido carbónico al ponerse en contacto con la disolución del suelo, que al disociarse forma  $H^+$  y  $HCO_3^-$ , estos iones  $H^+$  se difunden hasta la superficie del suelo y son intercambiados con los cationes metálicos retenidos en las partículas coloidales. Dichos mecanismos aumentan la posibilidad de absorción de los cationes por parte de la raíz y las partículas coloidales, aumentando así la CIC en el suelo (Zapata, 2004).

Finalmente, con el *Penicillium sp.*, la CIC del suelo aumentó significativamente, tanto para los humedales tratados con agua control, como para los tratados con agua residual, debido a la liberación de ácidos orgánicos de bajo peso molecular, que contienen grupos carboxilo e hidroxilos fenólicos. En los primeros, el hidrógeno puede ionizarse y abandonar la molécula, dejando un sitio con carga negativa capaz de atraer cationes; en los segundos, el hidrógeno del -OH fenólico tiene una ligera tendencia a ionizarse, dejando un sitio cargado negativamente. Dichos sitios proporcionan una capacidad de cambio relativamente elevada (Pérez-Esteban et al., 2014).

#### Materia orgánica

Como se muestra en la Figura 10, en los humedales tratados con agua residual existe una disminución significativa del porcentaje de materia orgánica presente en el suelo relacionado con el tratamiento control, en contraposición con lo que se esperaba por el alto contenido de materia orgánica presente en el agua residual (Hernández & Ramos, 2015). Sin embargo, en lugar de preservarla o aumentarla, se presenta una pérdida que depende, no solo de la estructura molecular de los compuestos orgánicos que la constituyen, sino también de la acción combinada de mecanismos físicos y químicos de protección que permiten la persistencia de la materia orgánica en el suelo. Se reporta la oclusión de la materia orgánica del suelo dentro de los agregados, como un mecanismo de protección físico, que permite la formación de una barrera física que limita el acceso de los descomponedores y las enzimas a los sustratos orgánicos, así como la difusión de  $O_2$ . También ocurre la asociación de la materia orgánica con partículas minerales como

mecanismo de estabilización química que logra reducir la capacidad degradante de los descomponedores (Plaza, Courtier-Murias, Fernández, Polo, & Simpson, 2013). Según los resultados obtenidos, el suelo no desarrolló ningún mecanismo de protección, resultado probablemente de la limitada formación de macroagregados y microagregados, por efecto de la falta de una alta profundidad o porque resultaron poco estables y así, fácilmente descompuestos; tampoco se formaron compuestos permanentes entre la materia orgánica y las partículas minerales y coloidales del suelo. Se esperaba una mayor concentración de materia orgánica en dichos tratamientos porque al incorporar carbono orgánico en el suelo procedente del agua residual (Rajadel, 2011) aumenta la biomasa microbiana, de acuerdo con investigaciones que señalan el aumento a largo plazo de biomasa microbiana en suelos cultivados con materia orgánica respecto a suelos no cultivados (Kulandaivelu & Bath, 2012), por lo que era de esperarse que la materia orgánica y la población microbiana procedente del agua residual (Hernández & Ramos, 2015) generaran un aumento en la biomasa microbiana del suelo, y aumentarían su contenido. Del mismo modo, se esperaba un aumento significativo en el contenido de materia orgánica con la presencia de las plantas, pues se ha demostrado que la incorporación de materia orgánica al suelo promueve el crecimiento de la planta y sus raíces, aumentando con ello sus residuos, incluyendo partes aéreas y raíces, desechos que constituyen el material principal originario de la materia orgánica del suelo, ya que aportan una gran cantidad de residuos orgánicos. Eso ha sido demostrado por Plaza et al., (2013) mediante espectros de Resonancia Magnética Nuclear [RMN], que indicaron que las fracciones libres de la materia orgánica están dominadas por señales identificables de residuos vegetales en diferentes etapas de descomposición, además de evidenciar que la mayor parte de materia orgánica presente en el suelo está constituida por complejos orgánicos minerales formados por la interacción entre los insumos derivados de los microorganismos y las partículas minerales durante la degradación de los materiales derivados de las plantas. Adicionalmente, entre 33% y 40% del carbono total fijado por las plantas como fotosintatos es excretado en la rizósfera; mediante su actividad fotosintética mantienen un balance en el ciclo del carbono, formando compuestos orgánicos a partir de  $CO_2$  (Burns et al., 2013).

Estudios han demostrado que las especies vegetales, en conjunto con los hongos, pueden aumentar hasta en un



58% el carbono total del suelo (Daynes, 2013; Hernández & Ramos, 2015).

Sin embargo, por la disminución de la materia orgánica en los humedales alimentados con agua control y agua residual en contraste con el tratamiento control, se deduce una rápida degradación de los compuestos orgánicos presentes en el suelo, cuya aceleración depende de: condiciones propicias del medio, la naturaleza química de los compuestos orgánicos que lo integran y la edad de la planta. Por ello, se infiere que los humedales artificiales contaban de una óptima aireación y humedad, una temperatura ambiente (cálida) apropiada para el desarrollo microbiano y una adecuada fertilidad del suelo, pues se trata de un suelo abonado. Las sustancias orgánicas que lo constituyen son compuestos orgánicos poco estables y de fácil adquisición microbial, lo que favorece la descomposición de la materia orgánica. Se considera que la planta usada en el humedal, al ser joven, contiene porcentajes relativamente elevados de sustancias que se descomponen rápidamente (Hernández & Ramos, 2015; Martínez et al., 2008).

Otro aspecto importante es que las plantas proporcionan superficie y oxígeno, y son fuente de carbono, para que los microorganismos, que residen en sus raíces y en el suelo, sintetizan y degradan la materia orgánica del suelo, mediante la producción de enzimas extracelulares, las cuales fragmentan los compuestos orgánicos transformándolos en productos solubles disponibles para las plantas y la población microbiana. Ante un alto contenido de microorganismos procedentes del agua residual, principalmente bacterias (aeróbicas y anaeróbicas), aumenta la función enzimática y la demanda de materia orgánica como fuente de carbono y energía, lo que favorece su degradación, razón por la cual disminuye la concentración de la materia orgánica en el suelo al tratarse con agua residual (Bashan, 2004).

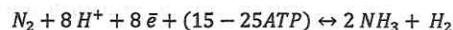
Para terminar, se deduce que el suelo tiene bajo contenido de arcilla, lo que dificulta la atracción de los grupos reactivos de los compuestos orgánicos presentes naturalmente en el suelo y los procedentes del agua residual, resultando más accesible al ataque enzimático, lo que beneficia los procesos de degradación y descomposición (Bashan, 2004; González, 2005).

#### Nitrógeno total

Como se ilustra en la Figura 11 se encontró un aumento significativo en el porcentaje del nitrógeno total

del humedal con planta alimentado con agua residual, comparado con el tratamiento control, efecto atribuido principalmente a la presencia de la planta y la composición del agua residual doméstica, pues esta última aporta bacterias. Estudios realizados por Osorio (2010) y Tanveer y Guangzhi (2012) han demostrado que las bacterias presentan gran capacidad de fijación biológica de nitrógeno, y han observado que se favorece por la presencia de la planta debido a que dichas bacterias heterótrofas se asocian especialmente con sus raíces y establecen estructuras en sus pelos radicales (nódulos), desarrollando una verdadera simbiosis con la planta al aportar, a través de sus raíces, compuestos orgánicos como nutrimento, como fuente de electrones para la reducción de  $N_2$  y los ATP requeridos durante el proceso de su fijación biológica. Dichos nódulos al ser ricos en hemoglobina, aumentan la velocidad de fijación de nitrógeno por el suministro de compuestos carbonados y de oxígeno a las bacterias constituyentes.

Estas últimas producen enzimas nitrogenasas, las cuales rompen el triple enlace del nitrógeno molecular, produciendo amoníaco (ver Ecuación 3), el cual es rápidamente protonado, dando paso a la formación de amonio (ver Ecuación 4).



#### Ecuación 3. Producción de amoníaco durante el proceso de fijación biológica de nitrógeno



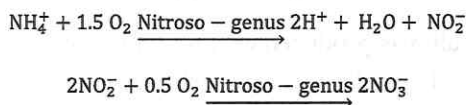
#### Ecuación 4. Protonación del amoníaco en el proceso de fijación biológica de nitrógeno

En este proceso se requiere que la concentración de oxígeno sea regulada, puesto que la actividad enzimática se reduce en su presencia; por eso, las bacterias aeróbicas, ubicadas principalmente en la superficie del suelo de los humedales artificiales, desarrollan mecanismos de protección (Osorio, 2010; Tanveer & Guangzhi, 2012).

Además de aumentar la probabilidad de que ocurra el proceso de fijación biológica de nitrógeno por el aporte de bacterias procedentes del agua residual, existe, también por él, un suministro de compuestos nitrogenados (urea, glicina, cisteína, hidróxido de amonio y sales amoniacaes) (Domínguez, 2012); gran parte de estos, al ser removidos del agua residual, quedan retenidos en la matriz del suelo (Delgadillo, Camacho, Pérez, & Andrade, 2010), aumentando la concentración del nitrógeno total.



Dichos compuestos orgánicos nitrogenados, al ser incorporados en el suelo se convierten en compuestos inorgánicos, como amoníaco, que se protonan rápidamente formando amonio mediante procesos de descomposición y mineralización de la materia orgánica presente en el agua residual y en el suelo, por acción microbiana, por su parte las bacterias nitrificantes oxidan el amonio a nitrito y luego de nitrito a nitrato (ver Ecuación 5). Pese a que generalmente estos procesos de degradación/ descomposición que se dan en los humedales de flujo subsuperficial son anaeróbicos (Romero -Aguilar, Colín-Cruz, Sánchez-Salinas, & Ortiz-Hernández, 2009), se encontró una alta remoción de nitrógeno total, lo que permite inferir que, no solamente se cumplen procesos anaeróbicos, sino también procesos aeróbicos, lo que se correlaciona con la óptima porosidad y poca profundidad (menor a 0.3 m) de los humedales, condiciones que permiten un buen suministro de oxígeno.



**Ecuación 5. Nitrificación**

Los compuestos de amonio obtenidos en el proceso de fijación biológica de nitrógeno y de amonificación que no son consumidos por la planta y la población microbiana, pueden ser retenidos en la matriz del suelo, porque este cuenta con partículas no coloidales (piedra, grava, arena) y fracciones coloidales (arcilla) capaces de adsorber amonio, lo que explica el aumento del nitrógeno total en el humedal con planta tratado con agua residual (Khan, 2005; Rajadel, 2011; Tanveer & Guangzhi 2012).

La existencia de la planta fue esencial para la eliminación de nitrógeno total procedente del agua residual, porque proporciona superficie y oxígeno para el crecimiento de microorganismos en la rizósfera e hidratos de carbono exudados de las raíces en el proceso de fotosíntesis. De igual manera Daynes (2013) demostró mediante diferentes estudios comparativos entre los humedales sin planta y plantados, que se obtienen altos valores de remoción de nitrógeno en estos últimos, lo que explica que en el humedal con planta de agua residual se obtuvo un porcentaje de nitrógeno total más alto.

Se esperaba un aumento significativo en la concentración del nitrógeno total en el humedal con planta y *Penicillium sp.*, alimentado con agua residual, frente al

tratamiento control, por contar, no solamente con la presencia de la planta, sino también con el aporte de compuestos orgánicos nitrogenados procedentes del agua residual; sin embargo, el *Penicillium sp.*, por ser un hongo micorrízico presenta la capacidad de transferir nitrógeno a la planta, mediante la absorción de amonio o nitrato del suelo (Martínez et al., 2008).

Además, se ha reportado en la literatura que los hongos, a pesar de tener gran capacidad de descomposición, no oxidan el ion amonio a nitrato, ni fijan el nitrógeno atmosférico, como hacen las bacterias aeróbicas, impidiendo de igual forma que las bacterias aeróbicas provenientes del agua residual tengan una alta fijación biológica de nitrógeno al aumentar la demanda de oxígeno y materia orgánica como nutrimento (García & García, 2013).

También, al existir una mayor población microbiana en el suelo debido al *Penicillium sp.*, inoculado, aumenta el requerimiento de nitrógeno, al estar presente como arginina libre en el micelio y en las vacuolas de este (González, 2014).

Cuando la mayor parte de los compuestos orgánicos nitrogenados provenientes del agua residual es convertida a nitratos, hay una liberación de iones hidrógeno (ver Ecuación 5) que acidifican el suelo. Esto explica por qué dichas formas de nitrógeno originan un descenso en el pH del suelo en los humedales con planta de agua residual respecto al tratamiento control, favoreciendo la nitrificación en los primeros, por la mayor presencia de nitratos en el suelo y el aumento de la concentración del nitrógeno total. Reportes señalan que en este mecanismo se consume 7.14 mg/L (como CaCO<sub>3</sub>) por cada mg/ L de nitrificación de nitrógeno amoniacal (Céron & Aristizábal, 2012; Tanveer & Guangzhi, 2012).

Por otra parte, se halló una relación indirecta entre el contenido de nitrógeno y materia orgánica. En el humedal con planta de agua residual el porcentaje de materia orgánica disminuyó respecto del tratamiento control, mientras que el nitrógeno total aumento en relación con el tratamiento control, pues como se dijo, el agua residual se caracteriza por un alto contenido de material orgánico (Hernández, & Ramos, 2015) que, al ser incorporado al suelo, se descompone por efecto de los microorganismos presentes en él y en el agua residual, facilitando su reproducción al encontrar fácilmente energía y nutrientes asimilables; en el momento en que la actividad microbiana



llega a un punto máximo, aumenta la demanda de nitrógeno, al cabo de cierto tiempo, su contenido disminuye significativamente; por esta razón cuando se produce la degradación de la materia orgánica, la relación C/N de los residuos orgánicos decrece, ya que el carbono se pierde y el nitrógeno se conserva. Llega un momento en el que las reservas alimenticias y la energía asimilable disminuyen, al aumentar su demanda por mayor presencia de microorganismos; en este punto la actividad de los microorganismos es menor, y es cuando empiezan a actuar las bacterias nitrificantes presentes en el suelo y provenientes del agua residual, produciendo nuevamente nitratos, con lo que, al poco tiempo, el suelo se enriquece en nitratos. Esto explica por qué existe una relación inversamente proporcional con el carbono orgánico (González, 2005; Cerón & Aristizábal, 2012).

#### Fósforo disponible

El aumento significativo en la concentración del fósforo disponible, que ocurre en el humedal con planta alimentado con agua control, es ocasionado principalmente por los mecanismos de adaptación que desempeñan las plantas y los microorganismos presentes en el suelo, que consisten en la producción de enzimas fitasas y fosfatasa ácidas mediante el sistema radicular y el metabolismo microbiano. Estas enzimas son importantes para la adquisición eficiente del fósforo y, tanto su liberación, como su actividad, están sujetas a los cambios de pH, pues en condiciones fuertemente ácidas estas de pueden desnaturar debido a la perturbación del carácter iónico de los grupos carboxilo y amino en la superficie proteica, lo que explica la baja concentración de fósforo disponible en el humedal sin planta de agua residual (pH = 4,25). Dichas enzimas catalizan la hidrólisis del enlace éster y anhídrido del ácido fosfórico, que constituyen los compuestos de fósforo orgánico, permitiendo la liberación del ión ortofosfato, fácilmente asimilable por las plantas (Ecuación 6) (Fuentes, Bolan, Naidu, & Mora., 2006; Zhang et al., 2014) aumentando con ello la concentración del fósforo disponible.



**Ecuación 6. Liberación de fosfato por acción de la fosfatasa**

Sin embargo, estos iones tienen alta reactividad en el medio y aquellos que no son utilizados por la planta o los

microorganismos, son adsorbidos sobre la superficie coloidal del suelo y tienden a formar especies de complejos muy estables, con varios cationes metálicos como Fe y Al, en suelos ácidos, mediante la sustitución de los grupos hidroxilos presentes en los aniones ortofosfato, fijando y reteniendo de esta manera los compuestos fosfatados en el suelo (Cerón & Aristizábal, 2012). Esto se pudo comprobar al obtener una relación inversa entre el hierro y el fósforo disponibles en todos los tratamientos.

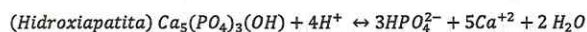
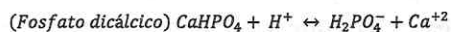
Los humedales con planta y *Penicillium sp.*, aumentaron también la concentración del fósforo disponible en el suelo, en contraste con el tratamiento control. El *Penicillium sp.*, por ser un hongo solubilizador de fósforo, produce ácidos orgánicos de bajo peso molecular y libera protones a la solución del suelo durante su metabolismo – principalmente por respiración oxidativa o fermentación de carbono orgánico soluble (glucosa)–, dichos ácidos suelen encontrarse en el suelo en forma aniónica (citrato, oxalato, acetato, malato, tartrato, entre otros), la cual contiene en sus estructuras grupos carboxilos e hidroxilos que son fácilmente adsorbidos sobre la superficie del suelo, por lo que producen un impacto en su carga superficial, dando lugar a la formación de complejos con cationes metálicos (Fe y Al) en solución; es decir, reemplaza el fósforo de los fosfatos férricos y de aluminio unidos a la superficie del suelo, induciendo la liberación de fosfatos solubles. Asimismo, el alto contenido de ácidos orgánicos aumenta su adsorción en la superficie del suelo ocasionando la disminución en la adsorción de fósforo, debido a la competencia por sitios activos, bloqueándolos para la formación de complejos con Al, Fe y Ca (Bashan, 2004; Fuentes et al., 2006; Blank, 2012; Tanveer & Guangzhi, 2012).

Se esperaba que la concentración de fósforo disponible en el humedal con planta alimentado con agua residual fuera mayor que en el tratamiento control por la presencia de la planta y de los fosfatos provenientes de detergentes en las aguas domésticas (Hernández & Ramos, 2015), sin embargo, los resultados no reflejan diferencias significativas, debido a que este tipo de aguas es portador de muchas especies microbianas, mayoritariamente bacterias, las cuales requieren de este nutriente por estar presente en las proteínas, lípidos, en su pared celular y en los ácidos nucleicos. Igualmente, la mayor presencia de materia orgánica procedente del agua residual (Hernández & Ramos, 2015) aumenta la liberación de fosfatos, como efecto de sus procesos de descomposición y degradación;



no obstante, aquellos que no son absorbidos por la planta y la biomasa microbiana pueden ser reincorporados en la materia orgánica del suelo, depositándose en forma de minerales poco solubles (Park et al., 2011; Behera et al., 2013).

Conforme con la Figura 13, hay un aumento significativo en la concentración del fósforo disponible entre el humedal con planta y el humedal con planta más *Penicillium sp.*, alimentados con agua control, comparándolos con el tratamiento inicial, debido, precisamente a que el suelo de estos humedales presenta un pH de 6.56 y 6.53, respectivamente, un intervalo óptimo (6.5-7.0) para su disponibilidad, según lo reportado en la literatura, ya que en dicho rango disminuye la posibilidad de precipitación del fósforo como fosfatos de calcio y aluminio. Esta disminución en el pH se le atribuye a los mecanismos de electroneutralidad realizados por las raíces de la planta y a la actividad del *Penicillium sp* inoculado por la producción de ácidos orgánicos, que favorecen la solubilización de los fosfatos insolubles presentes en el suelo (Ecuación 7) (Whitelaw, 1999).



**Ecuación 7. Reacción de fosfato dicálcico y una hidroxiapatita en medio ácido en el suelo**

Por su parte, los humedales tratados con agua residual tuvieron una disminución de pH (ver Figura 4), favoreciendo la precipitación del fósforo en forma insoluble con hierro (fosfatos hidroxilados), cuando el pH está por debajo de 6.5 (Vargas, 2012). Por esta razón disminuye significativamente la concentración del fósforo disponible en el humedal sin planta de agua residual (pH=4.25) frente al tratamiento control.

Por su parte, el contenido de materia orgánica procedente del agua residual (Hernández & Ramos, 2015) explica también la disminución en la concentración del fósforo disponible en el humedal sin planta alimentado con agua residual, relacionado con el tratamiento control. Dichos compuestos orgánicos son adsorbidos en el suelo mediante intercambio de ligandos con los grupos hidroxilos de su superficie, disminuyendo así la retención del fósforo y aumentando así la probabilidad de que dichos compuestos fosfatados se encuentren en la solución del suelo y que, al incidir el agua residual sobre ellos, sean fácilmente arrastrados por ella (Fuentes et al., 2006).

Sin embargo, la materia orgánica también genera nuevos sitios de adsorción al producir aniones orgánicos en su descomposición. Estos aniones pueden actuar como agentes quelantes de Fe y Al, inhibiendo el enlace de los grupos ortofosfato con los metales presentes en la solución del suelo, aumentando la probabilidad de que aquellos compuestos fosfatados perduren más tiempo en la solución del suelo para que sean arrastrados por el agua residual que incide sobre el mismo o, en su defecto, formen productos de estabilización (poco solubles y asimilables) entre óxidos hidratos de Fe, Al y Mn con los fosfatos inorgánicos solubles (Rajadel, 2011). Además, al tratarse de humedales sin planta y sin hongo solubilizador de fósforo, es de esperarse una menor concentración de fósforo disponible (Whitelaw, 1999; Osorio, 2010; Yang, He, Lin, & Stoffella, 2010; Céron & Aristizábal, 2012).

### C. Propiedades microbiológicas

#### Hongos solubilizadores de fósforo (HSF)

Que los hongos solubilizadores de fosfatos establezcan micorrizas con las raíces de las plantas para completar su ciclo de vida, explica su aumento, aunque no significativo, en la biomasa microbiana en el humedal con planta de agua residual relacionado con el tratamiento control (inicial), puesto que se ha encontrado que la presencia de exudados radicales (azúcares, aminoácidos), que se obtienen mediante el metabolismo de las plantas, favorece la velocidad de germinación de las esporas; en estas condiciones, el micelio producido alcanza un mayor desarrollo aumentando su grado de ramificación, lo que le permite una abundante proliferación. Entre tanto, sustancias importantes, como la fructosa y la glucosa generadas por la planta, son captadas por los hongos transformadas en compuestos lipídicos en el micelio intraradical, y posteriormente transportados al micelio extraradical, convirtiéndose en carbohidrato. De este aporte de carbono depende el micelio extraradical por su incapacidad para absorber hexosas del medio (Whitelaw, 1999; González, 2005; Khan, 2005).

Por otra parte, el medio Pikovskaya, al ser una fuente rica en fosfato tricálcico, lo convierte en un medio específico para el crecimiento de los hongos solubilizadores de fósforo presentes en el suelo. Al realizar el conteo para el suelo del tratamiento control (inicial), fue posible establecer géneros dominantes, pertenecientes al *Aspergillus*, por la formación de colonias de color negro, café, amarillo y verde; así mismo, el micelio estéril, colonias



de color blanco, que indican la existencia de otros géneros de hongos solubilizadores de fósforo presentes en el suelo. Los resultados obtenidos señalan un alto crecimiento de los mismos por la presencia de la planta en el humedal alimentado con agua residual frente al tratamiento control (inicial); de ello se puede inferir que la población de HSF presente en el suelo, corresponde a hongos micorrícicos obligados a colonizar la raíz de una planta hospedadora para completar su ciclo de vida. Entre tanto, al inocular el *Penicillium sp.*, se genera una competencia entre este último y los hongos solubilizadores de fósforo presentes en el suelo por un espacio en la rizósfera, debido a que aumenta la demanda de requerimientos nutricionales para su supervivencia, tales como oxígeno, agua disponible, compuestos carbonados (hidratos de carbono) y energía. Infiriendo que muchos de los hongos solubilizadores de fósforo presentes en el suelo no se encuentran lo suficientemente disponibles para luchar con el *Penicillium sp.*, permitiendo que estos últimos se adapten, colonicen la rizósfera y persistan, limitando el aporte de nutrientes a las demás especies presentes, ocasionando con ello un descenso en la biomasa microbiana, razón por la cual se encontró una menor población de hongos solubilizadores de fósforo en el humedal con planta más *Penicillium sp.*, respecto del tratamiento control (inicial). Lo anterior se respalda mediante las investigaciones de Zapata (2004) y Daynes (2013) en las que la biomasa microbiana aumentó hasta que todo el carbono disponible fue consumido para satisfacer su mantenimiento y requisitos de crecimiento, generándose un descenso en la producción de enzimas y el contenido de biomasa microbiana, en conformidad con los resultados obtenidos en el humedal con planta, en el que hay mayores unidades formadoras de colonia cuando se abastece con agua residual, y una disminución de la población de los hongos solubilizadores de fosfatos cuando es inoculado el *Penicillium sp.* (Zapata, 2004; Burns et al., 2013; Daynes, 2013).

También se logró establecer que los HSF, no sólo requieren de carbono como nutrimento, sino también de compuestos nitrogenados (amonio, nitratos) por la disminución de la concentración de nitrógeno en los humedales inoculados con el hongo (González, 2005; Burns et al., 2013).

Adicionalmente, se obtuvo una disminución en la concentración de fósforo y potasio en los humedales con planta, en contraste con el aumento hallado en las unidades formadoras de colonia de HSF de los humedales con

planta (agua residual), lo que indica el consumo de estos nutrientes por la comunidad microbiana. El fósforo, por ser un componente esencial de ácidos nucleicos y de mecanismos para la transferencia de energía, y el potasio, necesario para el metabolismo de carbohidratos, la actividad enzimática y el mantenimiento del balance iónico (González, 2005; Arias & Piñeros, 2008; Fuentes et al., 2006).

La literatura reporta otros factores que intervienen en el crecimiento de los hongos, como la temperatura, que puede estimular o inhibir el crecimiento de los hongos, afectando la germinación de esporas, el crecimiento del tubo germinal y el crecimiento del micelio; aunque no se llevó un control pertinente de esta, se ha encontrado que la biomasa microbiana disminuye a medida que la temperatura del suelo se incrementa en 0.5°C (Burns et al., 2013).

Arias y Piñeros (2008) mencionan que la temperatura de los suelos, cuando se encuentran a temperatura ambiente, es de 20 a 21°C como máximo en horas de la mañana, y establece que la temperatura óptima para su crecimiento es 25°C; en contraste, informa que el rango adecuado es de 25 a 30°C. Por su parte, Martínez-Vázquez, Hernández-Rivera, Ojeda-Morales, y García-Marín (2006) indican que los microorganismos presentan el crecimiento óptimo en un rango de temperatura de 28 a 39°C, mientras otros estudios anuncian que la gran mayoría de hongos se desarrollan en rangos de temperatura entre 10° y 40°C, pero en la mayoría de los casos entre 15 y 30°C. Otro hallazgo revela que para el género *Penicillium sp.*, la temperatura óptima de crecimiento está alrededor de los 25°C, pero que su crecimiento es viable entre 5°C y 37°C; El desarrollo óptimo del *Penicillium sp.*, se da entre 30°C y 31°C, aunque se ha reportado que en nueve especies de él, la media óptima para su crecimiento es 28°C; sin embargo, estudios recientes han recomendado un intervalo de 28±2°C para su crecimiento óptimo. Arias y Piñeros (2008), concluyen que 29°C es la mejor temperatura para la multiplicación del *Penicillium sp.*, y un poco menos 35°C a 40°C.

De acuerdo con lo anterior, se especula que la disminución en la población microbiana en los humedales que cuentan con la existencia de la planta y el *Penicillium sp.*, en contraste con el tratamiento control, se debe al aumento en la temperatura causada por la alta actividad enzimática.



Teniendo en cuenta las Figura 4 y 14, el humedal con planta de agua residual fue el que presentó mayor población de hongos solubilizadores de fósforo, con un pH de 5.78 frente al tratamiento control. Estos resultados coinciden con lo indicado por Moreno, quien establece que el hongo perteneciente al género *Penicillium sp* tiene un desarrollo óptimo en un intervalo de 5 a 6. Sin embargo, otros autores han afirmado que este género prolifera mejor a pH 7.0 (Martínez-Vázquez et al., 2011); en contraposición con esto, se obtuvo una menor cantidad de hongos solubilizadores de fósforo en el tratamiento control (pH=7.08), debido a que se afecta la solubilidad de los metales, dificultando su disponibilidad (Arias & Piñeros, 2008).

La literatura reporta que los microorganismos solubilizadores de fosfato se caracterizan por ser aerobios, sin embargo, especies del género *Penicillium sp.*, se caracterizan por ser aerobios facultativos, ventaja que les permite adaptarse fácilmente a los humedales artificiales y persistir en la rizósfera de la planta, al contar con mayor disponibilidad de agua y compuestos carbonados como fuente de nutrientes y energía, impidiendo que los demás HSF presentes en el suelo se encuentren suficientemente disponibles para competir con el *Penicillium sp.*, Por esta razón, en el humedal con planta de agua residual disminuye la población de los HSF, en contraste con el tratamiento control (Martínez-Vázquez et al., 2011; Vargas, 2012; Patiño & Sanclemente, 2014).

## V. CONCLUSIONES

Se obtuvo una relación directa entre la porosidad, la densidad real y el contenido de materia orgánica, en contraste con el comportamiento inverso de ésta última frente a la densidad aparente, la cual aumentó proporcionalmente a la concentración de magnesio en el suelo.

La naturaleza ácida del agua residual, la *Stipa ichu* y el *Penicillium sp.*, proporcionaron un descenso significativo en el pH del suelo, en comparación con el tratamiento inicial.

Se encontró que el carácter ácido del agua residual favoreció las pérdidas por lixiviación o adsorción a través las raíces de las plantas de los cationes  $K^+$ ,  $Mg^{+2}$  y  $Ca^{+2}$ , frente al tratamiento control; no obstante, bajo estas mismas condiciones se obtuvo un aumento significativo en la concentración de hierro, debido al aporte de este metal realizado por la misma.

El contenido de materia orgánica procedente del agua residual, la liberación de compuestos orgánicos de los exudados de las raíces de la planta y el mecanismo de solubilización de fosfatos realizado por el *Penicillium sp.*, aumentó significativamente la capacidad de intercambio catiónico del suelo, en contraste con el tratamiento control (inicial).

Se halló una disminución significativa del contenido de materia orgánica en los diferentes humedales alimentados con agua residual respecto del tratamiento inicial, debido principalmente al aporte de microorganismos procedentes del agua residual, que aumentan la demanda de materia orgánica como fuente de carbono y energía.

El humedal con planta, abastecido con agua residual, denotó un aumento significativo en el porcentaje de nitrógeno total en relación con el tratamiento control, ocasionado por la retención de los compuestos orgánicos nitrogenados procedentes del agua residual y el aporte de bacterias para la fijación biológica de nitrógeno.

La actividad biológica de la *Stipa ichu* y el mecanismo de solubilización de fosfatos insolubles del *Penicillium sp.*, aumentó considerablemente la concentración del fósforo disponible frente al tratamiento inicial. Entre tanto, el carácter ácido del agua residual ocasionó una disminución significativa del fósforo soluble, al favorecer la formación de complejos estables con cationes metálicos como el hierro.

No se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos en la estimación de los hongos solubilizadores de fosfatos, sin embargo, su crecimiento se vio favorecido en los humedales con planta de agua residual por la menor competencia microbiológica por nutrientes esenciales

## VI. REFERENCIAS

- de Almeida, M., Vargas, F., Ferreira, L., Ben da Costa, A., de Souza-Schneider, R., Machado, Ê., & Kohler, A. (2015). Cation and anion monitoring in a wastewater treatment pilot project. *Revista Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia*, 76, 82-89.
- Ardila, & Machado. (2013). *Valoración de la eficiencia de remoción de DBO, DQO y SST en aguas residuales industriales de la especie Stipa ichu en una planta piloto frente a la especie Phragmites australis en un humedal sub-superficial*. Universidad Santiago de Cali, Santiago de Cali.
- Arias, E. & Piñeros, P. (2008). *Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los paramos de Guasca y Cruz verde* [tesis]. Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá, Colombia.
- Arias. (2007). *Suelos tropicales*. San José, Costa Rica: EUNED.



- Bashan. (2004). Recent advances in removing phosphorus from wastewater and its future use as fertilizer (1997–2003). *Water Research*, 38, 4222-4246.
- Behera, B. C., Singdevsachan, S. K., Mishra, R. R., Dutta, S. K., & Thatoi, H. N. (2014). Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilizing microorganism in mangrove—a review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(2), 97-110.
- Beltrán. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria*, 15, 101-113.
- Blank. (2012). The cell and P: from cellular function to biotechnological application. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 846-851.
- Bolan. (2014). Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils – To mobilize or to immobilize? *Journal of Hazardous Materials*, 266, 141-166.
- Borrero, J., Montoya, F., & González, L. (2013). Desarrollo de un sistema aerodesalinizador para la potabilización de acuíferos salobres en la Guajira colombiana. *Ingenium*, 7(17), 11-18.
- Burns, R. G., DeForest, J. L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R. L., Stromberger, M. E., Wallenstein, M. D., ... & Zoppini, A. (2013). Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 216-234.
- Camargo, I. & Mariscal, K. (2012). Escasez de agua: en busca de soluciones normativas. *Economía Informa*, 374, 53-74.
- Cerón, L., & Aristizábal, F. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Revista Colombiana Biotecnológica*, 14, 285-295.
- Cisneros. (2015a). *Evaluación de solubilización de fosfatos por microorganismos rizosféricos de un Andisol del municipio de Cajibío (Cauca) y su efecto en plántulas de café (Coffea arabica Var. Castillo)* [tesis de doctorado]. Universidad Nacional de Colombia: Palmira.
- Condi. (2000). *Dinámica de la liberación y fijación de potasio en el suelo* [documento inédito]. Recuperado de: [http://lacs.ipni.net/0/C2645DDDD711C34D303257967007D6ED5/\\$FILE/AA%204.pdf](http://lacs.ipni.net/0/C2645DDDD711C34D303257967007D6ED5/$FILE/AA%204.pdf)
- Costa, C. (2005). El índice de escasez de agua, ¿un indicador de crisis ó una alerta para orientar la gestión del recurso hídrico? *Revista de Ingeniería*, 22, 102-109. doi:10.16924/riua.v0i2.391
- Daynes. (2013). Development and stabilisation of soil structure via interactions between organic matter, arbuscular mycorrhizal fungi and plant roots. *Soil Biology & Biochemistry*, 57, 683-694.
- Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez, L., & Andrade, M. (2010). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. Cochabamba, Bolivia: Centroagua.
- Domínguez. (2012). *Caracterización de las actividades bacterianas presentes en el humedal artificial 1 de la uam iztapalapa*. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- Fuentes, B., Bolan, N., Naidu, R., & Mora, M. L. (2006). Phosphorus in organic waste-soil systems. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, 6(2), 64-83.
- García & García. (2013). *Química agrícola química del suelo y de nutrientes esencial*: Mundi-Prensa Libros.
- González. (2005). *Estudio de los mecanismos implicados en la homeostasis de metales pesados en el hongo formado de micorrizas arbusculares Glomus intraradices* [tesis doctoral]. Universidad de Granada: España.
- González. (2014). *Efecto en la variación de la altura laminar en la remoción de patógenos y nitrógeno en humedales construidos de flujo subsuperficial vertical tratando aguas residuales domésticas en condiciones tropicales* [tesis]. Universidad tecnológica de Pereira: Colombia.
- Hernández & Ramos. (2015). *Evaluación de la eficiencia de humedales artificiales de flujo sub-superficial utilizando la planta Stipa Ichu para el tratamiento de aguas residuales domésticas*. Universidad Santiago de Cali, Santiago de Cali.
- Jaramillo. (2002). *Introducción a la ciencia del suelo* F. Herrón (Ed.)
- Kass, D. (2004). *Fertilidad de suelos*. San José, Costa Rica: UNED.
- Khan, Zaidi, & Musarrat. (2014). *Phosphate Solubilizing Microorganisms: Principles and Application of Microphos Technology*: Springer International Publishing.
- Khan. (2005). Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, 355-364.
- Kulandaivelu, V., & Bhat, R. (2012). Changes in the physico-chemical and biological quality attributes of soil following amendment with untreated coffee processing wastewater. *European Journal of Soil Biology*, 50, 39-43.
- L. Rojas [Ed.]. (1993). *Manual de análisis de suelos, plantas y aguas para riego*. Bogotá, Colombia: Produmedios.
- Madera, C., Silva, J. P., & Peña, M. (2005). Sistemas Combinados para el tratamiento de aguas residuales basados en tanques sépticos-filtro anaerobio y humedales superficiales. *Ingeniería y Competitividad*, 7(1), 5-10.
- Martínez, E., Fuentes, J. P., & Acevedo, E. (2008). Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 8(1), 68-96.
- Martínez-Vázquez, J., Hernández-Rivera, M., Ojeda-Morales, M., & García-Marín, M. (2011). Condiciones ambientales y de nutrientes óptimos para el desarrollo del microorganismo hidrocarbónico-clasta *Penicillium* sp. in vitro. *Akadémeia*, 9, 97-112.
- Murray-Núñez, R. M., Bojorquez-Serrano, J. I., Hernández-Jimenez, A., Orozco-Benitez, M. G., García-Paredes, J. D., Gómez-Aguilar, R., ... & Aguirre-Ortega, J. (2011). Efecto de la materia orgánica sobre las propiedades físicas del suelo en un sistema agroforestal de la Llanura Costera Norte de Nayarit, México. *Bio Ciencias*, 1(3), 27-35
- Navarro, S. & Navarro, G. (2003). *Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. Madrid, España: Mundi-Prensa.
- Ocampo, P. & Tigreros, E. (2013). Las plantas acuáticas en la disminución del nivel de contaminación por aguas residuales domésticas. *Ingenium*, 7(15), 61-73.
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2010). *Manual para el desarrollo de planes de seguridad del agua: Metodología pormenorizada de gestión de riesgos para proveedores de agua de consumo*. Ginebra, Suiza: OMS.
- Osorio. (2010). Microorganismos del suelo y su efecto sobre la disponibilidad de nutrientes en suelos ácidos del trópico. *Suelos Ecuatoriales*, 41, 74-91.
- Ospina, O., & Moyano, Y. (2015). Evaluación del aprovechamiento para consumo humano del agua de lluvia en una microcuenca urbana de Ibagué, Tolima, Colombia. *Ingenium*, 9(24), 11-22.
- Otero, L., Ortega, F., & Morales, M. (1998). Participación de la arcilla y la materia orgánica en la capacidad de intercambio catiónico de vertisoles de la provincia Granma. *Terra*, 16(3), 16.
- Park, J. H., Lamb, D., Paneerselvam, P., Choppala, G., Bolan, N., & Chung, J. W. (2011). Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. *Journal of hazardous materials*, 185(2), 549-574.



- Patiño & Sanclamente. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. *Ciencias agrícolas*, 10, 288-297.
- Peng, W., Yin, W., Bo, S., Jin-Fa., & Ren-Xue, X. (2015). Relationships between arbuscular mycorrhizal symbiosis and soil fertility factors in citrus orchards along an altitudinal gradient. *Pedosphere*, 25(1), 160-168.
- Pérez, A., Díaz, J., & González, G. (2014). Estudio comparativo de dos sistemas de filtración casera para el tratamiento de agua para consumo humano. *Ingenium*, 8(22), 11-20.
- Pérez-Esteban, J., Escolástico, C., Masaguer, A., Vargas, C., & Moliner, A. (2014). Soluble organic carbon and pH of organic amendments affect metal mobility and chemical speciation in mine soils. *Chemosphere*, 103, 164-171.
- Plaza, C., Courtier-Murias, D., Fernández, J. M., Polo, A., & Simpson, A. J. (2013). Physical, chemical, and biochemical mechanisms of soil organic matter stabilization under conservation tillage systems: A central role for microbes and microbial by-products in C sequestration. *Soil Biology and Biochemistry*, 57, 124-134.
- Rajadel. (2011). *Análisis de los rendimientos, durante la puesta en marcha, de un sistema de tratamiento basado en humedales artificiales destinado a la recuperación del lago de L' Albufera de Valencia* [tesis]. Universidad Politécnica de Valencia: España.
- Romero-Aguilar, M., Colín-Cruz, A., Sánchez-Salinas, E., & Ortiz-Hernández, M. A. (2009). Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: evaluación de la remoción de la carga orgánica. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 25(3), 157-167.
- Saidi. (2012). Importance and Role of Cation Exchange Capacity on the Physicals Properties of the Cheliff Saline Soils (Algeria). *SciVerse ScienceDirect*, 33, 435-449.
- Salamanca & Sadeghian. (2005). La densidad aparente y su relación con otras propiedades en suelos de la zona cafetera colombiana. *Cenicafé*, 56, 381-397.
- Tanveer & Guangzhi. (2012). A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media. *Journal of Environmental Management*, 112, 429-448.
- Tejada, C., Villabona, Á., & Buelvas, B. Diagnóstico y evaluación de una planta de tratamiento de agua potable: estudio de caso. *Ingenium*, 7(16), 39-49.
- Torrente. (2007). Importancia de las propiedades físicas del suelo en el uso eficiente del agua en la agricultura de alto rendimiento. *Suelos ecuatoriales*, 37, 15-23.
- Vargas. (2012). *Microorganismos solubilizadores de fosfatos en suelos*. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga.
- Whitelaw, M. A. (1999). Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Advances in Agronomy*, 69, 99-151.
- Yang, Y. G., He, Z. L., Lin, Y., & Stoffella, P. J. (2010). Phosphorus availability in sediments from a tidal river receiving runoff water from agricultural fields. *Agricultural Water Management*, 97(11), 1722-1730.
- Zapata. (2004). Función de la materia orgánica sobre la movilidad iónica. *Suelos Ecuatoriales*, 35, 23-35.
- Zhang, D. Q., Jinadasa, K. B. S. N., Gersberg, R. M., Liu, Y., Ng, W. J., & Tan, S. K. (2014). Application of constructed wetlands for wastewater treatment in developing countries—a review of recent developments (2000–2013). *Journal of environmental management*, 141, 116-131.
- Zheng, S., Hu, J., Chen, K., Yao, J., Yu, Z., & Lin, X. (2009). Soil microbial activity measured by microcalorimetry in response to long-term fertilization regimes and available phosphorous on heat evolution. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(10), 2094-2099.

## CURRÍCULOS

*Angélica María Lugo Cardona*. Química egresada de la Universidad Santiago de Cali.

*Laura Catalina Plaza Alzate*. Química egresada de la Universidad Santiago de Cali.

*Carlos A. Cisneros R.* Químico con Maestría en Ciencias Química (área Química Orgánica) de la Universidad del Valle (Cali, Colombia). Próximo a doctorarse en Ciencias Agrarias (área Suelos) en la Universidad Nacional de Colombia (Palmira). Profesor catedrático de las Universidades Santiago de Cali y Nacional de Colombia (Palmira).

*Luz Dary Caicedo Bejarano*. Licenciada en Ciencias de la Educación de la Universidad Santiago de Cali [USC] (1986), Magister en Microbiología de la Universidad del Valle (1995), Especialista en Docencia para la Educación superior de la USC (2001) y estudiante de Maestría en Micología Médica de la Universidad Nacional del Nordeste (Argentina), cohorte 2012 - 2015. Trabaja con el Departamento de Microbiología de la Universidad del Valle, en el área de Micología Médica (apoyo a docencia, investigación y extensión) desde 1993. Es docente hora cátedra y Directora del Grupo de Investigación en Micología (GIM) de la USC. Su línea de investigación en la USC es Biotecnología.