

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**Instituto de Biología, Orientación Ecología**

**“CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE HIDROFOBICIDAD EN SUELOS  
AFECTADOS A LA FORESTACIÓN CON *Eucalyptus sp.* y *Pinus sp.*” .**  
**Primera aproximación**

**por**

**Jimena RODRÍGUEZ GELÓS**

**MONTEVIDEO**  
**URUGUAY**

**2008**

## **PAGINA DE APROBACION**

Tesis aprobada por:

Director: Jorge Hernández

Amabelia Del Pino

Mario Pérez Bidegain

Fecha: 17 de diciembre del 2008

Autor: Jimena Rodríguez

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Ing. Agr. Jorge Hernández; Qco. Andrés Pérez; Ing. Agr. Mario Pérez Bidegain  
Ing. Agr. Patricia Barreto; Ing. Agr. Mónica Barbazán; Lic. Patricia Mai, y a todos que  
de una manera u otra me apoyaron.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	IV
1. INTRODUCCIÓN.....	7
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1. PROCESO DE RETENCIÓN DE AGUA EN LOS SUELOS .....	9
2.2. MEDIDAS DE RETENCIÓN DE AGUA .....	11
2.3. CARACTERÍSTICAS DE HIDROFOBICIDAD (REPELENCIA DE AGUA) POR LOS SUELOS .....	12
2.3.1. Descripción del proceso .....	12
2.4. METODOLOGÍAS DE CARACTERIZACIÓN DE LA HIDROFOBICIDAD EN SUELOS.....	18
2.4.1. Evaluación de la persistencia de la repelencia al agua en el suelo: WDPT	18
2.4.2. Evaluación de la severidad de la repelencia al agua: MED.....	20
2.4.3. Comparación del MED y el WDPT.....	22
2.5. METODOLOGÍAS DE CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS RESPONSABLES DEL PROCESO.....	23
2.5.1. Métodos de extracción: Extracción Soxhlet .....	23
2.5.2. Técnicas para la identificación en el extracto, de los compuestos .que causan la hidrofobicidad.....	25
2.5.2.2. Cromatografía en capa fina (TLC).....	27
2.5.2.3. Cromatografía en columna.....	27
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1. ZONAS DE ESTUDIO Y MUESTREO DE SUELOS .....	29
3.2. ANÁLISIS DE LABORATORIO.....	31
3.2.1. Capacidad de retención de agua .....	31
3.2.2. Medida de la hidrofobicidad del suelo .....	31
3.2.3. Experimento de incubación .....	31
3.2.4. Determinación de compuestos responsables de las características de repelencia al agua .....	32
3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	36
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
5. CONCLUSIONES.....	65
6. RESUMEN .....	66
7. BIBLIOGRAFÍA.....	67
8. ANEXOS.....	72
8.1. ANEXO 1 .....	72
8.2. ANEXO II .....	77

## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro 1. Categorías del WDPT (Doerr, 1998) .....	20
Cuadro 2. Categorías de hidrofobicidad utilizadas por Doerr (1998) según el WDPT, y su correspondencia con el MED .....	20
Cuadro 3. Análisis de varianza para el contenido gravimétrico de agua del suelo a diferentes tensiones y usos del suelo (pastura vs monte).....	42
Figura 1. Esquema de un sistema de cromatografía gaseosa.....	25
Figura 2. Reacción de esterificación de ácidos grasos. ....	34
Figura 3 .Esquema del procedimiento para la identificación de los ácidos grasos e hidrocarburos. ....	35
Figura 4. Tiempo de penetración del agua (WDPT) en muestras de suelo de un Acrisol Álbico de la Unidad Rivera, bajo tres manejos diferentes: campo natural, plantación de <i>Pinus taeda</i> y <i>Eucalyptus grandis</i> .....	38
Figura 5. Distribución de la hidrofobicidad (WDPT) en el perfil del suelo, hasta 80 cm de profundidad, en un Planosol Dístico de la Unidad Algorta. ....	39
Figura 6. Tiempo de penetración del agua (WDPT) en muestras de suelo de un Brunosol (sitio El Tabaré) y un Planosol (sitio El Rosario) de la Unidad Tres Bocas, bajo dos manejos diferentes: campo natural y plantación de <i>Eucalyptus grandis</i> y <i>Eucalyptus dunnii</i> , respectivamente. ....	40
Figura 7. Repelencia del suelo al agua bajo 3 manejos diferentes de restos de cosecha de una plantación de <i>E. globulus</i> en un Vertisol de la Unidad Cuchilla Corralito.....	41
Figura 8. Curvas de retención de para el sitio El Rosario, a las profundidades de 0-3 cm y 3-6 cm. ....	43
Figura 9. Curvas de retención de agua para el sitio El Minero, a las profundidades de 0-3 cm y 3-6 cm. ....	43
Figura 10. Curvas de retención de agua para el sitio El Tabarè, a las profundidades de 0-3 cm y 3-6 cm. ....	44
Figura 11. Repelencia al agua (WDPT) en función de las semanas de incubación de las muestras, para el establecimiento El Tabaré.....	45
Figura 12. Repelencia al agua (WDPT) en función de las semanas de incubación de las muestras, para el establecimiento El Rosario. ....	46
Figura 13. TLC de los extractos en isopropanol: hidróxido de amonio y acetato de etilo, y los 4 estándares utilizados (1- CN en isopropanol: hidróxido de amonio; 2- eucalipto en isopropanol: hidróxido de amonio; 3- pino en isopropanol: hidróxido de amonio; 4- CN en acetato de etilo; 5- eucalipto en acetato de etilo; 6-- pino en acetato de etilo; 7- ácido oleico; 8- esperma de ballena; 9- alcohol mirístico; 10- parafilm).....	48
Figura 14. TLC de los extractos en isopropanol: hidróxido de amonio y acetato de etilo, con los 2 estándares utilizados (1-eucalipto en isopropanol: hidróxido de amonio; 2- CN en isopropanol: hidróxido de amonio; 3- pino en isopropanol: hidróxido de amonio; 4- eucalipto en acetato de etilo; 5- CN en acetato de etilo; 6- pino en acetato de etilo; 7- colesterol como estándar de fitoesteroles; 8- ácido palmítico). 50	
Figura 15. Revelado de TLC mediante UV a 366 nm de los extractos en isopropanol: hidróxido de amonio y acetato de etilo, y los 4 estándares utilizados (1- CN en isopropanol: hidróxido de amonio; 2- eucalipto en isopropanol: hidróxido de amonio; 3- pino en isopropanol: hidróxido de amonio; 4- CN en acetato de etilo; 5-	

eucalipto en acetato de etilo; 6-- pino en acetato de etilo; 7- ácido oleico; 8- esperma de ballena; 9- alcohol mirístico; 10- parafilm). .....	51
Figura 16. TLC de los extractos, utilizando 2 fases móviles (1- CN en isopropanol: hidróxido de amonio; 2- eucalipto en isopropanol: hidróxido de amonio; 3- pino en isopropanol: hidróxido de amonio; 4- ácido palmítico; 5- colesterol; 6- ácido oleico; 7- esperma de ballena; 8- alcohol mirístico; 9- parafilm); fases móviles: primero en n-hexano: acetato de etilo (1:1) y ácido acético 1%), y luego n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%. .....	52
Figura 17. Revelado de TLC mediante UV a 366 nm de los extractos, utilizando 2 fases móviles (1- CN en isopropanol: hidróxido de amonio; 2- eucalipto en isopropanol: hidróxido de amonio; 3- pino en isopropanol: hidróxido de amonio; 4- ácido palmítico; 5- colesterol; 6- ácido oleico; 7- esperma de ballena; 8- alcohol mirístico; 9- parafilm); fases móviles: primero en n-hexano: acetato de etilo (1:1) y ácido acético 1%), y luego n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%. .....	53
Figura 18. TLC del extracto de eucalipto en acetato de etilo al pasarlo por la columna cromatográfica (1- eucalipto en n-hexano; 2- eucalipto en una mezcla de n-hexano: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ; 3- eucalipto en una mezcla de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : ácido acético; 4- ácido palmítico; 5- ácido oleico; 6- parafilm); fase móvil: n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%..	54
Figura 19. TLC del extracto de campo natural (CN) al pasarlo por la columna cromatográfica (1- CN (isopropanol: hidróxido de amonio) en n-hexano; 2- CN (isopropanol: hidróxido de amonio) en una mezcla de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : ácido acético 3- CN (acetato de etilo) en CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : ácido acético; 4- CN (acetato de etilo) en una mezcla de n-hexano; 5- parafilm; 6- ácido palmítico; 7- ácido oleico); fase móvil: n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%. .....	55
Figura 20. TLC del extracto de pino al pasarlo por la columna cromatográfica (1- pino (isopropanol: hidróxido de amonio) en n-hexano; 2- pino (isopropanol: hidróxido de amonio) en una mezcla de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : ácido acético 3- pino (acetato de etilo) una mezcla de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : ácido acético; 4- pino (acetato de etilo) en n-hexano; 5- ácido palmítico; 6- ácido oleico; 7-parafilm) ; fase móvil: n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%.....	56
Figura 21. Cromatograma para el estearato de metilo.....	59
Figura 22. Cromatograma para el oleato de metilo. ....	60
Figura 23. Cromatograma para el palmitato de metilo. ....	61
Figura 24. Cromatograma para la muestra esterificada del campo natural. ....	62
Figura 25. Cromatograma para la muestra esterificada bajo eucalipto. ....	63
Figura 26. Cromatograma para la muestra esterificada bajo pino. ....	64

## **1. INTRODUCCIÓN**

En las últimas décadas, el sector forestal en nuestro país se ha expandido rápidamente. Hasta 1987, el país tenía menos de 25.000 hectáreas plantadas con especies de valor industrial, cuyo destino era abastecer la demanda de consumo. Sin embargo, ya en la década de los 90 comienza un período de rápida expansión del área forestada debido a las políticas de incentivo, llegando a las 700.000 hectáreas en la actualidad (FAO, 2005). Este rápido crecimiento es consecuencia de la promulgación de la ley N° 15.939, que declara de interés nacional la defensa de los recursos y la economía forestal.

Las especies más utilizadas son especies exóticas, de rápido crecimiento, entre las que se encuentran los eucaliptos y pinos. Las plantaciones de *Eucalyptus* representan el 48% de la superficie forestada del país, y las especies más utilizadas son: *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus maidenii* y *Eucalyptus dunnii*. La superficie forestada con *Pinus* representa el 40% del total forestado, y las especies que más se utilizan son: *Pinus taeda* y *Pinus elliotti*. (Sociedad de Productores Forestales del Uruguay, 2007). Los departamentos en donde se encuentra la mayor concentración de plantaciones son Rivera, Tacuarembó, Lavalleja, Río Negro y Paysandú. Estas plantaciones de especies forestales significan un cambio importante en el uso de la tierra que reemplaza en muchas economías a los bosques naturales como principales fuentes de productos forestales (FAO, 2005). En nuestro país, los suelos afectados a la forestación comercial tienen generalmente baja aptitud agrícola, estando en la mayoría de las situaciones bajo pasturas naturales.

Han surgido inquietudes en diferentes ámbitos (sociedad, comunidad científica y empresas productoras) acerca de los cambios que pueden estar provocando estos sistemas de producción en el medio ambiente. Esto ha llevado a la necesidad de la realización de estudios que permitan identificar el impacto ambiental de la forestación, sobre los diferentes recursos naturales (agua, suelo, biodiversidad).

Uno de los aspectos más preocupantes radica en la conservación del recurso agua del suelo. Existen evidencias experimentales que indican que los suelos bajo

vegetación de árboles presentan menores contenidos de agua que bajo pasturas nativas. Esto puede resultar como consecuencia de diferencias en la dinámica del agua en el sistema suelo-planta (evapotranspiración, infiltración, escurrimiento, y características de retención de agua por los suelos). Uno de los aspectos relacionados con la infiltración y retención de agua por los suelos está asociado a la capacidad de los suelos de retener o repeler a las moléculas de agua. Este comportamiento da lugar al fenómeno conocido como hidrofobicidad (water repellency). Dicho proceso está asociado a la presencia de compuestos orgánicos producidos por cierto tipo de vegetación (o la descomposición de la misma por los microorganismos del suelo), lo que determina el comportamiento hidrofóbico de los suelos. El cambio de vegetación (de pastoril a forestal) puede estar generando condiciones de mayor hidrofobicidad por parte de los suelos, lo cual contribuye a los cambios en la dinámica del agua en los sistemas forestales.

Los objetivos del presente trabajo fueron:

- 1) Determinar la existencia del fenómeno de hidrofobicidad en suelos con diferentes manejos (plantaciones de pino, eucalipto y campo natural).
- 2) Identificar los grupos de compuestos que provocan la repelencia al agua.

## **2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. PROCESO DE RETENCIÓN DE AGUA EN LOS SUELOS**

El contenido de agua del suelo es la variable que gobierna tanto el contenido de aire, así como el intercambio de gases, lo cual afecta la respiración de las raíces, la actividad de los microorganismos y el estado químico de los suelos, la difusión de nutrientes a las raíces, la temperatura del suelo, y otras reacciones (Hillel, 1982; Jury & Horton, 2004).

La principal característica de la molécula de agua que le permite participar en la mayoría de las reacciones es su polaridad, la cual está determinada por su dipolo. Esta propiedad explica como las moléculas de agua interactúan entre sí, con iones cargados electrostáticamente, y su adsorción a las cargas de las arcillas (Durán, 1991; Jaramillo, 2004).

El comportamiento del agua en el suelo depende principalmente de dos fuerzas que son las responsables de la retención y movimiento del agua, estas son la cohesión y la adhesión. La cohesión es una fuerza de atracción entre las moléculas de agua, a diferencia de la adhesión, que es la fuerza de atracción de las moléculas de agua hacia las superficies sólidas (Durán, 1991; Hillel, 1998). Otra propiedad que también influye en su comportamiento es la tensión superficial que ocurre en la interfase agua-aire, y el resultado es una fuerza de atracción neta dentro del líquido, siendo esta propiedad de gran importancia en el fenómeno de capilaridad. (Jury & Horton, 2004; Jaramillo, 2004).

Para que un líquido como el agua, moje a una superficie sólida como el suelo, el agua se debe esparcir sobre el suelo, y las fuerzas de cohesión entre las moléculas de agua son debilitadas, ya que parte de ellas se convierten en fuerzas de adhesión del agua hacia el suelo. En el caso del suelo, el cual es un medio poroso, la interacción de ambos componentes se refleja en la entrada del agua a través de los poros, y su humectación. Pero si el suelo fuera hidrofóbico, se manifiesta como la permanencia del agua sobre el suelo, con la menor superficie de contacto posible. Por lo tanto, cuando se coloca una

gota de agua sobre una superficie repelente, las fuerza de cohesión, dirigidas hacia el interior de la gota, le dan la forma esférica que la caracteriza (Jaramillo, 2004).

Al colocar una gota de agua sobre el suelo, se pueden definir tres interfases (sólido-líquido; líquido-aire y sólido- aire), y en el punto en donde convergen las tres fases se forma un ángulo de  $360^\circ$ . El ángulo que se forma entre el líquido y el sólido se conoce como “ángulo de contacto” (Jaramillo, 2004; Jury & Horton, 2004; Hillel, 1998).

La capilaridad es un fenómeno que se da por la presencia de dos fuerzas, la adhesión y la tensión superficial del agua; la adhesión hace que el agua se mueva sobre las paredes de los canales que la contienen y la tensión superficial se da por la atracción mutua de las moléculas entre sí (Durán, 1991). Estas fuerzas permiten que el agua se mueva dentro de los poros, hasta que la fuerza ejercida sobre la columna de agua en la interfase aire-agua, se equilibre con el peso de la columna de agua (Jury & Horton; 2004). Por lo general, la altura del ascenso resultante de la capilaridad es mayor en suelos con textura fina, ya que cuanto menor el diámetro de los poros, mayor será el ascenso del agua a través de ellos.

La retención del agua por el suelo y su movimiento, son fenómenos que se relacionan con la energía. El agua del suelo, como cualquier otro cuerpo, contiene energía en diferentes formas y cantidades. En general, se reconocen dos formas: la energía cinética y la potencial; pero dado que el movimiento del agua en el suelo es muy lento, la energía cinética es nula. Sin embargo, la energía potencial del agua en el suelo debe ser definida respecto a un estado estándar o de referencia (Jury & Horton; 2004). Al igual que cualquier sustancia, el agua en el suelo se mueve desde una zona con mayor energía libre a una zona de menor energía; por lo tanto, el agua se mueve desde un lugar del suelo saturado de agua hacia una zona seca. Esta diferencia de energía se conoce como potencial total en el suelo, y es lo que determina el comportamiento del agua. Es importante destacar, que en suelos con bajos contenidos de agua, ésta está más atraída por los coloides y presenta poca energía potencial (Durán, 1991).

Considerando que el movimiento del agua en el suelo ocurre principalmente bajo condiciones de no saturación, los potenciales que intervienen son el potencial de matriz

y el gravitacional. Por los macroporos, el agua cae hacia abajo a favor de diferencias del potencial gravitacional, y este flujo es succionado por los microporos vacíos (Durán, 1991). El potencial de matriz es consecuencia de la afinidad del agua a las partículas del suelo y a los poros capilares, y el agua se mueve desde una zona con bajo potencial de matriz hacia otra zona con alto potencial (aumenta el valor absoluto del potencial de matriz) (Hillel, 1982).

La retención del agua en el suelo está principalmente afectada por la textura y estructura del suelo. En suelos con altos contenidos de arcilla, el agua está retenida más fuertemente debido a que presentan mayor microporosidad, y en suelos donde predomina la fracción arena, la retención de agua es muy baja a cualquier valor de succión de matriz, porque posee poca microporosidad. En cuanto a la estructura, ésta afecta la curva de retención de agua a valores bajos de succión de matriz. Un deterioro en la estructura hace que se pierdan macroporos, transformándose en microporos (Hillel, 1982; Durán, 1991).

En un suelo saturado de agua, el potencial de matriz es cero, y los macro y microporos están llenos de agua. Luego de esta situación, se produce un movimiento descendente rápido, en respuesta a la gravedad, que después de unos días será despreciable. En este momento se dice que el suelo está a capacidad de campo, el agua de los macroporos fue eliminada, y los microporos aún están llenos de agua, y la tensión se sitúa en un rango entre 0.1 a 0.3 bar (Hillel, 1982; Durán, 1991). Pero si el suelo continúa secándose, las plantas empiezan a marchitarse durante el día, y en la noche recuperan su vigor y turgencia; sin embargo, si no se les suministra agua, las plantas no se recuperan y se encontrarán en condiciones de marchitez permanente. Al contenido de humedad en ese estado se le denomina coeficiente de marchitez permanente (Durán, 1991)

## 2.2. MEDIDAS DE RETENCIÓN DE AGUA

Existen diferentes métodos para determinar la succión a la que el agua está retenida por los suelos, entre ellos están el tensiómetro, extractores de presión, tablas de tensión y celdas individuales.

El tensiómetro determina el potencial de matriz que retiene al agua. Este aparato consta de un manómetro lleno de agua, que está en contacto con una cápsula de cerámica porosa. El método se basa en que el agua dentro del tensiómetro se equilibra por la cápsula con el agua que está en el suelo, y la succión en el suelo será igual a la succión dentro el tensiómetro (Durán, 1991).

Los extractores de presión se utilizan cuando se trabaja con potenciales de matriz con valores absolutos altos, y el principio que utilizan es el mismo que el de los tensiómetros. En los extractores, se aumenta la presión del agua por sobre la de la atmósfera, provocando que el agua que se encontraba dentro de las muestras, pase a un recipiente que está a presión atmosférica, hasta llegar al equilibrio. Para trabajar con los extractores las muestras se deben saturar, y se colocan sobre los platos de porcelana, también saturados (Durán, 1991). Una vez que se le aplica presión al interior de los extractores, el agua que estaba en la muestra fluye a la cavidad que está debajo del plato, también llena de agua. Por lo tanto, el agua que llega de las muestras se va eliminando, pudiéndose observar un goteo, que acabará cuando se equilibre la presión que se le aplicó al extractor y el contenido de agua correspondiente en la muestra (Durán, 1991).

La tabla de tensión funciona con el mismo principio que el de los extractores, pero se utiliza para potenciales de matriz altos.

### 2.3. CARACTERÍSTICAS DE HIDROFOBICIDAD (REPELENCIA DE AGUA) POR LOS SUELOS

#### 2.3.1. Descripción del proceso

Un suelo es hidrofóbico o repelente al agua, cuando el agua no se extiende sobre su superficie, o sea, cuando el ángulo de contacto entre la superficie del suelo y la superficie del agua es mayor o igual a  $90^\circ$  (Jaramillo, 2004).

La hidrofobicidad es un fenómeno que reduce la afinidad del suelo por el agua, y el suelo resiste la humectación por períodos de tiempo que van desde unos pocos segundos hasta horas, días o semanas (King, 1981; Doerr & Thomas, 2000). Pero según

Doerr, *et al.* (2000), el concepto de hidrofobicidad es relativo, ya que siempre hay atracción entre un líquido y cualquier sólido, en la práctica no existe una superficie completamente hidrofóbica.

La repelencia al agua mostrada por el suelo, es consecuencia del equilibrio entre las fuerzas atractivas que aparecen entre ambos, o adhesión, y las fuerzas existentes entre las moléculas del agua, cohesión, de forma que se establece un equilibrio de fuerzas entre la tensión en la interfase suelo-aire, la tensión en la interfase suelo-líquido, y la tensión entre el líquido y el aire (Moral *et al.*, 2002).

El fenómeno de hidrofobicidad en el suelo se debe a la acumulación de compuestos orgánicos, los cuales son producidos por la descomposición de restos vegetales, como productos de hongos y otros microorganismos, o generados directamente de la descomposición de la materia orgánica (Llewellyn *et al.*, 2004). Una característica importante de los compuestos orgánicos asociados a la repelencia al agua, es que no están en un grado de alteración muy avanzado, o sea, que no se corresponden con el humus (Jaramillo, 2004). Estos compuestos están generalmente presentes sobre los agregados del suelo (Bisdorn *et al.*, 1993; Doerr *et al.*, 2000) y como parte de la materia orgánica intersticial (Franco *et al.*, 2000).

Horne & McIntosh (2000), propusieron 4 posibles mecanismos para explicar la repelencia al agua. El primero se basa en que los compuestos alifáticos cambian su orientación. En un entorno hidrofílico, estos compuestos tienen sus cargas polares hacia fuera. Pero si por alguna razón (deshidratación), hay una re-configuración o reorientación, esos compuestos pueden presentar repelencia al agua en la superficie. Otro de los mecanismos que proponen, es que la repelencia puede variar con el estado de ionización de los grupos carboxílicos en los compuestos alifáticos. Si hay protonación, el grupo funcional adquiere carácter hidrofóbico. Pero la forma ionizada del grupo carboxilo depende del contenido de humedad: en condiciones de humedad el anión carboxilo es más común. El tercer mecanismo propuesto es que los compuestos hidrofóbicos están cubiertos. Cuando el suelo no es repelente, el material hidrofóbico está cubierto, y la repelencia al agua aparece cuando los compuestos responsables de ésta, están más expuestos. El último proceso que proponen, es que la extracción y/o adición de compuestos solubles en agua o lípidos, puede cambiar la repelencia.

Muchos estudios han tratado de determinar cuales son los compuestos responsables de la repelencia al agua, pero es difícil debido a la gran abundancia de compuestos que pueden ser los responsables. En un estudio previo, realizado por Llewellyn *et al.* (2004), utilizando la técnica de extracción Soxhlet, se identificaron cinco grupos de compuestos responsables de la repelencia al agua: ácidos carboxílicos, amidas, alcanos, aldehídos y compuestos aromáticos. Otros autores, como Mainwaring *et al.* (2004), atribuyen como causa de la repelencia, no la ausencia o presencia de los compuestos mencionados anteriormente, sino la cantidad de compuestos orgánicos polares de alto peso molecular. Doerr (2000), divide a los compuestos responsables de la repelencia en dos grupos: hidrocarburos alifáticos y compuestos de estructura anfifílica. El primer grupo, corresponde a sustancias formadas por hidrógeno y carbono, con estos últimos distribuidos en largas cadenas; son compuestos no polares, por lo tanto, insolubles en agua. El segundo grupo, está formado por compuestos que tienen una parte terminal polar, hidrofílica, y otra no polar que es hidrofóbica.

En la bibliografía existen propuestas diferentes para considerar cuando un suelo es hidrofóbico. King (1981), definió que un suelo arenoso y seco al aire es hidrofóbico, cuando una gota de agua colocada en su superficie tarda más de 10 segundos en infiltrar. A diferencia, Roberts y Carbon, y Walsh *et al.*, citados por Doerr (2000), consideraron que un suelo es repelente al agua cuando tarda más de 1 y 60 segundos, respectivamente. Pero, actualmente los valores de repelencia que se encuentran en la literatura no se pueden comparar, ya que pocos autores llevan el test “Water Drop Penetration Time”, a valores superiores a los 600 segundos (Doerr, 2000).

### 2.3.2. Factores que afectan la repelencia al agua

Las plantas son los principales organismos que producen sustancias que pueden generar repelencia al agua. Estas sustancias hidrofóbicas, que se encuentran en todos sus órganos, pasan al suelo cuando muere la planta o algunos de sus órganos, y se liberan por descomposición; también pueden ser aportados desde la planta viva por el lavado de sus superficies por el agua que escurre o en forma de exudados producidos por ella (Jaramillo, 2004).

McGhie y Posner, citados por Jaramillo (2004), comprobaron que el material que se encontraba en la superficie y se estaba descomponiendo ('litter'), producía repelencia al agua. Para esto, recolectaron material de la superficie de suelos bajo plantaciones de eucalipto, lo molieron a diferentes tamaños, y lo agregaron en cantidades distintas, a dos arenas, una de grano fino y la otra de grano grueso. Al evaluar la hidrofobicidad, observaron que en ambas aumentaba el ángulo de contacto al aumentar la cantidad de litter agregado. También encontraron que la arena de grano grueso generaba mayor grado de repelencia al agua. Sin embargo, Doerr *et al.* (2006), observaron que no existe un contenido de materia orgánica por debajo del cual las muestras no presenten repelencia al agua, por el contrario, la muestra con menor contenido de materia orgánica, pertenecía a la categoría más alta del WDPT.

Según Doerr *et al.* (2000), las plantas asociadas a la repelencia al agua son especies perennes, en particular árboles con mucha resina y aceites aromáticos, como lo son los eucaliptos y pinos.

No siempre la asociación repelencia al agua con ciertos tipos de plantas es directa; se ha observado que la repelencia puede estar asociada con el crecimiento de hongos y microorganismos del suelo, que están asociados con cierto tipo de vegetación (Doerr, 2000). Este mismo comportamiento fue observado por McGhie y Posner (1980), quienes encontraron que las especies de hongos *Penicillium* y *Aspergillus* no producían repelencia cuando crecían solos, sobre arena lavada; pero esto cambió cuando a la arena se le agregó 'litter' de eucalipto.

Otros factores que afectan la repelencia al agua, son la temperatura de secado de las muestras y el fuego (Jaramillo, 2003; Jaramillo, 2004). Muchos investigadores observaron que el fuego inducía a la hidrofobicidad en superficies que en un inicio eran hidrofílicas. Pero mucho tiene que ver la temperatura, ya que en un rango entre los 175-200°C la repelencia aumenta, se mantiene alrededor de los 250°C y desaparece alrededor de los 270-300°C (Savage; DeBano *et al.*, citados por Jaramillo, 2003; Doerr, 2000), este mismo efecto fue hallado por Crockford *et al.* (1991) y Dekker *et al.* (1998).

King, y Ma`shum y Farmer, citados por Jaramillo (2003), observaron que el secado de las muestras al horno aumentaba el grado de repelencia en comparación al

secado hecho al aire. Los efectos que provoca la temperatura de secado de las muestras sobre la repelencia al agua pueden ser: cambios en la polaridad de los compuestos hidrofóbicos y/o reorganización de sus estructuras; reordenamiento de los compuestos orgánicos anfifílicos, exponiendo los radicales hidrofóbicos; diferentes condiciones de humedad iniciales de las muestras; deshidratación de las muestras al ir aumentando la temperatura de secado (Jaramillo *et al.*, 2003).

El contenido inicial de agua que presenta el suelo, es otro de los factores que afecta la repelencia. Algunos investigadores determinaron que cuando el suelo estaba seco había mayor número de muestras con valores altos de hidrofobicidad y el volumen de suelo afectado por dicho grado de repelencia era mayor, en comparación a cuando las determinaciones se hacían en suelo inicialmente húmedo (Dekker *et al.*, 2000). Sin embargo, en un estudio hecho por Dekker y Ritsema, citados por Jaramillo (2004), observaron que a pesar de que los suelos eran repelentes al agua, presentaban contenidos importantes de humedad, los cuales eran muy variables espacialmente. Así, definieron un “contenido crítico de humedad” (28% del volumen), por debajo del cual el suelo era repelente al agua, y por encima de éste era hidrofílico. Este concepto, fue revisado por Dekker *et al.* (2001), quienes sugirieron que es necesario definir una zona de transición de la humedad del suelo, con límites variables entre muestras, y a su vez son determinados por la textura y contenido de materia orgánica. Doerr *et al.* (2006), en los datos que obtuvieron, no encontraron una relación entre el contenido de agua y la hidrofobicidad.

### 2.3.3. Consecuencias en las propiedades hídricas del suelo y los balances hidrológicos

Es importante destacar que la repelencia es muy variable espacialmente. Jaramillo (1992) realizó un trabajo donde observa que la hidrofobicidad no afectaba en forma continua áreas grandes, sino que las afectaba formando parches pequeños de suelo repelente al agua que alternaban con parches completamente humectables (Jaramillo *et al.*, 2000). Otros investigadores como Dekker y Ritsema (1994), determinaron que la repelencia era variable en los primeros 50 cm. Sin embargo, en plantaciones forestales de eucaliptos, Doerr *et al.* (1998) encontraron una homogeneidad espacial de la repelencia, y la atribuyeron a la gran cantidad y distribución de sustancias hidrofóbicas, combinadas con la vegetación uniforme y los restos que cubren el área.

Shakesby *et al.* (2000) demostraron que la repelencia no sólo varía espacialmente sino que también estacionalmente, y observaron que en condiciones de campo, los suelos alternan estacionalmente entre estados repelentes y humectables, en respuesta a cambios de precipitación y temperatura.

Los principales impactos hidrológicos de un suelo repelente al agua son: disminución de la capacidad de infiltración, aumenta el flujo superficial, puede existir flujo preferencial del agua al infiltrar, efecto tridimensional en la distribución y dinámica de la humedad del suelo (Doerr *et al.*, 2000).

La tasa de infiltración en un suelo hidrofóbico, al inicio es extremadamente lenta, pero a medida que pasa el tiempo, el agua comienza a penetrar luego de un tiempo en contacto ambas superficies, y la tasa de infiltración comienza a aumentar (Jaramillo, 2004). Al disminuir la capacidad de infiltración de agua en un suelo, provoca un aumento en el flujo superficial, lo cual trae como consecuencia la erosión del suelo (McGhie y Posner, citados por Doerr *et al.*, 2000). DeBano (1971), reportó que la capacidad de infiltración de un suelo hidrofóbico era 25 veces menor, comparado con un suelo hidrofílico similar.

La principal consecuencia de retardar la velocidad de infiltración del agua al suelo, en una superficie que presenta un gradiente de pendiente, y donde la tasa de aporte de agua exceda la tasa de infiltración, es que se produzca un excedente de agua, el cual fluya por la superficie, arrastrando el sedimento (Jaramillo, 2004). Pero la frecuencia de algunas estructuras en el suelo (grietas, canales de raíces, parches hidrofílicos o menos hidrofóbicos), determinan que el flujo superficial alcance otras zonas, o sea sólo local (Doerr *et al.*, 2000)

Para Shakesby *et al.* (1994,1996) y Walsh *et al.*, citados por Doerr *et al.* (2000), la repelencia al agua es la principal causa de erosión en unas parcelas quemadas de *Eucalyptus globulus* y *Pinus pinaster*, en unos suelos de Portugal. Según Shakesby *et al.* (2000), en un suelo hidrofóbico hay mayor cantidad de material que se desprende por salpicadura, él cual es arrastrado por las aguas superficiales. A diferencia, en un suelo hidrofílico, el material que se encontraba suelto, se humedecía y se sellaba más rápidamente, impidiendo su salpicadura. Otro de los aportes que realizaron, es que el

efecto que pueda tener la hidrofobicidad en la erosión del suelo, depende de la continuidad de la repelencia en la superficie.

En algunos suelos, por la presencia de grietas, canales de raíces, madrigueras de roedores, se da un flujo preferencial del agua. El flujo preferencial es el movimiento vertical del agua por senderos, a través de la matriz del suelo (Doerr *et al.*, 2000).

En un estudio realizado en unas dunas en Holanda, donde había una capa superficial de suelo relativamente húmeda, le seguía una zona hidrofóbica por donde el agua se movía en columnas de suelos menos hidrofóbico, y por último una segunda zona hidrofílica, donde el agua se esparcía lateralmente. Al movimiento del agua a través de estas zonas fue lo que ellos denominaron “fingred flow”, el cual se formaba luego de períodos secos (Dekker y Ritsema, citados por Doerr *et al.* (2000).

#### 2.4. METODOLOGÍAS DE CARACTERIZACIÓN DE LA HIDROFOBICIDAD EN SUELOS.

Para el estudio del fenómeno de la repelencia al agua en los suelos, Jaramillo (2004), menciona diferentes métodos: medir el ángulo de contacto de la fase sólido-líquido del suelo; medir la tensión superficial y el ángulo de contacto de soluciones acuosas sobre el suelo; medir la tasa de entrada de agua en columnas de suelo; medir la adsorción de alcoholes alifáticos por el suelo; realizar pruebas de infiltración en el campo o en laboratorio. Pero, para realizar evaluaciones de rutina, se han desarrollado métodos prácticos y de fácil aplicación, como el WDPT (Water Drop Penetration Time) ó el MED (Molarity Ethanol Drop).

##### 2.4.1. Evaluación de la persistencia de la repelencia al agua en el suelo: WDPT

La persistencia de la repelencia al agua, fue definida por Watson y Letey (1970) como “el tiempo que tarda una gota de agua en ser absorbida completamente por el suelo”. Estos autores observaron, que al colocar una gota de agua sobre la superficie de un suelo repelente, la gota permanecía en ella el tiempo suficiente para que el ángulo de contacto inicial ( $>90^\circ$ ), disminuyera a un valor de  $90^\circ$  o menos, y así era absorbida por la superficie.

El test WDPT, mide la persistencia de la repelencia en una superficie porosa, y consiste en agregar unas gotas de agua destilada, sobre la superficie del suelo y registrar el tiempo que ésta tarda en penetrar completamente (King, 1981). Si las gotas no penetran instantáneamente, está indicando que la tensión superficial de la superficie del suelo es menor que la de las gotas de agua. Sin embargo, siempre se observa que la hidrofobicidad va disminuyendo en los suelos, por lo tanto, el tiempo que demora en infiltrar la gota, refleja la persistencia de la hidrofobicidad en el suelo. El tiempo en que tarda en infiltrar una gota de agua, puede variar desde un instante de tiempo, hasta varias horas, y existen diversas clasificaciones que muestran diferentes categorías de WDPT, las cuales son esencialmente arbitrarias, pero muy útiles para comparar diferentes grados de repelencia (Doerr, 1998). En la mayoría de los estudios, por razones prácticas, el test WDPT no se lleva adelante para valores superiores a 600 segundos, en muy pocos casos los valores exceden los 3600 segundos, y en algunos casos 5 horas (Doerr *et al.*, 2000).

Según Wallis y Horne, citados por Jaramillo (2004), el test WDPT es de limitada aplicación en suelos de textura gruesa, ya que es probable que existan vías de flujo preferencial. Pero a pesar de esto, es uno de los test más usados, porque es rápido y simple, y permite analizar un gran número de muestras.

Doerr *et al.* (1998), utilizaron el test WDPT para estudios en el laboratorio, ya que no les resultó práctico para la determinación de la hidrofobicidad in-situ, porque las gotas permanecían en la superficie por más de 5 horas.

Para evaluar la repelencia en el campo, donde los tiempos de infiltración son muy largos, Dekker y Ritsema (1994), han utilizado el WDPT para separar el suelo en dos categorías: suelos no repelentes, si el  $WDPT < 5$  segundos; y repelentes al agua, si el  $WDPT > 5$  s.

King (1981), utilizó el test WDPT y el tiempo de duración de la prueba fue de 4 minutos: si la gota no penetró en ese tiempo, no tomaba en cuenta esa determinación; y agrupó a los suelos en 4 categorías:

- no repelentes al agua:  $WDPT < 1$  segundo.
- muy poco repelentes al agua:  $WDPT$  entre 1- 7 segundos

- poco repelentes al agua: WDPT entre 8 y 53 segundos
- moderadamente repelentes: WDPT entre 85 y 260 segundos.

Sin embargo, Doerr (1998) utilizó 10 categorías para agrupar a los suelos según su grado de repelencia (Cuadro 1), pero las redujo a 7 categorías para poder realizar una comparación con las 7 clases del MED, las cuales se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Categorías del WDPT (Doerr, 1998)

Categorías (tiempo en segundos)									
<5	5-10	10-30	30-60	60-180	180-300	300-600	600-900	900-3600	3600-18000

Cuadro 2. Categorías de hidrofobicidad utilizadas por Doerr (1998) según el WDPT, y su correspondencia con el MED

Clase	Descripción	% etanol	WDPT
7	Extremadamente hidrofóbico	36	> 5 horas
6	Muy fuertemente hidrofóbico	24	1-5 h
5	Fuertemente hidrofóbico	13	600-3600seg
4	Moderadamente hidrofóbico	8-5	180-600seg
3	Suavemente hidrofóbico	5	60-180seg
2	Hidrofílico	3	5-60seg
1	Muy hidrofílico	0	<5segundos

En un estudio realizado por Adams *et al.* (1970), citado por Jaramillo (2004), los suelos se agruparon en suelos fuertemente hidrofóbicos, con un valor de WDPT > 60 segundos, y ligeramente hidrofóbicos, cuando el WDPT variaba entre 10 y 60 segundos.

#### 2.4.2 .Evaluación de la severidad de la repelencia al agua: MED

La severidad de la repelencia al agua es definida como el grado de resistencia que opone el suelo al humedecimiento por el agua (Roy y McGill, citados por Jaramillo,

2004). Doerr *et al.* (2000) la definen con la pregunta :”¿ qué tan fuerte es repelida el agua por el suelo?”.

El test MED (Molarity of Ethanol Droplet) es una medida indirecta de la tensión superficial de la superficie del suelo, e indica el grado de repelencia de una gota de agua (Doerr, 1998). Dicho test, utiliza tensiones superficiales conocidas de soluciones estándar de etanol en agua. Gotas de estas soluciones se agregan a la superficie del suelo, y se registra el tiempo de infiltración. Una gota con tensión superficial superior a la de la superficie del suelo, permanecerá en ésta por algún tiempo, sin embargo, si la tensión de la gota es menor, infiltrará instantáneamente (Doerr, 1998).

Dekker y Ritsema, citados por Jaramillo (2004), determinaron la concentración de etanol en porcentaje y cuantificaron el grado de repelencia al agua como el menor porcentaje de alcohol de la solución de etanol que penetra en el suelo en 5 segundos o menos. Según King (1981), una molaridad equivalente a un 16.6% de etanol, se registró como la clase más severa. Pero en algunos estudios más recientes, se ha observado que una molaridad mayor a un 20% de etanol, corresponde a una clase extremadamente hidrofóbica (Doerr *et al.*, 2000).

Doerr (1998), categoriza a los valores de MED en una escala del 1 al 7, donde el 1 corresponde a suelos muy hidrofílicos, y el 7 a suelos extremadamente hidrofóbicos (Tabla 2).

King (1981), estudió que la severidad de la repelencia variaba con distintos factores:

- tiempo que dura el tamizado: a medida que aumentó el tiempo de tamizado de la muestra, disminuyó la severidad de la repelencia al agua. Probablemente, esto fue consecuencia, de la remoción del material hidrofóbico de los recubrimientos orgánicos de los granos de arena, por efecto de la abrasión.

- el efecto de la temperatura a la cual se hace la determinación: encontró una relación lineal positiva, entre las medidas del MED y la temperatura, en un rango de 0-42°C.

- contenido de humedad del suelo: el MED incrementó rápidamente a un contenido de humedad entre seco al aire y el punto de marchitez permanente, y llega al máximo valor cerca del punto de marchitez permanente; a partir de ese punto disminuyó

rápidamente hasta llegar a cero, cuando el contenido de humedad del suelo está cerca de capacidad de campo.

Roy y McGill, citados por Jaramillo (2004), encontraron que el MED presentaba algunas limitaciones para evaluar la severidad de la repelencia:

- el comportamiento de la hidrofobicidad se ha estudiado en sistemas relativamente simples, y el suelo es un sistema muy complejo que puede responder de forma muy diferente a lo que se predice teóricamente.

- pueden haber cambios en la composición y organización de los compuestos hidrofóbicos del suelo cuando los tiempos de contactos con las soluciones de etanol son largos, pudiendo disolver compuestos del suelo, evaporar las soluciones de etanol, adsorción preferencial de etanol, lo cual puede modificar las medidas del MED.

- la rugosidad de la superficie del suelo disminuye la precisión del test porque afecta la estimación del ángulo de contacto.

- si las muestras son sometidas a ciclos de humedecimiento y secado, antes de realizar el test, pueden presentar una reducción en el ángulo de contacto inicial de avance, probablemente debido, a una modificación de la química en la interfase sólido-gas.

#### 2.4.3. Comparación del MED y el WDPT

Doerr (1998), al comparar ambos métodos obtuvo un coeficiente de correlación de 0.73; observó que todos los valores del MED de la clase 7 (36% de etanol), correspondían a valores del WDPT mayores a 5 horas; y el 90% de los valores del MED correspondientes a la clase 6 (24% de etanol), se correspondían con los valores del WDPT mayores a 1 hora (Cuadro 2). Por lo tanto, los valores más altos del MED están asociados con los valores más altos del WDPT. Pero esta correspondencia entre resultados de campo y laboratorio que se observa, puede que no se encuentre en trabajos donde la hidrofobicidad a campo varíe con la profundidad (Doerr, 1998).

La mayoría de los estudios de hidrofobicidad se basan en uno de los dos métodos; sin embargo, el test de MED es más utilizado en estudios de campo y el WDPT en estudios de laboratorio, y se hace difícil realizar una comparación de los resultados (Doerr, 1998).

## 2.5. METODOLOGÍAS DE CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS RESPONSABLES DEL PROCESO

La repelencia del suelo al agua, como ya se mencionó previamente, es consecuencia de compuestos orgánicos hidrofóbicos, los cuales son depositados en las superficies minerales del suelo, en los agregados o pueden estar como material intersticial (Mainwaring *et al.*, 2004; Doerr *et al.*, 2000; Wallis y Horne, citados por Morley *et al.*, 2005;). El material orgánico del cual derivan los compuestos que causan la repelencia, se origina de la descomposición de la materia orgánica del suelo, exudado de las raíces de las plantas, especies de hongos y ceras de la superficie de las hojas (Mainwaring *et al.*, 2004). Estudios previos sugieren que los compuestos orgánicos que causan la repelencia incluyen alcanos, ácidos grasos y sus sales y ésteres, fitoles, fitanoles y esteroides (Doerr *et al.*, 2000). Pero, a pesar de que se conocen las clases genéricas, poco se sabe de su estructura química específica.

### 2.5.1. Métodos de extracción: Extracción Soxhlet

Para la identificación de los compuestos responsables de la repelencia al agua, el primer paso es aislar los compuestos mediante técnicas de extracción. Se han utilizado numerosas técnicas de extracción, pero su eficiencia respecto a la masa de material extraído, ha sido discutido (Ma'shum *et al.*, Hudson *et al.*, Roy *et al.*, Franco *et al.*, citados por Llewellyn *et al.* 2004). Sin embargo, la técnica más utilizada es la extracción Soxhlet.

La técnica utiliza una mezcla de solventes, que requieren de una base (amonio), y un alcohol (isopropanol, metanol), para remover de manera efectiva los compuestos responsables de la repelencia al agua (Horne & McIntosh, 2000).

Doerr *et al.* (2005) y Doerr *et al.* (2002), evaluaron la técnica utilizando diferentes solventes; la extracción con solventes orgánicos como el diclorometano, n-hexano, isopropanol y tolueno, fue mucho menos efectiva que utilizando isopropanol: hidróxido de amonio.

Llewellyn *et al.* (2004), midieron la repelencia al agua por un suelo mediante el test WDPT, determinando que éste era extremadamente repelente. Luego de la extracción con isopropanol: hidróxido de amonio, determinaron nuevamente la repelencia al agua, para observar si existía algún cambio en la repelencia. Así, pudieron determinar que la repelencia del suelo por el agua disminuía, al aumentar el tiempo de extracción. Otra de las observaciones realizadas por los mismos autores, es que utilizando cloroformo como solvente para la extracción, luego de las 24 h de extracción, las muestras presentaban un aumento en la repelencia al agua. La explicación a esta observación es que, solventes de baja polaridad (ej. Cloroformo) causan una re-orientación y re-distribución del material orgánico que se encuentra en la superficie de las partículas del suelo, provocando un mayor orden en las tramas hidrofóbicas, lo que permite un aumento en la repelencia del suelo.

En un estudio previo realizado por Llewellyn *et al.* (2004), con diferentes tiempos de extracción (1, 4, 8, 16 y 24 horas), se observó que en la primer hora se extrajo 1/3 del total del material extraído a las 24 horas. Esta proporción aumentó a 2/3 y 4/5 después de 4 y 8 h, respectivamente. Otra de las observaciones realizadas fue que el cloroformo removió menos material en las 24 h, que la mezcla de isopropanol: hidróxido de amonio, lo que demuestra que compuestos con mayor polaridad, disuelven una gran proporción de material orgánico del suelo.

En la mayoría de los trabajos citados anteriormente, para la extracción se utiliza como solvente la mezcla de isopropanol: hidróxido de amonio 7:3 v:v (Horne & McIntosh, 2000; Llewellyn *et al.*, 2004; Mainwaring *et al.*, 2004). Así, se obtiene una fase acuosa y una en cloroformo. La fase acuosa contiene el material anfipático y el más polar, mientras que la fase con cloroformo contiene los lípidos hidrofóbicos (Mainwaring *et al.*, 2004).

## 2.5.2. Técnicas para la identificación en el extracto, de los compuestos .que causan la hidrofobicidad

### 2.5.2.1. Cromatografía gaseosa

La cromatografía gaseosa es un método de separación, donde los componentes de una mezcla se separan entre dos fases: la fase estacionaria (líquida), que posee una superficie de exposición muy grande y la fase móvil, que es un gas que circula en contacto con la fase estacionaria, donde los componentes de la muestra a analizar se distribuyen en dos fases, la fase estacionaria y la fase móvil. La muestra se vaporiza en el sistema de inyección y es transportada por la fase móvil gaseosa (gas carrier) a través de la columna. La partición de los ácidos grasos (grupos de compuestos hidrofóbicos) de los extractos con la fase estacionaria, se basa en sus diferentes solubilidades en esta fase a una temperatura dada. Por lo tanto, los ácidos se separan entre sí en base a sus presiones de vapor relativas y de acuerdo a sus afinidades con la fase estacionaria (Laboratorio de Farmacognosia. Facultad de química, 2005).

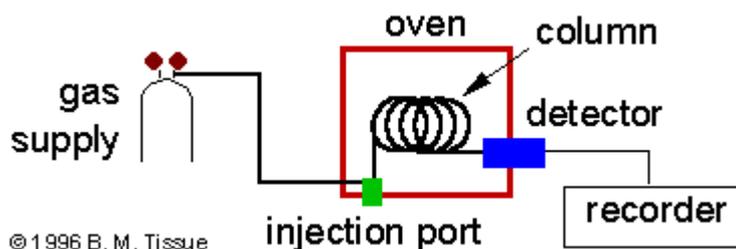


Figura 1. Esquema de un sistema de cromatografía gaseosa

En un estudio realizado por Franco et al. (2000), la identificación de los compuestos que causa la repelencia del suelo por el agua, estuvo basada en la interpretación del espectro que se obtuvo en el espectrómetro de masa acoplado al cromatógrafo de gases, comparado con espectros publicados en la literatura. Observaron que los compuestos que derivaban de plantas, presentaban similares características químicas, pero en diferentes concentraciones; y que el análisis del cromatógrafo gaseoso acoplado al espectrómetro de masa, no sólo detectaba cadenas de ácidos grasos, sino también otros compuestos debidos a las altas temperaturas utilizadas. Los compuestos detectados por ellos fueron cadenas de ácidos grasos ramificadas, ésteres de ácidos grasos, alcanos, fitoles, fitanoles y esteroides. Los ácidos grasos y sus ésteres, presentan

propiedades hidrofóbicas que son características de compuestos no polares, y los ácidos grasos ramificados y los otros constituyentes contienen grupos hidroxilos (fitoles, fitanoles y esteroides) que forman las ceras polares.

Llewellyn *et al.* (2004), seleccionaron 25 picos del GC-MS, obtenidos luego de 24 h de extracción; los cuales fueron identificados de acuerdo a su espectro de masa. Los compuestos que se encontraban en todos los extractos eran: ácidos carboxílicos, alcanos y amidas.

A diferencia de este trabajo, Mainwaring *et al.* (2004), obtuvieron 37 picos, y los principales compuestos que identificaron como responsables de la repelencia eran: ácidos grasos, amidas, alcanos, aldehídos/cetonas, y compuestos con estructuras aromáticas. Todos los extractos analizados por ellos (hidrofóbicos e hidrofílicos), contenían similar abundancia relativa de alcanos, por lo tanto, la diferencia en comportamiento entre las muestras con repelencia al agua y las muestras hidrofílicas, no se puede atribuir a la presencia u ausencia de estos compuestos hidrofóbicos. Observaron que los extractos que provenían de los suelos sin repelencia, contenían poca cantidad de compuestos polares. Sin embargo, los extractos de las muestras de suelos hidrofóbicos, presentaban cantidades significativas de los compuestos polares. La explicación que dieron a este comportamiento es que cuando el agua entra en contacto con un suelo hidrofílico, los compuestos polares de baja masa molecular, difunden relativamente rápido dentro de las gotas de agua, y solubilizan a los compuestos hidrofóbicos como los alcanos. En el caso de suelos hidrofóbicos, cuando el agua entra en contactos con ellos, los compuestos de alta masa molecular difunden más lentamente y permanecen en la superficie del suelo por más tiempo. Por tanto, concluyen que los mismos compuestos se encuentran en todos los extractos; pero las muestras hidrofóbicas contienen compuestos polares de alto peso molecular, los cuales no se encuentran en las muestras hidrofílicas. Horne y McIntosh (2000), identificaron 2 tipos de compuestos, lípidos y sustancias solubles en agua, ambas responsables de la repelencia. La fase lipídica incluía lípidos polares, neutros y ácidos.

### 2.5.2.2. Cromatografía en capa fina (TLC)

La TLC (Thin Layer Chromatography o Cromatografía en Capa Fina) es un tipo de cromatografía, que consiste en la separación de los componentes de una mezcla lipídica, los cuales son distribuidos de forma diferente entre una fase estacionaria (una placa fina de material inerte) y una fase móvil (solvente) (Nikolova-Damyanova, 2004). La afinidad entre los compuestos de interés por las fases móvil o estacionaria determina el recorrido que estos logran sobre el soporte, lográndose una separación de grupos de componentes o componentes individuales presentes en la muestra en base a su polaridad (Nikolova-Damyanova, 2004).

De esta manera, se obtienen diferentes bandas, y la migración de cada banda está representada cuantitativamente por el valor del Rf (Nikolova-Damyanova, 2004). Se denomina Rf a la relación existente entre la distancia recorrida por el compuesto y la recorrida por el disolvente en el mismo tiempo, es decir:

$$Rf = \frac{\text{(distancia recorrida por el compuesto)}}{\text{(distancia recorrida por el disolvente)}}$$

Naturalmente, los valores de Rf para un determinado compuesto varían con los cambios de disolvente (Lepri, Cincinelli. 2004).

Si las muestras que se analizan presentan grupos cromóforos, se ven los distintos colores migrando a distintas velocidades. Pero en el caso de que no tuvieran grupos cromóforos, se somete la placa a un tratamiento con una sustancia reveladora, para poder determinar la presencia de sustancias (Nikolova-Damyanova, 2004).

### 2.5.2.3. Cromatografía en columna

La cromatografía en columna es otra técnica de separación de compuestos de una muestra, que permite separar físicamente distintos componentes de una solución por la absorción selectiva de los constituyentes del extracto (Bodennec, Portoukalian. 2004). Al igual que la TLC, consiste en una fase estacionaria, y una fase móvil que fluye sobre la estacionaria.

Este tipo de cromatografía se caracteriza por introducir un volumen discreto de la muestra en la columna cromatográfica, la cual fue previamente equilibrada con la fase móvil. Los compuestos o grupos de compuestos de la muestra, se mueven a través de la columna a diferentes velocidades, menores a la velocidad de la fase móvil. La diferencia en velocidades, es consecuencia de las diferencias en la interacción de los compuestos con la fase estacionaria y la fase móvil. Entonces, aquellos solutos que interaccionan fuertemente con la fase estacionaria, van a tener una velocidad promedio menor, que aquellos que interaccionan débilmente con ésta. Por lo tanto, si la diferencia en las velocidades de los 2 solutos, es suficientemente grande, la dispersión en el transporte de la columna es pequeña, y el largo de la columna es lo suficientemente grande, las bandas de los solutos se pueden diferenciar una de otras, por el tiempo que están retenidas en la columna (Franco, 2004).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. ZONAS DE ESTUDIO Y MUESTREO DE SUELOS**

Los suelos seleccionados para este trabajo son considerados de prioridad forestal, ubicados en la zona norte del país (departamento de Rivera), y en el litoral oeste (departamentos de Río Negro y Soriano). Los estudios que se realizaron fueron los siguientes:

**Estudio 1.** Evaluación del grado de repelencia al agua en suelos sujetos a cambios en el tipo de vegetación (de pastoril a forestal: *Eucalyptus sp.* y *Pinus sp.*), y efectos del manejo diferencial de restos de cosecha de *Eucalyptus sp.*

Para dicho estudio, se seleccionaron diferentes sitios/suelos:

- Acrisol Álbico de la Unidad Rivera (Uruguay. MAP, 1976) bajo manejo pastoril (pradera natural compuesta fundamentalmente por gramíneas estivales) y forestal: plantaciones de *E. grandis* de 23 años (Establecimiento San Juan, empresa COFUSA, Dpto. Rivera) y plantaciones de *P. taeda* de 17 años (Establecimiento El Galgo, empresa FYMNSA, Dpto. Rivera).
- Planosol Dístrico y Brunosol Subéurico de la Unidad Tres Bocas (Dpto. de Río Negro), bajo manejo pastoril (pradera natural compuesta fundamentalmente por gramíneas) y forestal: plantaciones de *E. dunnii* de 9 años (Establecimiento El Rosario, empresa Forestal Oriental, Dpto. Río Negro) y *E. grandis* de 10 años (Establecimiento El Minero y El Tabaré, empresa Forestal Oriental, Dpto. Río Negro), respectivamente.
- Planosol Dístrico de la Unidad Algorta bajo manejo pastoril (pradera natural compuesta fundamentalmente por gramíneas) y forestal: plantaciones de *E. dunnii* de 9 años (Establecimiento La Toribia, empresa Forestal Oriental, Dpto. Río Negro).
- Vertisol de la Unidad Cuchilla Corralito (Localidad de Palmitas, Dpto. de Soriano, Establecimiento La Rosada, empresa ENCE). Se evaluó el comportamiento hidrofóbico

del suelo bajo tres manejos de restos de cosecha de *E. globulus* de 10 años (hojas, ramas, corteza): sin restos, con restos frescos en superficie, con restos quemados.

En el Anexo I se indican algunas características de dichos suelos.

En los sitios mencionados se seleccionaron tres puntos de muestreo de suelos por manejo (repeticiones). En cada uno de ellos (excepto el Planosol Dístico de Algorta) se tomaron muestras compuestas de 15 tomas con calador, a una profundidad de 0-15 cm, para posterior análisis del comportamiento de hidrofobicidad. Para el Planosol de la Unidad Algorta se tomaron muestras estratificadas del perfil de suelo correspondiente a cada manejo (0-3, 3-6, 6-12, 12-20, 20-40, 40-60 y 60-80 cm). En las plantaciones, dichos puntos se ubicaron en la entrefila de plantación.

**Estudio 2.** Incidencia del cambio en el tipo de vegetación (de pastoril a forestal: *E. grandis* y *E. dunnii*) en la retención de agua por los suelos.

En tres suelos de la Unidad Tres Bocas (dos Planosoles Dísticos: sitios El Rosario y El Minero, y el Brunosol Subéutrico de El Tabaré) se efectuó la caracterización del proceso de retención de agua por los suelos, mediante la realización de la curva de retención de agua. Para dicho efecto, fueron tomadas muestras imperturbadas de suelo en cilindros metálicos (3 cm de alto x 5.4 cm de diámetro) a las profundidades 0-3 cm y 3-6 cm), para la determinación posterior de la curva de retención de humedad.

**Estudio 3.** Desarrollo del proceso de hidrofobicidad: estudio en condiciones controladas de laboratorio.

En dos suelos (Brunosol Subéutrico de El Tabaré y Planosol Dístico de El Rosario), se tomaron muestras compuestas de 20 tomas de 0-15 cm de suelo de las dos situaciones de uso del suelo: campo natural y plantación de *E. grandis* y *E. dunnii*, respectivamente. Para cada manejo, se tomaron 3 repeticiones (zonas) del campo. Dichas muestras se colocaron en bolsas de polietileno, y se mantuvieron a temperatura de 4°C hasta el momento del procesamiento en el laboratorio, previo a las incubaciones a temperatura y humedad controladas durante tres semanas.

**Estudio 4.** Identificación de compuestos orgánicos asociados al comportamiento hidrofóbico.

Dicho estudio se realizó en el Acrisol Álbico de la Unidad Rivera, para los tres manejos de suelo: pastoril, plantación de *E. grandis* y plantación de *P. taeda*. Para dicho efecto se tomó una muestra compuesta de una repetición de cada uno de los manejos anteriores, en las cuales fueron posteriormente realizados los análisis.

### 3.2. ANÁLISIS DE LABORATORIO

#### 3.2.1. Capacidad de retención de agua

Se obtuvo la curva de retención de agua en muestras imperturbadas a 1, 3, 6, 10, 100, 500, 800 y 1500 kPa de acuerdo a Dane y Hopmans (2002).

#### 3.2.2. Medida de la hidrofobicidad del suelo

Las muestras de suelo extraídas del campo fueron secadas a 65°C, molidas y tamizadas a 2 mm. La determinación de la persistencia de la repelencia se realizó por el método WDPT (Water Drop Penetration Time) (King, 1981). Dicho método consiste en agregarle al suelo una carga de agua (5 mL), a través de un tubo cilíndrico de 20 mm de diámetro, apoyado en la muestra de suelo, y registrar el tiempo que ésta tarda en infiltrar. Esta técnica se desarrolló sobre muestras perturbadas e imperturbadas de Rivera (Establecimientos San Juan y El Galgo), y Río Negro (Establecimientos El Rosario, El Tabaré y La Toribia), y sobre muestras perturbadas de Soriano (Establecimiento La Rosada). Los resultados obtenidos al realizar el WDPT sobre las muestras imperturbadas de Rivera y Río Negro, fueron muy variables, por lo que no se reportan en el presente trabajo .

#### 3.2.3. Experimento de incubación

Las muestras perturbadas, provenientes de las dos situaciones de manejo (pastoril y forestal) de los sitios El Rosario y El Tabaré, se mantuvieron a 4°C sin secar, hasta su procesamiento en el laboratorio. Previo ajuste del contenido de humedad, las

muestras fueron desmenuzadas hasta un tamaño de partícula 10 mm y homogenizadas. Luego se ajustó su contenido de humedad a Capacidad de Campo. Posteriormente se pesaron 50 gramos y se colocaron en vasos de 4.5 cm de alto x 4.5 cm de diámetro, cubiertos con papel de film perforado (20 agujeros), para permitir el intercambio de aire. De esta manera fueron colocadas en una mesada del laboratorio e incubadas durante tres semanas a 25 °C. Cada muestra que se tomó en el campo (una por manejo por sitio), se repitió 2 veces en el laboratorio. Como la determinación del WDPT se hizo semanalmente durante tres semanas (a tiempo 0, 1, 2 y 3), cada muestra se repitió 8 veces, cada semana se eliminaban 2 repeticiones a las cuales se les media el tiempo de infiltración del agua. A las restantes, se les ajustaba el contenido de agua para que este fuera equivalente al contenido a capacidad de campo.

#### 3.2.4. Determinación de compuestos responsables de las características de repelencia al agua

Para la identificación de los grupos de compuestos que causan la repelencia, se desarrolló la metodología descrita por Horne & McIntosh (2000). En la Figura 3 se esquematiza el procedimiento seguido para la extracción y determinación de compuestos. La extracción de los compuestos del suelo se realizó mediante la técnica de extracción Soxhlet (Llewellyn *et al.*, 2004). Se pesaron 80 g de cada tipo de suelo estudiado en un tubo de papel, el cual se colocó dentro de un extractor Soxhlet conteniendo solvente orgánico. Los 2 solventes de extracción usados son de diferente polaridad y naturaleza fisicoquímica, para determinar si extraían diferentes compuestos. Los solventes utilizados fueron una mezcla de isopropanol: hidróxido de amonio (70:30) (v:v); y acetato de etilo, los cuales se dejaron en reflujo durante 6 horas aproximadamente.

Una vez que se obtuvieron los extractos líquidos, estos se concentraron a 40°C a presión reducida en un rotavapor, para así tener los extractos secos, con los cuales se trabajó. Ambos extractos secos, se fraccionaron mediante extracción líquido-líquido en bola de decantación, para lo cual se agregó una mezcla de H<sub>2</sub>O y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1), ajustando hasta pH 7 con HCl 37.5%. Se repitió el procedimiento tres veces, luego de las cuales se obtuvieron dos fases, una acuosa y otra orgánica (lipídica). De esta manera, para cada manejo y solvente había 2 muestras, una acuosa y otra lipídica.

Para la identificación de los grupos de compuestos responsables de la repelencia al agua en el suelo, a los extractos lipídicos se les realizó una TLC (Thin Layer Chromatography o Cromatografía en Capa Fina) (Horne & McIntosh, 2000). La fase estacionaria que se utilizó fue una placa de silica gel, y la fase móvil una mezcla de n-hexano: éter etílico: ácido acético (80:20:1).

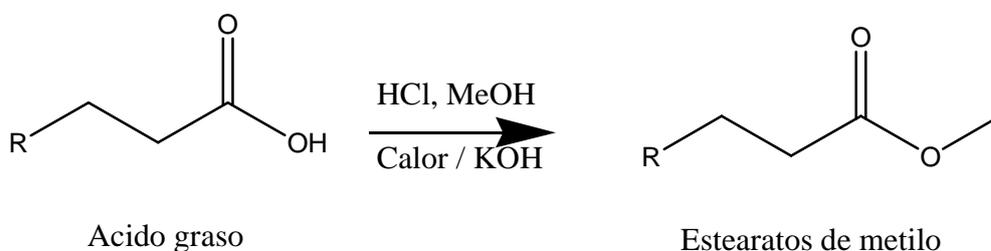
Al sembrar la muestra en la placa de silica gel, se sembraron también compuestos estándares, de conocida distancia recorrida. Los estándares que se utilizaron fueron: ácido oleico (Acido graso C<sub>18:1</sub>), esperma de ballena (a los efectos cualitativos de representar una cera, formada por mezcla de ésteres de alcoholes grasos con ácidos grasos), alcohol mirístico (Acido graso C<sub>14</sub>), parafilm (mezclas de hidrocarburos de cadena larga), ácido palmítico (acido graso C<sub>16</sub>) y colesterol como estándar de esteroides.

Los componentes de la muestra que presentaban grupos cromóforos, tales como ácidos grasos, hidrocarburos y esteroides, eran visualizados a simple vista por la formación de manchas. Sin embargo, aquellos compuestos que no tenían grupos cromóforos, eran visualizados por UV a 254 y 366 nm, mediante el tratamiento con un revelador inespecífico, tal como el Sulfato de Cobre (CuSO<sub>4</sub>) en H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

Para la identificación de los ácidos grasos y los hidrocarburos presentes en las muestras se utilizó la metodología por cromatografía gaseosa (GC). Las muestras sujetas a este análisis fueron concentradas y purificadas mediante cromatografía en columna. La fase estacionaria que se utilizó fue Florisil, y las fases móviles n-hexano, y una mezcla de diclorometano y ácido acético al 2% (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: HAc, 100:2). Para el desarrollo de esta cromatografía se utilizó columna de vidrio de dimensiones 250 X 10 mm d.i, en donde se colocó la fase estacionaria, la cual se empaca homogéneamente suspendiendo en solvente, en este caso n-hexano, y luego se sembró la muestra a analizar por la parte superior. Las muestras que se sembraron en este estudio fueron las fracciones lipídicas que se obtuvieron al fraccionar el extracto seco, mediante extracción líquido- líquido en la bureta de decantación (descrito al comienzo). La fase estacionaria se cambiaba entre muestra y muestra. De esta manera, se obtuvieron 2 extractos líquidos por muestra, uno para cada fase móvil.

El extracto que se obtuvo en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y HAc, fue utilizado para convertir los ácidos grasos en su éster metílico, mediante la reacción de esterificación, para luego poder analizarlos por cromatografía gaseosa. Al realizarse el análisis se utilizaron 3 estándares de ácidos grasos (ácido palmítico, oleico y esteárico), los cuales se analizaron en el cromatógrafo gaseoso a las mismas condiciones que se utilizaron posteriormente con los extractos.

Las reacciones de esterificación que se realizaron (Figura 2) fueron la de diazometano y la de ácido base (Práctica de lípidos del Laboratorio de Farmacognosia, 2005).



**R=** Cadena alquilica

Figura 2. Reacción de esterificación de ácidos grasos.

Para la identificación de los ésteres de los ácidos grasos de la muestra, así como de los estándares, se utilizó un cromatógrafo gaseoso Shimadzu GC-8 con un detector FID (detector fotométrico de llama), con una columna HP-20M Carbowax 20M. El gas utilizado como gas carrier y make up fue el  $\text{N}_2$ ; temperatura de detector e inyector:  $220^\circ\text{C}$ , con rampa de columna  $100$  a  $200^\circ\text{C}$  a  $5^\circ\text{C}/\text{min}$ .

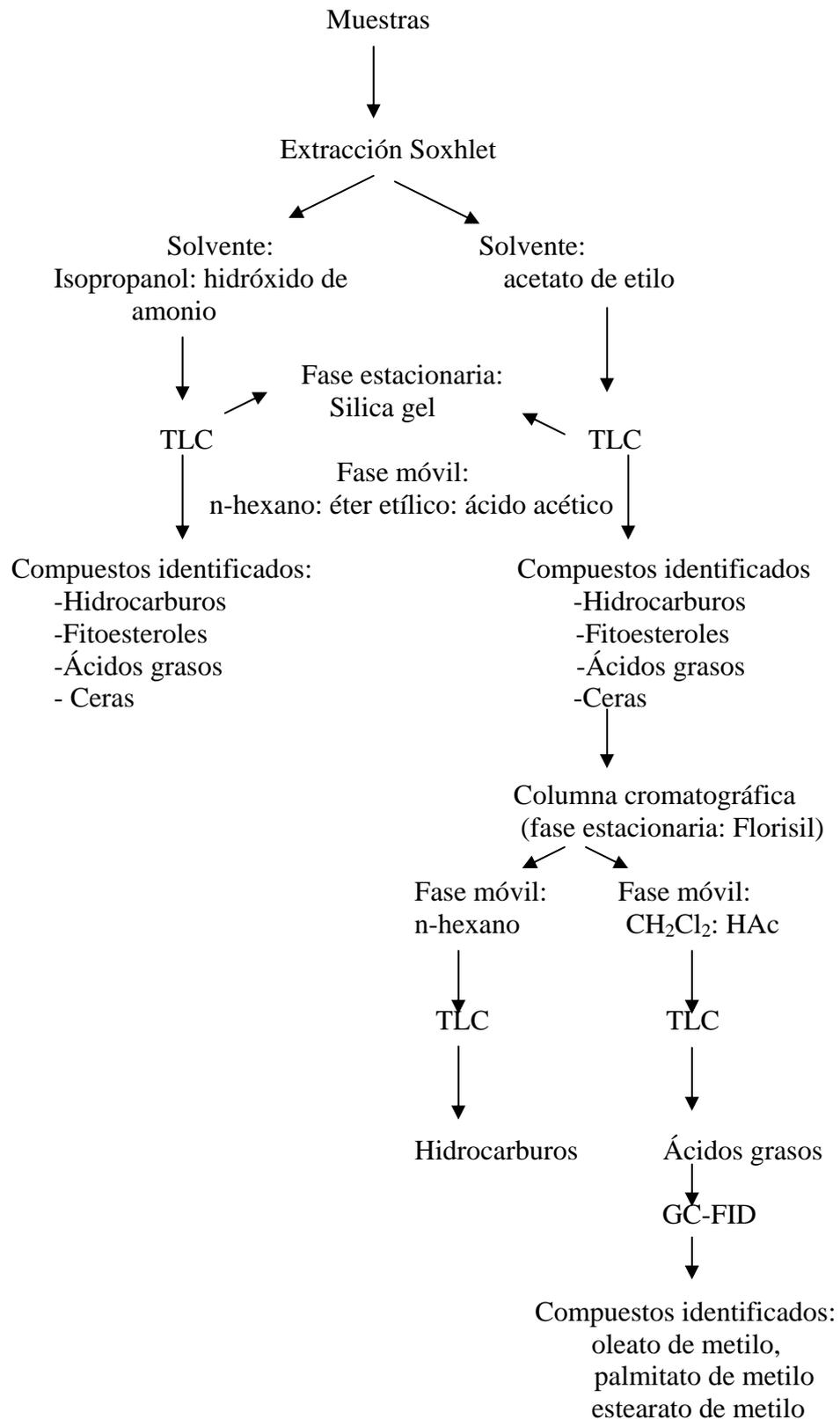


Figura 3 .Esquema del procedimiento para la identificación de los ácidos grasos e hidrocarburos.

### 3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico en los Estudios 1 y 2 se consideró un diseño de parcelas en bloques al azar, con 3 repeticiones. Para el Estudio 3 (experimento de incubación), se graficaron los valores de WDPT (segundos) vs semanas de incubación, con los respectivos desvíos estándares, y se determinó si existían o no diferencias significativas entre los valores de WDPT (ANAVA, y test de comparación de medias de Tukey). El Estudio 4 es un análisis cualitativo, por lo que no corresponde realizar análisis estadístico.

Los datos fueron procesados utilizando el programa estadístico Infostat (Dpto.Estadística, Universidad Nacional de Córdoba) y SAS.

Las hipótesis a testear fueron:

- 1) Si existían diferencias en el comportamiento hidrofóbico, en suelos bajo diferentes usos (forestal y pastoril); y bajo distintos manejos (sin restos, restos frescos y quemados) y profundidades del perfil.
- 2) Si existían diferencias en el desarrollo de la hidrofobicidad en condiciones de incubación, bajo condiciones controladas de humedad y temperatura, entre un suelo pesado y uno liviano, a lo largo de tres semanas.
- 3) Si existían diferencias en el contenido de agua a diferentes tensiones en un mismo suelo, bajo diferentes usos (forestal y pastoril), para dos profundidades del horizonte A.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Estudio 1.** Evaluación del grado de repelencia al agua en suelos sujetos a cambios en el tipo de vegetación (de pastoril a forestal: *Eucalyptus* y *Pinus*), y efectos del manejo diferencial de restos de cosecha de *Eucalyptus* sp.

En la Figura 4 se muestran los valores de WDPT para los tres usos del suelo (pastura natural, monte de *E. grandis* y monte de *P. taeda*) en el Acrisol de la Unidad Rivera. El comportamiento observado indica valores superiores de WDPT para los usos forestales que para el campo natural. El análisis estadístico de los datos (Cuadro 1 del Anexo II), muestra diferencias significativas en el grado de hidrofobicidad para los manejos (campo natural, plantaciones de pino y eucalipto), siendo más hidrofóbicos los suelos bajo plantaciones de pinos, con un promedio de 9 segundos y menos hidrofóbicos bajo pasturas naturales, cuyo promedio es de 5.56 segundos. No surgieron diferencias significativas entre las dos especies forestales (8 segundos para eucalipto y 9 segundos para pino).

En investigaciones previas (Doerr *et al.*, 2000) se ha observado que suelos bajo plantaciones de *Eucalyptus* sp. y *Pinus* sp. son más hidrofóbicos, comparados con suelos bajo pastura. El autor menciona que las plantas que están más comúnmente asociadas a la hidrofobicidad son árboles perennes, con una considerable cantidad de resina, ceras o aceites aromáticos como los *Eucalyptus* sp. y *Pinus* sp. Doerr y Thomas (2000), compararon muestras provenientes de suelo bajo *Eucalyptus* sp. y *Pinus* sp., con WDPT inicial mayor a 5 horas, y comprobaron que el suelo bajo *Eucalyptus* sp. presentó mayor tiempo de infiltración al agua que el suelo bajo *Pinus* sp. Esta diferencia podía ser causa de la variación en el tipo de cargas y/o densidad, o tipo de moléculas orgánicas entre el suelo bajo pino y eucalipto.

Este comportamiento indicaría condiciones para una más lenta infiltración de agua en los suelos bajo vegetación de bosque comparados con los suelos bajo vegetación de pradera natural.

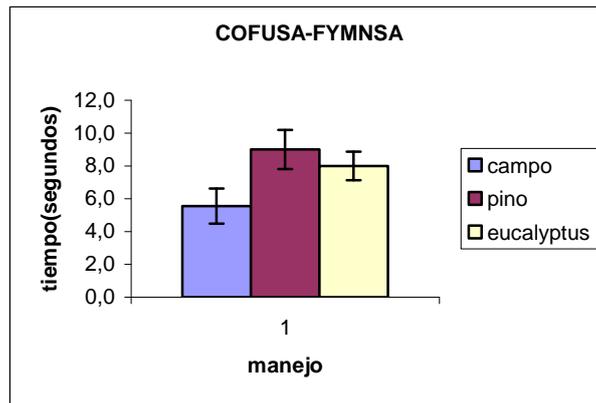


Figura 4. Tiempo de penetración del agua (WDPT) en muestras de suelo de un Acrisol Álbico de la Unidad Rivera, bajo tres manejos diferentes: campo natural, plantación de *Pinus taeda* y *Eucalyptus grandis*.

En los suelos del litoral oeste los resultados mostraron concordancia con el comportamiento de suelos arenosos del norte (Unidad Rivera). Para el Planosol de la Unidad Algorta se estudió el efecto del cambio de uso del suelo de pastoril a forestal en el comportamiento hidrofóbico del suelo, a diferentes profundidades del perfil. En la Figura 5 se muestra el comportamiento observado. Bajo campo natural los valores de hidrofobicidad resultaron menores que bajo monte, excepto a la profundidad de 3-6 cm, donde este comportamiento se invierte. Los valores para el campo natural fueron 4.5 segundos en promedio para todas las profundidades, en tanto que para eucalipto fueron de 6.9 segundos. Como se puede observar en la Figura 5, existen diferencias significativas entre usos (campo natural y forestado) (Cuadro 2 del anexo II), para los valores de hidrofobicidad (WDPT), a profundidades 0-3 cm, 6-12 cm, 12-18 cm, 40-60 cm y 60-80 cm. Es importante destacar que las profundidades de 40 a 60 cm, y de 60 a 80 cm se corresponden con el horizonte Bt del suelo, lo cual indicaría que el comportamiento hidrofóbico no sólo se da en los primeros centímetros de suelo, con mayor contenido de materia orgánica y más influido por la descomposición y/o exudados de restos vegetales de eucalipto.

Según Dekker y Ritsema, citados por Doerr *et al.* (2000), en un estudio que realizaron investigando la variabilidad espacial de la repelencia del suelo al agua, encontraron que la repelencia variaba considerablemente en los primeros 50 cm. A su vez, Jaramillo (2004), estudio la relación entre el contenido de materia orgánica y la hidrofobicidad, en Andisoles bajo cobertura de *Pinus patula*, y no encontró ninguna relación entre el contenido de materia orgánica y el WDPT del suelo. Por lo tanto, los resultados que se obtuvieron en este estudio, concuerdan con lo descrito por los autores mencionados, en

que la hidrofobicidad es muy variable espacialmente, y en que no es más intensa en los primeros centímetros del suelo donde se encuentra la materia orgánica, ya que no depende de la cantidad sino del tipo de materia orgánica que tenga el suelo (Debano *et al.*, Singer y Ugolini, Jaramillo, Wallis *et al.*, citados por Jaramillo, 2004; Doerr, 2006). Observando la figura 5, también se puede concluir que los resultados confirman lo descrito por estos autores, ya que a una profundidad superior a 40 cm, donde hay muy poca materia orgánica, los valores de WDPT para monte, son altos.

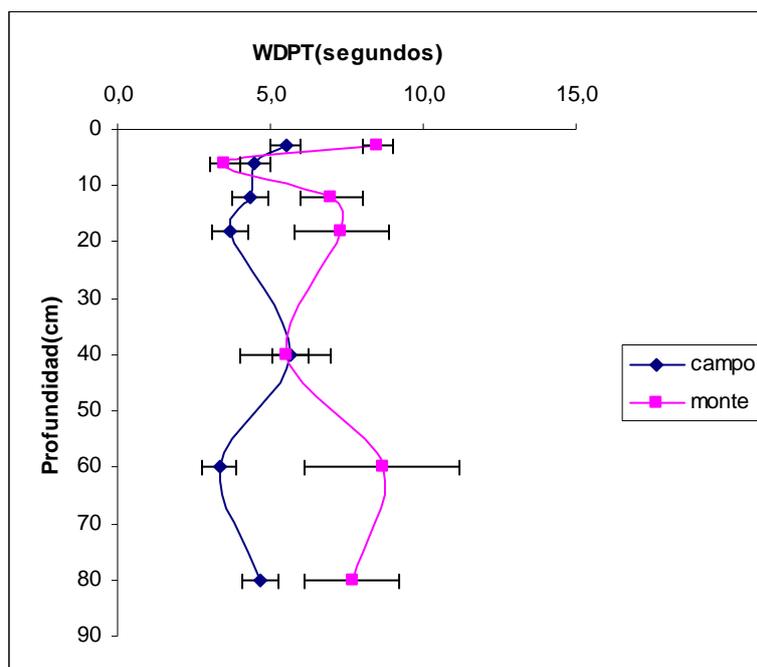


Figura 5. Distribución de la hidrofobicidad (WDPT) en el perfil del suelo, hasta 80 cm de profundidad, en un Planosol Dístrico de la Unidad Algorta.

En otros suelos del litoral de la Unidad Tres Bocas (sitios El Rosario y El Tabaré), el comportamiento hidrofóbico fue similar al de los sitios anteriormente analizados. Bajo campo natural, la repelencia al agua fue menor que para el mismo suelo bajo monte, para ambos sitios (Figura 6). El valor promedio para el campo natural fue de 0 y 1 segundo, para El Tabaré y El Rosario, respectivamente. Bajo monte, el valor promedio de la repelencia fue de 9.67 y 4.17 segundos, para El Tabaré y El Rosario, respectivamente (con diferencias significativas en ambos casos, Cuadros 8 y 9 del anexo II).

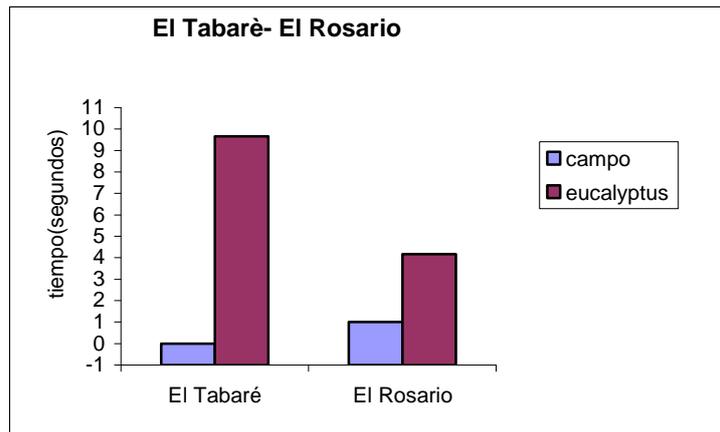


Figura 6. Tiempo de penetración del agua (WDPT) en muestras de suelo de un Brunosol (sitio El Tabaré) y un Planosol (sitio El Rosario) de la Unidad Tres Bocas, bajo dos manejos diferentes: campo natural y plantación de *Eucalyptus grandis* y *Eucalyptus dunnii*, respectivamente.

Al comparar la hidrofobicidad del suelo bajo monte, pero entre suelos diferentes (El Tabaré vs El Rosario), se puede determinar que en El Tabaré, el cual es un suelo con mayor contenido de arcilla y materia orgánica, la hidrofobicidad es mayor que en El Rosario bajo el mismo manejo, aunque este último se trata de un suelo arenoso. A diferencia de los resultados obtenidos aquí, McKissock *et al.* (2000) observaron que la arcilla reduce la repelencia al agua en el suelo, incluso cuando se aplicaron grandes cantidades de arcilla a un suelo, hubo una fuerte disminución de la hidrofobicidad. Pero al estudiar la eficiencia en la reducción del WDPT, determinaron que la caolinita es más efectiva que la smectita. En suelos similares a los de El Tabaré y El Rosario el tipo de arcillas predominantes lo constituyen las smectitas (Hernández, com. pers.).

En el experimento realizado en el predio La Rosada se realizó la comparación entre tres tratamientos de restos post-cosecha: sin restos, restos quemados y restos frescos. Los últimos dos tratamientos son los aplicados por la empresa luego de la cosecha forestal. Para estos tres tratamientos se encontraron diferencias significativas en el grado de hidrofobicidad entre los tratamientos con restos quemados y con restos frescos (Cuadro 7 del anexo II). Según las medidas de WDPT realizadas, el bloque con restos quemados presenta mayor grado de repelencia al agua (8,8 segundos) que el de restos frescos (4,5 segundos) (Figura 7). Esto fue descrito por DeBano y Krammes, DeBano *et al.* y Savage, citados por Doerr *et al.* (2000), quienes observaron que el fuego podía inducir la hidrofobicidad en un suelo previamente hidrofílico. DeBano,

citado por Jaramillo (2004), describe que los incendios forestales son un mecanismo de formación de suelos repelentes al agua. Según este autor, los altos gradientes de temperaturas alcanzados durante la quema, provocan que los gases producidos se muevan hacia el interior del suelo cargados de sustancias hidrofóbicas, las cuales se depositan sobre la superficie de las partículas sólidas que se encuentran más abajo, formándose una capa repelente al agua. El espesor y profundidad de la capa dependen de la intensidad del fuego, y del tipo y cantidad de materia orgánica que se quemó, así como del contenido de humedad y de las propiedades físicas del suelo.

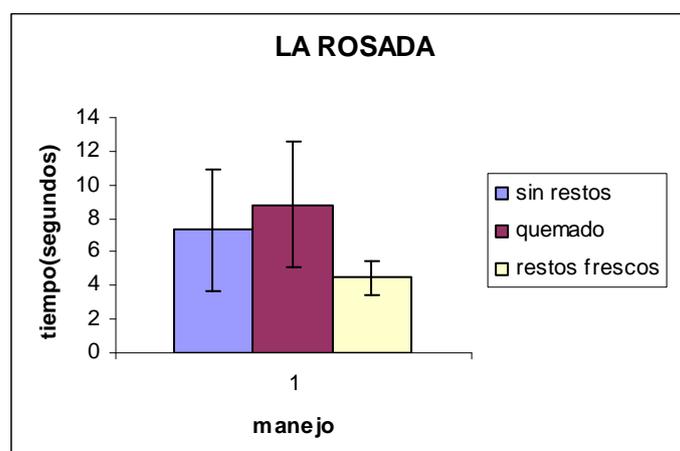


Figura 7. Repelencia del suelo al agua bajo 3 manejos diferentes de restos de cosecha de una plantación de *E. globulus* en un Vertisol de la Unidad Cuchilla Corralito.

**Estudio 2.** Incidencia del cambio en el tipo de vegetación (de pastoril a forestal: *E. grandis* y *E. dunnii*) en la retención de agua por los suelos.

Este estudio fue realizado en dos suelos de textura liviana (Planosoles de El Rosario y El Minero) y un suelo de textura pesada (Brunosol de El Tabaré) de la Unidad Tres Bocas.

Las curvas de retención de agua de estos suelos mostraron un comportamiento diferencial para los sitios (Figuras 8, 9 y 10). En los Planosoles de El Rosario y El Minero se encontró un mayor contenido de agua para todas las tensiones aplicadas bajo manejo pastoril que bajo la plantación de eucalipto. Estos resultados fueron altamente significativos para la primera profundidad (0 a 3 cm). Para la segunda profundidad (3 a 6 cm), en El Rosario hubo una tendencia a una menor retención de agua bajo monte, en tanto que en El Minero se invirtió la misma, hacia menores contenidos de humedad bajo pasturas a bajas tensiones que bajo eucalipto (Cuadro 3). Para el Brunosol de El Tabaré

se encontró un mayor contenido de agua para cada tensión bajo manejo forestal (*E. grandis*), aunque dicho comportamiento sólo resultó significativo para la profundidad de 3 a 6 cm.

Cuadro 3. Análisis de varianza para el contenido gravimétrico de agua del suelo a diferentes tensiones y usos del suelo (pastura vs monte).

Fuente de Variación	El Rosario		El Minero		El Tabaré	
	F	Pr > F	F	Pr > F	F	Pr > F
Profundidad 0 – 3 cm						
Uso	27.50	<0.0001	28.50	0.0001	0.07	0.7943
Tensión	33.15	<0.0001	34.98	<.0001	10.94	<0.0001
Uso*Tensión	0.99	0.4591	3.51	0.0249	0.19	0.9855
Profundidad 3 - 6 cm						
Uso	3.19	0.0837	4.16	0.0497	18.82	0.0001
Tensión	60.55	<.0001	34.33	<.0001	19.25	<.0001
Uso*Tensión	2.73	0.0243	0.58	0.7636	0.54	0.8004

Los resultados encontrados en ambos Planosoles arenosos coinciden con investigaciones previas realizadas en suelos de texturas livianas (Pérez Bidegain *et al.*, 2001a y 2001b; Salvo *et al.*, 2003). Estos autores habían observado una menor retención de agua en los primeros 5 cm del suelo bajo *Eucalyptus* sp. comparado con el suelo bajo pasturas. En el presente estudio no fue evaluado el comportamiento a otras profundidades de suelo (horizonte B). Estudios realizados por Delgado *et al.* (2006) indican que las diferencias en retención de agua entre manejos diferentes (pastoril o forestal) para el mismo suelo son aún mayores en el horizonte Bt.

Sin embargo, para el Brunosol los resultados no coinciden con lo descrito por los autores ya mencionados, ya que el suelo bajo *Eucalyptus* sp. presenta una mayor retención de agua que el suelo bajo pasturas, para las dos profundidades estudiadas..

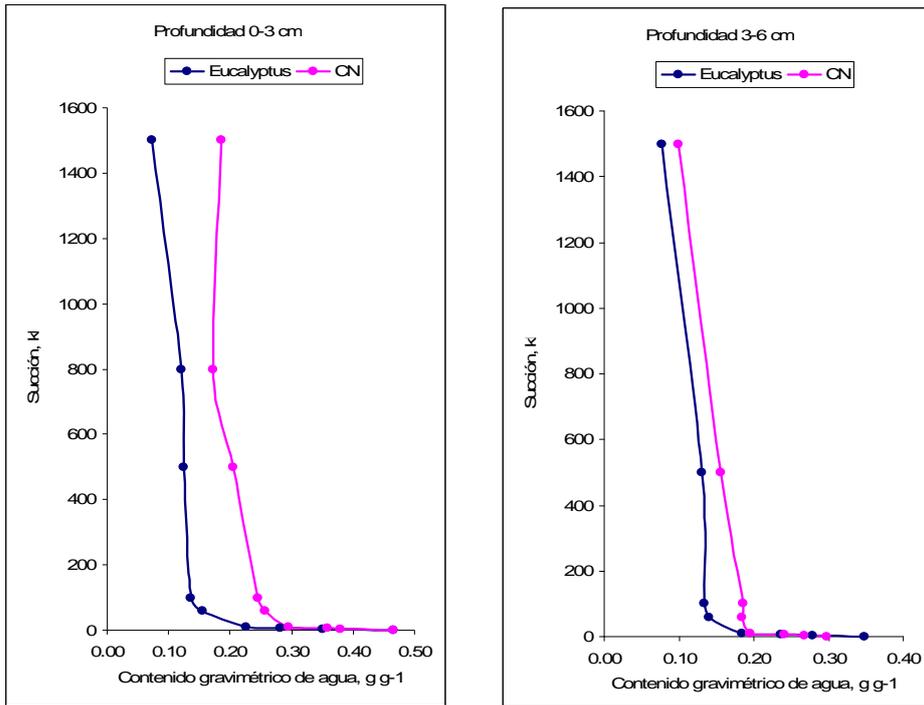


Figura 8. Curvas de retención de para el sitio El Rosario, a las profundidades de 0-3 cm y 3-6 cm.

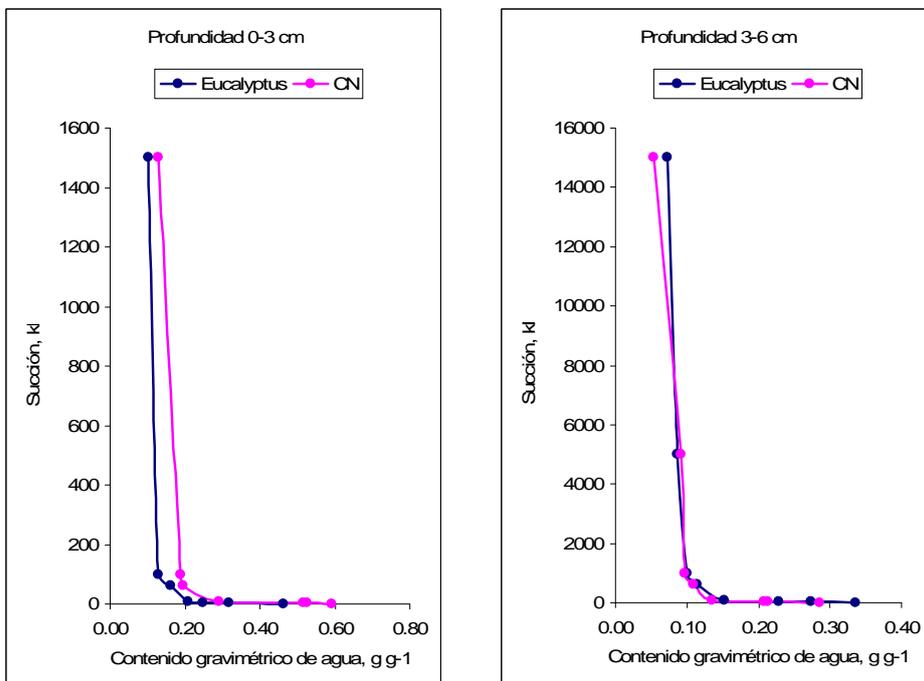


Figura 9. Curvas de retención de agua para el sitio El Minero, a las profundidades de 0-3 cm y 3-6 cm.

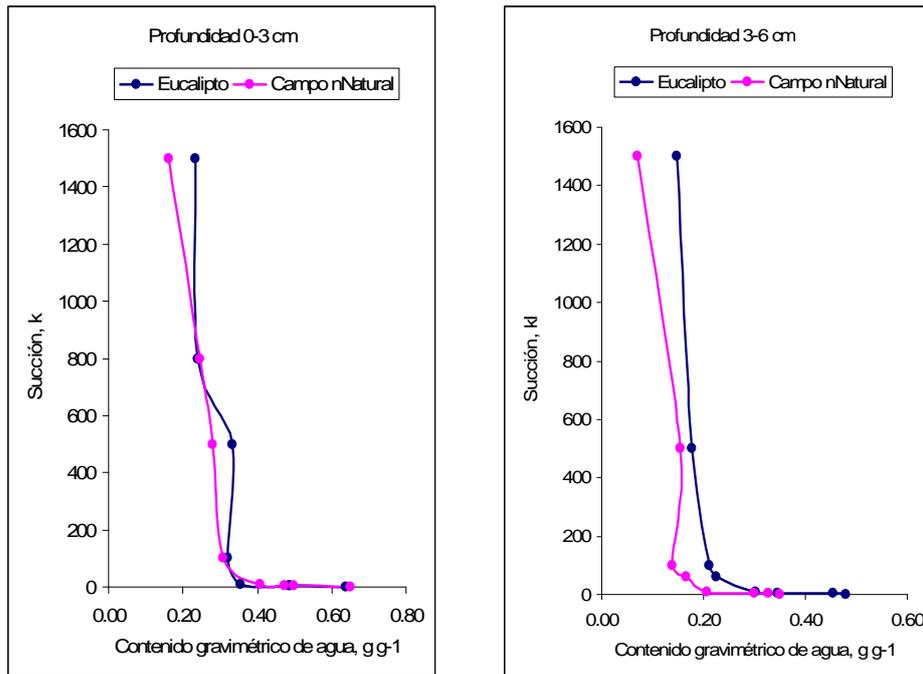


Figura 10. Curvas de retención de agua para el sitio El Tabarè, a las profundidades de 0-3 cm y 3-6 cm.

**Estudio 3.** Desarrollo del proceso de hidrofobicidad: estudio en condiciones controladas de laboratorio.

El experimento realizado en condiciones controladas de temperatura y humedad en laboratorio (incubación aeróbica) mostró diferencias en el comportamiento hidrofóbico entre suelos y tiempos de incubación. Como se puede observar en las Figuras 11 y 12, existe un comportamiento claro en ambos casos de que bajo manejo forestal (*Eucalyptus* sp), el suelo desarrolla un comportamiento hidrofóbico mayor que bajo manejo pastoril. Por otra parte, existe una tendencia de que a medida que aumenta el tiempo de incubación de las muestras, hay un aumento de la repelencia al agua por el suelo. Fue encontrada una alta variabilidad en los datos de hidrofobicidad bajo manejo forestal, lo cual podría ser consecuencia de que los suelos bajo este manejo, presentan mayor contenido de sustancias hidrofóbicas, las cuales estarían distribuidas de forma más heterogénea sobre las partículas del suelo, provocando una gran variación en el valor de WDPT, entre muestras. Esta variabilidad sería consecuencia del manejo del suelo y no del manejo en el laboratorio, ya que al estudiar la variación de los datos (variabilidad entre las repeticiones del laboratorio), ésta resultó ser muy baja (datos no presentados).

Para el sitio El Tabaré, la hidrofobicidad en el suelo bajo el monte y bajo campo aumenta de manera gradual durante el período de incubación. En el suelo bajo monte, el valor inicial de WDPT es de 9.67 segundos y al terminar la incubación es de 17.83 segundos. A pesar de que en el suelo bajo campo la tendencia es la misma que en el suelo bajo monte, el aumento es muy pequeño; pasa de no presentar repelencia a 1.17 segundos al finalizar la incubación (Figura 11).

Sin embargo, para El Rosario la hidrofobicidad del suelo bajo el monte aumenta en las 2 primeras semanas, desde un tiempo promedio de 4.17 segundos a 16.83 en la segunda semana, y luego tiene un descenso a 11.3 segundos. En el mismo suelo pero bajo campo natural, la repelencia al agua promedio al inicio es de 1 segundo, luego disminuye a 0, y vuelve a aumentar a un valor de 4.33 segundos (Figura 12).

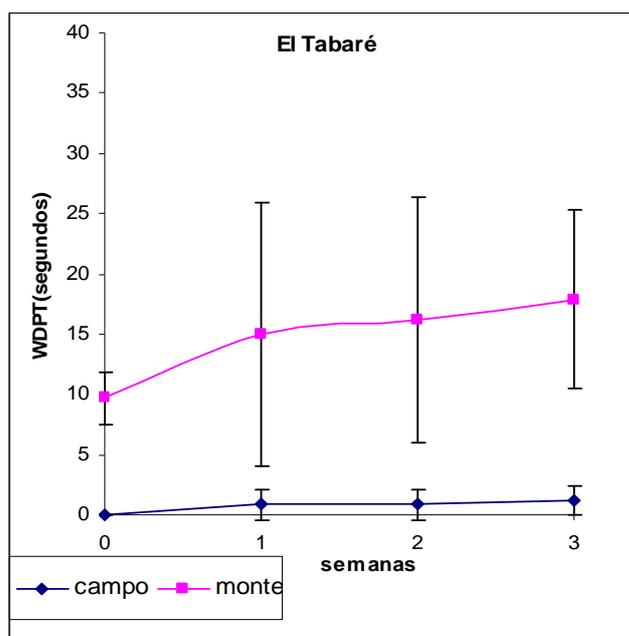


Figura 11. Repelencia al agua (WDPT) en función de las semanas de incubación de las muestras, para el establecimiento El Tabaré.

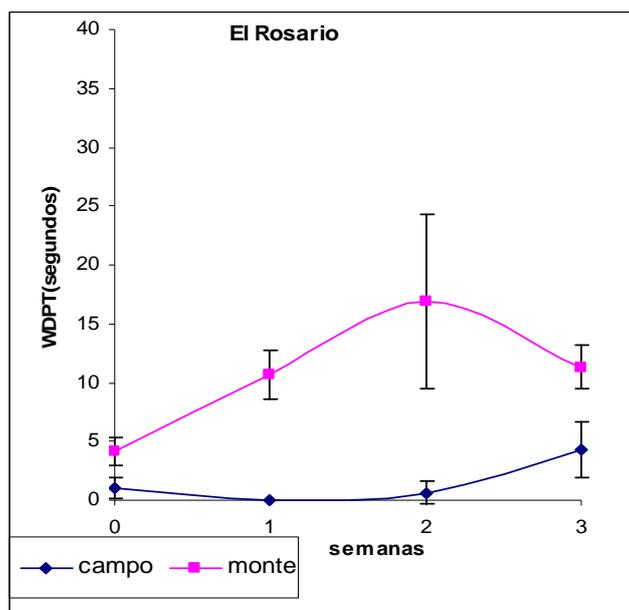


Figura 12. Repelencia al agua (WDPT) en función de las semanas de incubación de las muestras, para el establecimiento El Rosario.

Al comparar ambos sitios, se observa que el suelo bajo monte en El Tabaré es más hidrofóbico que en El Rosario, incluso a  $t_0$  la repelencia al agua es en promedio 5 unidades mayor (9.67 segundos en El Tabaré y 4.17 segundos en El Rosario). Esto es esperable, ya que el suelo de El Tabaré es un suelo con mayor contenido de materia orgánica que el suelo de El Rosario. Doerr y Thomas (2000), en un estudio que realizaron comparando la hidrofobicidad en suelo bajo eucalipto y pino, observaron que el tiempo para que infiltrara el agua en un suelo hidrofóbico, variaba considerablemente, de 1 hora en pino a 30 días en eucalipto. Esta diferencia la atribuyeron a una variación en el tipo de cargas y/o la densidad o tipo de moléculas orgánicas entre ambos manejos. Esta observación podría explicar el comportamiento diferencial entre ambos manejos en este trabajo.

Respecto a la textura del suelo, en el pasado se creía que la repelencia al agua estaba asociada a suelos arenosos (Roberts y Carbon, McGhie y Posner, DeBano, citados por Doerr *et al.*, 2000). Pero DeBano, citados por Doerr *et al.* (2000), concluyó que la hidrofobicidad se desarrollaba en suelos con menos de un 10% de arcilla. DeJonge *et al.*, citados por Doerr *et al.* (2000), sugirió que las partículas hidrofóbicas de materia orgánica son relativamente finas, desarrollando la repelencia al agua en la fracción fina del suelo. McKissock *et al.* (2000), encontraron que la severidad de la repelencia era influenciada por cambios pequeños en el contenido de arcilla; aumentos

de 1-2% en el contenido de arcilla, eran muy importantes para prevenir la repelencia al agua en suelos arenosos. Sin embargo, otros autores como Scott, Roy *et al.*, citados por Jaramillo (2004), concluyeron que la repelencia al agua en los suelos, no estaba restringida a una clase textural particular.

#### **Estudio 4.** Identificación de compuestos orgánicos asociados al comportamiento hidrofóbico.

Para la identificación de los compuestos que causan la repelencia al agua, se realizaron los análisis descritos en materiales y métodos, pero con un objetivo cualitativo y no cuantitativo, ya que sólo se pretendió realizar una primera aproximación a la identificación de compuestos. Dado que aun estas técnicas no fueron implementadas en estudios de suelos, se cumplió con un objetivo adicional poniendo a punto las mismas para futuros trabajos.

Para una primera aproximación a la identificación de grupos de compuestos responsables de la hidrofobicidad se tomaron muestras de un Acrisol de la unidad Rivera, bajo tres manejos diferentes: pastura natural, compuesta principalmente por gramíneas nativas, monte de *E. grandis* de 24 años, y monte de *P. taeda* de 18 años. Luego de realizada la extracción Soxhlet en las muestras, utilizando dos solventes diferentes (acetato de etilo y una mezcla de isopropanol: hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH), se realizó la TLC (Thin Layer Chromatography o Cromatografía en Capa Fina) de la muestra para ambos extractos. En las Figuras 13 y 14 se indican dichos resultados. Se pudo comprobar, en primer lugar, que ambos solventes extraían compuestos diferentes. El acetato de etilo extrajo los compuestos más apolares y la mezcla de isopropanol: hidróxido de amonio, a los compuestos más polares. Franco *et al.* (2000), utilizaron la mezcla de isopropanol: hidróxido de amonio (70:30, v:v), para extraer los compuestos polares, lo que coincide con los resultados observados en el presente trabajo. En la Figura 13 se puede observar que hay dos grupos de compuestos: un grupo de compuestos polares, que son los que presentan un R<sub>f</sub> menor, como el fitoesterol (ver Figura 14, en la cual se realizó la corrida del standard, colesterol) ya que tienen poca afinidad por la fase móvil, y un grupo apolar cuyo R<sub>f</sub> es mayor (como los hidrocarburos). Sin embargo, ambos grupos tienen un rol en la repelencia al agua (Horne & McIntosh, 2000). Franco *et al.* (2000), quienes caracterizaron las propiedades

químicas de ceras hidrofóbicas del suelo, detectaron que los compuestos que se encontraban en gran cantidad en sus muestras, eran cadenas y ramas de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, alcanos, fitoles y fitanoles (alcoholes de origen vegetal), y esteroides. Los ácidos grasos y ésteres, presentan propiedades hidrofóbicas, características de componentes no polares, mientras que las ramas de los ácidos grasos y los otros componentes químicos que contienen grupos hidroxilos, como fitoles, fitanoles y esteroides, presentan características de ceras polares.

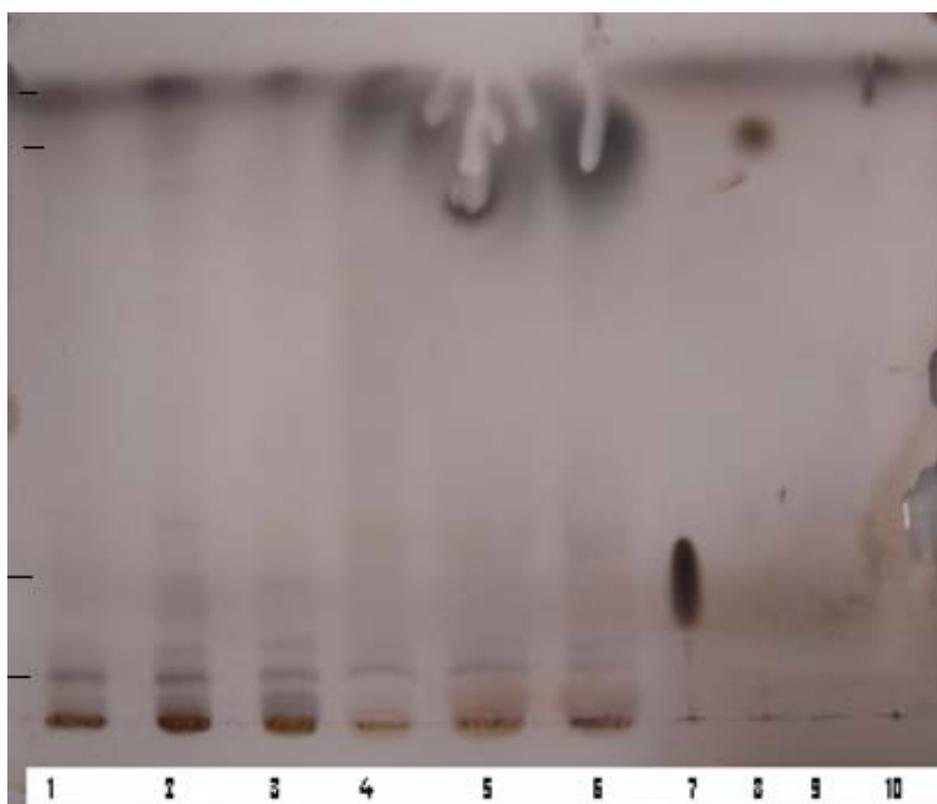


Figura 13. TLC de los extractos en isopropanol: hidróxido de amonio y acetato de etilo, y los 4 estándares utilizados (1- CN en isopropanol: hidróxido de amonio; 2- eucalipto en isopropanol: hidróxido de amonio; 3- pino en isopropanol: hidróxido de amonio; 4- CN en acetato de etilo; 5- eucalipto en acetato de etilo; 6-- pino en acetato de etilo; 7- ácido oleico; 8- esperma de ballena; 9- alcohol mirístico; 10- parafilm)

En la placa de silica gel también se pueden ver varias bandas que corresponden a diferentes grupos de compuestos, y para su identificación se los comparó con la corrida de los estándares.

La banda que presenta un  $R_f = 0.074$  corresponde a un fitoesterol, el cual se puede observar en todos los extractos, pero con mayor intensidad en los extractos cuyo

solvente es isopropanol: hidróxido de amonio (Figuras 13 y 14). La intensidad en el color podría estar indicando que la mezcla de isopropanol: hidróxido de amonio extrae más cantidad de fitoesteroles que el acetato de etilo. En la TLC que corresponde a la Figura 13 no se sembró el estándar de colesterol, pero se puede determinar que este compuesto está presente, ya que el Rf es igual al de la TLC de la Figura 14, y ambos se sembraron en las mismas condiciones. Mainwaring *et al.* (2004), habían identificado como uno de los grupos de compuestos responsables de la hidrofobicidad a compuestos policíclicos, y dentro de este grupo identificaron al estigmaesterol, el cual es un esteroles de origen vegetal.

El Rf = 0.21, es el estándar de ácido oleico, y en los extractos se observa una banda difusa, lo que estaría indicando la presencia de este ácido graso en los tres manejos de suelo, pero con una pequeña diferencia en la intensidad de las bandas entre ellos (Figura 13). Al ver la TLC en detalle, se podría inferir que las bandas para este ácido, tanto para eucalipto como para pino, son más intensas que en campo natural. Por lo tanto, este ácido graso estaría en mayor concentración en los suelos bajo forestación.

Otro grupo de compuestos que se identificó son las ceras, las cuales tienen un Rf = 0.85, igual al Rf correspondiente al estándar de esperma de ballena, y están presentes en todas las muestras (Figura 13 y 16), pero las bandas son tenues, lo que indicaría que están en baja concentración. El valor de Rf alto, podría indicar que corresponde a un grupo de ceras no polares. Franco *et al.* (2000), al realizar análisis físico-químico de suelos repelentes al agua, determinaron que el componente que más contribuye al desarrollo de la hidrofobicidad son ceras polares. Pero el comportamiento de estas ceras, presentes en la superficie de los granos de arena y en las partículas de materia orgánica, es mediado por la presencia de pequeñas cantidades de ceras no polares, las cuales son altamente hidrofóbicas.

En la misma TLC (Figura 13), se puede observar que hay un grupo de compuestos que presentan un Rf= 0.92, y corresponde al grupo de los hidrocarburos, los cuales tienen poca afinidad por la sílica gel. Es posible hacer esta afirmación, dado que se sembró parafilm (estándar de hidrocarburos), y presentó el mismo Rf (ver también Figura 16).

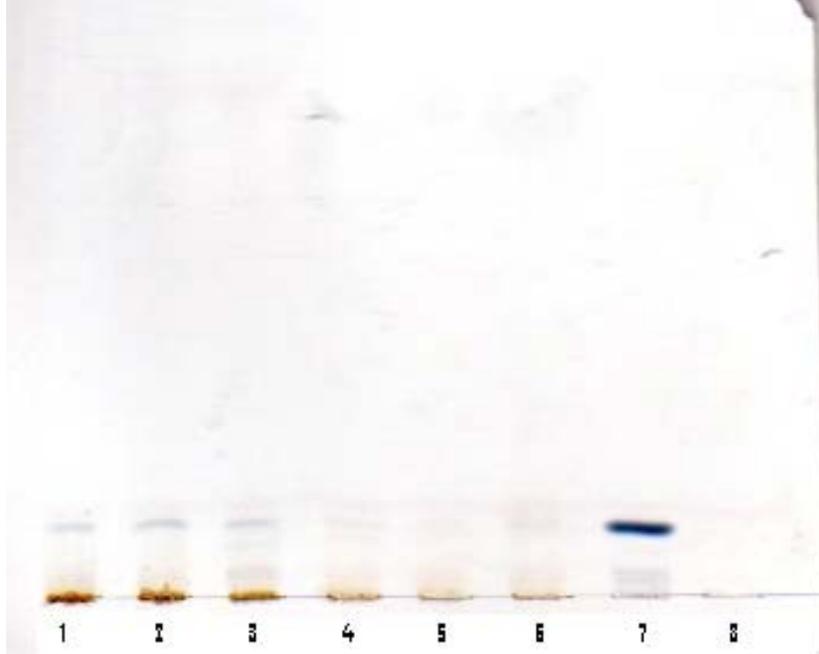


Figura 14. TLC de los extractos en isopropanol: hidróxido de amonio y acetato de etilo, con los 2 estándares utilizados (1-eucalipto en isopropanol: hidróxido de amonio; 2-CN en isopropanol: hidróxido de amonio; 3- pino en isopropanol: hidróxido de amonio; 4-eucalipto en acetato de etilo; 5- CN en acetato de etilo; 6- pino en acetato de etilo; 7- colesterol como estándar de fitoesteroles; 8- ácido palmítico).

La Figura 15 corresponde a la TLC de la Figura 13 pero observada en UV a 366 nm, y se puede identificar un compuesto que fluoresce a esa longitud de onda, el cual está presente en los tres manejos, y su  $R_f = 0.55$ . Este podría tratarse de un compuesto aromático conjugado que se encuentra en el suelo, ya que está presente en las tres muestras, el cual es extraído tanto en el acetato de etilo como en la mezcla isopropanol: hidróxido de amonio. Pero no se podría identificar si es de origen microbiano o si es un compuesto que fue biotransformado por estos. En la Figura 17 también se observa el mismo compuesto pero con un  $R_f = 0.82$ . Esta diferencia en el  $R_f$  entre ambas placas, se debe a que la placa de la Figura 17 primero se colocó en una fase móvil más polar y luego en una fase más apolar.

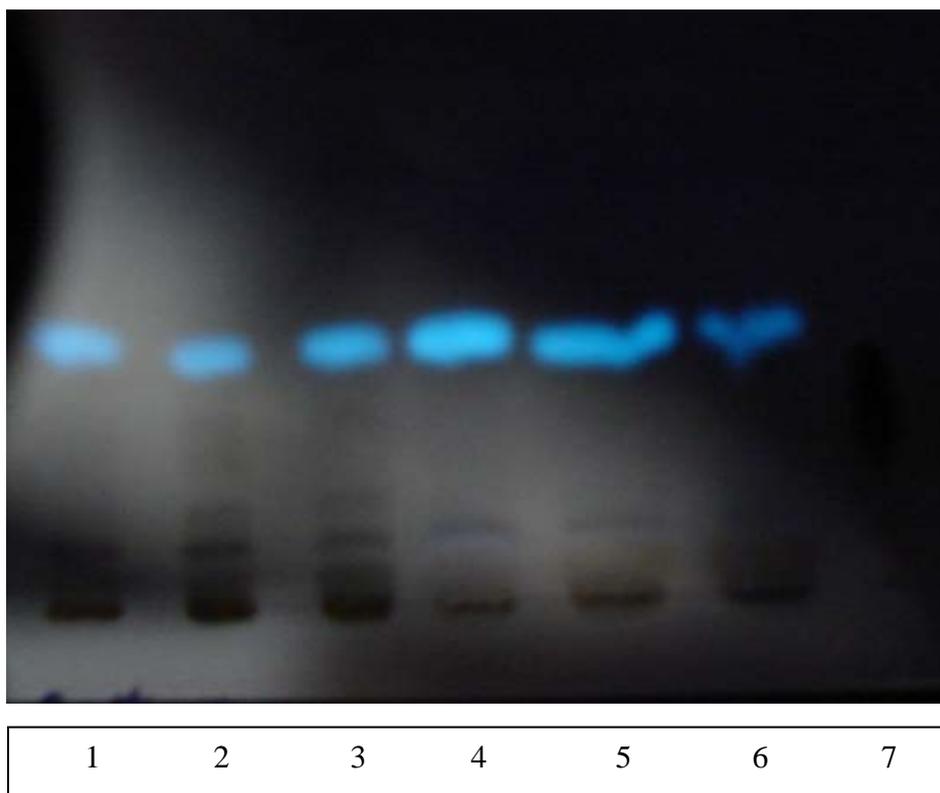


Figura 15. Revelado de TLC mediante UV a 366 nm de los extractos en isopropanol: hidróxido de amonio y acetato de etilo, y los 4 estándares utilizados (1- CN en isopropanol: hidróxido de amonio; 2- eucalipto en isopropanol: hidróxido de amonio; 3- pino en isopropanol: hidróxido de amonio; 4- CN en acetato de etilo; 5- eucalipto en acetato de etilo; 6-- pino en acetato de etilo; 7- ácido oleico; 8- esperma de ballena; 9- alcohol mirístico; 10- parafilm).

La Figura 16 es una TLC que se realizó con 2 fases móviles: primero se colocó la placa de silica gel en una fase móvil más polar (n-hexano: acetato de etilo (1:1), y ácido acético 1%), y luego la fase móvil más apolar (n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%). Este cambio de fase móvil, permitió que los compuestos polares tuvieran mayores  $R_f$  y se pudieran observar mejor. Por ejemplo, el  $R_f$  para los fitoesteroles es de 4.5, mientras que cuando se usa solo la fase móvil apolar el  $R_f = 0.074$ . También se pueden identificar ácidos grasos de cadena corta ( $C_{14}$ ) en los tres manejos, dado que se sembró el ácido mirístico como estándar para estos ácidos. El resto de los compuestos que se observan en esta TLC son los ya identificados en la TLC de la Figura 13: ceras, ácido oleico e hidrocarburos, y al UV se observa el compuesto que al someter la placa a una sustancia reveladora, flúorese con color azul-violeta (Figura 17).

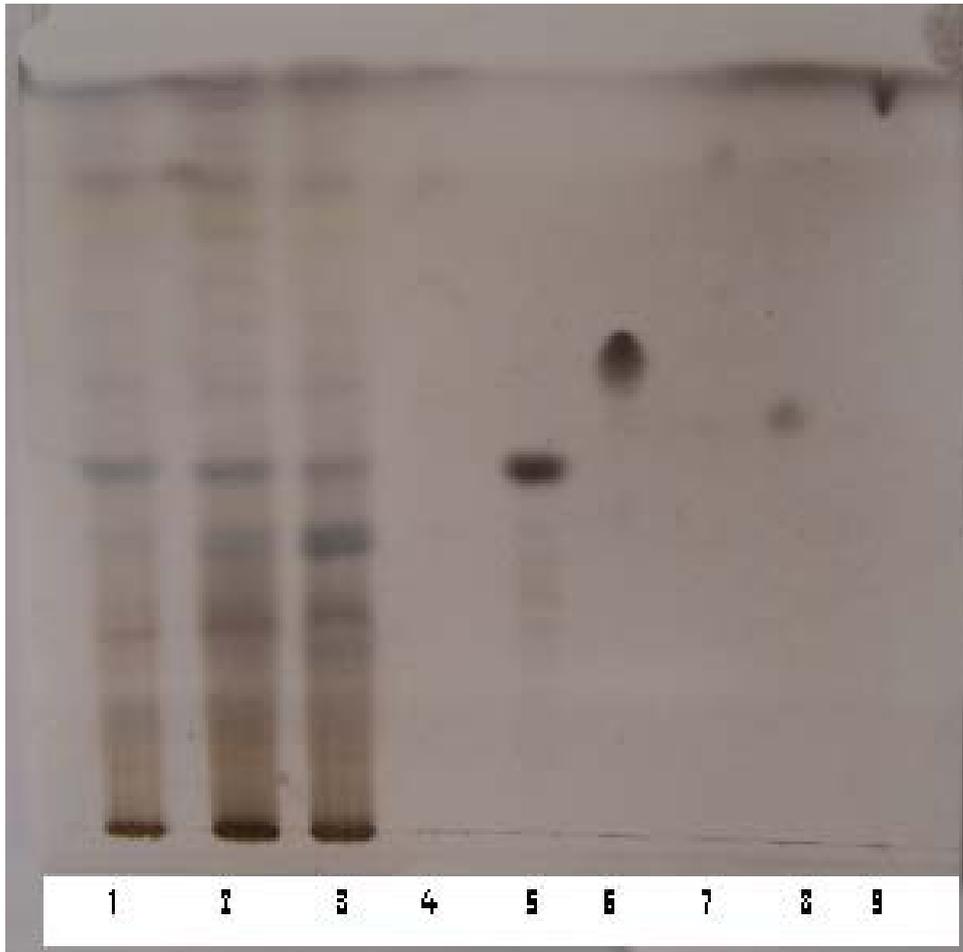


Figura 16. TLC de los extractos, utilizando 2 fases móviles (1- CN en isopropanol: hidróxido de amonio; 2- eucalipto en isopropanol: hidróxido de amonio; 3- pino en isopropanol: hidróxido de amonio; 4- ácido palmítico; 5- colesterol; 6- ácido oleico; 7- esperma de ballena; 8- alcohol mirístico; 9- parafilm); fases móviles: primero en n-hexano: acetato de etilo (1:1) y ácido acético 1%, y luego n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%.

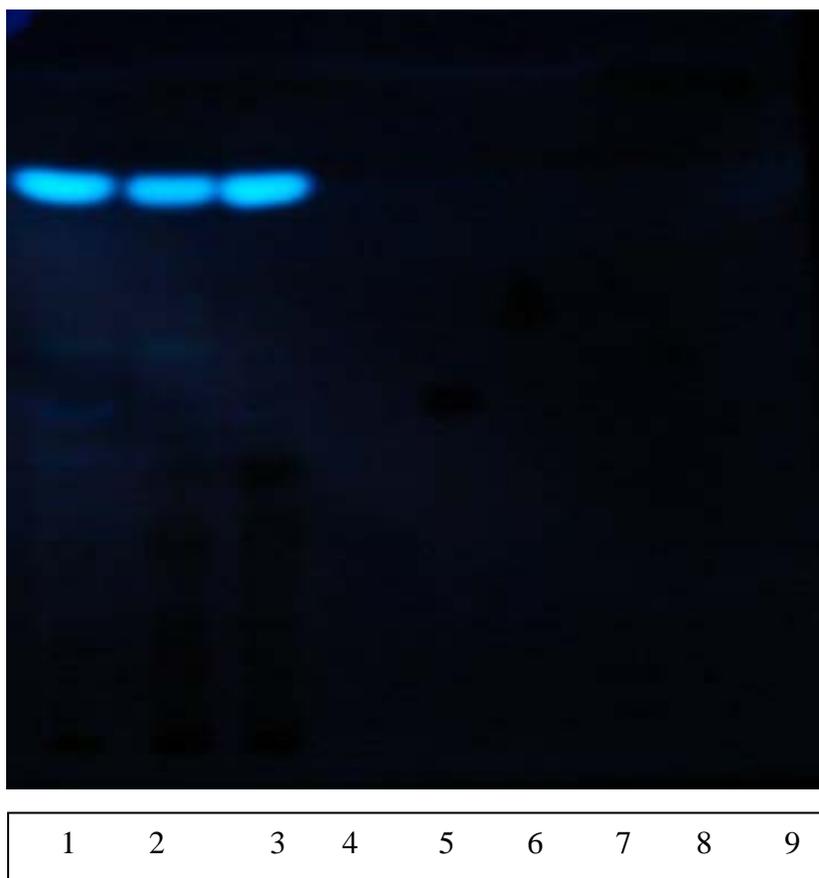


Figura 17. Revelado de TLC mediante UV a 366 nm de los extractos, utilizando 2 fases móviles (1- CN en isopropanol: hidróxido de amonio; 2- eucalipto en isopropanol: hidróxido de amonio; 3- pino en isopropanol: hidróxido de amonio; 4- ácido palmítico; 5- colesterol; 6- ácido oleico; 7- esperma de ballena; 8- alcohol mirístico; 9- parafilm); fases móviles: primero en n-hexano: acetato de etilo (1:1) y ácido acético 1%, y luego n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%.

Dado que en todas las TLC que se realizaron, los ácidos grasos aparecen reiteradamente, a estos extractos se los pasó por una columna cromatográfica con florisil como fase estacionaria (Horne & McIntosh, 2000). De esta manera en las 2 fases móviles (n-hexano y la mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), se obtienen sólo este grupo de compuestos. Una vez que se pasaron los extractos por la columna, se realizó una TLC para cada uno de ellos, con el propósito de corroborar que se hayan extraído los compuestos mencionados. En las Figuras 18, 19 y 20, se observan las TLC de los extractos de eucalipto, campo natural y pino, respectivamente. A partir de las TLC, se puede determinar que al pasar los extractos en acetato de etilo por la columna cromatográfica, utilizando n-hexano como fase móvil, se extrae principalmente el grupo de hidrocarburos; y la mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : ácido acético, extrae a los ácidos grasos.

Por lo tanto, para obtener más información sobre los ácidos grasos presentes en las muestras, a las tres muestras correspondientes a los manejos de suelo, que se obtuvieron en la mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : ácido acético, se les realizó la reacción de esterificación para luego analizar la muestra en un cromatógrafo gaseoso con un detector FID (detector fotométrico de llama).



Figura 18. TLC del extracto de eucalipto en acetato de etilo al pasarlo por la columna cromatográfica (1- eucalipto en n-hexano; 2- eucalipto en una mezcla de n-hexano:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 3- eucalipto en una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : ácido acético; 4- ácido palmítico; 5- ácido oleico; 6- parafilm); fase móvil: n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%..

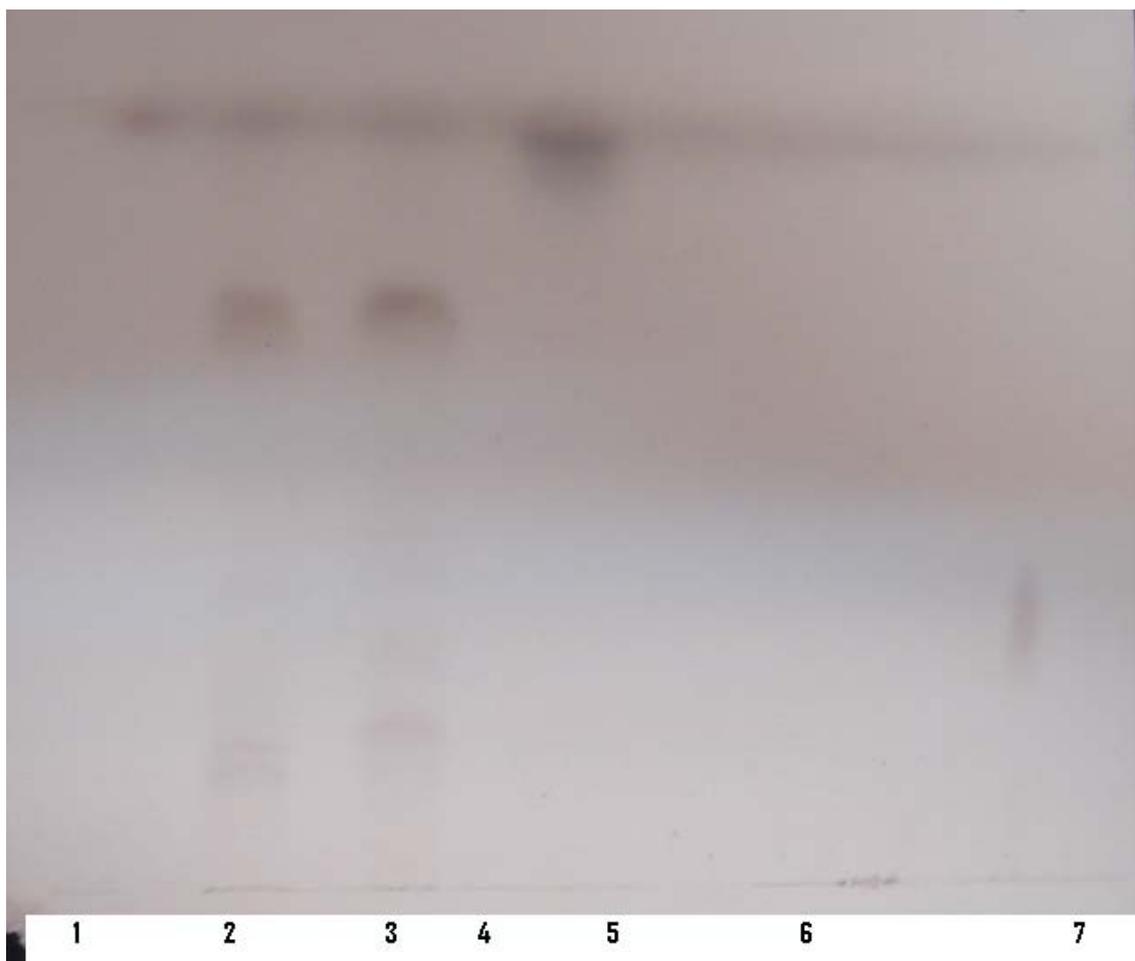


Figura 19. TLC del extracto de campo natural (CN) al pasarlo por la columna cromatográfica (1- CN (isopropanol: hidróxido de amonio) en n-hexano; 2- CN (isopropanol: hidróxido de amonio) en una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : ácido acético 3- CN (acetato de etilo) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : ácido acético; 4- CN (acetato de etilo) en una mezcla de n-hexano; 5- parafilm; 6- ácido palmítico; 7- ácido oleico); fase móvil: n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%.

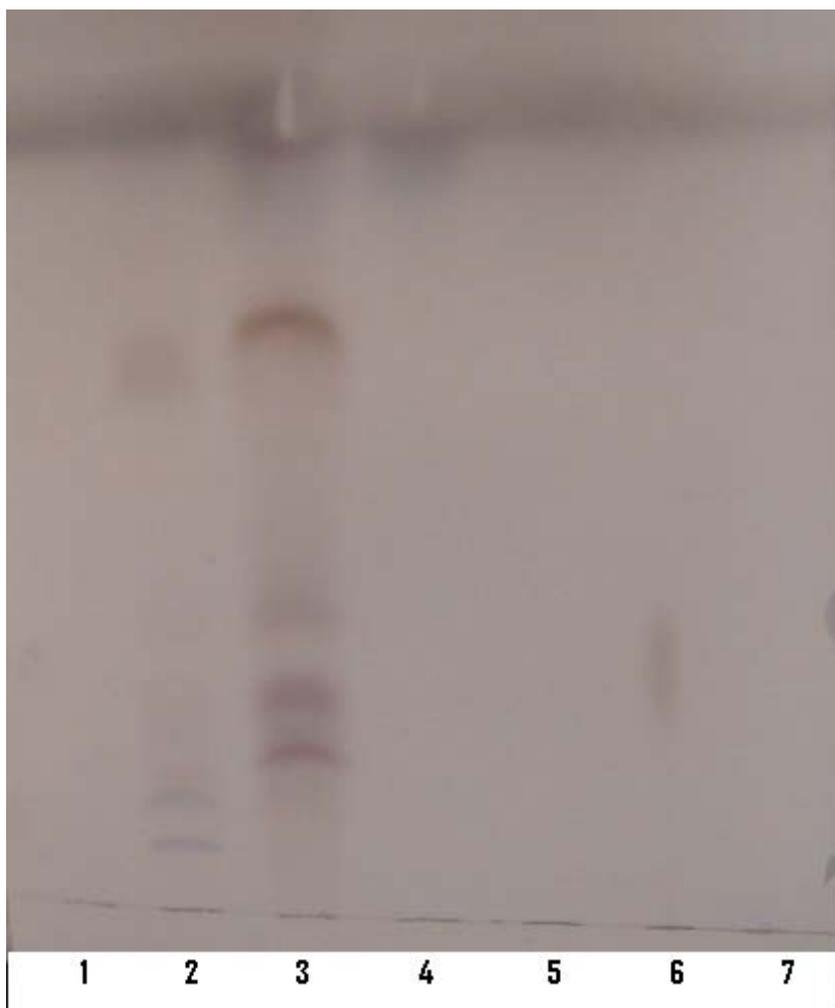


Figura 20. TLC del extracto de pino al pasarlo por la columna cromatográfica (1- pino (isopropanol: hidróxido de amonio) en n-hexano; 2- pino (isopropanol: hidróxido de amonio) en una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : ácido acético 3- pino (acetato de etilo) una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : ácido acético; 4- pino (acetato de etilo) en n-hexano; 5- ácido palmítico; 6- ácido oleico; 7-parafilm) ; fase móvil: n-hexano: éter etílico y ácido acético 1%..

Luego de analizar los extractos en la mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : ácido acético en el cromatógrafo gaseoso, se determinó la presencia de tres ácidos grasos en los tres extractos. La evidencia de que los ácidos palmítico, oleico y esteárico, están presentes en las tres muestras, es que la fracción lipídica en ellas, inyectadas a las mismas condiciones que los estándares, tienen el mismo tiempo de retención que estos ácidos, lo cual se pudo determinar observando los cromatogramas (Figuras 21, 22, 23, 24, 25 y 26). Los tiempos de retención son 10.59 min., 14.28 min. y 14.58 min. para el palmitato de metilo, oleato de metilo y estearato de metilo, respectivamente. Esto es esperable ya que primero aparece el ácido graso de menor peso molecular, el ácido palmítico ( $\text{C}_{16:0}$ ),

en tanto que el oleico y esteárico tienen un largo de cadena similar, por lo que aparecen casi al mismo tiempo ( $C_{18:1}$ ;  $C_{18:0}$ , respectivamente).

Estos resultados concuerdan por lo estudiado por Ma'shum *et al.*, citados por Franco *et al.* (2000), quienes estudiaron los componentes de extractos hidrofóbicos y reportaron la presencia de cadenas de ácidos grasos de  $C_{16}$  a  $C_{32}$ , libres y esterificados. Mainwaring *et al.* (2004), en su estudio realizado en suelos de textura arenosa con bajo contenido de arcilla, detectaron cadenas de ácidos grasos pero de  $C_{16}$ ,  $C_{18}$ ,  $C_{20}$ ,  $C_{21}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{23}$  y  $C_{24}$ .

Al observarse los cromatogramas de estos ésteres metílicos se ven los picos que corresponden a los ésteres de los ácidos grasos (Figura 24, 25 y 26). O sea que para las muestras estudiadas provenientes de tres manejos de suelo diferentes (dos forestadas: una con pino y otra con eucalipto, y la otra proveniente del campo natural), se puede concluir que en las tres aparecen los ácidos grasos mencionados al comienzo, pero en diferentes cantidades relativas. Para el cálculo de las cantidades relativas en porcentaje de cada ácido graso en las muestras, el equipo asume el mismo factor de respuesta para cada componente de la muestra (factor= 1), y el porcentaje es la masa de ácido graso/masa de extracto utilizado.

Para el tratamiento bajo eucalipto, el ácido oleico es el se encuentra en mayor porcentaje relativo (4.52%), luego ácido palmítico (1.84%), y en menor cantidad el ácido esteárico (1.43%) (Figura 25). Esto mismo ocurre en el campo natural, pero en diferentes cantidades relativas, el ácido oleico representa un 3.27%, el palmítico un 1.99%, y el esteárico un 1.70% (Figura 24). Sin embargo, en el tratamiento bajo pino, el ácido graso que se encuentra en mayor cantidad es el esteárico (7.49%), y el palmítico y oleico se encuentra en cantidades similares, 2.44% el oleico y 2.45% el palmítico (Figura 26). Estos resultados concuerdan con lo estudiado por Horne & McIntosh (2000), Mainwaring *et al.* (2004) y Franco *et al.* (2000), quienes observaron que los ácidos grasos mencionados anteriormente, junto con otros grupos de compuestos, son los responsables de la repelencia al agua. Franco *et al.* (2000), detectó que las cadenas de ácidos grasos, ésteres de estos ácidos, alcanos, esteroides, entre otros, eran los grupos mayoritarios en sus muestras. Según este autor, los ácidos grasos y sus ésteres, tienen propiedades hidrofóbicas, características de componentes no polares, mientras que ramas de cadenas de ácidos grasos y otros compuestos contienen grupos hidroxilos (como por ejemplo esteroides) los cuales presentan propiedades polares.

Los resultados obtenidos coinciden con lo descrito por Horne & McIntosh (2000), quienes clasifican a los lípidos responsables de la repelencia al agua por el suelo en tres grupos: lípidos neutros, lípidos ácidos y lípidos polares. Los lípidos neutros son principalmente hidrocarburos alcanos, de largos de cadena que van desde 23 a 33 carbonos, y triglicéridos. La evidencia de la presencia de estos lípidos, es la separación cromatográfica, ya que se mueven con el frente del solvente, y al realizar el GC, se obtienen picos que corresponden a cadenas con números de carbono de 23 a 33, con un máximo a los 29. Los ácidos lipídicos son ácidos grasos de cadena larga, que son comúnmente hallados en plantas y animales. Los principales ácidos identificados son: ácido palmítico (C<sub>16:0</sub>), palmitoleico (C<sub>16:1</sub>), oleico (C<sub>18:1</sub>) y linoleico (C<sub>18:2</sub>). Por último, los lípidos polares son principalmente ácidos húmicos de alto peso molecular.

Resumiendo toda la información obtenida, y observando las diferentes TLC realizadas, se puede determinar que los suelos que se encuentran bajo forestación presentan más “cantidad” de compuestos de comportamiento hidrofóbico que los suelos bajo pasturas naturales. Pero en las tres situaciones (suelo bajo *Pinus* sp, *Eucalyptus* sp y pastura natural), se encuentran los mismos grupos de compuestos identificados. Es importante tener en cuenta, que cuando se habla de cantidad, se hace referencia a un estudio semi- cuantitativo, ya que este estudio fue hecho como primera aproximación al tema.

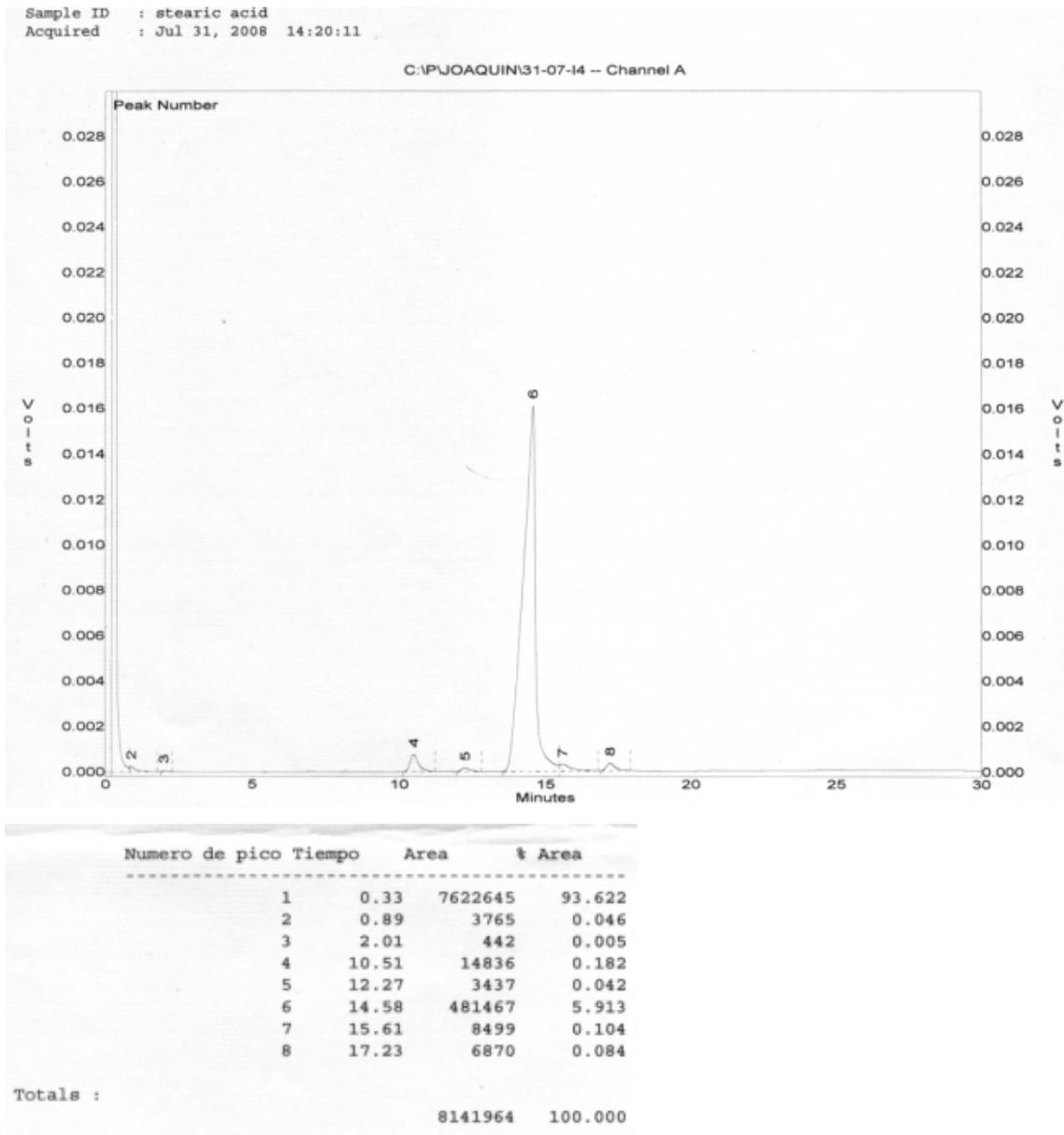
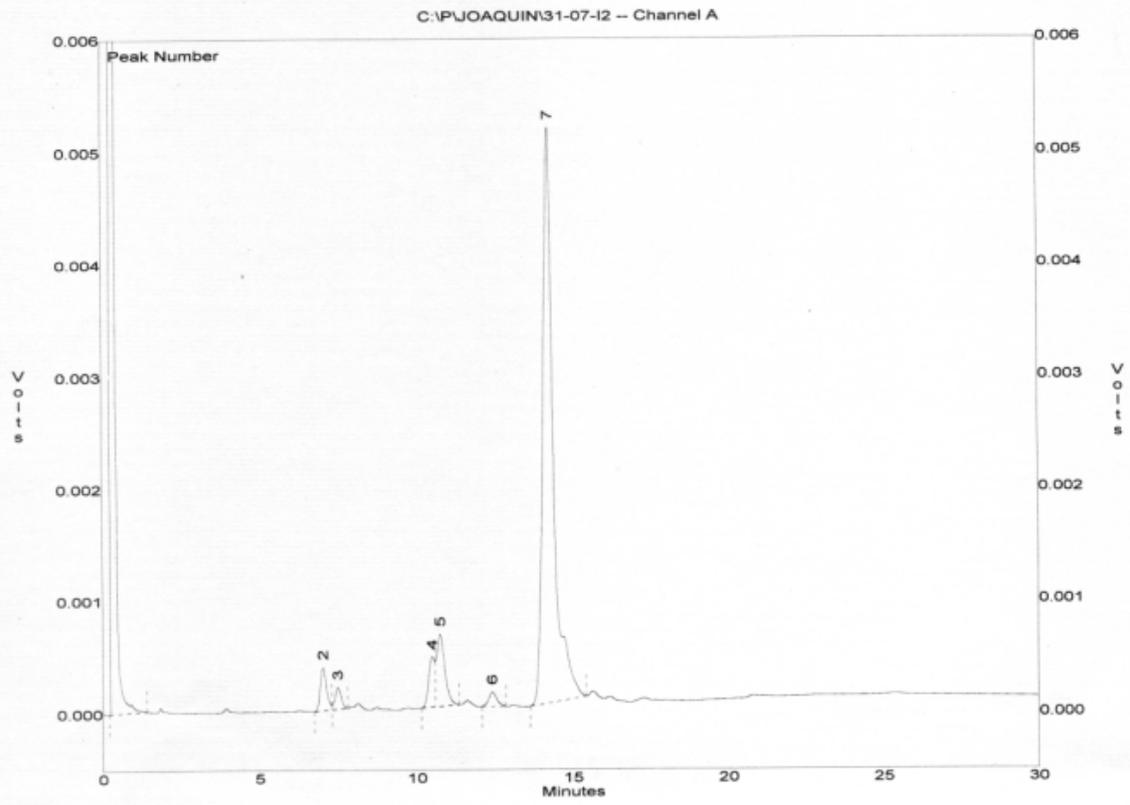


Figura 21. Cromatograma para el estearato de metilo.

Sample ID : oleic acid2  
 Acquired : Jul 31, 2008 12:45:00



Numero de pico	Tiempo	Area	% Area
1	0.32	4695946	96.965
2	7.02	5342	0.110
3	7.49	2620	0.054
4	10.50	6009	0.124
5	10.77	11641	0.240
6	12.42	2274	0.047
7	14.28	119090	2.459
Totals :		4842925	100.000

Figura 22. Cromatograma para el oleato de metilo.

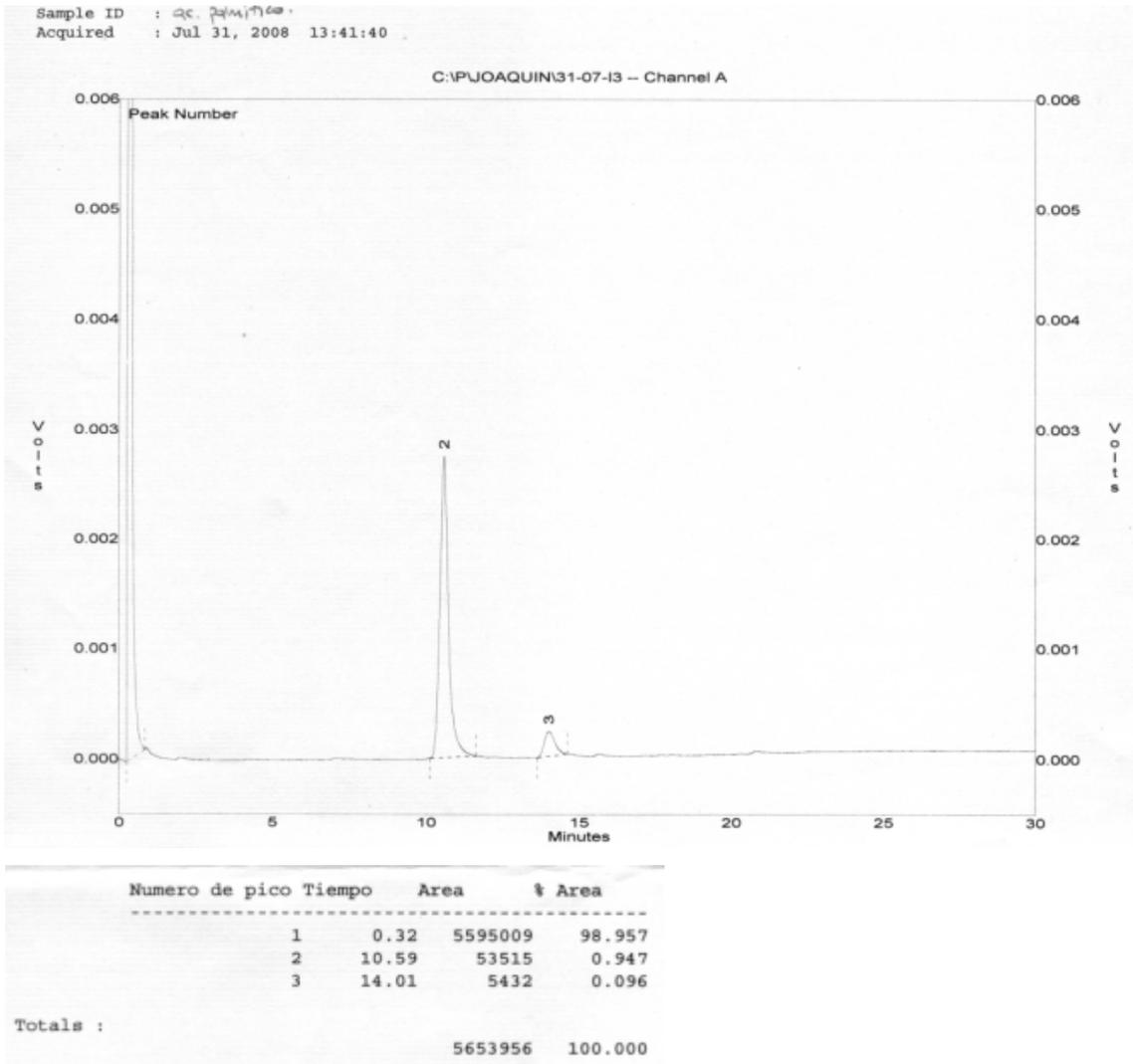
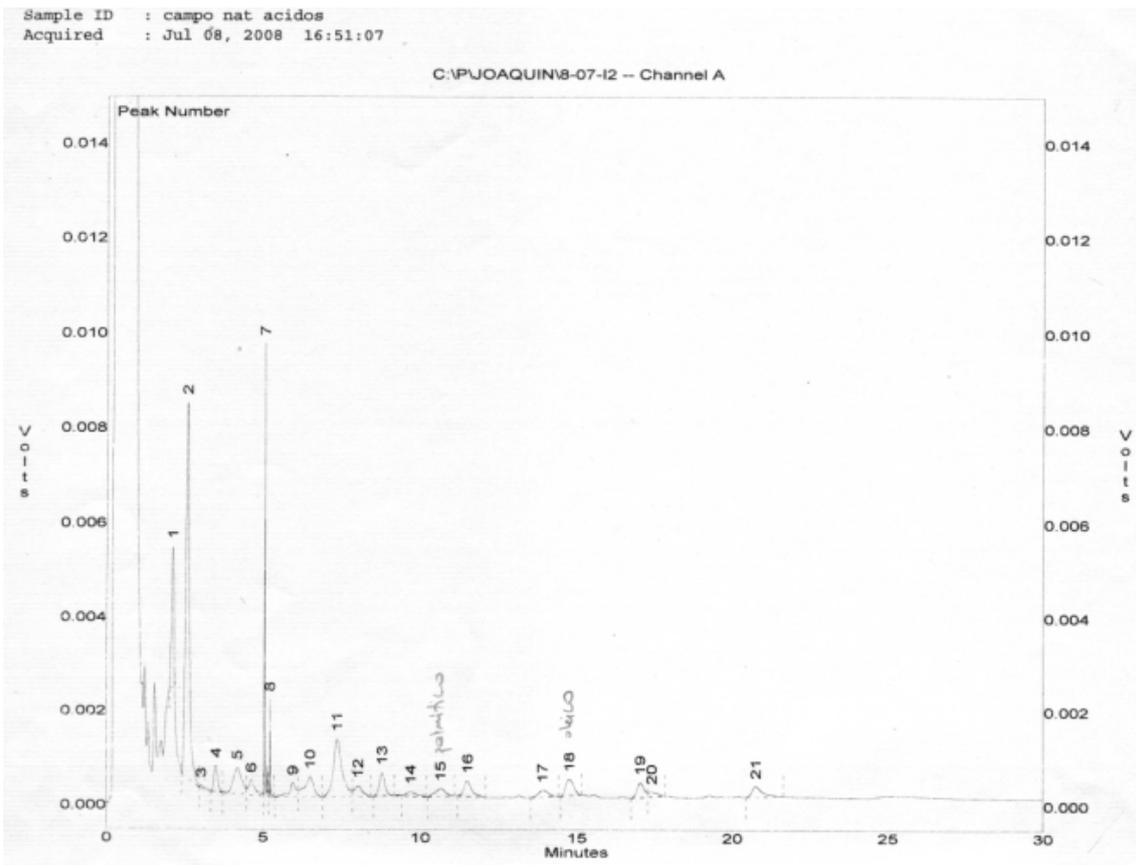
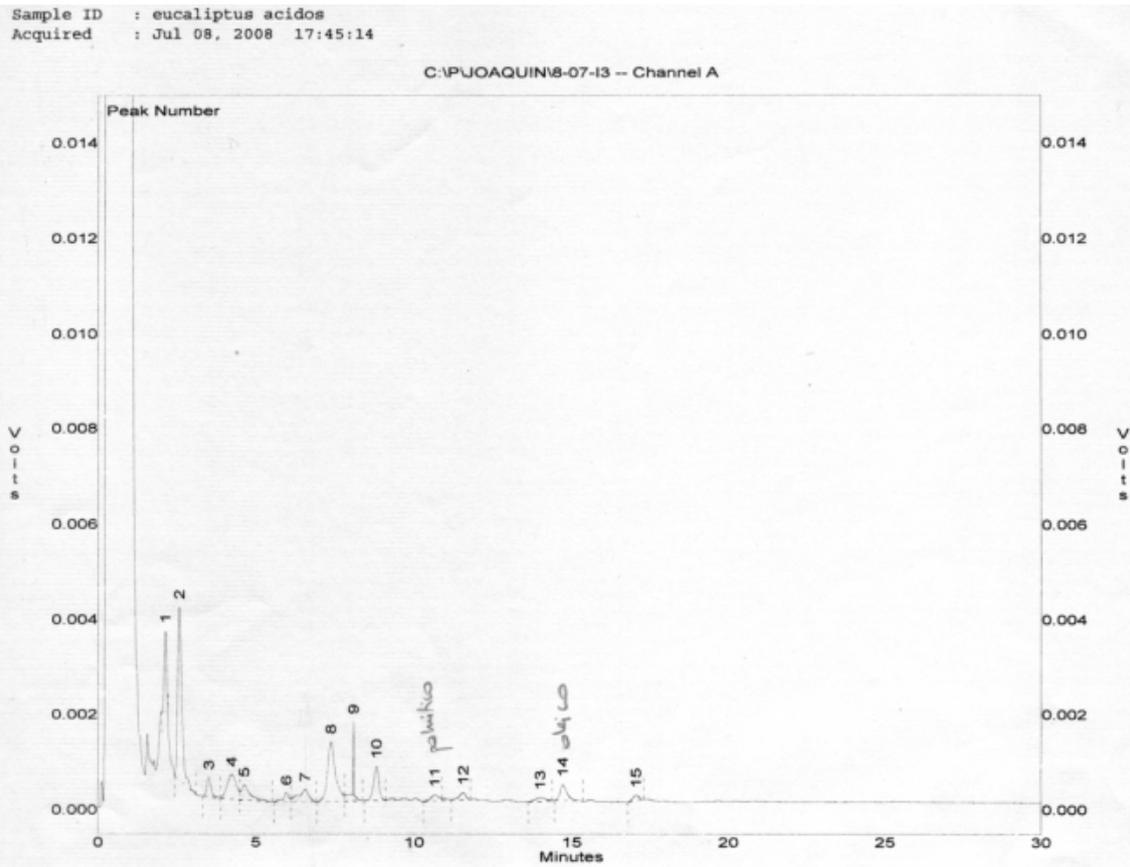


Figura 23. Cromatograma para el palmitato de metilo.



Numero de pico	Tiempo	Area	% Area
1	2.12	15842	8.123
2	2.58	67187	34.450
3	3.03	358	0.184
4	3.50	4667	2.393
5	4.18	10470	5.369
6	4.63	4724	2.422
7	5.04	7198	3.691
8	5.22	1950	1.000
9	5.95	4574	2.345
10	6.50	8993	4.611
11	7.36	24217	12.418
12	8.02	4181	2.144
13	8.79	6224	3.191
14	9.70	2304	1.182
palmitico - 15	10.66	3886	1.993
16	11.52	5894	3.022
oleico - 17	13.92	3318	1.701
oleico - 18	14.77	6372	3.267
19	17.05	5146	2.639
20	17.42	2081	1.067
21	20.76	5435	2.787

Figura 24. Cromatograma para la muestra esterificada del campo natural.

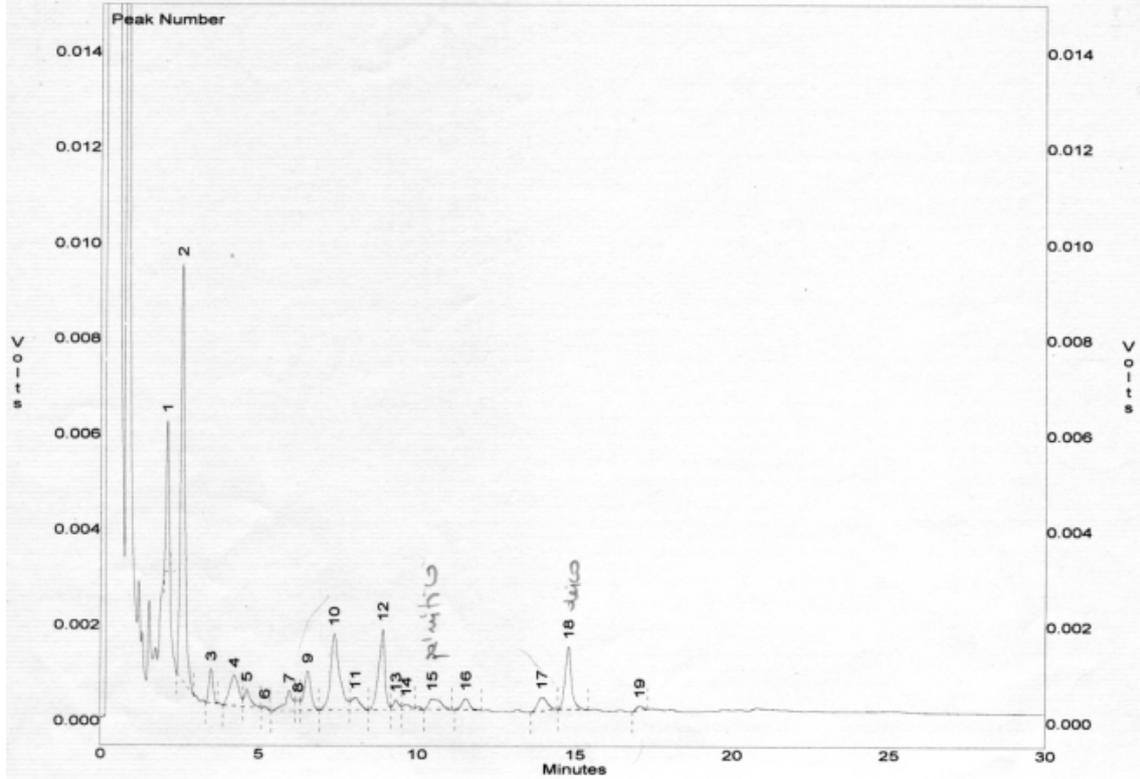


Numero de pico	Tiempo	Area	% Area
1	2.14	9023	7.425
2	2.58	34358	28.274
3	3.52	3860	3.177
4	4.24	10541	8.675
5	4.64	6219	5.118
6	5.97	2389	1.966
7	6.56	6019	4.954
8	7.38	22658	18.646
9	8.09	4615	3.799
10	8.82	8416	6.926
11	10.67	2242	1.846
12	11.57	2367	1.948
13	14.01	1736	1.429
14	14.73	5493	4.520
15	17.06	1577	1.298
Totals :		121519	100.000

Figura 25. Cromatograma para la muestra esterificada bajo eucalipto.

Sample ID : pino acidos  
 Acquired : Jul 08, 2008 18:24:33

C:\PUJOAQUIN\8-07-14 -- Channel A



Numero de pico	Tiempo	Area	% Area
1	2.12	18357	7.438
2	2.60	81551	33.043
3	3.50	6347	2.572
4	4.23	12831	5.199
5	4.63	4736	1.919
6	5.20	446	0.181
7	5.97	7059	2.860
8	6.25	2259	0.916
9	6.55	12247	4.962
10	7.39	31956	12.948
11	8.06	5222	2.116
12	8.93	23367	9.468
13	9.34	2585	1.048
14	9.67	1976	0.801
pino - 15	10.48	6048	2.451
16	11.55	4065	1.647
17	13.97	6031	2.444
deico - 18	14.80	18491	7.492
19	17.07	1223	0.496
Totals :		246803	100.000

Figura 26. Cromatograma para la muestra esterificada bajo pino.

## **5. CONCLUSIONES**

1. El cambio de vegetación de los suelos bajo pasturas naturales con predominancia de gramíneas hacia especies forestales como *Eucalyptus* sp. y *Pinus taeda* ha determinado un aumento del grado de repelencia al agua por parte de los suelos. Dicho comportamiento está explicado por la presencia de compuestos orgánicos del tipo de los fitoesteroles, hidrocarburos, ácidos oleico, palmítico y esteárico, ceras y ésteres, los cuales determinan el comportamiento hidrofóbico de los suelos. Estos compuestos, si bien fueron encontrados tanto bajo vegetación de pasturas como bajo especies forestales, en estas últimas ocurrirían en mayor proporción.
2. El comportamiento hidrofóbico de los suelos es probablemente consecuencia de reacciones microbiológicas y/o bioquímicas, dado su aumento al realizar las incubaciones de suelos en condiciones controladas de temperatura y humedad. Dicho aumento fue proporcional al tiempo de incubación, y se dio en suelos bajo vegetación de *Eucalyptus* sp., en tanto que en suelos bajo vegetación de gramíneas nativas el proceso fue escasamente observado.
3. El quemado de los restos de cosecha de *Eucalyptus* sp. aumentó el grado de repelencia al agua de los suelos.
4. El aumento en la hidrofobicidad de los suelos tendría consecuencias en las propiedades de retención de agua, encontrándose en general una menor retención de agua en los primeros centímetros de suelos bajo vegetación de *Eucalyptus* sp. No obstante, dicho comportamiento no pudo ser generalizado a todos los suelos, razón por la cual se requiere de un mayor número de estudios para confirmar dicha tendencia.

## **6. RESUMEN**

Dado el interés por determinar el efecto del cambio de uso del suelo de pastoril a forestal, en el recurso agua, se muestrearon diferentes suelos para estudiar el impacto de las forestaciones sobre este recurso. Las situaciones estudiadas para evaluar la repelencia al agua, estaban sujetos a cambios de vegetación (de pastoril a forestal: *Eucalyptus* sp. y *Pinus taeda*). Se muestrearon Acrisoles Álbicos de la Unidad Rivera bajo manejo pastoril y forestal: plantaciones de *E. grandis* y plantaciones de *P. taeda*; Planosoles Dístricos y Brunosoles Subéutricos de la Unidad Tres Bocas (Dpto. de Río Negro), bajo manejo pastoril y forestal: plantaciones de *E. dunnii* y *E. grandis*; Planosoles Dístricos de la Unidad Algorta bajo manejo pastoril y forestal: plantaciones de *E. dunnii*; y Vertisoles de la Unidad Cuchilla Corralito. En este último se evaluó el comportamiento hidrofóbico del suelo bajo tres manejos de restos de cosecha (hojas, ramas, corteza): sin restos, con restos frescos en superficie, con restos quemados, y se observó que la quema de los restos de cosechas de *Eucalyptus* sp, aumentó la repelencia al agua.

En los otros suelos se evaluó la hidrofobicidad, y se observó que en aquellos suelos bajo manejo forestal la repelencia al agua era mayor que en el mismo suelo pero bajo manejo pastoril. Este comportamiento podría estar asociado a una mayor concentración de compuestos orgánicos como hidrocarburos, fitoesteres, ácidos oleico, palmítico y esteárico, ceras y ésteres, los cuales determinan el comportamiento hidrofóbico de los suelos.

En los Planosoles Dístricos: sitios El Rosario y El Minero, se determinó un mayor contenido de agua para todas las tensiones aplicadas bajo manejo pastoril que bajo la plantación de eucalipto, a profundidad 0 a 3 cm. A una profundidad de 3 a 6 cm, en El Rosario hubo una tendencia a una menor retención de agua bajo monte, en tanto que en El Minero se invirtió la misma, hacia menores contenidos de humedad bajo pasturas a un mayor contenido de agua para cada tensión bajo manejo forestal (*E. grandis*).

El aumento de la hidrofobicidad, bajo condiciones controladas de humedad y temperatura, fue proporcional con el tiempo de incubación, y se dio en suelos bajo manejo forestal, en tanto que en suelos bajo manejo pastoril el proceso fue escasamente observado.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

- 1) Bisdom, E.B.A.; Dekker, L.W.; Schoute, J.F. 1993 .Water repellency of sieve fractions from sandy soils and relationships with organic material and soil structure. *Geoderma*. 56: 105-118.
- 2) Bodennec, J.; Portoukalian, J. 2004. Lipid Classes: Purification by Solid-Phase Extraction. In: Cazes, J. Encyclopedia of chromatography; Laboratory of Tumor Glycobiology, Université Claude Bernard Lyon I, Oullins, France. pp 855-857.
- 3) Dane, J.H.; Hopmans. J.W. 2002. Hanging Water Column; Principles. In: Dane, J.H.; Topp,G.C. Methods of Soil Analysis: Physical Methods. Madison, Wisconsin, USA. pp.680- 689
- 4) Delgado, S.; Alliaume, F.; García Préchac, F.; Hernández, J. 2006.Efecto de las plantaciones de Eucalyptus sp. sobre el recurso suelo en Uruguay. *Agrociencias*. Vol X: 95-107.
- 5) Doerr, S.H. 1998. On standardizing the `Water Drop Penetration Time` and the `Molarity of an Ethanol Droplet` techniques to classify soil hydrophobicity: a case study using medium textured soils. *Earth Surface Processes and Landforms*. 23: 663-668.
- 6) Doerr, S.H.; Llewellyn, C.T.; Douglas, P.; Morley, C.P.; Mainwaring, K.A.; Haskins, C.; Johnsey, L.; Ritsema, C.J.; Stagnitti,F.; Allinson, G.; Ferreira, A.J.D.; Keizer, J.J.; Ziogas, A.K.; Diamantis, J. 2005. Extraction of compounds associated with water repellency in sandy soils of different origin. *Australian Journal of Soil Research*. 43: 225-237.
- 7) Doerr, S.H.; Llewellyn, C.T.; Douglas, P.; Morley, C.P.; Haskins, C.; Johnsey, L.; Ritsema, C.J.; Stagnitti, F.; Ferreira, A.J.D. 2002. Investigation of compounds causing water repellency in the rhizosphere of sandy soils from a wide range of locations. *Symposium n° 06*. 1520.

- 8) Doerr, S.H.; Shakesby, R.A.; Walsh, R.P.D. 1998. Spatial variability of soil hydrophobicity in fire-prone Eucalyptus and Pine forests, Portugal. *Soil Science*. 163: 313-324.
- 9) Doerr, S.H.; Shakesby, R.A.; Walsh, R.P.D. 2000. Soil water repellency: its causes, characteristics and hydro-geomorphological significance. *Elsevier*. 51: 33-65.
- 10) Doerr, S.H.; Thomas, A.D. 2000. The role of soil moisture in controlling water repellency: new evidence from forest soils in Portugal. *Journal of Hydrology*. 231–232: 134–147.
- 11) Durán, A. 1991. *Propiedades hídricas del suelo*. Montevideo, Facultad de Agronomía. 119p.
- 12) Franco, J. 2004. Elution Chromatography In: Cazes, J. *Encyclopedia of chromatography*. Indiana University of Pennsylvania, U.S.A. pp 547-549.
- 13) Franco, C.M.M.; Clarke, P.J.; Tate, M.E.; Oades, J.M. 2000. Hydrophobic properties and chemical characterisation of natural water repellent materials in Australian sands. *Journal of Hydrology*. 231–232: 47–58
- 14) Hillel, D. 1982. *Introduction to Soil Physics*. 5: 57-90
- 15) Horne, D.J., McIntosh, J.C. 2000. Hydrophobic compounds in sands New Zealand- extraction, characterisation and proposed mechanisms for repellency expression. *Journal of Hydrology*. 231-232: 35-46.
- 16) Jaramillo, D.F. 2003. Efecto de la temperatura de secado del suelo sobre la repelencia al agua en Andisoles bajo cobertura de *Pinus patula*. Informe de investigación. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 36p.
- 17) Jaramillo, D.F. 2004. Repelencia al agua en Suelos con énfasis en Antioquia. Universidad Nacional de Colombia

- 18) Jury, W.; Horton, R. 2004. Soil Physics; Water Retention in Soil. 6ª. John Wiley & Sons New York 390 p.
- 19) King, P.M. 1981. Comparison of methods for measuring severity of water repellence of sandy soils and assessment of some factors that affect its measurement. *Aust.J.Soil.Res* .19: 275- 285.
- 20) Laboratorio de Farmacognosia y Productos naturales. 2005. Práctico nº6: Determinación del perfil de ácidos grasos, índice de saponificación, acidez y esteroides en una muestra de aceite. Facultad de Química. Departamento de Química Orgánica.
- 21) Lepri, L.; Cincinelli, A. 2004. *Rf. In: Cazes, J. Encyclopedia of chromatography; Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italy. pp 1307-1308.*
- 22) Llewellyn, C.T.; Doerr, S.H.; Douglas, P.; Morley, C.P.; Mainwaring, K.A. 2004. Soxhlet extraction of organic compounds associated with soil water repellency. *Environ Chem Lett*. 2:41–44.
- 23) Mainwaring, K.A.; Christopher, P. M.; Doerr, S.H.; Douglas, P.; Llewellyn, C.T.; Llewellyn, G.; Matthews, I.; Stein, B.K. 2004. Role of heavy polar organic compounds for water repellency of sandy soils. *Environ Chem Lett*. 2:35–39.
- 24) McKissock, I.; Walker, E.L.; Gilkes, R.J.; Carter, D.J. 2000. The influence of clay type on reduction of water repellency by applied clays: a review of some West Australian work. *Journal of Hydrology*. 231–232 :323–332.
- 25) Moral, F.J.; Giradles, J.V.; Laguna, A.M. 2002. La hidrofobia en los suelos arenosos del Parque Natural de Doñana: Caracterización y distribución. *Ingeniería del Agua*. 9: 37-50.
- 26) Morley, C.P.; Mainwaring, K.A.; Doerr, S.H.; Douglas, P.; Llewellyn, C.T.; Dekker, L.W. 2005. Organic compounds at different depths in a sandy soil and their role in water repellency. *Australian Journal of Soil Research*. 43: 239-249.

- 27) Nikolova-Damyanova, 2004. Lipids Análisis by Thin-Layer Chromatography. In: Cazes, J. Encyclopedia of chromatography. pp 870 -874.
- 28) Pérez Bidegain, M.; García Préchac, F.; Durán, A. 2001a. Soil use change effect, from pastures to *Eucalyptus* sp., on some soil physical and chemical properties in Uruguay. In 3<sup>rd</sup> International Conference on Land Degradation, Rio de Janeiro.
- 29) Pérez Bidegain, M.; García Préchac, F.; Methol, R. 2001b. Long-term effect of tillage intensity for *Eucalyptus grandis* planting on some soil physical properties in an Uruguayan Alfisol. In 3<sup>rd</sup> International Conference on Land Degradation, Rio de Janeiro.
- 30) Poulénard, J.; Michel, J.C.; Batoli, F.; Portal, J.M.; Podwojexwski, P.; Carrtelu, U. 2004. Water repellency of volcanic ash soils from Ecuadorian paramo: effect of water content and characteristics of hydrophobic organic matter. *European Journal of Soil Science*. 55: 487–496.
- 31) Salvo, L.; Delgado, S.; García Préchac, F.; Hernández, J.; Amarante, P.; Hill, M. 2003. Régimen hídrico de un Ultisol arenoso del noreste de Uruguay bajo plantaciones de *Eucalyptus grandis* vs. Pasturas. Evaluación de parámetros y procesos hidrológicos en el suelo. VII Escuela Latinoamericana de Física de Suelos. La Serena. Chile
- 32) Scott, R. 2004a. Retention Time and Retention Volume. In: Cazes, J. Encyclopedia of chromatography. Scientific Detectors Ltd., Banbury, Oxfordshire, England. 1298p.
- 33) Scott, R. 2004b. The Flame Ionization Detector and its extensions. *Chromatographic Detectors- Design, function and operation..* 73: 99- 118.
- 34) Scott, R. 2004c. Chromatography–Mass Spectrometry Systems. In: Cazes, J. Encyclopedia of chromatography. Gas Scientific Detectors Ltd., Banbury, Oxfordshire, England. pp 660- 666.

- 35) Shakesby, R.A.; Doerr, S.H.; Walsh, R.P.D. 2000. The erosional impact of soil hydrophobicity: current problems and future research directions. *Journal of Hydrology*. 231–232 : 178–191.
- 36) URUGUAY. DIRECCIÓN DE SUELOS Y FERTILIZANTES. 1976. Carta de reconocimiento de suelos del Uruguay; clasificación de suelos. Montevideo. T.1, 83pp.
- 37) Watson, C. L.; Letey, J. 1970. Indices for characterizing soil water repellency based upon contact angle - surface tension relationships. *Soil Sci. Soc. Am. P.* 34: 841-844.
- 38) Yuwono, M.; Indrayanto, G. 2004. Gas Chromatography System Instrumentation. In: Cazes, J. *Encyclopedia of chromatography*. Airlangga University, Surabaya, Indonesia. pp 655-659.

## **8. ANEXOS**

### **8.1. ANEXO 1**

**Suelo:** Vertisol Rúptico

**Unidad:** Cuchilla Corralito

**Ubicación:** Predio La Rosada (ENCE). Localidad de Palmitas, Dpto. Soriano.

S33.25214 W57.48174

**Posición Topográfica:** ladera media

**Material Generador:** lodolitas arcillo arenosas de origen cretácico

**Drenaje externo:** Bueno

**Vegetación:** *Eucaliptus globulus*

#### **Fase profunda**

Horizonte	MO	pH H <sub>2</sub> O	pH KCl	Ca	Mg	K
	%				cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	
A	3.65	5.2	4.3	11.5	2.45	0.30
B	3.01	5.8	4.6	15.6	2.84	0.31
C	1.71	6.4	4.9	20.6	4.14	0.46

#### **Fase superficial**

Profundidad	MO	pH H <sub>2</sub> O	pH KCl	Ca	Mg	K
	%				cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	
A	2.73	5.9	4.7	10.9	2.52	0.30
B	1.81	6.4	4.9	16.9	3.87	0.37
C	1.40	6.7	5.1	19.8	4.58	0.45

**Suelo:** Planosol Dístrico Ócrico

**Unidad:** Algorta

**Ubicación:** Predio La Toribia (Forestal Oriental). Localidad de Algorta, Dpto. Río

Negro. and S32°25'56.70" W57°17'40.47"

**Posición Topográfica:** loma aplanada

**Material Generador:** areniscas de origen cretácico

**Drenaje externo:** Bueno

**Vegetación:** *Eucaliptus dunnii*

Profundidad cm	pH	Corg g kg <sup>-1</sup>	Ca	Mg	K	Na
0-3	4.92	26.1	6.60	1.75	0.38	0.23
3-6	4.58	14.5	4.30	1.45	0.18	0.19
6-12	4.69	12.1	5.10	1.55	0.17	0.17
12-20	4.74	13.5	8.90	2.10	0.30	0.18
20-40	5.09	11.9	11.70	2.60	0.30	0.19
40-60	5.85	5.2	19.90	3.60	0.39	0.26
60-80	6.71	1.9	24.70	3.90	0.40	0.28



**Suelo:** Acrisol Álbico

**Unidad:** Rivera

**Ubicación:** Predio San Juan (COFUSA). Localidad Curticeiras, Dpto. Rivera, S31.03150 W55.72540

**Posición Topográfica:** loma alta

**Material Generador:** areniscas de Tacuarembó

**Drenaje externo:** Bueno

**Vegetación:** *Eucaliptus grandis*

### **Descripción del perfil**

Horizonte	Profundidad	
Au1	0-38 cm	Pardo (7.5YR 5/4) en húmedo; arenoso franco.
Au2	38-63 cm	Pardo a pardo oscuro (7.5YR 4/4) en húmedo; arenoso franco.
E	63-89 cm	Pardo a pardo brillante (7.5YR 5.5/4) en húmedo; arenoso franco liviano.
Bt	89+	Pardo rojizo oscuro (2.5YR 3/4) con moteados pardo amarillento oscuros (10YR 4/6), abundantes, moderados, tenues, de borde difuso; arcillo arenoso.

### **Datos analíticos.**

Hor	Prof.	pH		M.O.		Complejo de Intercambio cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>						
		Agua	KCl	%	Ca	Mg	K	Na	B.T.	Al	CIC	% Sat.
Au1	0-38 cm	4.9	3.9	1.02	0.79	0.20	0.11	0.39	1.49	0.57	2.06	72
Au2	38-63 cm	4.8	3.9	0.55	0.35	0.30	0.10	0.43	1.18	0.46	1.64	72
E	63-89 cm	5.3	4.0	0.57	0.46	0.20	0.11	0.38	1.15	0.32	1.47	78
Bt	89+	4.8	3.6	1.46	2.50	0.30	0.35	0.40	3.55	2.97	6.52	54

**Suelo:** Acrisol Álbico

**Unidad:** Rivera

**Ubicación:** Establecimiento El Galgo (FYMNSA), Localidad Curticeiras, Dpto. Rivera) S31.03150 W55.72540

**Posición Topográfica:** loma alta

**Material Generador:** areniscas de Tacuarembó

**Drenaje externo:** Bueno

**Vegetación:** *Campo natural*

### **Descripción del perfil**

Horizonte	Profundidad	
Au1	0-35 cm	Pardo grisáceo oscuro (10YR 4/2.5) en húmedo; pardo grisáceo (10YR 5/2) en seco; arenoso franco.
Au2	35-62 cm	Pardo amarillento oscuro (10YR 4/4) en húmedo; pardo (10YR 5/3) en seco; arenoso franco.

E	62-93 cm	Pardo amarillento (10YR 5/4) en húmedo; arenoso franco liviano.
Bt	93-105 cm	Gris oscuro (7.5YR 4/1) con moteados rojo oscuros (2.5YR 3/6) y rojo amarillentos (5YR 4/6), abundantes, moderados, netos, de borde difuso; arenisca alterada pardo oscura (7.5YR 5/6); arcillo arenoso.

### **Datos analíticos.**

Hor	Prof.	pH		M.O.		Complejo de Intercambio cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>						
		Agua	KCl	%	Ca	Mg	K	Na	B.T.	Al	CIC	% Sat.
Au1	0-35 cm	5.1	4.1	1.13	0.84	0.30	0.13	0.37	1.64	0.27	1.91	86
Au2	35-62 cm	5.2	4.0	0.70	0.61	0.20	0.12	0.35	1.28	0.42	1.70	75
E	62-93 cm	5.4	4.2	0.59	0.64	0.24	0.12	0.38	1.38	0.18	1.56	88
Bt	93-105 cm	5.0	3.7	1.57	1.78	0.86	0.37	0.37	3.38	3.47	6.85	49

**Suelo:** Acrisol Álbico

**Unidad:** Rivera

**Ubicación:** Establecimiento El Galgo (FYMNSA), Localidad Curticeiras, Dpto. Rivera, S31.03150 W55.72540

**Posición Topográfica:** loma alta

**Material Generador:** areniscas de Tacuarembó

**Drenaje externo:** Bueno

**Vegetación:** Pinus taeda-Plantación 1990

### **Descripción del perfil**

Horizonte	Profundidad	
A	0-47 cm	Pardo a pardo oscuro (10YR 4/3) en húmedo; arenoso franco.
E	47-79 cm	Pardo (7.5YR 4.5/4) en húmedo; arenoso franco liviano.
Bt	79 +	Pardo amarillento a pardo amarillento oscuro (10YR 4.5/4), con moteados pardo amarillento oscuros (10YR 4/6), abundantes, moderados, netos, de borde difuso y pardo amarillentos (10YR 5/6), pocos, pequeños, tenues, de borde difuso; arcillo arenoso.

### **Datos analíticos.**

Hor	Prof.	pH		M.O.		Complejo de Intercambio cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>						
		Agua	KCl	%	Ca	Mg	K	Na	B.T.	Al	CIC	% Sat.
A	0-47 cm	4.9	3.8	1.20	0.46	0.16	0.21	0.42	1.25	0.90	2.15	58
E	47-79 cm	4.7	3.9	0.94	0.85	0.38	0.18	0.43	1.84	0.86	2.70	68
Bt	79 +	4.6	3.6	1.96	1.52	0.75	0.45	0.39	3.11	4.36	7.47	42

**Suelo:** Planosol Dístrico

**Unidad:** Tres Bocas

**Ubicación:** Establecimiento El Rosario Este (Forestal Oriental), Localidad Tres Bocas, Dpto. Río Negro. S32.80195 W57.92520

**Posición Topográfica:** ladera media

**Material Generador:** areniscas cretácicas

**Drenaje externo:** Bueno

**Vegetación:** *Eucalyptus dunnii*

Profundidad	MO %	pH H <sub>2</sub> O	pH KCl	Ca	Mg cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	K
0 - 15	1.44	5.67	4.46	2.60	0.67	0.12

## **8.2. ANEXO II**

Cuadro 1. Análisis de varianza y test de comparación de medias, para los sitios San Juan- El Galgo, bajo 3 manejos: pino, eucalipto y campo natural.

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	69,33	6	11,56	11,91	<0,0001
TRATAMIENTO	56,52	2	28,26	29,12	<0,0001
Repetición a campo	10,96	2	5,48	5,65	0,0114
Repetición de análisis	1,85	2	0,93	0,95	0,4020
Error	19,41	20	0,97		
Total	88,74	26			

Test:Tukey	Alfa:=0,05	DMS:=1,17486	
Error:	0,9704	gl:20	
TRATAMIENTO	Medias	n	
3,00	5,56	9	A
1,00	8,00	9	B
2,00	9,00	9	B

Cuadro 2. Análisis de varianza para los suelos bajo uso pastoril y forestal en Algorta, a las 7 profundidades.

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	131.70	13	10.13	8.38	<0.0001
Uso	58.34	1	58.34	48.28	<0.0001
Profundidad	29.65	6	4.94	4.09	0.0045
Uso*Profundidad	43.70	6	7.28	6.03	0.0004
Error	33.83	28	1.21		
Total	165.53	41			

Test:Tukey Alfa:=0.05 DMS:=0.69516			
Error:	1.2083	gl:28	
Uso	Medias	n	
1.00	4.52	21	A
2.00	6.88	21	B

Cuadro 3. Análisis de varianza para el suelo de El Rosario bajo uso pastoril y forestal a profundidad de 0-3 cm..

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,01	1	0,01	0,97	0,3387
tratamiento	0,01	1	0,01	0,97	0,3387
Error	0,21	16	0,01		
Total	0,22	17			

Cuadro 4. Análisis de varianza para el suelo de El Rosario bajo uso pastoril y forestal a profundidad de 3-6 cm.

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,0E-04	1	4,0E-04	0,06	0,8102
tratamiento	4,0E-04	1	4,0E-04	0,06	0,8102
Error	0,09	14	0,01		
Total	0,09	15			

Cuadro 5. Análisis de varianza para el suelo de El Minero bajo uso pastoril y forestal a profundidad de 0-3 cm.

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,05	1	0,05	2,11	0,1654
tratamiento	0,05	1	0,05	2,11	0,1654
Error	0,37	16	0,02		
Total	0,42	17			

Cuadro 6. Análisis de varianza para el suelo de El Minero bajo uso pastoril y forestal a profundidad de 3-6 cm.

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,5E-03	1	3,5E-03	0,42	0,5278
tratamiento	3,5E-03	1	3,5E-03	0,42	0,5278
Error	0,13	16	0,01		
Total	0,14	17			

Cuadro 7. Análisis de varianza para los tratamientos 2 y 3 (restos quemados y restos frescos, respectivamente), del establecimiento La Rosada, y test de comparación de medias (Test de Tukey)

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	56,33	1	56,33	7,38	0,0217
tratamiento	56,33	1	56,33	7,38	0,0217
Error	76,33	10	7,63		
Total	132,67	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,55410			
Error:	7,6333	gl:10	
tratamiento	Medias	n	
3,00	4,50	6	A
2,00	8,83	6	B

Cuadro 8. Análisis de varianza para los suelos bajo uso pastoril y forestal (tratamientos 1 y 2), en el establecimiento El Rosario, y test de comparación de medias (Test de Tukey).

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	30,08	1	30,08	27,77	0,0004
tratamiento	30,08	1	30,08	27,77	0,0004
Error	10,83	10	1,08		
Total	40,92	11			

Test:Tukey ; Alfa:=0,05 ; DMS:=1,33892			
Error:	1,0833	gl: 10	
tratamiento	Medias	n	
1,00	1,00	6	A
2,00	4,17	6	B

Cuadro 9. Análisis de varianza para los suelos bajo uso pastoril y forestal (tratamientos 1 y 2), en el establecimiento El Tabaré, y test de comparación de medias (Test de Tukey).

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	280,33	1	280,33	120,14	<0,0001
tratamiento	280,33	1	280,33	120,14	<0,0001
Error	23,33	10	2,33		
Total	303,67	11			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=1,96499			
Error:	2,3333	gl:10	
tratamiento	Medias	n	
1,00	0,00	6	A
2,00	9,67	6	B

