

ARTICULOS GENERALES

# Membranas de intercambio iónico para determinar la disponibilidad de NO<sub>3</sub>-N y PO<sub>4</sub>-P en suelos calcáreos de la región central de Cuba

## Ion exchange membranes to determine NO<sub>3</sub>-N and PO<sub>4</sub>-P availabilities in calcareous soils of the central region of Cuba

Edith Aguila Alcántara\*<sup>1</sup>, Pedro Cairo Cairo<sup>2</sup> y Holm Tiessen<sup>3</sup>.

1. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 6, CP: 54830,

2. Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 6, CP: 54830

3. University of Goetingen, Inter-American Institute for Global Change Research.

E-mail: [editha@uclv.edu.cu](mailto:editha@uclv.edu.cu)

**RESUMEN.** Para evaluar el efecto de la humedad y el uso del suelo sobre la disponibilidad de NO<sub>3</sub>-N y PO<sub>4</sub>-P en suelos calcáreos de la región central de Cuba se realizó un experimento empleando membranas de intercambio iónico (MII). Se escogieron tres usos (caña de azúcar, pastos y arboleda), dos niveles de humedad [capacidad de campo (CC) y la mitad de esta (MCC)] y dos tipos de suelo (pardo con carbonatos típico y húmico carbonático). Para la incubación se preparó un "sándwich" con el suelo y la MII, que fueron reemplazadas cada 5 días. Los iones absorbidos por las MII fueron extraídos con 0,5 N HCl. Las concentraciones de NO<sub>3</sub>-N fueron determinadas por Yang *et al.* (1998) y el PO<sub>4</sub>-P por dos métodos calibrados entre sí (ácido ascórbico y molibdato/vanadato de amonio). Los niveles de NO<sub>3</sub>-N fueron mayores a MCC que a CC, debido al efecto perjudicial de la saturación sobre la mineralización. La disponibilidad de PO<sub>4</sub>-P fue 95 % más a CC que a MCC. Las disponibilidades de ambos iones fueron mayores en el suelo Húmico Carbonático y en cuanto a uso del suelo fue mayor en los ecosistemas más viejos y estables, la arboleda del suelo pardo y el área de pastoreo del húmico. La baja disponibilidad de PO<sub>4</sub>-P es un problema de fertilidad que afecta ambos suelos. Para una evaluación completa de la disponibilidad del nitrógeno se recomienda un análisis que contemple los iones NO<sub>3</sub>-N y NH<sub>4</sub>-N.

**Palabras clave:** Cuba, membranas de intercambio iónico, NO<sub>3</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P, suelos calcáreos.

**ABSTRACT.** The effect of soil moisture and land use on NO<sub>3</sub>-N y PO<sub>4</sub>-P availability in calcareous soils of the central region of Cuba was determined through an incubation experiment with ion exchange membranes (MII). Three land uses (sugarcane plantation, grazing areas, and woodland), two moisture levels [water holding capacity (CC) and half of that (MCC)], and two soil types (Brown calcareous and Humus-rich calcareous soils) were chosen. For the incubation, a "sandwich" was prepared with soil and membrane, which were replaced every 5 days. The ions absorbed by the MII were recovered with 0.5 N HCl. NO<sub>3</sub>-N concentrations were determined using Yang *et al.* (1998) technique and PO<sub>4</sub>-P levels were measure by two methods: ascorbic acid and molybdate-vanadate of ammonium, which were cross calibrated. NO<sub>3</sub>-N concentrations were higher at MCC than CC, due to the negative effect of soil moisture saturation on mineralization. PO<sub>4</sub>-P availability was 95% higher at CC than MCC. The availability of both ions was higher in the Humus-rich calcareous soil. From the land use perspective, the older and more stable ecosystems (woodland from the brown calcareous soils and grazing area from the Humus-.rich soil) were richer in the availability of both nutrients. The low PO<sub>4</sub>-P availability is a fertility problem in both soils. For a complete evaluation of nitrogen availability is advisable include NO<sub>3</sub>-N and NH<sub>4</sub>-N ions in the analysis.

**Key words:** Cuba, ion exchange membranes, NO<sub>3</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P, calcareous soils.

## INTRODUCCIÓN

Los suelos calcáreos se caracterizan por la presencia de carbonatos de calcio y magnesio libres y un pH superior a 7 (Leytem y Mikkelsen, 2005), lo cual

provoca un diferente ambiente nutricional para la vegetación comparado con los suelos no calcáreos. (Kishchuk *et al.*, 1999)

La influencia de las fluctuaciones de humedad en la disponibilidad de nutrientes es muy importante en las zonas semiáridas. Las tradicionales extracciones químicas no consideran estas fluctuaciones debido a que evalúan las condiciones nutricionales del suelo al momento del muestreo, pero sin tomar en cuenta los factores que afectan la disponibilidad de los nutrientes (Salisbury y Christensen, 2000). Los intercambiadores iónicos superan esta limitación, siendo capaces de medir los flujos que ocurren ante condiciones ambientales cambiantes (Knopp y Guillard, 2002). Las membranas de intercambio iónico “*in situ*”, actúan simulando las raíces de las plantas, integran la disponibilidad de los nutrientes y las tasas de difusión afectadas por la temperatura del suelo, el contenido de agua y la actividad biológica de los microorganismos. (Salisbury y Christensen, 2000)

Cuba, situada en la zona semiárida, presenta suelos calcáreos afectados por procesos de degradación. Como consecuencia, la sustentabilidad de los ecosistemas agrícolas está amenazada por el decrecimiento de la productividad y la baja fertilidad de estos suelos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la disponibilidad de  $\text{NO}_3\text{-N}$  y  $\text{PO}_4\text{-P}$  empleando membranas de intercambio iónico en dos suelos calcáreos de Villa Clara, Cuba, bajo dos niveles de humedad del suelo y diferentes usos del mismo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño experimental de campo

El muestreo de los suelos fue realizado durante la época de seca siguiendo un diseño aleatorio. Fueron seleccionados dos suelos calcáreos de la provincia de Villa Clara: pardos con carbonatos y húmicos carbonáticos, clasificados como Orthic-Calcaric Cambisol (Villegas *et al.*, 1994; Alemán *et al.*, 2002) e Hyper-Calcaric Phaeozem (Marín *et al.*, 1994). Tres tipos de usos de suelo fueron escogidos: monocultivo de caña de azúcar, áreas de pasto y arboledas. En cada sitio de muestreo fueron colectadas 10 réplicas para un total de 60 muestras. Previo al experimento de laboratorio, las muestras fueron secadas al aire y se determinó la capacidad de campo.

### Preparación de las membranas

Las MII utilizadas fueron resinas sintéticas comercialmente disponibles (PC Acid 35, PCA Ltd., Alemania). Estas fueron compradas en forma de pliegos de  $500\text{ cm}^2$ , cortadas a su vez en círculos de 3,2 cm de diámetro (Figura 1) con una superficie reactiva de  $16,08\text{ cm}^2$  por cada círculo (ambas caras que equivalen a dos veces el área).

### Conversión y regeneración de las MII a forma $\text{HCO}_3^-$

Para la preparación y regeneración de las resinas, 150 discos de MII fueron colocados en beakers de 1000 mL que contenían 0,5 N HCl. Estos fueron colocados en una zaranda durante 1 hora y posteriormente los discos fueron lavados dos veces con agua deionizada. El objetivo de este paso fue limpiar las membranas de cualquier residuo antes de la conversión a la forma  $\text{HCO}_3^-$ .

Para la conversión 150 discos fueron colocados en beakers de 1 000 mL con soluciones de 0,5 M  $\text{NaHCO}_3$ . Se repitió el procedimiento utilizado anteriormente con la solución 0.5 N HCl, pero fue repetido 5 veces con soluciones frescas. Al final, las membranas fueron bien enjuagadas con abundante agua deionizada y almacenadas a  $4^\circ\text{C}$ .

### Procedimiento experimental en el laboratorio

Fueron humedecidos 20 g de suelo hasta la capacidad de campo (CC) y hasta la humedad equivalente al añadir la mitad del volumen de agua requerido para obtener la capacidad de campo (MCC). Posteriormente, se colocó el suelo humedecido en dos tapas (10 g en cada una) con una MII, previamente convertida a la forma  $\text{HCO}_3^-$  entre ambas tapas. Las tapas fueron juntadas y se mantuvieron así utilizando una pinza con el fin de garantizar el pleno contacto entre la membrana y el suelo (Figura 1).

El experimento mantuvo el diseño de campo (2 tipos de suelo y 3 tipos de manejo agrícola con 10 repeticiones para cada combinación) y se le añadió el factor humedad del suelo con dos niveles de humedad (CC y MCC). Las membranas de los “sandwiches” fueron cambiadas cuidadosamente cada 5 días, lavadas con un poco de agua

deionizada y colocadas en frascos con 25 mL de 0,5 N HCl. Posteriormente, estos frascos se colocaron en una zaranda y se mantuvieron durante la noche (16 horas) a 120 rpm. Finalmente, se removieron las membranas y los extractos fueron conservados a 4 °C hasta su análisis.



Figura 1. Experimento de incubación con membranas de intercambio iónico y composición del sándwich

### Análisis de los extractos

Cada extracto fue analizado para los dos nutrientes. El  $\text{NO}_3^-$ -N se determinó por colorimetría usando la técnica descrita por Yang *et al.* (1998), quienes emplean una tri-solución cuyo principal agente reactivo es el salicilato de sodio (1 g) combinado con NaCl (0,2 g) y sulfamato de amonio (0,1 g) disueltos en 100 mL de 0.01M NaOH. Los extractos requirieron neutralización previa con 0,5 M NaOH antes de adicionar la solución color.

El  $\text{PO}_4^{2-}$ -P se determinó empleando dos métodos que fueron calibrados entre sí. Para el contenido de humedad equivalente a CC se empleó el método de molybdato/vandato de amonio adaptado por sustitución del  $\text{H}_2\text{SO}_4$  por 0,5 N HCl. En el caso de los extractos de las muestras que se encontraban a MCC se empleó el método de Murphey y Riley (1962) descrito por Tiessen y Moir (1993).

### Cálculo e interpretación de los datos

La concentración de los iones en los extractos se utilizó para calcular la Tasa de Liberación del Nutriente (TLN) para cada período de 5 días. Con este fin se utilizó la fórmula siguiente:

$$\text{TLN } (\mu\text{g}/\text{cm}^2) = (\text{C} \times \text{V}) / \text{S},$$

donde:

C: concentración del ión absorbido ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

V: volumen utilizado como solución de extracción (25 mL)

S: área de la superficie reactiva del disco de membrana en contacto con el suelo ( $\text{cm}^2$ )

Para el procesamiento de los datos se empleó el software SPSS 9.0 (SPSS Inc., Chicago). Las concentraciones totales se obtuvieron de la sumatoria de las concentraciones parciales medidas cada 5 días. Estos fueron analizados empleando un modelo general lineal para los tres factores estudiados. Cuando se encontraron interacciones significativas, se condujeron ANOVAs de una vía para encontrar las diferencias de manejo en cada tipo de suelo o tratamiento de agua independientemente. Las diferencias entre suelos y entre niveles de humedad fueron confirmadas por pruebas T. Para todos los análisis se empleó la prueba de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Disponibilidad en el tiempo

La disponibilidad de  $\text{NO}_3^-$ -N decreció fuertemente a los 10 días de comenzado el experimento. A partir de entonces las concentraciones, aunque bajas, se mantuvieron constantes tendiendo a cero al día 40. En el caso del  $\text{PO}_4^{2-}$ -P la disponibilidad comenzó a declinar a los 25 días en todos los sitios evaluados.

Al evaluar el día 30, la disponibilidad de  $\text{PO}_4^{2-}$ -P tendía a cero en todos los agroecosistemas, exceptuando las áreas de pastoreo. Estos resultados sugieren que la disponibilidad de este nutriente es baja, probablemente debido a encontrarse retenido en formas no disponibles. Existen numerosos estudios que reportan problemas de disponibilidad de  $\text{PO}_4^{2-}$ -P en suelos calcáreos debido a la interferencia de los carbonatos. (Misra and Tyler, 1999; Kishchuk *et al.*, 1999; FAO, 2000; Imas, 2000; Leytem and Mikkelsen, 2005; Carreira *et al.*, 2006)

### Nitrato

La mayor disponibilidad de  $\text{NO}_3^-$ -N (Tabla 1) fue encontrada en la arboleda del suelo pardo con carbonatos y en el área de pastoreo del suelo húmico carbonático. Este es el ecosistema más viejo (más de 50 años) y estable de todos los estudiados. El área de pasto ha sido utilizada con este fin desde hace más de 35 años siendo también un ecosistema estable. Se ha reportado que el reciclaje de los pastos puede reemplazar el rol que realiza la descomposición de la hojarasca en los bosques

como vía principal para el reciclaje de los nutrientes. (Markewitz *et al.*, 2004)

En general, los agroecosistemas enclavados en el suelo húmico carbonático (con excepción de la arboleda) tienen más  $\text{NO}_3^- \text{N}$  que los mismos tipos de manejo en el suelo pardo con carbonatos. A CC, las concentraciones de  $\text{NO}_3^- \text{N}$  en el suelo húmico carbonático fueron 30 % más altas que en el suelo pardo con carbonatos. Estas diferencias están vinculadas a las diferencias en contenido de materia orgánica entre ambos suelos. Los suelos húmicos pueden doblar el contenido de materia orgánica de los suelos pardos. (Cairo y Fundora, 1994)

La disponibilidad de  $\text{NO}_3^- \text{N}$  fue significativamente afectada por la humedad del suelo, siendo superior en condiciones de MCC que a CC. Las diferencias fueron del 31 % para el suelo húmico carbonático, mientras que alcanzaron un 25 % en el pardo con carbonato. La disponibilidad de  $\text{NO}_3^- \text{N}$  depende de la actividad microbiana, la mineralización, la humedad del suelo, entre otros factores. Pampolino y Hatano (2000) estudiaron el efecto de la humedad del suelo en la disponibilidad del fósforo y el nitrógeno comparando la disponibilidad de estos nutrientes bajo condiciones de saturación y no saturación. Sus resultados evidenciaron que el contenido de nitrógeno total es superior en condiciones de saturación, pero en estas condiciones la forma de nitrógeno disponible que predomina es  $\text{NH}_4^- \text{N}$ . Los niveles de  $\text{NO}_3^- \text{N}$  fueron superiores en suelos no saturados, lo cual sugiere que la disponibilidad y forma de nitrógeno disponible varía con el contenido de humedad del suelo. La mineralización del nitrógeno ocurre rápidamente cuando los niveles de humedad son bajos. En estas condiciones, el  $\text{NH}_4^- \text{N}$  oxidado a  $\text{NO}_3^- \text{N}$ , mientras que en condiciones de saturación, estos procesos se retardan por la deficiencia de oxígeno y el  $\text{NH}_4^- \text{N}$  tiende a acumularse. (Kleinhenz *et al.*, 1997)

La producción de hojarasca es mayor en los ecosistemas de bosques y arboledas, lo que incrementa el contenido de materia orgánica en el suelo. Se ha reportado que la conversión de bosques en áreas de pastoreo causa un decrecimiento del

contenido de materia orgánica en el suelo, así como elevadas pérdidas de nutrientes debido a la lixiviación. (Cleveland *et al.*, 2003) Sin embargo, en áreas de pasto las deyecciones de animales pueden ser una fuente estable a largo plazo. Solo un tercio del nitrógeno orgánico aplicado en esta forma es disponible para los cultivos durante el primer año de aplicación y los restantes dos tercios, nitrógeno orgánico residual, pasan a formar parte de la materia orgánica, la cual es mineralizada y se hace disponible a una tasa de aproximadamente 5 % por año. (Johnson and Eckert, 1995)

Tabla 1. Concentraciones totales de  $\text{NO}_3^- \text{N}$  y  $\text{PO}_4^- \text{P}$

Suelo húmico carbonático			
Uso del suelo	Humedad del suelo	$\text{NO}_3^- \text{N}$	$\text{PO}_4^- \text{P}$
Caña de azúcar	MCC	75	1,8
	CC	51	27
Pastoreo	MCC	112	2,3
	CC	87	55
Arboleda	MCC	86	2,0
	CC	102	38
FPLSD	MCC	10	0,3
	CC	8	13
Suelo pardo con carbonatos			
Caña de azúcar	MCC	41	1,2
	CC	30	23
Pastoreo	MCC	27	1,0
	CC	12	17
Arboleda	MCC	124	1,5
	CC	102	24
FPLSD	MCC	8	0,2
	CC	4	3

### Fosfato

La disponibilidad de  $\text{PO}_4^{2-} \text{P}$  (Tabla 1) fue altamente influenciada por los efectos de manejo del suelo, propiedades del suelo y contenido de humedad del mismo. En las áreas de pasto del suelo húmico carbonático el contenido de  $\text{PO}_4^{2-} \text{P}$  fue mayor que en los otros dos ecosistemas. En general, en este suelo los niveles de  $\text{PO}_4^{2-} \text{P}$  fueron más altos en comparación con el suelo pardo con carbonatos, lo que demuestra la influencia del tipo de suelo en la disponibilidad del nutriente. (Cross y Schlesinger, 2001; Stewart y Tiessen; 1987, Tiessen *et al.*, 1994)

A MCC las diferencias entre ambos suelos no fueron significativas lo que sugiere que el nivel de humedad del suelo tiene un rol determinante en la disponibilidad de  $\text{PO}_4^{2-} \text{P}$ . Las concentraciones de  $\text{PO}_4^{2-} \text{P}$  fueron

aproximadamente 95 % más altas a CC que a MCC, evidenciando que la disponibilidad de  $\text{PO}_4^{2-}$ -P está fuertemente correlacionada con la humedad del suelo. La absorción de  $\text{PO}_4^{2-}$ -P por las raíces de las plantas está controlada por procesos de difusión y la disminución de las concentraciones de  $\text{PO}_4^{2-}$ -P en la rizosfera. (Misra y Tyler, 1999) La difusión ocurre en los poros llenos de agua, por lo que el contenido volumétrico de agua es un factor importante controlando el flujo de la difusión (Kovar y Claassen, 2005). Por tanto, el flujo de difusión del  $\text{PO}_4^{2-}$ -P será mayor a medida que la humedad del suelo aumente. Misra y Tyler (1999) reportaron que las concentraciones de  $\text{PO}_4^{2-}$ -P aumentaban con la humedad del suelo, pero el mayor incremento ocurre cuando la humedad del suelo es superior al 70 % CC. A bajos contenidos de humedad, la difusión es obstruida, lo que hace al  $\text{PO}_4^{2-}$ -P menos disponible para las plantas. Pampolino y Hatano (2000) también encontraron un amplio incremento en la disponibilidad de  $\text{PO}_4^{2-}$ -P al estudiar suelos en condiciones saturadas y no saturadas. Estos autores explicaron que el menor contenido de  $\text{PO}_4^{2-}$ -P en las resinas en condiciones de baja humedad del suelo indicaba que los procesos de difusión decrecieron por un incremento de la tortuosidad.

## CONCLUSIONES

La tecnología de MII permitió caracterizar la disponibilidad de ambos nutrientes en estos suelos de la región central de Cuba, la cual fue influenciada por los niveles de humedad del suelo y el manejo del mismo. Las áreas más viejas y estables mostraron mayores niveles de  $\text{NO}_3^-$ -N, sin embargo no fue posible determinar la disponibilidad total de nitrógeno en ambas condiciones de humedad por no considerarse los niveles de  $\text{NH}_4^+$ -N. En cuanto a la disponibilidad de  $\text{PO}_4^{2-}$ -P se encontró que fue altamente dependiente del contenido de agua del suelo. Otros factores como el tipo de suelo y el manejo del mismo también influyeron en los niveles de disponibilidad de este nutriente. Siendo el  $\text{PO}_4^{2-}$ -P el nutriente más limitante en la mayoría de los ecosistemas tropicales es importante este resultado, pues evidencia que solo un manejo eficiente de los recursos del ecosistema derivará en una disponibilidad sostenible a largo plazo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alemán-Pérez, R.; L Cholaky-Sobari.; O. Giayetto, J., Machado-de Armas J., y O. Fundora-Herrera: "Fertilización nitrogenada del girasol en suelos pardos con carbonatos de la región central de Cuba," *Centro Agrícola*, 29(1):56-63, enero-marzo, 2002.
2. Cairo, P. y O. Fundora, : Clasificación de los suelos (Capítulo 15). En: *Edafología*, Editorial Pueblo y Educación, Segunda edición ampliada y corregida, La Habana. ISBN: 959-13-0209-6. pp. 348-420, 1994.
3. Carreira, J. A.; B. Vinegla y B. Lajtha "Secondary  $\text{CaCO}_3$  and precipitation of P-Ca compounds control the retention of soil P in arid ecosystems", *Journal of Arid Environments* 64: 460-473, 2006.
4. Cleveland, C. C.; A.R. Townsend; S.K. Schmidt, and B.C. Constance: "Soil microbial dynamics and biogeochemistry in tropical forests and pastures, southwestern Costa Rica". *Ecological applications*, 13 (2): 314-326, 2003.
5. Cross, A.F. and Schlesinger: Biological and geochemical controls on phosphorus fractions in semiarid soils. *Biogeochemistry* 52: 155-172, 2001.
6. FAO: Problem soils database. Disponible online en: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/prosoil/calc.htm>. Última actualización: 21 August 2000.
7. Imas, P: Integrated nutrient management for sustaining crop yields in calcareous soils. Presented at GAU-PRII-IPI National Symposium on: Balanced nutrition of groundnut and other field crops grown in calcareous soils of India. Disponible online en: <http://www.ipichina.org/presentn/inmfscy.html>, 2000.
8. Johnson, J. and D Eckert: Best management practices: land application of animal manure. AGF-208-95. Disponible online en: <http://ohioline.osu.edu/agf-fact/0208.html>, 1995.
9. Kishchuk, B.; D Mynard and D. Curran: Calcareous soils. Technology transfer note. Forestry Research Applications. N° 15. Disponible online en: <http://www.dsp-psd.pwgscc.ca/Collection/Fo29-47-15-1999E.pdf>, 1999.
10. Kleinhenz, V.; W.H Schnitzler, and D.S. Midmore: Seasonal effects of soils moisture on soil N availability, crop N status, and yield of vegetables in a tropical,

- rice-based lowland. In: Der Tropenlandwirt, Beiträge zur tropischen Landwirtschaft und veterinärmedizin, 98. Jahrgang, April 97, S. 25-42. Disponible online en: [http://trophort.com/pdf/Pub/Seasonal\\_effects\\_of\\_soil\\_moisture.pdf](http://trophort.com/pdf/Pub/Seasonal_effects_of_soil_moisture.pdf), 1997.
11. Knopp, K. L. and K. Guillard: Relationship of turfgrass growth and quality to soil nitrate desorbed from anion exchange membranes. "Crop Sci. 42: 1232-1240, 2002.
12. Kovar, J. L. and N. Claassen: Soil-root interactions and phosphorus nutrition of plants. Phosphorus: Agriculture and the environment, Agronomy monograph N° 46: 379-414, 2005.
13. Leytem A. B. and R.L. Mikkelsen: "The nature of phosphorus in calcareous soils", *Better Crops*, 89 (2): 11-13, 2005.
14. Marín, R.; C.; Balmaseda; R. Villegas and F.S. Arcia: Cuba. Humus-rich calcareous soils. Soil brief CU 7. ISRIC-INICA, 1994.
15. Markewitz, D.; E. Davidson; P. Moutinho, and D. Nepstad: Nutrient loss and redistribution after forest clearing on highly weathered soil in Amazonia. *Ecological Applications*, 14 (4) Supplement. pp: 177-199, 2004.
16. Misra, A. and G. Tyler: "Influence of soil moisture and soil solution chemistry and concentrations of minerals in the calcicoles *Phleum phleoides* and *Veronica spicata* grown on a limestone soils". *Annals of Botany* 84: 401-410, 1999.
17. Murphey, J. and J.P. Riley: "A modified single solution method for the determination of phosphate minerals in natural waters", *Anal. Chim. Acta* 27: 31-36, 1962.
18. Pampolino, M. F. and R. Hatano: "Comparison between conventional soil tests and the use of resin capsules for measuring P, K, and N in two soils under two moisture conditions", *Soil. Sci. Plant Nutr.* 46 (2): 461-471, 2000.
19. Salisbury, S. E. and N.W. Christensen: "Exchange resins measure rotation effect on nutrient availability", *Better Crops*, 84 (3): 14-16, 2000.
20. Stewart, J.W.B. and H. Tiessen: Dynamics of soil organic phosphorus, *Biogeochemistry* 4: 41-60, 1987.
21. Tiessen, H.; P. Chacon and E. Cuevas: "Phosphorus and nitrogen status in soils and vegetation along a toposequence of dystrophic rainforests on the upper Rio Negro". *Oecologia* 99: 145-150, 1994.
22. Tiessen, H. and J.O. Moir: Characterization of available P by sequential extraction. In: Carter MR (ed) *Soil sampling and methods of analysis* (special publication of the Canadian Society of Soil Science). Lewis, Boca Raton, pp. 75-86, 1993.
23. Villegas, R.; D. Ponce de León; C. y E. Balmaceda, C., Pineda: Cuba. Brown calcareous reference soils derived from limestone. ISRIC-INICA, 1994.
24. Yang, J. E.; E.O. Skogley B.E.; Schaff, and J.J. Kim: "A simple spectrophotometric determination of nitrate in water, resin, and soil extracts", *Soil Sci. Sm. J.*, Vol. 62, July-August, 1108-1115, 1998.

Recibido: 14/abril/2008

Aceptado: 11/junio/2008