
ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA CON DIFERENTES USOS DEL SUELO EN EUTRUDOXES RÓDICOS DEL SUR DE MISIONES (ARGENTINA)

Activity of acid phosphatase with different use of soils in Rhodic Eutrudoxs of south Misiones (Argentina)

Humberto Carlos Dalurzo¹, Diana Marcela Toledo¹ y Sara Vazquez¹

¹ Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2131. CP: 3400. Corrientes. Argentina. E-mail: dalurzo@agr.unne.edu.ar

Resumen

En suelos de zonas tropicales como los Oxisoles, caracterizados por su deficiencia de fósforo, las fosfatasa ácidas cumplen un rol relevante por reabastecer el P disponible. Con el objetivo de determinar si las condiciones de manejo afectan la actividad de la fosfatasa ácida en Eutrudoxes Ródicos, se estableció un ensayo en una selva subtropical húmeda (Sv) y en cultivos de yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hill.) bajo labranza convencional (YCV), en bloques al azar con dos tratamientos y cuatro repeticiones. Se extrajeron tres muestras compuestas de suelo por parcela de 0 a 10 cm de profundidad. Se determinó la actividad enzimática, materia orgánica (MO), materia orgánica particulada (POM), N potencialmente mineralizable (Npm), P asimilable (P Bray II), P orgánico (PO) y P total (Pt). En la selva subtropical la actividad de la fosfatasa ácida, 44 mg de p-nitrofenol kg h⁻¹, fue mayor que bajo labranza convencional, 29,98 mg de p-nitrofenol kg h⁻¹, con diferencias significativas (P < 0,0001) manifestando su relación con el uso del suelo. Se obtuvo una correlación directa entre la actividad fosfatasa y los atributos determinados. Las variables edáficas que explicaron la actividad de la fosfatasa ácida fueron la POM, el P Bray II, el Pt y el PO.

El comportamiento de la actividad enzimática fue similar al de la MO y a otros estimadores de la calidad del suelo por lo cual podría ser considerada una variable promisorio para tal fin.

Palabras claves: actividad enzimática, fosfatasas, suelos tropicales.

Abstract

In soils of tropical areas, like the Oxisols, characterized by a shortage of phosphorus; the acids phosphatase fulfills a relevant role to provide available P to plants. With the aim of determining whether the management conditions affect the activity of the acid phosphatase, an assay was carried out in soils classified as Rhodic Eutrudoxs at a rain forest (Sv) and at a "yerba mate" plot (*Ilex paraguariensis* Saint Hill.), under conventional management (YCV), on randomly selected blocks, with two treatments and four repetitions. Three bulked samples up to 10 cm depth were extracted from each plot, to determine the enzymatic activity, soil organic matter (SOM), particulate organic matter (POM), potentially mineralizable nitrogen (Npm), available P (Bray II P), organic P (PO) and total P (Pt). The acid phosphatase activity was significantly higher (P < 0.0001) at the subtropical rain forest (44 mg of p-nitrofenol kg ha⁻¹), than at the conventional management plot (29.98 mg of p-nitrofenol kg.ha⁻¹), revealing its link with the soil use. A direct correlation between the acid phosphatase and the determined soil attributes was obtained. The soil variables that explained the acid phosphatase activity were POM, P Bray II, Pt and PO.

The behavior of the enzymatic activity was similar to the organic matter and other indicators of the soil quality, that's why it could be considered a promising variable for that purpose.

Key words: Enzymatic activity, phosphatase, tropical soils.

INTRODUCCIÓN

Los suelos de áreas tropicales se caracterizan por la elevada intemperización de sus materiales originales producida en un medio de altas temperaturas y humedad a través de prolongados períodos. Estas condiciones son apropiadas para la génesis de Oxisoles, definidos como típicamente zonales, y que presentan una característica deficiencia de fósforo disponible (Hardy, 1970). Dentro de este orden se encuentra el Gran Grupo de los Eutrudoxes, incluidos en los vulgarmente llamados “suelos rojos” del nordeste de Argentina, de baja fertilidad, lo cual afecta su producción (Sánchez y Salinas, 1983). En tales suelos, resulta de gran importancia la actividad de las fosfatasas ácidas para el reabastecimiento de P disponible.

El suelo es un sistema vivo donde toda la actividad bioquímica se desarrolla por medio de procesos enzimáticos. La mayoría de las enzimas del suelo provienen de la descomposición microbiana de tejidos vegetales y animales que son incorporados como residuos orgánicos, y su actividad enzimática ha sido usada como un indicador de la actividad microbiana del suelo (Casida, 1977; Frankenberger y Dick, 1983). Esta actividad estaría asociada a condiciones que promueven la síntesis de enzimas microbianas, la estabilización y la preservación de enzimas extracelulares. Por preceder a la acumulación de materia orgánica, la actividad enzimática sería un sensible y efectivo indicador de los cambios en calidad del suelo (Kennedy y Papendick, 1995; Park y Seaton, 1996; Monreal *et al.*, 1997).

Las fosfatasas constituyen un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos del ácido fosfórico (Schmidt y Laskowski, 1961) y fueron clasificadas, de acuerdo al pH óptimo para su actividad, en fosfatasas ácidas o fosfo-monoesterasas y fosfatasas alcalinas. Según el sustrato sobre el cual actúan, las fosfatasas suelen denominarse fosfo-monoesterasas, fosfodiesterasas y fosfotriesterasas, si catalizan la hidrólisis de monoésteres, diésteres y triésteres del ácido fosfórico, respectivamente.

La relación inversa hallada entre el pH del suelo y la actividad de la fosfatasa ácida, sugirió que su estabilidad variaba con relación al pH (Eivazi y Tabatabai, 1977).

Zelles *et al.* (1992), encontraron que la actividad enzimática estuvo fuertemente correlacionada a la biomasa microbiana, con coeficientes mayores de 0,97; medida a través del contenido de ácidos grasos derivados de fosfolípidos en ocho parcelas experimentales bajo monocultivo y rotación de diferentes cultivos. La relación hallada entre los ácidos grasos y los microorganismos fuertemente relacionados entre sí, indicó que este método puede ser usado en el estudio de la ecología microbiana del suelo.

Existe una estrecha relación entre el contenido de materia orgánica y la actividad enzimática (García *et al.*, 1994), parámetros éstos influenciados por los cultivos (Kennedy y Smith, 1995). Dick (1992) citó a la actividad enzimática como un indicador de cambios en las propiedades edáficas inducidas por el manejo del suelo.

Sin embargo, con respecto a la calidad y cantidad de residuos vegetales en el bosque subtropical del Parque Chaqueño Húmedo, no se hallaron diferencias en la actividad de la fosfatasa ácida (Fontanive *et al.*, 2000).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del manejo de suelo sobre la actividad de la fosfatasa ácida en Eutrudoxes Ródicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se estableció en el sur de la Provincia de Misiones, Argentina, con clima subtropical húmedo y régimen pluviométrico isohigro sin estación seca. El suelo es un Eutrudox Ródico, de familia arcillosa fina, hipertérmica, con un B óxico, de materiales arcillosos de baja capacidad de intercambio total, menores a 16 cmol kg⁻¹ de arcilla. La textura en superficie presentó de 75 al 80% de arcilla, y su incremento con la profundidad del perfil fue pequeño (menor al 8%). El B2 presentó escasos cutanes de arcilla, con límites graduales; los matices fueron más rojos que los 2,5 YR. La saturación de bases fue mayor al 35% en todas las profundidades hasta los 125 cm. Las principales características de este suelo se presentan en el Cuadro 1.

El ensayo siguió un diseño en bloques al azar con dos tratamientos y cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron: selva subtropical (Sv) y cultivo de yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hill.) de 15 años, bajo manejo convencional de la zona (YCv), consistente en control de malezas en los líneas mediante azada manual y en los entrelineos con repetidas pasadas de rastras de discos.

Cuadro 1. Principales características del Eutrudox Ródico bajo selva subtropical y bajo yerbal con manejo convencional de la zona

Variable	pH*	CICE cmol kg ⁻¹	Limo	Arcilla	Arena	V
			%			
Selva subtropical	5,69	20,86	14,67	75,48	9,86	65
Yerba convencional	4,99	9,00	13,06	77,92	9,02	51

*pH en agua destilada (relación 1:2,5)

CICE: capacidad de intercambio catiónica efectiva; V: porcentaje de saturación de bases

En cuatro parcelas de 10 por 50 m, se tomaron tres muestras compuestas de suelo de cada una de ellas, distanciadas entre sí 15 m aproximadamente. Cada muestra estaba formada por tres submuestras, tomadas a 3 m de distancia y de 0 a 10 cm de profundidad. Dichas muestras, una vez secadas al aire y tamizadas por malla de 2 mm, fueron sometidas a los siguientes análisis: textura, método de Bouyoucos (Dewis y Freitas; 1970); materia orgánica, método de Walkley - Black (Dewis y Freitas; 1970); pH en solución acuosa 1:2,5; fósforo asimilable (Bray – Kurtz II); fósforo orgánico (Bowman, 1989); fósforo total (Bowman, 1988); P en solución, por Murphy y Riley (Page *et al.*, 1982); materia orgánica particulada (POM) (Cambardella *et al.*, 1999) y nitrógeno potencialmente mineralizable (Sahrawat, 1982). Se determinó la actividad de la fosfatasa ácida (fosfomonoesterasas), según se describe en Eivazi y Tabatabai (1977), mediante determinación colorimétrica del p-nitrofenol liberado en la incubación del suelo con una solución buffer y sodio para nitrofenil fosfato como sustrato. La actividad enzimática fue expresada en mg de p-nitrofenol liberado por kg de suelo seco al aire por hora de incubación. Los datos se procesaron estadísticamente mediante el análisis de la varianza, aplicando la prueba de Duncan ($P < 0,05$), y correlacionando las variables analizadas con la actividad fosfatasa. Los análisis estadísticos se realizaron empleándose el Programa SAS (SAS Institute, 1994).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de pH hallados se clasificaron dentro del rango de acidez, variando de 3,64 a 6,44, y sin diferencias entre tratamientos. La materia orgánica fue, en promedio, mayor en la situación con selva subtropical (Cuadro 2), comparada con el tratamiento convencional, relacionado a la mayor remoción del suelo y aireación que aumentó su descomposición. Monreal *et al.* (1997), con laboreo excesivo, encontraron reducciones de materia orgánica, aptitud y productividad del suelo.

La eliminación de la selva, seguida de 15 años de agricultura se manifestó en diferencias aún más notables en la POM ($P < 0,0001$), disminuyendo más de cuatro veces respecto a la situación prístina (Cuadro 2), lo cual se debería a las causas ya citadas, resultando una rápida respuesta de este atributo a los cambios en el uso de la tierra y manejo del suelo (Greenland y Ford, 1964; Cambardella y Elliott, 1992).

Los resultados del N potencialmente mineralizable fueron coincidentes con los anteriores, presentando los valores mayores en la Sv con diferencias significativas ($P < 0,0001$) respecto al suelo bajo uso agrícola YCv. Los potenciales de mineralización más altos coincidieron con los mayores contenidos de materia orgánica hallados en la selva. Gunapala y Scow (1998) hallaron que el Npm era significativamente mayor cuando se incorporaban enmiendas provocando el aumento de los contenidos orgánicos comparados con tratamientos de manejo convencional.

El P disponible (Bray II) reflejó valores bajos, dentro del rango de insuficiencia que caracterizan a dichos suelos, y sin hallarse diferencias entre ambos tratamientos (Cuadro 2), presentando en superficie 4,76 mg kg⁻¹ en la Sv, y de 3,82 mg kg⁻¹ bajo labranza convencional, inferiores a los niveles considerados críticos para gran parte de los cultivos de suelos tropicales (Simard y Sen Tran, 1993; Ferreira de Novais y Smyth, 1999). El PO fue mayor en la Sv con diferencias significativas ($P < 0,0001$) con la YCv. El uso agrícola de estos suelos incrementó la mineralización de la MO y por lo tanto, del PO, reduciendo las reservas de P para los cultivos. En la selva misionera, el porcentaje de PO fue del 41% y disminuyó al 30% con 15 años de labranza convencional. De acuerdo con Huffman *et al.* (1996), el PO puede disminuir debido a la mineralización por las fosfatasas del suelo. Vaughan y Ord (1985), hallaron en suelos tropicales que la mineralización del PO varió entre 27 y 50 kg de P ha⁻¹, dependiendo de la solubilidad del P en los residuos orgánicos y de la tasa de descomposición. En el fósforo total, si bien se obtuvieron diferencias entre tratamientos ($P < 0,0001$), éstas se debieron al PO, ya que los contenidos de fósforo inorgánico fueron similares con valores promedio (obtenidos por diferencia) de 527 mg kg⁻¹ para la Sv y 506 mg kg⁻¹ para la YCv.

En el tratamiento de Sv se obtuvo una actividad enzimática promedio de 44 mg de p-nitrofenol kg h⁻¹, superior al suelo con laboreo convencional, que presentó un promedio de 29,98 mg de p-nitrofenol kg h⁻¹ ($P < 0,01$). Ozawa *et al.* (1995) hallaron que el sistema radical en suelos deficientes en P incrementaba la secreción de fosfatasa, lo que podría ser una causa de dichas diferencias, especialmente por el gran número de raíces en los primeros 10 cm de la selva subtropical, respecto al suelo con agricultura.

Cuadro 2. Resultados promedios de la actividad fosfatasa, la MO, la POM, el NPM, el P Bray II, el PO, el Pt, la desviación estándar, los valores mínimos, máximos, y su discriminación por tratamiento en la profundidad de 0 a 10 cm

Variable	Fosfatasas	pH	MO	POM	NPM	P Bray II	P total	PO
	mg p-nitrofenol kg ⁻¹ h ⁻¹							
Selva subtropical	44,00 a*	5,08 a	6,76 a**	13,11 a**	1513 a**	4,76 a	887 a**	360,00 a**
Yerba convencional	29,98 b	4,49 a	3,26 b	3,28 b	923 b	3,82 a	718 b	212,00 b
Desviación estándar	13,80	0,89	1,93	6,32	732	1,49	110	83,70
Mínimo	16,30	3,64	2,64	1,53	955	2,57	643	192,00
Máximo	69,02	6,44	9,13	21,81	2990	8,11	1086	439,00

Los valores con letras en común no son diferentes estadísticamente

*, **, Indican significación al nivel del 0,01, 0,001 y 0,0001, respectivamente

La actividad enzimática decreció con el laboreo de manera similar al contenido de MO, como fuera informado por otros autores (Karlen *et al.*, 1994; Lowell *et al.*, 1995), y tuvo un comportamiento similar a los contenidos de carbono orgánico (CO) del suelo.

Al correlacionar la actividad enzimática de la fosfatasa ácida con algunas propiedades del suelo, se obtuvo una relación directa con la MO ($r = 0,433$; $P < 0,035$) (Cuadro 3), y su actividad enzimática se incrementó con los contenidos orgánicos, en concordancia con lo hallado por Bergstrom *et al.* (1998), quienes encontraron que dicha enzima podría tomarse como una indicadora de la materia orgánica del suelo, expresando que la mayor actividad de la fosfatasa, estaría relacionada con un aumento de la estabilidad por su adsorción a la materia orgánica del suelo.

El contenido de CO y las actividades enzimáticas podrían relacionarse entre sí y con la actividad microbiana, debido a su dependencia con la disposición de sustratos carbonados, y al ser el nitrógeno potencialmente mineralizable un estimador de la biomasa microbiana, se explicaría la relación directa existente con la fosfatasa ácida ($r = 0,408$; $P < 0,048$).

La POM, por ser una fracción de la materia orgánica, presentó en las correlaciones un comportamiento similar ($r = 0,498$; $P < 0,013$). La POM explicó el 25% de la variancia, de la actividad enzimática según el siguiente modelo de regresión, resultando un adecuado indicador de calidad de suelo:

$$\text{Actividad enzimática} = 28,10 + 1,09 \text{ POM};$$

$$r_2 = 0,25 \quad P < 0,013$$

La regresión de la actividad enzimática con el P (Bray II) indicó que el 36% de la variancia fue explicada por dicho atributo, y entre el 21 y el 18% de la misma, fue explicada por el Pt y el PO, acordes con los siguientes modelos de regresión:

$$\text{Actividad enzimática} = 13,17 + 5,56 \text{ P (Bray II)};$$

$$r_2 = 0,36 \quad P < 0,018$$

$$\text{Actividad enzimática} = -9,36 + 0,06 \text{ P total};$$

$$r_2 = 0,21 \quad P < 0,023$$

$$\text{Actividad enzimática} = 16,73 + 0,07 \text{ PO};$$

$$r_2 = 0,18 \quad P < 0,036$$

Las correlaciones directas y significativas obtenidas entre la fosfatasa ácida y el P asimilable extraído por Bray II y el P orgánico y el P total, podrían deberse al importante rol que desempeña esta enzima en la mineralización del fósforo orgánico y su efecto en la mayor disponibilidad para las plantas, como fuera citado por Speir y Ross (1978).

Cuadro 3. Correlaciones (coeficientes, probabilidades) entre la actividad fosfatasa y el resto de las variables analizadas

	Fosfatasa	pH	MO	POM	NPM	P Bray II	Pt	PO
Fosfatasa	1,00	-0,273	0,433	0,498	0,408	0,602	0,463	0,430
Probabilidad	0,0	0,198	0,035	0,013	0,048	0,002	0,023	0,028

CONCLUSIONES

La actividad de la fosfatasa ácida fue mayor en la selva subtropical que bajo labranza convencional, manifestando su relación con el uso del suelo y resultando afectada por el sistema de manejo, lo cual la constituiría en una variable promisoría para estimar la calidad del suelo. Las variables que explican en mayor medida el comportamiento de la actividad de la fosfatasa ácida del suelo fueron: la materia orgánica particulada, el P disponible, el P total y el P orgánico.

LITERATURA CITADA

- Bergstrom, D.W.; C.M. Monreal y D.J. King.** 1998. Sensitivity of soil enzyme activities to conservation practices. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62: 1286-1295.
- Bowman, R.A.** 1988. A rapid method to determine total phosphorus in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52: 1301-1304.
- Bowman, R.A.** 1989. A sequential extraction procedure with concentrate sulfuric acid and dilute base for soil organic phosphorus. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53:362-366.
- Cambardella, C. A. y E. T. Elliott.** 1992. Particulate soil organic matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56: 777-783.
- Cambardella, C. A.; A.M. Gajda; J.W. Doran; B.J. Weinhold y T. Kettler.** 1999. Estimation of particulate and total organic matter by weight loss-on-ignition. *In:* R. Lal, J.F. Kimble and R.F. Follet (Ed.). *Carbon methods*. CRC Press, Boca Raton, FL. 609 p.
- Casida, I.E.** 1977. Microbial metabolic activity in soil as measured by dehidrogenasa determinations. *Appl. Environ. Microbiol.* 34:630-636.
- Dewis J. y F. Freitas.** 1970. Métodos físicos y químicos de análisis de suelos y aguas. Boletín sobre suelos N°10. FAO. Roma. 36-57 p.
- Dick, R.P.** 1992. Long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agric. Ecosyst. Environ.* 40:25-36.

- Eivazi, F. y M.A. Tabatabai.** 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biol. Biochem.* 9:167-172.
- Ferreira de Novais, R. y T. J. Smyth.** 1999. Fósforo em solo e planta em condições tropicais Viosa, M.G. UFV. DPS: 399 p.
- Frankenberger, W.R. Jr. y W.A. Dick.** 1983. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47:945-951.
- Fontanive, V.; R. Defrieri; M.P. Jimenez y D. Effron.** 2000. Influencia de la calidad de los residuos vegetales sobre la actividad de la fosfatasa ácida en un suelo forestal. *In: Resúmenes XXIII Congreso Argentino de Química.* Corrientes, Argentina. p. 18.
- García, C.; T. Hernández y F. Costa.** 1994. Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions. *Soil Biol. Biochem.* 26:1185-1191.
- Greenland, D.J. y G.W. Ford.** 1964. Separation of partially humified organic materials from soils by ultrasonic dispersion. p. 137-148. *In: Transactions. International. Congr. Soil Sci.* 8th, Vol 3. 31 Aug. - 9 Sept. 1964. Rómpresfilatelia, Bucharest. 458 p.
- Gunapala, N. y K. Scow.** 1998. Dynamics of soil microbial biomass and activity in conventional and organic farming systems. *Soil Biol. Biochem.* 30: 805-816.
- Hardy, F.** 1970. Suelos Tropicales. *Pedología Tropical con énfasis en América.* Traducido al castellano: Dr. Rufo Bazán. México. Herrero Hnos. (Ed.). 335 p.
- Huffman, S. A.; C. V. Cole y N. A. Scott.** 1996. Soil texture and residue addition effects on soil phosphorus transformations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60:1095-1101.
- Karlen, D.L.; N.C. Wollenhaupt; D.C. Erbach; E.C. Berry; J.B. Swan; N.S. Eash y J.L. Jordahl.** 1994. Long-term tillage effects on soil quality. *Soil Tillage Res.* 32:313-327.
- Kennedy, A.C. y R.C. Papendick.** 1995. Microbial characteristics of soil quality. *J. Soil Water Conserv.* 50:243-248.
- Kennedy, A.C. y K.L. Smith.** 1995. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant Soil* 170:75-86.
- Lowell, R.D.; S.C. Jarvis y R.D. Bardgett.** 1995. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: Effects of management changes. *Soil Biol. Biochem.* 27:96-975.
- Monreal, C.M.; H. Dinel; M. Schnitzer; D.S. Gamble y V.O. Biederbeck.** 1997. Impact of carbon sequestration on functional indicators of soil quality as influenced by management in sustainable agriculture. *In: R. Lal et al. (Ed.) Soil processes and the carbon cycle.* Adv. Soil Sci. Ser. CRC PRESS, Boca Raton, FL. p. 435-458.
- Page, A.L.; R.H. Miller y D.R. Keeney.** 1982. Methods of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties (2 ed.). *Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, USA.* 1159 p.
- Park, J. y R.A.F. Seaton.** 1996. Integrative research and sustainable agriculture. *Agric. Syst.* 50:81-100.
- Ozawa, K.; M. Osaki; H. Matsui; M. Honma y T. Tadano.** 1995. Purification and properties of acid phosphatase secreted from lupin roots under phosphorus-deficiency conditions. *Soil. Sci. Plant Nutr.* 41:461-469.
- Sanchez, P. y J.G. Salinas.** 1983. Suelos ácidos. Estrategias para su manejo con bajos insumos en América Tropical. S.C.C.S. Montoya y Araujo LTDA. Bogotá. Colombia. 93 p.
- Sahrawat, K.L.** 1982. Simple modification of the Walkley-Black method, for simultaneous determination of organic carbon and potentially mineralizable nitrogen in tropical rice soils. *Plant and Soil.* 69: 73-77.
- SAS Institute.** 1994. SAS STAT user's guide. Version 6 (4 ed.) Vol.1. Cary. North Carolina, USA. SAS Inst. 1686 p.
- Schmidt, G. y M. Laskowski.** 1961. Phosphate ester cleavage (survey). p. 3-35. *In: P.D. Boyer et al. (Ed.). The enzymes* (2 ed). New York, Academic Press. 535 p.
- Simard, R.R. y T. Sen Tran.** 1993. Evaluating plant-available phosphorus with the electro-ultrafiltration technique. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57:404-409.
- Speir, T.W. y D.J. Ross.** 1978. Soil phosphatase and sulphatase. *In: R.G. Burns (Ed.) Soil enzymes.* New York, Academic Press. p. 197-250
- Vaughan, D. y B. G. Ord.** 1985. Soil organic matter a perspective on its nature, extraction, turnover and role in soil fertility. *In: Vaughan, D. and R.E. Malcolm (Ed.) Soil organic matter and biological activity.* Developments in Plant and Soil Science, 18, p. 1-35.
- Zelles, L.; Q.Y. Bai; T. Beck y F. Beese.** 1992. Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicator of microbial biomass and community structure in agricultural soils. *Soil. Biol. Biochem.* 24:317-323.