

## Actividad enzimática como indicador temprano de calidad en un suelo de sabana bajo manejo conservacionista<sup>a</sup>

*Enzyme activity as an early indicator of a savannah soil quality under conservation management*

**María A. Rodríguez; Zenaida Lozano; Parken González; Starling Rodríguez; Ronelly Caballero; Mavelys Delgado**

Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay. Venezuela.  
mrodriguez36ster@gmail.com

### RESUMEN

Con la finalidad de evaluar el efecto del tipo de cobertura y la fertilización fosfórica en un sistema maíz en siembra directa – ganado sobre la actividad de las enzimas ureasa y fosfatasa, se realizaron evaluaciones en un ensayo de campo instalado en un Typic Plinthustults ubicado en las sabanas bien drenadas del estado Guárico (Venezuela). Se utilizaron dos cultivos de cobertura: una gramínea *Brachiaria dictyoneura* (BD), y una leguminosa *Centrosema macrocarpum* (CM), y se comparó con la sabana natural (SN) como testigo. En cada cobertura se evaluaron 4 tipos de fertilización fosfórica en un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 2 x 4 (cobertura x fertilización), con tres repeticiones. Los tipos de fertilización fueron: Control, sin fertilización; BRF+M, dosis baja de P como roca fosfórica (RF), (25% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> como RF) + inoculación con micorriza, ARF, dosis alta de fósforo (100 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> como RF) y ARF+FD, dosis alta de fósforo (50 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> como RF) + 50% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> como Fosfato diamónico, (FD). Se tomaron muestras de suelo de 0 a 5 cm en tres épocas durante el ciclo maíz-ganado. Se evaluó la calidad de los residuos dejados en superficie y en el suelo la actividad de las enzimas ureasa y fosfatasa. Los resultados indicaron que los residuos de distinta calidad (BD y CM) y la fertilización estimularon la actividad enzimática con relación a la SN: aumentó la actividad de la fosfatasa en BD y de la ureasa en CM. Et tipo de fertilización ARF aumentó la actividad enzimática, mientras que el tipo ARF+FD la disminuyó.

**Palabras clave:** *Brachiaria dictyoneura*; *Centrosema macrocarpum*; fosfatasa; hongo micorrízico arbuscular; ureasa.

### ABSTRACT

A field experiment was performed in an Typic Plinthustults located in Guárico state (Venezuela) and was study the effect of cover crops and phosphorus fertilization in no-tillage maize – cattle systems, on urease and phosphatase enzymes activities, Two cover crops treatments were evaluated: grass *Brachiaria dictyoneura* (BD) and legume *Centrosema macrocarpum* (CM), and compared with the natural savannah ecosystem (NS) as control. In each cover crops treatment 4 types of phosphorus fertilization were evaluated in a completely randomized design with factorial arrangement 2 x 4 (cover crops x fertilization), with three replicates. Fertilization types were: Control, with no fertilizer; BRF+M, low dose of P, 25% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> as phosphate rock + mycorrhizal inoculation; ARF, high doses of P, 100% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> as phosphate rock; and ARF+FD, high doses of P, 50% as phosphate rock + 50% as diammonium phosphate. Soil samples from 0-5 cm depth were collected in in different days during the maize-cattle cycle. The quality of the residues and the activity of the urease and phosphatase enzymes, were evaluated. The results indicated that the residues of different quality (BD and CM) and fertilization, stimulated enzyme activity compared with SN condition, phosphatase activity. Increased in BD and urease activity increased in CM. The ARF fertilization increased both enzyme activities, whereas the ARF+ FD decreased them.

**Keywords:** *Brachiaria dictyoneura*; *Centrosema macrocarpum*; phosphatase, arbuscular mycorrhizal fungi; urease

<sup>a</sup> Recibido: 31-01-12; Aceptado: 22-07-12

## INTRODUCCIÓN

El ecosistema de sabana es uno de los espacios más explotados de Suramérica, donde representa el 43% de la superficie terrestre, por lo cual constituye el primer bioma intertropical (Bustamante et al., 2006). En Venezuela ocupan el 7,13% del territorio y sustentan el 11% del rebaño bovino nacional; su productividad agrícola está limitada por una marcada estacionalidad climática y suelos de baja fertilidad natural. En la actualidad el cambio de uso de la tierra de ganadería extensiva al monocultivo de cereales con labranza intensiva y pastoreo de los residuos de cultivo, ha producido un rápido deterioro de los suelos de estas zonas (López-Hernández et al., 2005).

En los últimos años se han planteado alternativas de manejo dirigidas al establecimiento de una agricultura más conservacionista con un enfoque agroecológico; específicamente para las sabanas bien drenadas del estado Guárico, se ha planteado el uso de barbechos mejorados como residuos para la siembra directa maíz y posterior utilización de los restos de cosecha y el rebrote de las coberturas para el alimento del ganado (Bravo et al., 2004; Lozano et al., 2009, Lozano et al., 2010). En estos sistemas de manejo conservacionista que incluyen la utilización de cultivos de cobertura de diferente calidad bioquímica (gramíneas o leguminosas), se hace necesario tomar en cuenta la calidad de los residuos dejados en superficie, ya que en estudios previos se ha vinculado la tasa de mineralización de los mismos con sus propiedades bioquímicas, tales como: el contenido de N (Bending et al., 1998); la relación C:N (Rivero y Paolini, 1995); contenido de lignina, L y celulosa (Fioretto et al., 2005); contenido de polifenoles, PP (Palm y Sánchez, 1991) y las relaciones L:N, PP:N y (L+PP):N (Fox et al., 1990; Singh et al., 2007). Palm et al. (2001) y Gentile et al. (2008), señalan que cuando un residuo de alta calidad es combinado con un fertilizante mineral, se podrían producir mayores pérdidas de elementos como el N, en comparación a cuando se aplica un residuo de baja calidad, debido al proceso de inmovilización por parte de los microorganismos. En este sentido, Palm et al. (2001) plantea tres grupos de calidades de residuos, dependiendo del contenido de N, L y PP y la necesidad de aplicación de fertilizante junto con el residuo.

En la última década, la creciente preocupación por las posibles consecuencias del cambio climático en los procesos relacionados con el suelo, junto con el deseo de desarrollar métodos para mejorar el secuestro de carbono, han estimulado la investigación experimental (Kirschbaum, 2004 ; Jones et al., 2005; Bradford et al., 2008; Zak et al., 2011), con un interés particular en el papel de las enzimas en catalizar una red compleja de reacciones químicas necesarias para la descomposición de los residuos orgánicos, ciclo de nutrientes, la formación de la materia orgánica y la estructura del suelo (Theuerl y Buscot, 2010). Dado que las actividades enzimáticas del suelo responder a entradas externas de materia orgánica y a la perturbación por los sistemas de labranza, se ha utilizado la medición de la actividad de distintas enzimas del suelo, por ejemplo ureasa y fosfatasa, para seguir la dinámica de la mineralización del N y del P, respectivamente, en sistemas de manejo conservacionista, debido a su participación como enzimas hidrolíticas en la descomposición de residuos (Trasar-Cepeda et al., 2008; Keeler et al., 2009). También se ha sugerido el uso de la actividad enzimática como indicador temprano de la calidad del suelo (Dick y Tabatabai, 1992; Dick, 1999; Hamido y Kpombekou-A, 2009). La importancia del estudio de este tipo de enzimas, cuando se realizan prácticas conservacionistas en los suelos radica en que el material orgánico puede incorporar directamente enzimas y la materia orgánica adicionada potencia la actividad microbiana; lo que en definitiva aumentará su actividad (Palma et al., 2000; Carpenter-Boggs et al., 2003; Böhme et al., 2005).

Se ha señalado la importancia de investigar la actividad de las enzimas responsables de las transformaciones del N y P en el suelo cuando se agregan leguminosas y gramíneas bajo diferentes sistemas de labranza (Hamido y Kpombekou-A, 2009). España et al. (2001) en un trabajo sobre diferentes sistemas de labranza en el cultivo de maíz, determinaron las actividades enzimáticas relacionadas con la mineralización del N y estimaron la contribución de los residuos de cosecha al N del suelo; los autores indican que al adicionar los residuos vegetales la actividad ureolítica aumentaba como respuesta a esta perturbación, por lo cual se incrementó la mineralización del N en el suelo.

Por otro lado Carvalho et al. (2007) en un trabajo sobre sistemas de labranza en el Cerrado brasileiro en el cual se analizaron enzimas relacionadas con la mineralización del P, entre ellas la fosfatasa ácida, encontraron que independientemente de la época de muestreo, en los primeros 20 cm del perfil los mayores niveles de actividad de la enzima fueron observados en las áreas nativas, y lo asocian a que en estas áreas no existe la entrada de P vía fertilización inorgánica, por tanto todo el ciclo de ese elemento, se realiza a través de procesos de solubilización de fuentes poco solubles y por la mineralización del

P de la materia orgánica, proceso en el que intervienen las fosfatasa. La reducción de la actividad de la fosfatasa en las áreas cultivadas, tanto bajo labranza convencional como siembra directa, se relaciona con el efecto inhibitorio del uso fuentes de P rápidamente solubles. Sin embargo, consiguieron que en las áreas bajo siembra directa, la actividad de la fosfatasa en la capa superficial del suelo (0 a 5 cm) fue mayor que en las áreas bajo labranza convencional. Los mayores contenidos de fosfatasa ácida en el suelo bajo siembra directa, lo relacionan con la ausencia de perturbación del suelo y la concentración de los fertilizantes fosfatados en el surco de siembra.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la utilización de cultivos de cobertura de diferentes calidades (gramínea o leguminosa) usados como barbechos mejorados y del tipo de fertilización fosfórica, sobre la dinámica de la actividad de las enzimas ureasa y fosfatasa en un sistema maíz en siembra directa - ganado bovino, en un suelo de las sabanas bien drenadas del estado Guárico, Venezuela.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para lograr el objetivo planteado se tomaron muestras de suelo y tejido vegetal del maíz en un ensayo de campo instalado en un suelo Typic Plinthustuls, francosa gruesa, caolinitica isohipertérmica, localizado en la Estación Experimental La Iguana, municipio Santa María de Ipire del estado Guárico (8° 25' LN y 65° 25' LO, 80-120 msnm). La zona se caracteriza por tener un clima marcadamente estacional, una época de sequía de diciembre a mayo y otra de lluvia de junio a noviembre. El relieve es suavemente ondulado, con pendientes de 2 %; precipitación anual promedio de 1369 mm, y la temperatura media mensual 27,3°C. En la vegetación natural de la zona predomina el *Trachypogon* sp (Bravo et al., 2004). La caracterización inicial del suelo (n = 96), mostró una textura areno francosa con 2,79 % de arcilla, 11,50 % de limo y 85,70 % de arena, de esta última 74,27 % de arena entre media y fina; una baja fertilidad natural con pH de 4,88, una capacidad de intercambio catiónico de 2,55 cmol.kg<sup>-1</sup>, contenido de materia orgánica de 12,6 g.kg<sup>-1</sup>, N total 0,3 g.kg<sup>-1</sup>, contenidos de P, K, Ca y Mg disponibles de 10,44; 28,82; 49,75 y 33,43 mg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 4 (2 tipos de residuo y 4 tipos de fertilización). Se utilizaron parcelas de 75 m por 350 m por cada cultivo de cobertura y dentro de cada cobertura parcelas de fertilización de 18 m por 350 m, con tres repeticiones por tipo de fertilización. Para la selección de las dimensiones, orientación de las parcelas, número de muestras y profundidades de muestreo, se realizó un estudio previo de variabilidad espacial de suelos (Hernández et al., 2011). Los residuos provenían de cultivos de cobertura de una gramínea, *Brachiaria dictyoneura* (BD) y una leguminosa, *Centrosema macrocarpum* (CM), como barbechos mejorados para la siembra directa de maíz en la época de lluvias y posterior pastoreo con ganado bovino en la época seca. Para el establecimiento de las coberturas se realizó una preparación convencional del terreno (dos pases cruzados de rastra), se aplicó roca fosfórica a razón de 300 kg.ha<sup>-1</sup>, incorporada con un pase de rastra. Para la siembra de los cultivos de cobertura se usó 4 kg.ha<sup>-1</sup> de semillas de BD y 3 kg.ha<sup>-1</sup> de semillas de CM, en la SN se usó el manejo tradicional de la zona (quema controlada).

Luego de establecidos los cultivos de cobertura (2002-2004), a partir del año 2005 se sembró anualmente maíz en siembra directa, usando los cultivos de coberturas introducidos (BD y CM) como residuos. Las evaluaciones de este trabajo se corresponden con el tercer ciclo maíz-ganado (2007-2008). Se aplicó una dosis básica de fertilización para el maíz de 150 kg.ha<sup>-1</sup> N – 150 kg.ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 100 kg.ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O, en los tipos de fertilización se aplicó la misma dosis de N y K<sub>2</sub>O y se varió la de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: Control: sin fertilización, BRf+M: dosis baja de P (25 % del P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> como roca fosfórica + inoculación con micorriza), ARF: dosis alta de P (100 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> como roca fosfórica) y ARF+FD: dosis alta de P (50 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> como roca fosfórica + 50% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> como fosfato diamónico). Al término de cada cosecha del maíz el pastoreo fue intensivo, con la introducción en cada parcela de un rebaño de ganado bovino equivalente a 2 ua.ha<sup>-1</sup>, consumiendo ad libitum la biomasa disponible proveniente de los residuos de cosecha del maíz y el rebrote de las coberturas.

Durante el ciclo del maíz se tomaron muestras del suelo para las evaluaciones de la actividad enzimática en las siguientes épocas: AC: antes del corte de la cobertura para la siembra de maíz; F: época de floración del maíz a los 108 días después de la siembra (dds) y DP: después del pastoreo del ganado a los 338 dds. En cada tipo de fertilización se realizó un diseño de muestreo y se tomaron doce (12) muestras compuestas a una profundidad de muestreo de 0 a 5 cm. También se tomaron muestras de los cultivos de cobertura que sirvieron de residuos para la siembra del maíz en la época AC, para la determinación de su calidad bioquímica.

En los residuos de las diferentes coberturas se determinó: biomasa aérea, carbono orgánico por el método de combustión húmeda de Walkley y Black modificado por Heanes (1984), los macronutrientes (N, P, K, Ca y Mg) se extrajeron por digestión sulfuro-perclórica y se determinó N por el método de Kjeldahl, fósforo por el método Vanadato-Molibdato y el resto de los macronutrientes por absorción atómica. Para los micronutrientes (Fe, Cu, Zn y Mn) se realizó una calcinación en mufla y las cenizas fueron disueltas en ácido sulfúrico y se determinaron los elementos por absorción atómica, según los métodos rutinarios del Laboratorio General de Suelos del Instituto de Edafología, de la Facultad de Agronomía – UCV (Maracay), descritos en detalle en UCV (1993). Para las coberturas también se determinó celulosa, hemicelulosa y lignina, por fraccionamiento de fibra con el método detergente propuesto por Van Soest y Wine (1968) y polifenoles por el método del Folin Ciocalteu (Kaluza *et al.*, 1980).

En el suelo se determinó la actividad ureásica por el método de la medición del amonio liberado a partir de una solución de urea, en incubaciones por un lapso de 2 horas a 37°C; este método está constituido por dos fases, una de liberación y extracción del amonio y la segunda de cuantificación del amonio liberado por la acción de un medio de oxidación y su posterior lectura en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 690 nm (Kandeler y Gerber, 1988). La actividad de la fosfatasa ácida (fosfomonoesterasa ácida) se determinó por el método propuesto por Tabatabai y Bremner (1969), que se basa en la determinación colorimétrica del *p*-nitrofenol liberado a partir del *p*-nitrofenilfosfato por la actividad de la fosfatasa cuando el suelo se incuba con una solución regulada o tamponada a pH 6,5. Los datos fueron analizados estadísticamente con los programas Statistix 8.0 y SPSS 11.0, se usó la prueba de Tukey para detectar las diferencias entre medias por tipo de cobertura y fuente de fertilización.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1, se presentan la biomasa producida y algunos parámetros de calidad de los residuos de BD, CM y SN. La gramínea introducida (BD) produce más del doble de la biomasa que CM y SN, la cuales tienen una producción de biomasa similar, aunque la de SN es más variable año a año (datos no presentados). En el cuadro también se aprecia un mayor contenido de N, P, Ca, K y de Fe en la leguminosa que en la gramínea. La relación C:N resultó menor en CM que en BD, tal como era de esperarse por su mayor contenido de N de la leguminosa. Por otra parte la vegetación de la SN posee mayor lignina, celulosa, hemicelulosa y polifenoles que las coberturas introducidas (CM y BD).

Las coberturas introducidas variaron en su composición bioquímica, la CM presentó un mayor contenido de lignina y polifenoles que BD, lo que haría más lenta su descomposición, debido a que la molécula de lignina presenta un elevado peso molecular, lo que tendría un impacto negativo en la disponibilidad de los polisacáridos para su utilización por parte de los microorganismos (Segura *et al.*, 2007). Por su parte BD presentó un mayor contenido de celulosa y hemicelulosa, lo que pudiera retardar la descomposición de ese material vegetal por parte de los organismos del suelo (Bending *et al.*, 1998). De estos valores se interpretaría que las coberturas introducidas, a pesar de tener mejor calidad que la vegetación de la SN, serían de lenta descomposición en el suelo; CM por poseer mayor contenido de lignina y polifenoles y BD por poseer mayor contenido de celulosa y hemicelulosa. Al analizar las relaciones C:N, L:N, PP:N y (L+PP):N y los criterios expuestos por Palm *et al.* (2001), se puede decir que los residuos de los tres tipos de cobertura presentan de mediana a baja calidad.

### *Actividad ureásica*

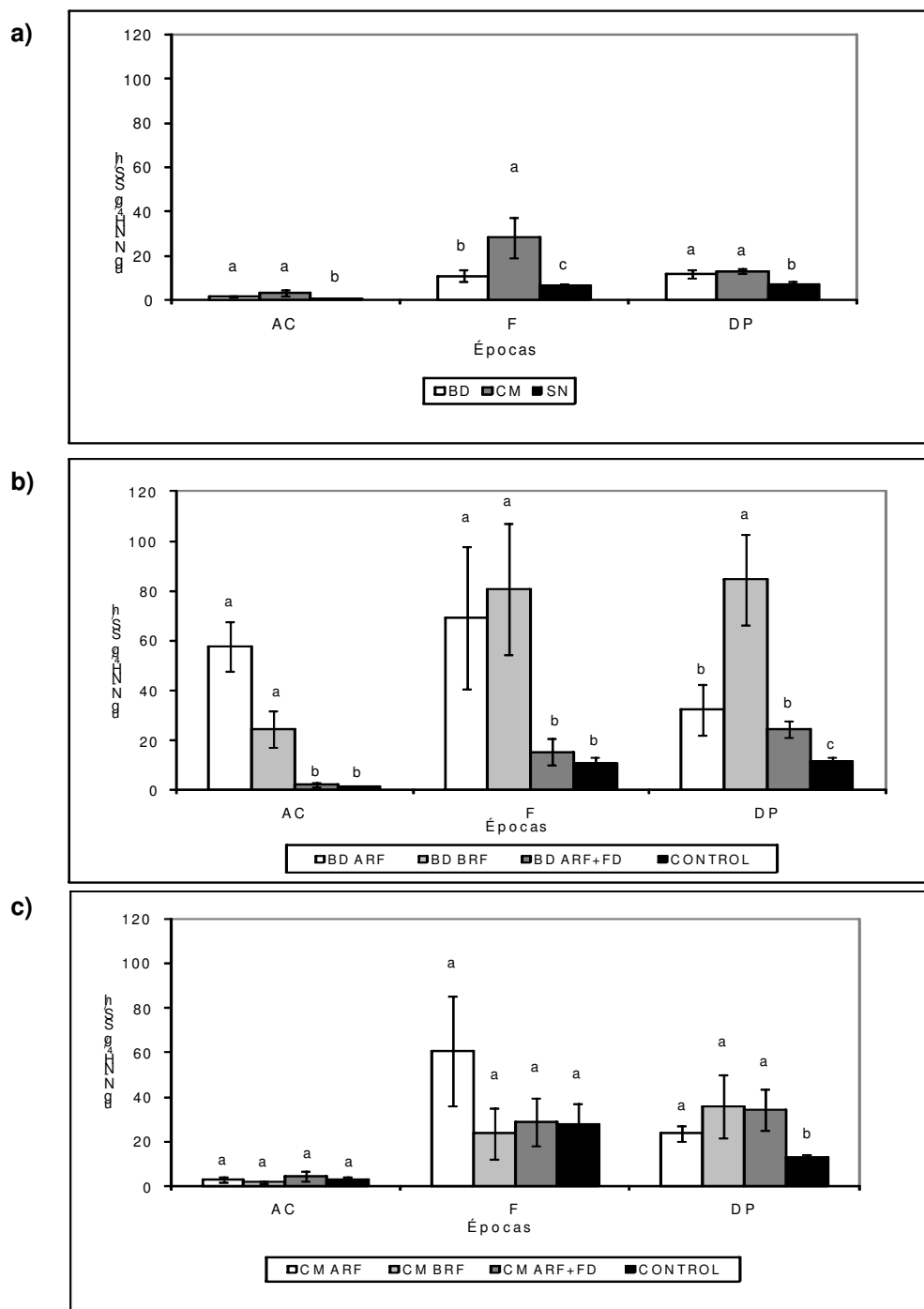
En la figura 1 se presenta actividad ureásica para las tres épocas evaluadas. Se compara entre tipo de residuo sin fertilización (Figura 1a) y entre tipos de fertilización para la cobertura BD (Figura 1b) y para CM (Figura 1c). El comparar entre tipos de cobertura (Figura 1a) se aprecia que los menores valores se presentaron en la época AC y luego aumenta para la época F, lo cual hace evidente el efecto del uso de los residuos sobre la actividad de esta enzima en el suelo. En las tres épocas evaluadas se presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre tipo de residuo para todas las épocas. La mayor actividad de la enzima se logró con los residuos de las coberturas introducidas (BD y CM) y los menores en SN, en las tres épocas evaluadas. En la época F, los mayores valores se presentaron en CM, lo que pareciera indicar que el aumento en la disponibilidad de C y N puede aumentar la actividad enzimática, tal y como lo sugieren Carreiro *et al.* (2000); Gallo *et al.* (2004) y Waldrop y Firestone (2006).

**Cuadro 1.** Calidad de los cultivos de cobertura introducidos y las plantas presentes en la sabana natural (n = 36).

Parámetro evaluado	<i>Brachiaria dictyoneura</i>	<i>Centrosema macrocarpum</i>	Sabana natural
Biomasa aérea (g.m <sup>-2</sup> )	476,6 (68,9) <sup>1)</sup>	211,9 (15,4)	208,5 (77,8)
Carbono orgánico total (%)	38,3 (4,6)	34,9 (3,8)	33,3 (1,6)
Fósforo (%)	0,30 (0,13)	0,39 (0,16)	0,25 (0,11)
Nitrógeno, N (%)	1,43 (0,27)	3,17 (0,58)	0,82 (0,12)
Calcio (%)	0,32 (0,09)	0,79 (0,18)	0,55 (0,21)
Magnesio (%)	0,12 (0,03)	0,13 (0,05)	0,09 (0,01)
Potasio (%)	0,40 (0,05)	0,52 (0,09)	0,29 (0,04)
Hierro (mg.kg <sup>-1</sup> )	50 (16)	62 (29)	69 (19)
Cobre (mg.kg <sup>-1</sup> )	9,1 (2,2)	9,7 (2,3)	7,1 (2,0)
Manganeso (mg.kg <sup>-1</sup> )	71 (19)	59 (14)	57 (17)
Zinc (mg.kg <sup>-1</sup> )	1,7 (0,5)	1,8 (0,5)	1,4 (0,5)
Lignina, L (%)	5,4 (1,2)	9,2 (2,4)	13,5 (0,74)
Celulosa (%)	31,8 (1,8)	24,2 (2,6)	36,7 (2,2)
Hemicelulosa (%)	34,1 (1,2)	14,47 (0,9)	22,2 (2,5)
Polifenoles, PP (%)	6,7 (1,2)	8,4 (2,1)	8,9 (0,4)
Relación C/N	28 (7)	11 (5)	41 (2)
Relación L/N	3,8 (0,6)	2,9 (0,8)	16,2 (1,1)
Relación PP/N	4,7 (0,7)	2,6 (1,0)	10,8 (0,3)
Relación (L+PP)/N	8,5 (0,9)	5,7 (0,9)	27,1 (1,2)
Calidad del residuo <sup>2)</sup>	Mediana	Mediana	Mediana

En una investigación realizada por García *et al.* (2000), encontraron que la actividad ureásica era significativamente superior en el suelo enmendado con residuos con alto contenido de compuestos nitrogenados, en comparación con un suelo control. En el presente trabajo, a pesar que para la comparación entre tipos de cobertura se midió la tendencia en la actividad ureásica en los suelos sin fertilizar (Control), pareciera que la presencia de los residuos de las coberturas BD y CM en la superficie, es suficiente para iniciar la formación de una biomasa microbiana, la cual activará el ciclo del N, entre otros, principalmente cuando el residuo es de leguminosa, ya que la enzima ureásica no sólo cataliza la hidrólisis de la urea (fertilizante nitrogenado), sino que también participa en la hidrólisis de los sustratos tipo ureico naturales, como por ejemplo los productos resultantes de la mineralización del ácido nucleico (Burbano, 1989; García *et al.*, 2000). Investigaciones realizadas por Hamido y Kpombrekou-A (2009), sugieren que las prácticas de manejo que incorporan cultivos de cobertura en rotaciones, mejoran las actividades enzimáticas del suelo en comparación con los sistemas que no lo hacen (el barbecho de malezas). Debido a que las enzimas estudiadas, entre ellas la ureasa, participan en el ciclo N y que sus actividades se correlacionaron significativamente con N y CO del suelo.

Al comparar entre tipos de fertilización para el suelo con residuos de BD (Figura 1b), se aprecia que los mismos afectaron la actividad ureásica en comparación con el tratamiento Control, mostrando diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ) para la todas las épocas evaluadas; esto concuerda con lo encontrado por Palma *et al.* (1997), quienes señalan que la fertilización con urea indujo un incremento en



**Figura 1.** Actividad ureásica para los tipos de cobertura *Brachiaria dictyoneura* (BD), *Centrosema macrocarpum* (CM) y Sabana natural (SN). **AC:** antes del corte; **F:** floración; **DP:** después del pastoreo. **Control**, sin fertilización, **BRF+M**, dosis baja de P (25%  $P_2O_5$  como roca fosfórica + inoculación con micorriza), **ARF**, dosis alta de fósforo (100 %  $P_2O_5$  como roca fosfórica) y **ARF+FD**, dosis alta de fósforo (50 % Roca fosfórica + 50% Fosfato diamónico. <sup>1</sup>). (Letras distintas indican diferencias significativas,  $P \leq 0,05$ ).

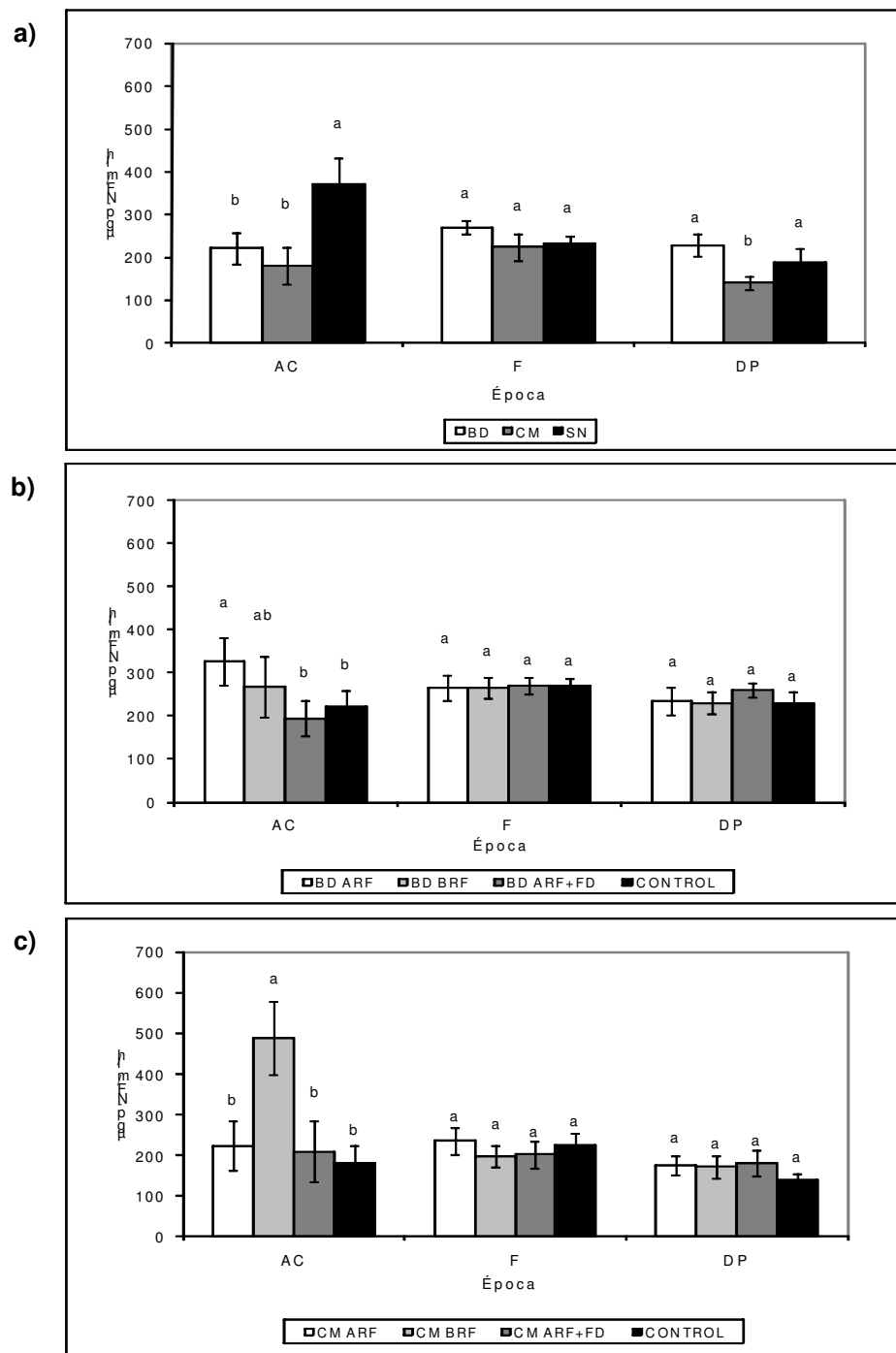
la actividad de la enzima ureasa, ya que actúa como un sustrato enzimático. La actividad de la ureasa presentó diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre tipo de fertilización en las tres épocas evaluadas, con los mayores valores en los tratamientos ARF y BRF+M. Es importante destacar que en el tratamiento BRF+M que consistió en una dosis baja de P y la inoculación con micorrizas se obtienen resultados similares al tratamiento ARF con dosis alta de P, proveniente de fuentes de baja solubilidad. En este aspecto sería importante considerar la relación N:P, tal y como sugiere Bustamante *et al.* (2006), ya que en la zona rizoférica existe una actividad de microorganismos muy importante y que no sólo se le adjudica a las micorrizas sino a la cooperación que se presenta entre toda la microbiota existente en dicha zona (Barea *et al.*, 1987 y Barea *et al.*, 2002). En ARF+FD la fuente fosfórica es más soluble y de mayor disponibilidad tanto para el cultivo como para los microorganismos, lo que inhibe a la enzima, por lo tanto sus valores bajos, similares al Control en las épocas AC y F. En la figura 1c, se aprecia el efecto de los distintos tipos de fertilización sobre la actividad ureásica cuando se usó CM como residuo. En las dos primeras épocas no se presentaron diferencias estadísticas en la actividad de la enzima, solo en DP, donde la actividad ureásica es significativamente menor ( $P \leq 0,05$ ) en tratamiento Control, sin fertilización. En esta época las diferencias se pudieran atribuir a una menor proporción de residuos en el tratamiento sin fertilización, por lo cual disminuye la actividad ureásica (Burbano, 1989; García *et al.*, 2000).

Al comparar la actividad ureásica en los diferentes tipos de fertilización cuando se utilizó BD y CM como residuo, se aprecia que en BD la actividad sigue la siguiente tendencia ARF y BRF+M  $\gg$  ARF+FD y Control, mientras que en CM los valores son similares en la mayoría de las épocas. Esto puede atribuirse a que en residuo de BD, a pesar de sus mayores contenidos de celulosa y hemicelulosa, cuando se aplica fertilizante, se estimula la actividad. Para algunos tipos de fertilización la introducción del ganado (DP) produjo un aumento en la actividad de la ureasa. Este resultado concuerda con lo señalado por Zacheis *et al.* (2002), quienes indican que el incremento en la actividad enzimática se debe a un suministro extra de MOS debido al aporte de estiércol del animal; pero es contrario a lo expresado por otros autores como Cao *et al.* (2004). Estos investigadores señalan que también se puede provocar un detrimento en la actividad enzimática asociado a la perturbación de la estructura del suelo.

#### *Actividad fosfatásica*

En la figura 2 se presenta actividad de la fosfatasa ácida para las tres épocas evaluadas. Al igual que para la enzima ureasa, se compara entre tipo de residuo sin fertilización (Figura 2a) y entre tipo de fertilización para BD (Figura 2b) y para CM (Figura 2c). Al comparar entre tipo de residuo (Figura 2a), esta enzima presentó una tendencia diferente de acuerdo a la época evaluada, con diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ) sólo en las épocas AC y DP. En todas las épocas los menores valores se presentaron cuando el residuo era la leguminosa (CM) y se puede atribuir a una inhibición de la enzima por una mayor disponibilidad de P en el suelo cuando se utiliza este cultivo de cobertura, tal y como lo señalan Lozano *et al.* (2010). Los mayores valores en la época AC se presentaron para el residuo SN, mientras que en las dos épocas restantes los mayores valores se presentaron para el residuo BD. Esta tendencia también se asoció a las variaciones temporales en los contenidos de la materia orgánica del suelo (MOS) con los distintos tipos de residuos (datos no presentados). En este sentido, Arja *et al.* (1996) consiguieron disminuciones en la actividad de esta enzima en suelos con alto contenido de MO y lo atribuyen a que la enzima queda adsorbida por la MOS de forma que es menos afín a su sustrato.

Al comparar entre tipo de fertilización, encontramos que tanto para los tratamientos cuyo residuo era BD (Figura 2b) como para aquellos cuyo residuo era CM (Figura 2c), sólo se presentaron diferencias estadísticas entre tipos de fertilización ( $P \leq 0,05$ ) para la primera época (AC), lo que indica que las labores agronómicas de fertilización fosforada, independientemente de la fuente, y pastoreo uniformizan las condiciones de suelo y no permitieron evidenciar efecto de los tratamientos. En la época AC cuando el residuo de gramínea (BD), los mayores valores de fosfatasa se presentaron en ARF y BRF+M, mientras que cuando el residuo fue de leguminosa (CM) los mayores valores se presentaron en BRF+M, lo que pudiera estar relacionado con la presencia de una fuente de fósforo menos soluble como la roca fosfórica. Si se toma en cuenta que los mecanismos enzimáticos se ven inhibidos por una mayor disponibilidad de nutrientes, especialmente el P lábil en el suelo, tal y como lo sugieren Olander y Vitousek, (2000).



**Figura 2.** Actividad fosfatásica para las coberturas *Brachiaria dictyoneura* (BD), *Centrosema macrocarpum* (CM) y Sabana natural (SN). AC: antes del corte; F: floración; DP: después del pastoreo. Control, sin fertilización, BRF+M, dosis baja de P (25%  $\text{P}_2\text{O}_5$  como roca fosfórica +inoculación con micorriza), ARF, dosis alta de fósforo (100 %  $\text{P}_2\text{O}_5$  como roca fosfórica) y ARF+FD, dosis alta de fósforo (50 % Roca fosfórica + 50% Fosfato diamónico). (Letras distintas indican diferencias significativas,  $P \leq 0,05$ ).



## CONCLUSIONES

- La introducción de residuos de cultivos de cobertura de gramínea (BD) y leguminosa (CM) estimuló la actividad enzimática con relación a la SN, donde se destaca un aumento en la actividad de la fosfatasa en BD y de la ureasa en CM.
- El uso de una fuente de P de baja solubilidad como la roca fosfórica tanto a dosis altas como a dosis bajas, cuando se acompañó de la inoculación con micorrizas, estimuló la actividad enzimática, principalmente de la ureasa, mientras que la fuente de alta solubilidad como el fosfato diamónico la disminuyó.
- Las actividades enzimáticas evaluadas en este trabajo variaron dependiendo del tipo de residuo y fertilización aplicada, por lo que pueden ser usados como indicadores tempranos de cambios en la calidad del suelo bajo manejo conservacionista.

## LITERATURA CITADA

- Arja, H., M. Vuorinen y H. Saharinen.** 1996. Effects of soil organic matter extracted from soil on acid phosphomonoesterase. *Soil Biol. Biochem.* 28:1477
- Barea, J.M.; C. Azcón-Aguilar y R. Azcón.** 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhiza improves both symbiotic N<sub>2</sub> fixation and n uptake from soil as assessed with a 15N technique under field conditions. *New Phytol.* 107:717-725.
- Barea, J.M.; R. Azcón y C. Azcón-Aguilar.** 2002. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 343–351.
- Bending, G.; M. Turner y I. Burns.** 1998. Fate of nitrogen from crop residues as affected by biochemical quality and the microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 30:2055-2065.
- Böhme, L.; U. Langer y F. Böhme.** 2005. Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiment. *Agric. Ecosyst. Environ.* 109: 141-152.
- Bradford, M.A., C.A. Davies, S.D. Frey, T.R. Maddox, J.M. Melillo, J.E. Mohan, J.F. Reynolds, K.K. Treseder y M.D. Wallenstein.** 2008. Thermal adaptation of soil microbial respiration to elevated temperature. *Ecology Letters* 11: 1316-1327.
- Bravo, C., Z. Lozano; R.M. Hernández; L. Piñango; B. Moreno.** 2004. Efecto de diferentes especies de cobertura sobre las propiedades físicas de un suelo de sabana con siembra directa de maíz. *Bioagro* 16(3): 163-172.
- Burbano, H.** 1989. El suelo: Una visión sobre sus componentes biogénicos. 1ra Ed. Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. 447 p.
- Bustamante, M.M.C.; E. Medina; G.P. Asner; G.B. Nardotot y D.C. García-Montiel.** 2006. Nitrogen cycling in tropical and temperate savannas. *Biogeochem.* 79: 209–237.
- Cao, G. Y. Tang, W. Mo, Y. Wang, Y. Li y X. Zhao.** 2004. Grazing intensity alters soil respiration in an alpine meadow on the Tibetan plateau. *Soil Biol. Biochem.* 36: 237-243.
- Carpenter-Boggs, L.; P. Stahl; M. Lindstrom y T. Schumacher.** 2003. Soil microbial properties under permanent grass, conventional tillage, and no-till management in South Dakota. *Soil Till. Res* 71: 15-23.
- Carreiro, M.M., R.L. Sinsabaugh, D.A. Repert, D.F. Parkhurst.** 2000. Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition *Ecology* 81: 2359-2365.
- Carvalho, I.** 2007. Uso de parámetros microbiológicos como indicadores para evaluar la calidad del suelo y la sustentabilidad de los agroecosistemas. En: *Aportes de la ciencia y la tecnología al manejo productivo y sustentable de los suelos del Cono Sur.* PROCISUR. IICA, Uruguay. 276 p.
- Dick W.A. y M.A. Tabatabai.** 1992. Significance and potential use of soil enzymes. pp. 95-130. In: F.B. Metting (Ed), *Soil Microbial Ecology.* Marcel Decker, NY.
- Dick, W.A.** 1999. Enzyme activities as integrative indicators of soil health. pp: 121-156. In: Parkhurst CE (Ed), *Bioindicators of Soil Health,* Oxon, UK, CAB International.

- España, M.; B. Rodríguez; E. Cabrera y B. Cecanti.** 2001. Actividades enzimáticas y contribución de residuos de cosecha de maíz al nitrógeno del suelo en sistemas de labranza, en los llanos centrales, Venezuela. *Rev. Terra Latinoamericana* 20(1): 81-86.
- Fioretto, A.; C. Di Nardo; S. Papa y A. Fuggi.** 2005. Lignin and cellulose degradation and nitrogen dynamics during decomposition of three leaf litter species in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 37:1083-1091.
- Fox, R.H.; R.J.K. Myers y I. Vallis.** 1990. The nitrogen mineralization rate of legume residues in soils as influenced by their polyphenol, lignin and nitrogen contents. *Plant and Soil* 129:251-259.
- Gallo M., R. Amonette, C. Lauber, R. Sinsabaugh y D. Zak.** 2004. Microbial community structure and oxidative enzyme activity in nitrogen-amended north temperate forest soils. *Microb Ecol* 48:218-229
- García, C.; T. Hernández; J. Pascual; J. L. Moreno y M. Ros.** 2000. Actividad microbiana en suelos del sureste español sometidos a procesos de degradación y desertificación. Estrategias para su rehabilitación. En: *Investigación y Perspectivas de la enzimología de suelos en España*. 1ra ed. CSIC, España. 352 p.
- Gentile, R.; B. Vanlauwe; P. Chivenge y J. Six.** 2008. Interactive effects from combining fertilizer and organic residue inputs on nitrogen transformations. *Soil Biol. Biochem.* 40:2375-2384.
- Said A. Hamido y K. Kpombrekou-A.** 2009. Cover crop and tillage effects on soil enzyme activities following tomato. *Soil Till. Res.* 105: 269-274
- Heanes, D.** 1984. Determination of total organic-C in soil by an improved chromic acid digestion and spectrophotometric procedure. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 15: 1191-1213.
- Hernández-Hernández R.M., Z. Lozano, C. Rivero, M. Toro, J. Salazar, A. Torres, A. Ojeda, J. Morales y C. Bravo.** 2011. Manejo Agroecológico de Suelos de Sabanas Bien Drenadas con Unidades de Producción Cereal-Ganado. Informe Final. UNESR/UCV/UBV. Venezuela. 346 p.
- Jones, C., C. McConnell, K. Coleman, P. Cox, P. Falloon, D. Jenkinson y D. Powlson.** 2005. Global climate change and soil carbon stocks; predictions from two contrasting models for the turnover of organic carbon in soil. *Global Change Biology* 11: 154166.
- Kaluza, W; R. McGrath; T. Roberts y H. Shroder.** 1980. Separation of phenolics of *Sorghum bicolor*. *J. Agric. Food Chem.* 28:1191-1196.
- Kandeler, E. y H. Gerber.** 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils* 6: 68-72.
- Keeler B.L., S. Hobbie y L. Kellogg.** 2009. Effects of long-term nitrogen addition on microbial enzyme activity in eight forested and grassland sites: implications for litter and soil organic matter decomposition. *Ecosyst* 12:1-15
- Kirschbaum, M.U.F.** 2004. Soil respiration under prolonged soil warming: are rate reductions caused by acclimation or substrate loss? *Global Change Biology.* 10: 1870-1877.
- López-Hernández D, R.M. Hernández-Hernández y M. Brossard.** 2005. Historia del uso reciente de tierras de las sabanas de América del Sur. *Estudios de casos en sabanas del Orinoco. Interciencia* 30: 623-630.
- Lozano, Z., A. Mogollón, R.M. Hernández, C. Bravo, A. Ojeda, A. Torres, C. Rivero y M. Toro.** 2010. Cambio en las propiedades químicas de un suelo de sabana por la introducción de pasturas mejoradas. *Bioagro* 22:135-144.
- Lozano, Z., O. Briceño, J.G. Villanueva, C. Bravo, R.M. Hernández, B. Moreno y L. Piñango.** 2009. Propiedades químicas del suelo bajo cultivos de cobertura en sistemas de labranza conservacionista y su efecto sobre el rendimiento de maíz. *Venezuelos* 17: 24-41.
- Olander, L.P. y P.M. Vitousek.** 2000. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochem.* 49: 175-190.
- Palm, C.A. y P.A. Sánchez.** 1991. Nitrogen release from the leaves of some tropical legumes as affected by their lignin and polyphenolic contents. *Soil Biol. Biochem.* 23: 83-88.

- Palm, C.A., C.N. Ganchecho, R.J.Delve, G. Cadisch, y K.E. Giller.** 2001. Organic inputs for soil fertility management in tropical agroecosystems: application of an organic resource database. *Agric. Ecosyst. Environ.* 83: 27-42.
- Palma, R.M.; N.M. Arrigo, M.F. Vasquez y J. Utsumi.** 1997. Actividad ureas en distintos sistemas de labranza y su relación con la acidez titulable. *Ciencia del Suelo* 15: 99-101.
- Palma, R.M.; N.M. Arrigo; M.I. Saubidet y M.E. Conti.** 2000. Chemical and biochemical properties as potencial indicators of disturbances. *Biol. Fertil. Soils* 32:381-384.
- Rivero, C. y J. Paolini.** 1995. Efecto de la incorporación de residuos orgánicos sobre algunas propiedades químicas de dos suelos en Venezuela. *Venezuelos* 3:24-30.
- Rodríguez, M.** 2009. Efectos de la calidad de residuos orgánicos superficiales (gramínea y leguminosa), Marcados con  $^{15}\text{N}$  sobre la mineralización del N. Trabajo de Grado de Maestría. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Postgrado en Ciencia del Suelo 63 p.
- Segura, F., R. Echeverri, A. Patiño y A. Mejía.** 2007. Descripción y discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquía.* 14: 72-81.
- Singh, S.; K.P. Ghoshal y K.P. Singh.** 2007. Synchronizing nitrogen availability through application of organic inputs of varying resource quality in a tropical dryland agroecosystem. *Appl. Soil Ecol.* 36: 164-175.
- Tabatabai, M.A. y J.M. Bremner.** 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1: 301-307.
- Theuerl, S. y F. Buscot.** 2010. Laccases: toward disentangling their diversity and functions in relation to soil organic matter cycling. *Biology and Fertility of Soils* 46: 215-225.
- Trasar-Cepeda, C., M.C. Leiro y F. Gil-Sotres.** 2008. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. *Soil Biol. Biochem.* 40: 2146-2155.
- Universidad Central de Venezuela (UCV).** 1993. Métodos de análisis de suelo y plantas utilizadas en el Laboratorio General del Instituto de Edafología. Cuadernos de Agronomía N° 6. Facultad de Agronomía - UCV. 89 P.
- Van Soest, P.J. y R.H. Wine.** 1968. The determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 51:780-787.
- Waldrop M.P. y M. Firestone.** 2006. Response of microbial community composition and function to soil climate change. *Microb Ecol* 52:716-724
- Walkley, A. e I. A. Black.** 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.
- Zacheis, A., R.W. Ruess y J.W. Hupp.** 2002. Nitrogen dynamics in an Alaskan salt marsh following spring use by geese. *Oecologia* 130: 600-608.
- Zak, D.R., K.S. Pregitzer, A.J. Burton, I.P. Edwards y H. Kellner.** 2011. Microbial responses to a changing environment: implications for the future functioning of terrestrial ecosystems. *Fungal Ecology* 4:386-395.