

Caracterización enzimática de enmiendas orgánicas^a

Enzymatic characterization of organic amendments

Alexis Zambrano^{1*}, Jorge Paolini², Froilan Contreras¹ y Carmen Rivero³

¹ Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias, Departamento de Química. Laboratorio de Investigaciones y Análisis Químicos, Industriales y Agropecuarios (LIAQIA), Mérida estado Mérida, Venezuela. E-mail: alexisz@ula.ve

² Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Altos de Pipe, Centro de Ecología, Laboratorio de Ecología de Suelos, estado Miranda, Venezuela.

³ Universidad de Central de Venezuela, Instituto de Edafología, Maracay estado Aragua, Venezuela.

RESUMEN

En la región andina se incorporan altas cantidades de enmiendas orgánicas al suelo, especialmente estiércoles de caprino y vacuno, gallinaza y vermicompost. En esta investigación se caracterizaron, desde el punto de vista enzimático, algunas de las enmiendas orgánicas más usadas en la zona Andina, Venezuela y el país en general a saber: cachaza, gallinaza, estiércol de vacuno y caprino, lodo de una planta depuradora de aguas servidas y vermicompost. Se usó la caracterización enzimática como un índice del grado de madurez de estas enmiendas y por tanto su factibilidad de uso en suelos. Las gallinazas y cachaza son muestras comerciales, los vermicompost usados son materiales que emplean diferentes sustratos, el lodo elegido fue de una planta depuradora y los estiércoles de vacuno y caprino de unidades de producción en la región. Los resultados indican que los vermicompost ULA y Zea son las enmiendas más estables y maduras mientras que las gallinazas Mérida y Lara y el lodo aún se encuentran en proceso de estabilización.

Palabras clave: actividad enzimática; ureasa; fosfatasa; deshidrogenasa; estabilidad; enmiendas orgánicas; compost.

ABSTRACT

In the Andean region high concentrations of organic amendments obtained from manure are incorporated into the soil, such as goat, cattle and chicken manure, and also from vermicompost. In this investigation, we determined enzymatic activities on some organic amendments most used at Andes in Venezuela, such as: cachaza compost, goat, cattle, and poultry manure, sewage sludge and vermicomposts, in order to evaluate their degree maturity, with the idea to use them as amendments in soils. Poultry manure and cachaza used are commercial products; vermicomposts were obtained from different substrates; sewage sludge was chosen from and the goat and cattle manures were directly collected from field units in the region. The results indicate that the vermicomposts from ULA and Zea are the most stables and mature amendments, whereas the poultry manure from Mérida and Lara and also the sludge did not reached the final stabilization process.

Key words: enzymatic activity; urease; phosphatase; dehydrogenase; stability; organic amendments; compost.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, se propone que la mejor manera de evaluar la respuesta del suelo al manejo es a través de la evaluación de sus parámetros funcionales, especialmente los biológicos. Los microorganismos ocupan porciones importantes en los materiales orgánicos, los cuales están unidos a la fase sólida y representan un tipo de gel constituido principalmente por sustancias poliméricas extracelulares, las cuales contienen agua y sustratos que permiten el desarrollo de los mismos (Contreras et al., 2004). Cuando las enmiendas orgánicas son incorporadas al suelo, conjuntamente con los microorganismos de éste, desarrollan una actividad importante la cual permite a la microbiota incidir sobre propiedades relacionadas con el funcionamiento del suelo. En la actividad fisiológica muchos microorganismos secretan enzimas al medio, tales como las proteinasas, que hidrolizan macromoléculas, que al igual que otras enzimas actúan como catalizadores en una serie de reacciones químicas.

^a Recibido: 11-02-11; Aceptado: 21-04-14

Considerando la diversidad de funciones de las enzimas, básicamente predominan dos grupos en enmiendas orgánicas, las hidrolasas y oxidoreductasas (Gianfreda y Bollag, 1996). Las primeras transforman sustratos macromoleculares en moléculas más pequeñas y simples. A este grupo de enzimas pertenece la ureasa, que cataliza la hidrólisis de la urea a amonio (NH_4^+) y dióxido de carbono (CO_2); las fosfatasas y sulfatasas las cuales están involucradas en los procesos de mineralización de fósforo y azufre orgánico, respectivamente. Por otra parte, las oxidoreductasas catalizan las reacciones de oxidación de numerosos compuestos orgánicos por la remoción de electrones e hidrógeno.

La determinación de la actividad de la deshidrogenasa para la evaluación de compost propuesta por Lenhard (1963), es uno de los trabajos más relevante y promotor del estudio de la actividad enzimática en el suelo y compost, dicho trabajo propone la determinación de la actividad de la deshidrogenasa como índice para la evaluación de la calidad del compost. Esta enzima se encarga de la oxidación biológica de compuestos orgánicos, mediante procesos de deshidrogenación (Dick, 1997). En términos generales la actividad de la deshidrogenasa puede ser usada para estimar el potencial microbiano total en un compost (Lenhard, 1963). Benítez *et al.* (1999) evaluaron la actividad de la deshidrogenasa durante el proceso de vermicompostaje, y observaron que la misma decrece rápidamente durante las seis primeras semanas del proceso y alcanza un mínimo estable, después de la séptima semana, debido a la reducción en el crecimiento microbiano como consecuencia del agotamiento del carbono hidrosoluble y la subsiguiente reducción de la síntesis enzimática. Esto plantea la medición de la actividad de la deshidrogenasa como un indicador sensitivo para evaluar el estado y evolución de la materia orgánica.

Estos mismos autores señalan que la actividad de la ureasa durante el vermicompostaje se incrementa en las dos primeras semanas como consecuencia de la reducción de la concentración de NH_4^+ . Posteriormente, la actividad decrece hasta la sexta semana y permanece casi constante, con un ligero incremento al final del proceso. Dado este comportamiento, la ureasa ha sido señalada como un indicador de la dinámica de la evolución de la materia orgánica. Finalmente, la fosfatasa es una hidrolasa que actúa sobre diversos sustratos para activar la transformación de fósforo orgánico en inorgánico, y hacerlo asimilable por las plantas, hecho que le confiere una importancia especial desde el punto de vista agronómico y biotecnológico. Es decir, que el estudio de las variaciones de la fosfatasa durante la estabilización de una enmienda orgánica permitiría visualizar los cambios en cantidad y calidad de los sustratos fosforados. Por lo que la fosfatasa es considerada un marcador del estado biológico de los compost y suelos orgánicos (Vuorinen, 1999). Por otra parte, la síntesis de la fosfatasa es elevada en materiales frescos, mayor cuando se trata de lodos debido a los compuestos organofosforados que contienen y que actúan como sustrato. Mientras que en materiales maduros y estables la actividad de la fosfatasa es menor debido a la reducida masa microbiana en el medio (Benítez *et al.*, 1999 y García y Polo, 1999). En este sentido, la actividad de la fosfatasa decrece durante la primera semana del proceso de vermicompostaje y luego se mantiene ligeramente constante con valores cercanos a 200 $\mu\text{mol PNP/g.h}$ hacia el final del mismo (Benítez *et al.*, 1999). El objetivo de esta investigación consistió en evaluar las actividades de las enzimas deshidrogenasa, ureasa, fosfatasa alcalina y fosfatasa ácida (pH 6) como índice de madurez, de ciertas enmiendas orgánicas de importancia en la región andina y el país, tales como: cachaza, gallinaza, estiércol de vacuno y caprino, lodo de una planta depuradora de aguas servidas y vermicompost.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de las enmiendas orgánicas utilizadas

En la selección de las enmiendas se tomó en cuenta su origen y uso agrícola, a partir de muestras comerciales nacionales (al detal y granel), de mayor uso en la región andina. Se consideró de acuerdo a su pH y contenido de humedad como materiales poco estables los estiércoles de vacuno (EV) y caprino (CH) y el lodo (L) proveniente de una planta depuradora de aguas servidas. Como material medianamente estable la gallinaza, de la cual se usaron dos muestras comerciales gallinaza Lara (GL), muestra comercial de gallinaza pulverizada y secada a temperatura ambiente, proveniente del estado Lara y gallinaza Mérida (GM), gallinaza no peletizada, deshidratada por tratamiento térmico, procesada y empacada en el estado Mérida. Como materiales posiblemente estables se seleccionaron la cachaza El Palmar (C), el compost de vástago de caña de azúcar, el Vermicompost ULA (VU),

el cual usa como sustrato los residuos vegetales y el Vermicompost Zea (VZ), elaborado a partir de una mezcla de estiércol de vacuno y desechos de la planta de beneficio de café. Se infirió que las características de los vermicompost dependerán de la naturaleza y manejo de los sustratos usados y de las condiciones ambientales, mientras que para el lodo obedecerán al origen, la carga iónica de las aguas y el tipo de planta de tratamiento. Para el L, VZ, VU, EV y CH, se tomó una muestra compuesta, a partir de cinco submuestras, de diferentes pilas de almacenamiento en las unidades de producción y para GL, GM y C, se seleccionaron distintas muestras de la misma marca. Las mismas fueron secadas al aire y tamizadas a 2 mm. Estos materiales fueron analizados en tres repeticiones en cada análisis.

Análisis químicos de las enmiendas

Los análisis químicos realizados a las enmiendas incluyeron: la determinación del pH: se realizó en una relación 1:1 para todas las enmiendas excepto el EV, donde se usó una relación 1:2,5 debido a la baja densidad del material (Tan, 1996). La conductividad eléctrica (CE) se determinó de acuerdo al método de Rhoades (1996) en una relación 1:5 enmienda:agua. El carbono orgánico, se determinó de acuerdo al método de Walkley y Black modificado (Simms y Haby, 1971 y Anderson e Ingram, 1993). El nitrógeno total se determinó de acuerdo al método de Kjeldahl modificado de acuerdo a Axmann *et al.* (1990), se usó KMnO_4 para evitar la pérdida de NO_2^- y la oxidación de la materia orgánica, posteriormente, se usó hierro reducido para reducir los NO_3^- a NH_4^+ . El nitrógeno inorgánico (NH_4^+ y NO_3^-) se determinó siguiendo el método de Keeney y Nelson (1982), usando 10 g de enmienda y 20 mL de K_2SO_4 0,5 M y agitando por 30 min. El extracto se filtró y se determinó el NH_4^+ y NO_3^- , de acuerdo al método colorimétrico de Anderson e Ingram (1993) y Keeney y Nelson (1982) respectivamente. El fósforo total se determinó de acuerdo al método colorimétrico de Kuo (1996). La actividad de la deshidrogenasa se realizó de acuerdo al método de Casida *et al.* (1964), para ello la muestra se incubó con cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC), la actividad de la ureasa se obtuvo de acuerdo al método de Kandeler y Gerber (1988). La medición de la actividad de la fosfatasa ácida (pH 6) se efectuó siguiendo el método propuesto por Tabatabai y Bremner (1969), en el cual se usa la sal disódica de p-nitrofenil fosfato (p-NFP) como sustrato artificial y la posterior evaluación colorimétrica del p-nitrofenol liberado en medio ácido. Del mismo modo, se determinó la fosfatasa alcalina pero con buffer universal modificado a pH 11.

Análisis estadístico

Se realizó un estudio estadístico de ANOVA a las enmiendas orgánicas evaluadas, respecto a las actividades enzimáticas a un nivel de confianza del 95 %. Del mismo modo, se realizó una prueba de comparación de medias por el método de Tukey, así como también un análisis de cluster jerárquico, utilizando el método de agrupamiento promedio de Sokal (Método de Agrupamiento por Distancia Promedio no Ponderado – Unweighted Pair – Group Average Method, UPGMA) y la métrica euclidiana, D2, como medida de distancia entre grupos, se clasificaron las enmiendas.

El algoritmo que define la distancia entre dos grupos de una manera simple. Sea R y Q dos grupos con $|R|$ y $|Q|$ elementos cada uno, la disimilaridad está dada por el promedio de todas las disimilaridades donde i son los elementos de R y j los elementos de Q (Kaufman y Rousseuw, 1990). Formalmente,

$$d(R, Q) = \frac{1}{|R||Q|} \sum_{\substack{i \in R \\ j \in Q}} d(i, j)$$

En el cluster de actividad biológica se utilizó la actividad fosfatasa alcalina y ácida, ureasa y deshidrogenasa con el programa SPSS 15 para Windows (2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se resumen los valores obtenidos para los parámetros fisicoquímicos considerados en las enmiendas orgánicas estudiadas.

Se señala que un pH 6,0 en una enmienda orgánica es indicativo de un material inmaduro, con pH entre 6,0 – 7,6 el material está en su fase de estabilización y cuando se tiene un pH 7,6 se ha alcanzado un alto grado de estabilización (Rivero, 1999). En términos generales, se indica que un material

orgánico estable presenta un pH entre 7 y 8 (García *et al.*, 1992; Debosz *et al.*, 2002 y Soto y Muñoz, 2002), de acuerdo a este criterio los materiales L y el VU no han alcanzado su estabilidad, mientras que el EV, la GM y VZ se encuentran en etapa de estabilización y el resto de las enmiendas podrían considerarse estables. En cuanto a los vermicompost Melgarejo *et al.* (1997) consiguieron que para un vermicompost de residuos de café, una vez estabilizado con 16 semanas de compostaje el pH es de 7,10; valor próximo al obtenido para el VZ, de origen similar.

Cuadro 1. Parámetros generales evaluados en las enmiendas orgánicas

Enmienda	pH	Conductividad Eléctrica (dS/m)	Carbono orgánico	N Total P Inorgánico P total		
				(g/kg)		
Estiércol de Vacuno	7,42	1,75	182,8	10,5	0,37	0,62
Estiércol de Caprino	8,29	7,91	251,1	20,7	0,16	0,41
Gallinaza Lara	7,80	19,29	222,3	33,8	4,44	8,11
Gallinaza Mérida	7,55	13,29	166,6	25,7	3,56	5,23
Vermicompost ULA	5,79	2,01	204,5	27,5	1,75	3,38
Vermicompost Zea	6,91	2,11	265,4	20,7	1,63	2,71
Cachaza	7,76	1,82	200,2	4,2	0,14	0,63
Lodo	6,05	7,65	192,5	30,0	1,87	3,16

Se observó que la C.E. de la gallinaza y el lodo presentaron los valores más elevados, esto significa que tienen un alto contenido de sales posiblemente derivadas de la alimentación de las gallinas y pollos en la granja o a la incorporación de cal en las camas o lechos con el fin de evitar la proliferación de larvas y patógenos en las mismas. Valores similares indica Beloso (1991) en gallinaza con valores de C.E que oscilan entre 5,72 hasta 43,2 dS/m y un valor promedio de 19,3 dS/m. Por su parte, Acosta *et al.* (2003) obtienen una C.E de 1,93 dS/m para el lodo de una planta depuradora y 7,66 dS/m para el estiércol de caprino, resultados que son análogos a los señalados en esta investigación. Generalmente, el valor de la C.E para los lodos residuales es superior a 3 dS/m. Estos materiales en su procesamiento sufren un fuerte lavado con lo cual se elimina parte de los iones presentes, además, son almacenados en lechos de secado abiertos los cuales permanecen expuestos a la lluvia, lo que facilita el lavado y lixiviado de las sales solubles. Por tal razón, se infiere que el lodo analizado no fue completamente lavado o el proceso de lixiviación resultó insuficiente.

En cuanto al contenido de carbono, Rivero y Carracedo (1999) y Añez (1979) consiguieron valores de 16,23 y 18,45 % de carbono orgánico respectivamente, en gallinaza, concentración similar a la obtenida en este trabajo para la gallinaza Mérida, valor relativamente bajo en relación a las otras enmiendas estudiadas. Respecto al lodo, Acosta *et al.* (2003) obtuvieron 25,33 % de carbono resultado considerablemente mayor que el encontrado en este estudio, lo cual estaría vinculado a la forma de obtención del lodo. En un trabajo similar Contreras *et al.* (2004) consiguieron que la gallinaza y el estiércol de caprino presentaban 25,8 y 26,1 % de carbono respectivamente, resultados semejantes a los obtenidos en este trabajo bajo el método de oxidación.

Respecto al contenido de nitrógeno en las enmiendas estudiadas, se aprecia que la gallinaza Lara y el lodo presentan los mayores contenidos de N total 3,38 y 3,0 % respectivamente, mientras que la cachaza no supera el 0,5 %. Resultados similares obtuvieron Rivero y Carracedo (1999), Acosta *et al.* (2003) y Contreras *et al.* (2004) para la gallinaza, lodo de Cardón y estiércol de caprino, respectivamente. El valor obtenido para la cachaza contrasta notablemente con los indicados por Zérega y Adams (1991) de 1 % de N total para la cachaza El Palmar, lo cual podría vincularse al procesamiento de la caña aplicado.

En cuanto al fósforo total, Acosta *et al.* (2003) y Contreras *et al.* (2004) indican resultados similares a los obtenidos en esta investigación en el CH, lodo y GM respectivamente. El alto contenido de fósforo encontrado en los vermicomposts se vincula al metabolismo de la lombrices, éstas ingieren con la materia orgánica grandes cantidades de fósforo, la que digerida por el intestino y acentuada por la enorme actividad microbiana lleva a la excreción de cantidades importantes de P (Castillo *et al.*, 2000). Por otra parte, Madrid y Castellanos (1998) consiguieron concentraciones de P total en la cachaza La Pastora superiores al obtenido para la cachaza estudiada, lo cual atribuyeron a la solubilidad de este elemento como consecuencia de la adición de poli y multienzimas durante el compostaje. En este sentido, Paul y Clark (1996) indicaron que la concentración de P de un compost comercialmente aceptable debe estar entre 0,15 y 1,5 %. De acuerdo a esta consideración, sólo GL y GM, los vermicompost ULA y Zea y el lodo serían materiales comercialmente aceptables.

Evaluación de la actividad enzimática de las enmiendas orgánicas

Los resultados de las evaluaciones de las actividades enzimáticas en las enmiendas orgánicas en estudio permitieron visualizar la gran variabilidad entre las distintas enzimas para un mismo material y entre una enzima para materiales distintos (Cuadro 2).

Actividad de la deshidrogenasa

En cuanto a la deshidrogenasa, se observa que los dos vermicompost y la GL presentan la mayor actividad, mientras que la C, EV y GM las menores actividades (Cuadro 2). Considerando el origen de estos materiales y debido al tratamiento térmico sufrido por la gallinaza durante su manufactura industrial, se infiere una probable destrucción o inactivación de dicha enzima. En diferentes investigaciones se ha observado un ligero incremento de la actividad de la deshidrogenasa con el tiempo de compostaje de materiales orgánicos, producto del incremento del pH, mineralización del carbono y estabilización de la temperatura (Lenhard, 1963; Serra-Wittling *et al.*, 1996; Rossel *et al.*, 1997 y Albiach *et al.*, 2000). Es decir, que los valores obtenidos de carbono orgánico, pH y relación C/N, están relacionados con la actividad de la deshidrogenasa, especialmente en los vermicompost ULA y Zea, lo que confirma que estas dos enmiendas son las más estables, mientras la GL es menos madura. Esta afirmación se apoya en los resultados de Benítez *et al.* (1999), quienes concluyen que la actividad de la deshidrogenasa puede ser fácilmente usada como un indicador de la evolución de la materia orgánica.

La prueba de comparación de medias por el método Tukey, indicó que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las ocho enmiendas orgánicas estudiadas, para la actividad de la enzima deshidrogenasa.

Cuadro 2. Evaluación de las actividades enzimáticas en las enmiendas orgánicas (referidas a base seca)

Enmienda	Deshidrogenasa ($\mu\text{g TFFg enmienda}^{-1}24 \text{ h}^{-1}$)	Ureasa ($\mu\text{g NH}_4^+\text{-Ng enmienda}^{-1}\text{h}^{-1}$)	Fosfatasa ácida ($\mu\text{g p-NFg enmienda}^{-1}\text{h}^{-1}$)	Fosfatasa alcalina ($\mu\text{g p-NF/g enmienda}^{-1}\text{h}^{-1}$)
Estiércol de Vacuno	16,03 ^a	3420,4 ^c	710,68 ^b	2681,26 ^d
Estiércol de Caprino	356,72 ^{a,b}	439,23 ^a	254,46 ^a	3419,31 ^e
Gallinaza Lara	812,25 ^c	216,36 ^a	145,47 ^a	1716,62 ^b
Gallinaza Mérida	ND	3835,90 ^c	84,50 ^a	3896,60 ^f
Vermicompost ULA	896,35 ^c	274,68 ^a	1059,35 ^{b,c}	3113,22 ^g
Vermicompost Zea	746,11 ^{b,c}	1155,33 ^b	1427,78 ^c	3610,96 ^e
Cachaza	15,81 ^a	27,14 ^a	249,78 ^a	498,88 ^a
Lodo	213,13 ^a	237,63 ^a	903,58 ^b	2004,29 ^c

ND: No detectada por el método aplicado.

Letras iguales dentro de una misma columna indican ausencia de diferencias estadísticas significativas al Nivel de $p > 0,05$.

Actividad de la ureasa

En el presente estudio se ha encontrado una alta actividad de la ureasa en la mayoría de las enmiendas evaluadas, aun cuando el pH es alcalino y las concentraciones de Ca^{+2} son ligeramente altas. Esto difiere del hecho señalado de una máxima actividad de la ureasa, en la mayoría de los suelos, a pH entre 6,5 y 7,0 (Gianfreda y Bollag, 1996), con una reducción significativa en medio alcalino, especialmente cuando éstos son ricos en CO_3^{-2} , aparentemente debido al efecto nocivo del ion Ca^{+2} sobre los organismos que producen ureasa (Galstyan, 1974), esto podría vincularse a diferencias en los sustratos presentes.

En la actividad de enzima ureasa la prueba de Tukey, indica que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las ocho enmiendas orgánicas estudiadas. Los resultados obtenidos señalan que la GM y el EV presentan altos contenidos de sustratos nitrogenados como NH_4^+ , los cuales además de depender del origen del material orgánico, también dependen de las condiciones en que se encuentre a lo largo del proceso de compostaje. Benítez *et al.* (1999), señalan que la actividad de la ureasa, fosfatasa y deshidrogenasa decrece en la medida que se reduce el contenido de compuestos orgánicos y el carbono hidrosoluble. Esta característica se considera indicativo de materiales que aún están en proceso de estabilización (García y Polo, 1999 y Benítez *et al.*, 1999). Mientras que en enmiendas o compost estables, la concentración de NH_4^+ es baja. Por otra parte, la actividad de la ureasa en los vermicompost Zea, ULA, C y CH, indica que dichas enmiendas pueden considerarse como maduras. En el Cuadro 2 se observa que la mayor actividad de la ureasa, la presenta la GM, seguida del EV, mientras que la C manifestó la menor actividad.

Actividad de la fosfatasa ácida y alcalina

En los resultados obtenidos se aprecia que la mayor actividad tanto de la fosfatasa ácida como alcalina corresponde al vermicompost Zea y ULA seguido del lodo y el estiércol de vacuno (este último con pH alcalino), como era de esperarse de acuerdo a los resultados de pH, siendo el vermicompost Zea, ULA y el L las enmiendas de reacción ácida (Cuadro 2).

Respecto a las concentraciones de P observadas para las enmiendas estudiadas (Cuadro 1) se puede decir, que los materiales evaluados posiblemente presenten alta actividad de la fosfatasa ácida producto de la baja concentración de P inorgánico. La prueba de comparación de medias por el método Tukey, para la actividad de la enzima fosfatasa ácida, indica que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las enmiendas orgánicas evaluadas, las GM y GL podrían presentar inhibición de la fosfatasa ácida por su alto contenido de P inorgánico. Aun cuando los valores sean inferiores a los obtenidos en otras investigaciones como por ejemplo las de Benítez *et al.* (1999) quienes señalaron valores de la actividad de la fosfatasa en un vermicompost de un lodo de planta depuradora ($36 \text{ mg p-NP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) después de 18 semanas de compostaje.

Con relación a la actividad de la fosfatasa alcalina, la prueba de Tukey, indica que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en todas las enmiendas orgánicas estudiadas. se aprecia que la GM, VZ y CH tienen la mayor actividad enzimática mientras que la C, GL y L presentan las menores actividades (Cuadro 2). El menor valor de la fosfatasa alcalina para la cachaza pudiera estar asociado a las características del material, derivado del compostaje de los residuos de la industria azucarera. Dick y Tabatabai (1984) indican que los residuos vegetales presentan muy baja actividad de dicha enzima, mientras que García *et al.* (1993) puntualizan que la actividad de la fosfatasa depende en gran medida de la cantidad y calidad de la materia orgánica.

En otros estudios han considerado la actividad de la fosfatasa como un índice de madurez de enmiendas orgánicas (García *et al.*, 1993). Estos autores indican que todos los materiales por ellos ensayados, mostraron una actividad óptima de fosfatasa alcalina a pH 9, señalan además una baja actividad de la fosfatasa ácida en los composts.

En esta investigación se observó que las enmiendas con menor contenido de materia orgánica tienden a presentar menor actividad de la fosfatasa alcalina. Resultados similares consiguen García *et al.* (1993) en diferentes tipos de materiales compostados, esto se atribuye al efecto de la formación de nuevas sustancias húmicas y la presencia de inhibidores, especialmente de tipo metálicos, por lo que se cree que GM esté afectada. Por otra parte, Hernández *et al.* (1997) y García *et al.* (1993) señalan

que la baja actividad de la fosfatasa alcalina puede ser atribuida a la inhibición de ésta por mineralización del fósforo orgánico con el correspondiente incremento de fósforo inorgánico por pérdida del material vegetal fácilmente degradable y la presencia de inhibidores metálicos.

De acuerdo a los resultados obtenidos para las diferentes enmiendas, en términos generales, los vermicompost ULA y Zea exhiben la mayor actividad enzimática, mientras que la cachaza presenta la menor. Además, se aprecia que las actividades enzimáticas dependen fundamentalmente del origen del material orgánico, población de microorganismos y del manejo que éste reciba (Vuorinen, 1999). Los resultados de la investigación contribuyen a la visualización de la actividad enzimática como un índice para evaluar la madurez y estabilidad de las enmiendas orgánicas, sin obviar que se requiere de futuras investigaciones que permitan confirmar los resultados antes señalados, especialmente sobre materiales frescos y maduros o durante su proceso de compostaje.

En la Figura 1 se presenta el dendrograma desarrollado a partir de las actividades enzimáticas estudiadas, en éste se indica la existencia de tres subgrupos. El primero conformado por el lodo y GL, es decir, estas dos enmiendas presentan un comportamiento similar desde el punto de vista enzimático. El segundo grupo constituido por el CH y los vermicomposts ULA y Zea, en este caso, el comportamiento de las enzimas estudiadas en estos materiales, permite agrupar estas tres enmiendas en un grupo con una actividad microbiana intermedia en esta investigación. En último lugar un grupo conformado por EV y GM, los cuales se cree son enmiendas orgánicas más dependientes de la actividad microbiana derivada del tipo de material evaluado y su poca estabilidad (materiales frescos).

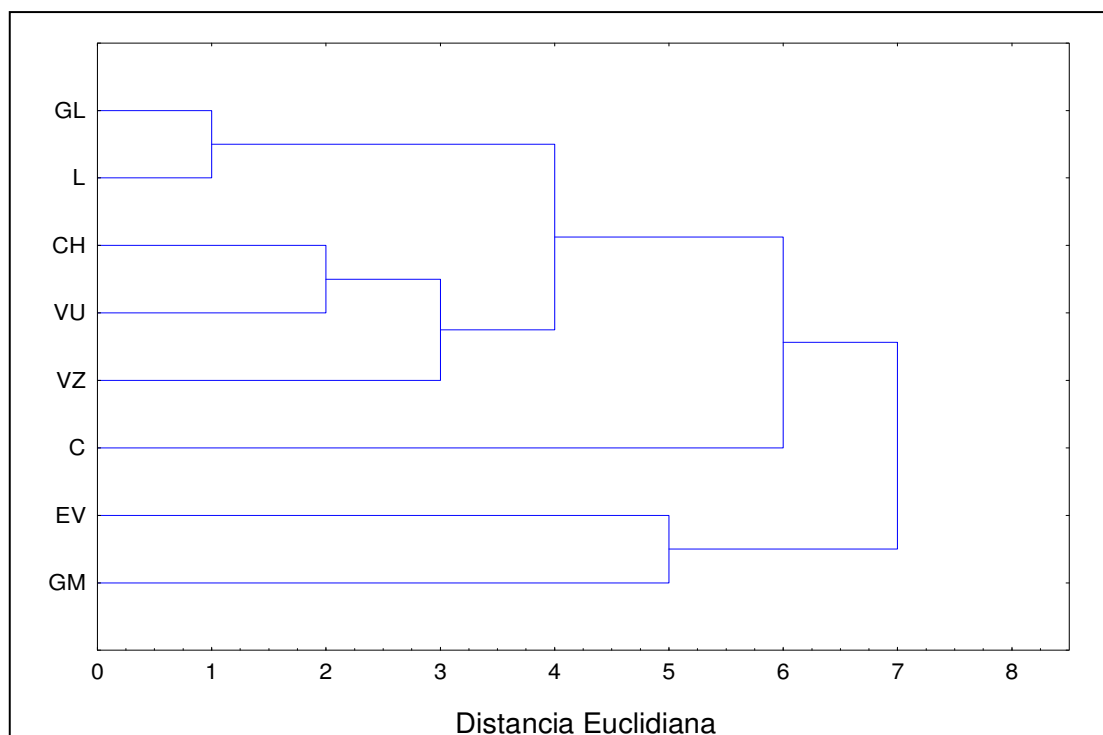


Figura 1. Dendrograma basado en la actividad microbiana de las enmiendas (Método UPGMA- Distancia Euclidiana).

CONCLUSIONES

En general, de acuerdo al dendrograma obtenido, la gallinaza Lara y el lodo presentan un comportamiento similar desde el punto de vista enzimático, del mismo modo, la gallinaza Mérida y el estiércol de vacuno, pero en este caso se observa mayor diferencia entre los individuos. En las enmiendas restantes, la actividad enzimática es bastante amplia, la cual puede estar asociada a las características intrínsecas del origen del material.

De acuerdo a las actividades enzimáticas estudiadas y los parámetros asociados a estas como; pH, conductividad eléctrica, carbono orgánico, nitrógeno total, fósforo inorgánico y fósforo total. La estabilidad de los materiales seguiría el siguiente orden: vermicompost Zea y ULA > cachaza > lodo > estiércol de vacuno > gallinaza Lara > estiércol de caprino > gallinaza Mérida.

Colateralmente se observó que el estiércol de caprino, la cachaza y las gallinazas Lara y Mérida serían de uso potencialmente riesgoso debido a su alto pH. Se sugiere una utilización controlada especialmente en suelos con pH entre 6,0 y 7,5. Asimismo, la conductividad eléctrica de estas enmiendas podrían limitar su uso especialmente en suelos con conductividad eléctrica mayor a 4,0 dS/m.

LITERATURA CITADA

- Acosta, Y., J. Paolini, S. Flores, Z. Benzo, M. El Zauahre, L. Toyo y A. Senior**, 2003. Evaluación de metales pesados en tres residuos orgánicos de diferente naturaleza. *Multiciencias*. 3(1):51-60.
- Albiach, R., R. Canet, F. Pomares, y F. Ingelmo**, 2000. Microbial biomass content and enzymatic after the application of organic amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology*. 75:43-48.
- Anderson, J.M. e J.S.I. Ingram**. 1993. *Tropical soil biology and fertility: A handbook of methods*. 2nd Edition. CAB International. Wallingford, UK. 62 p.
- Añez, R.B.** 1979. El uso del estiércol en Los Andes. Monografía. I.I.A.P. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela. 14 p.
- Axmann, H., A. Sebastianelli y A.L. Arrillaga**. 1990. Empleo de las técnicas nucleares en los estudios de la relación suelo-planta. Colección de cursos de capacitación N° 2. Hardarson, G. (Ed). OIEA, Viena. p. 41-53.
- Beloso, S. M.** 1991. Estudio de la gallinaza como fertilizante agrícola. Tesis Doctoral. Postgrado en Biología. Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela. España. 313 p.
- Benítez, E., R. Nogales, C. Elvira, G. Masciandaro y B. Ceccanti**. 1999. Enzyme activities as indicators of the stabilization of sewage sludge composting with *Eisenia foetida*. *Bioresource Technology*. 67:297-303.
- Casida, L.E., D.A. Klein, y T. Santoro**. 1964. Soil dehydrogenase activity. *Soil Sci*. 98:371-376.
- Castillo, A.E., S.H. Quarin' y M.C. Iglesias**. 2000. Caracterización química y física de compost de lombrices elaborados a partir de residuos orgánicos puros y combinados. *Agric. Téc.* 60 (1):74-79.
- Contreras, F., J. Paolini y C. Rivero**. 2004. El uso de enmiendas orgánicas y su efecto sobre la actividad de deshidrogenasa y mineralización del carbono en suelos. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* 30:95-107.
- Debosz, K., S.O. Petersen, L.K. Kure, y P. Ambus**. 2002. Evaluating effects of sewage sludge and household compost on soil physical, chemical and microbiological properties. *Appl. Soil Ecol.* 19:237-248.
- Dick, R.P.** 1997. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. En: *Bioindicators of soil health*. Pankhurst, C.E., Doube, B.M. y Gupta, V.V.S.R. (Eds.), CAB International, Oxon, United Kingdom. p. 121-156.
- Dick, W.A., y M.A. Tabatabai**. 1984. Kinetic parameters of phosphatases in soils and organic waste materials. *Soil Sci*. 137 (1):7-15.
- Galstyan, A.** 1974. Enzyme activity of soils. *Geoderma* 12:43-48.
- García, C., Hernández, T. Costa, F. y Ayuso, M.** 1992. Evaluation of the maturity of municipal waste compost using simple chemical parameters. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 23 (13-14):1501-1512.
- García, C., T. Hernández, F. Costa, B. Ceccanti y G. Masciandaro**. 1993. Kinetics of phosphatase activity in organic wastes. *Soil Biol. Biochem.* 25 (5):561-565.
- García, I.C. y S.A. Polo**. 1999. Estudio de parámetros bioquímicos en procesos de estabilización de residuos orgánicos urbanos. *Residuos* 51, año, IX, 76-81.
- Gianfreda, L. y J.M. Bollag**. 1996. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. En: *Soil Biochemistry*. Vol. 9. Stotzky, G. y Bollag, J.M. (Eds.). Marcel Dekker, Inc, New York. 123-193.

- Hernández, T., C. García, e I. Reinhardt.** 1997. Short-term effect of wildfire on the chemical, biochemical and microbiological properties of Mediterranean pine forest soil. *Biol. Fertil. Soils*. 25:109-116.
- Kandeler, E. y H. Gerbert.** 1988. Short-term assay of urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils* 6:68-72.
- Kaufman, L. y P.J. Rousseuw.** 1990. Finding group in data. An introduction to cluster analysis. John Wiley & Sons, Inc. New York. 342 p.
- Keeney, D.R., Nelson, D.** 1982. Nitrogen-inorganic forms. En: *Methods of soil analysis. Part. 2*, 2nd Edition. Page, A.L., Miller, R.H. y Keeney, D.R. (Eds.). Agronomy 9. American Society of Agronomy (SSSA). Madison, p. 643-698.
- Kuo, S.** 1996. Phosphorus. En: *Methods of soil analysis. Chemical Methods. Part 3. Book series N° 5.* Soil Science Society of American Society of Agronomy (SSSA). Segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. 869-918.
- Lenhard, G.** 1963. Methods for the evaluation of compost. *Compost Science*. Spring 21-25.
- Madrid, C. e Y. Castellanos.** 1998. Efecto de activadores sobre la calidad de compost elaborados con cachaza y bagazo de caña de azúcar. *Venesuelos* 6 (1-2):22-28.
- Melgarejo, P.M.R., G.M.I. Ballesteros y L.M. Bendeck.** 1997. Evaluación de algunos parámetros físico-químicos y nutricionales en humus de lombriz y composts derivados de diferentes sustratos. *Revista Colombiana de Química* 26 (2):11-20.
- Paul, E.A. y F.E. Clark.** 1996. *Soil microbiology and biochemistry*. 2 Ed. Academic Press, San Diego, CA. 340 p.
- Rhoades, J.D.** 1996. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. En: *Methods of soil analysis. Chemical Methods. Part 3. Book series N° 5.* Soil Science Society of American Society of Agronomy (SSSA). Segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. 417-434.
- Rossel, D.J. Tarradellas, G. Bitton y J. Morel.** 1997. Use of enzymes in soil ecotoxicology: A case for dehydrogenase and hydrolytic enzymes. En: *Soil ecotoxicology*. Tarradellas, J. Bitton, G. y D. Rossel (Eds.). Lewis Publishers. Boca Raton, Florida. p. 179-206.
- Rivero, C.** 1999. Materia orgánica del suelo. Alcance, 57. *Revista de la Facultad de Agronomía Universidad Central de Venezuela*. 211 p.
- Rivero, C. y C. Carracedo.** 1999. Efecto del uso de gallinaza sobre algunos parámetros de fertilidad química de dos suelos de pH contrastante. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* 25:83-93.
- Serra-Wittling, C., S. Houot y E. Barriuso.** 1996. Modification of soil water retention and biological properties by municipal solid waste compost. *Compost Science & Utilization* 4 (1):44-52.
- Simms, J.R. y V.A. Haby.** 1971. Simplified colorimetric determination of carbon soil organic matter. *Soil Sci.* 112:137-141.
- Soto, G. y C. Muñoz.** 2002. Consideraciones teóricas y prácticas sobre el compost y su empleo en la agricultura. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*, 65:123-129.
- SPSS Inc.** 2005. *SPSS 15 para Windows*. Chicago: SPSS Inc.
- 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.
- Tan, K.H.** 1996. *Soil Sampling, Preparation, and Analysis*. 10th Edit. Madison, New York. 408 p.
- Vuorinen, A.H.** 1999. Phosphatases in horse and chicken manure composts. *Compost Science & Utilization* 7 (2):47-54.
- Zérega, L. y M. Adams.** 1991. Efectos de la cachaza y el azufre sobre un suelo salino-sódico del estado Carabobo bajo condiciones de invernadero. *Rev. Caña de Azúcar* 9 (2):110-126.