

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DEL SUELO -DESHIDROGENASA, β -GLUCOSIDASA, FOSFATASA Y UREASA- BAJO DIFERENTES CULTIVOS¹

Carlos Henríquez^{2/*}, Lidieth Uribe*, Arturo Valenciano*, Rogelio Nogales**

Palabras clave: Enzimas del suelo, uso del suelo, calidad de suelo, manejo de cultivos.

Keywords: Soil enzymes, soil management, soil quality, crop management.

Recibido: 11/09/13

Aceptado: 09/01/14

RESUMEN

Se analizó la actividad de 4 enzimas del suelo en fincas bajo diferentes manejos agronómicos y en diferentes tipos de suelos. Las enzimas evaluadas fueron la Fosfatasa, β -Glucosidasa, Deshidrogenasa y Ureasa. Se tomaron muestras de suelo de los primeros 20 cm de profundidad con el fin de analizarlas químicamente y determinar la actividad de las 4 enzimas a evaluar. Se encontró que la actividad de la Deshidrogenasa varió de 0,13 a 4,46 con un promedio de 1,17 ($\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$); la β -Glucosidasa varió de 31,9 a 208,1 con un promedio de 108,1 ($\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). Por otro lado la Fosfatasa tuvo valores entre 413,4 y 3043,6 con un promedio de 1521,5 $\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, mientras que la Ureasa varió de 12,5 a 52,8 con un promedio de 38,3 $\mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. La Fosfatasa correlacionó con el porcentaje de materia orgánica y de carbono en el suelo (0,75 y 0,76 respectivamente, $p<0,01$); se encontró una relación inversa entre la actividad de esta enzima y el contenido de P disponible (r de -0,53, $p<0,10$). La Ureasa correlacionó con la Fosfatasa (r de 0,61 $p<0,05$) y con la Deshidrogenasa (r de -0,77 $p<0,01$). El análisis multivariado de conglomerados a partir de la actividad enzimática permitió

ABSTRACT

Soil enzyme activity -Dehydrogenase, β -glucosidase, Phosphatase and Urease- under different crops. The activity of 4 soil enzymes in farms under different agronomic managements and in different soil types was analyzed. The enzymes tested were phosphatase, β -glucosidase, dehydrogenase and urease. Soil samples were taken from the first 20 cm in depth, in order to determine the activity of the 4 enzymes and analyze them chemically. It was found that Dehydrogenase enzyme activity ranged from 0.13 to 4.46 with an average of 1.17 ($\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$); β -glucosidase enzyme ranged from 31.9 to 208.1 with an average of 108.1 ($\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). Furthermore, phosphatase had values between 413.4 and 3043.6 with an average of 1521.5 $\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, while Urease ranged from 12.5 to 52.8 with an average of 38.3 $\mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Phosphatase correlated with the percentage of organic matter and carbon in the soil (0.75 and 0.76 respectively, $p<0.01$); an inverse relationship was found between the activity of this enzyme and the content of available P (-0.53r, significant at $p<0.10$). Urease correlated with phosphatase ($r=0.61$ $p<0.05$) and with dehydrogenase ($r=0.77$

1 Resultados parciales del proyecto VI-733-B0-507 de la Universidad de Costa Rica. Proyecto financiado por la Vicerrectoría de Investigación y el convenio CSIC-UCR.

2 Autor para correspondencia. Correo electrónico: carlos.henriquez@ucr.ac.cr

* Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica(CIA-UCR), Costa Rica.

** Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, España.

hacer grupos similares según el tipo de cultivo, lo que evidencia el potencial de utilización que tiene esta propiedad para realizar estudios más detallados.

INTRODUCCIÓN

Las enzimas son un tipo especial de proteínas que se combinan con un sustrato específico y actúan para catalizar una reacción bioquímica, sin experimentar cambios en su estructura; en términos generales las enzimas en el suelo son esenciales para la transformación de energía y el ciclaje de nutrientes. Debido a su naturaleza proteica pueden ser afectadas por factores ambientales como son la temperatura y el pH (Alexander 1980, Coyne 2000, Paul y Clark 2007). Las enzimas de suelo son producidas por plantas, animales y microorganismos y pueden estar presentes en células muertas y restos celulares que son absorbidos por arcillas e incorporados en sustancias húmicas (Baležentienė y Klimas 2009).

Las enzimas intervienen en la mayoría de los procesos que tienen lugar en el suelo y las funciones que realizan son de gran importancia. Son responsables de la formación de moléculas orgánicas y particularmente tienen una participación vital en el ciclo nitrógeno, fósforo y carbono. Cumplen un papel vital en procesos tales como la mineralización, inmovilización de nutrientes y fijación biológica de nitrógeno, entre otros (Caldwell 2005, Carpa 2009, Coyne 2000, Dick y Tabatabai 1993). Específicamente en relación con la mineralización, las enzimas participan en la transformación de compuestos orgánicos complejos a sustancias asimilables por las plantas que catalizan las etapas limitantes en la mineralización de nutrientes. Esta es la razón

$p < 0.01$). Multivariate cluster analysis based on the enzymatic activity allowed to make similar groups according to the type of crop, which shows the potential of usage that this property has for undertaking more detailed studies.

por la cual se relaciona su actividad con la liberación de nutrientes inorgánicos procedentes de la materia orgánica (Coyne 2000, Dick y Tabatabai 1993, Li et ál. 2008). Una parte de las enzimas de suelo son extracelulares, y liberadas durante el metabolismo y muerte celular, otras son intracelulares y que forman parte de la biomasa microbiana o bien están adsorbidas en la materia orgánica y en el sistema coloidal, lo cual sugiere que el suelo puede actuar como un reservorio temporal; lo anterior implica que en un momento dado la actividad enzimática podría no estar ligada necesariamente con la actividad microbiana (Alef y Nannipieri 1995, Alexander 1980, Paul y Clark 2007).

Las principales enzimas se pueden clasificar en oxidoreductasas como por ejemplo la catalasa, glucosa oxidasa, deshidrogenasa y peroxidasa, las transferasas como la transaminasa y las hidrolasas como la celulasa, lipasa, β -glucosidasa, fosfatasa y ureasa (Alef y Nannipieri 1995, Paul y Clark 2007). Las enzimas Deshidrogenasa, β -glucosidasa, Fosfatasa y Ureasa se han utilizado como indicadores para evaluar el efecto del manejo agronómico sobre características de calidad o estado de sanidad del suelo (Gajda y Mortyniuk 2005, Baležentienė y Klimas 2009); estas enzimas son responsables de la liberación de C, N, y P, elementos importantes en la nutrición de las plantas. La actividad de la deshidrogenasa permite, de manera global, tener una idea de los procesos microbianos que ocurren en el suelo debido a que se encuentran presentes únicamente

en sistemas vivos, que indican además, la tasa de oxidación de la materia orgánica, de las enzimas involucradas en el ciclo del C, la β -glucosidasa ha sido la más ampliamente utilizada en la evaluación de la calidad de suelos sujetos a diferentes procedimientos de manejo; la enzima ureasa por otro lado cataliza la conversión de la urea a amonio y dióxido de carbono en tanto que la fosfatasa está involucrada en el ciclo de P (Gajda y Martyniuk 2005, Gil-Sostres et ál. 2005, Paul y Clark 2007).

Debido a su relación con procesos de gran importancia en el suelo, la determinación de la actividad enzimática ha sido estudiada como un biomarcador, esto es un indicador de diferentes condiciones de calidad de suelo (Alef y Nanipieri 1995, Baležentienė 2012, Bolton et ál. 1985, Carpa 2009, Ferreras et ál. 2009, Gil-Stores et ál. 2005, Trasar et ál. 2003). Al respecto Hu et ál. (2006) señalan que la actividad enzimática puede responder a cambios en el manejo de un bosque más rápidamente que otras variables de suelo por lo que pueden ser útiles como indicadores tempranos de cambios biológicos. Estos parámetros también se utilizan para caracterizar la actividad

microbiana de los suelos, ya que son relativamente fáciles de medir por medio de métodos analíticos y además porque representan procesos fisiológicos importantes de los microorganismos del suelo (Gajda y Martyniuk 2005).

A nivel nacional se requiere generar mayor cantidad de información sobre valores de actividad enzimática en el suelo que permita posteriormente relacionarlos con parámetros como la aplicación de las bioenmiendas y su impacto en el mejoramiento en la calidad del suelo. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio exploratorio de la actividad enzimática en diferentes tipos de sistemas productivos de Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras de suelo

Para este estudio se utilizaron 12 fincas ubicadas en diferentes partes del país, bajo diferente manejo agrícola y en suelos de los órdenes Ultisol e Inceptisol (Cuadro 1). En cada finca se seleccionó un lote a partir de que el área a muestrear, tuviese características homogéneas en tipo

Cuadro 1. Cultivos, ubicación y clasificación taxonómica de las muestras de suelo que fueron utilizadas para la determinación de la actividad enzimática, Costa Rica.

Cultivo	Nombre científico	Cantón	Orden de suelo
Banano	<i>Musa spp.</i>	Corredores	Inceptisol
Caña	<i>Zaccharum ssp.</i>	San Carlos	Ultisol
Maíz	<i>Zea mays</i>	San Carlos	Ultisol
Palma	<i>Elaes guineensis</i>	Corredores	Inceptisol
Pimienta	<i>Piper nigrum</i>	Sarapiquí	Ultisol
Piña	<i>Ananas comosus</i>	San Carlos	Ultisol
Plátano	<i>Musa spp.</i>	Corredores	Inceptisol
Pasto	<i>Cynodom nlemfluensis</i>	Guápiles	Ultisol
Tiquisque	<i>Xanthosoma sagittifolium</i>	San Carlos	Ultisol
Vainilla	<i>Vainilla planifolia</i>	Guápiles	Ultisol
Vochysia	<i>Vochysia ferruginea</i>	San Carlos	Ultisol
Yuca	<i>Manihot esculenta</i>	San Carlos	Ultisol

de suelo y paisaje. Al momento del muestreo se procedió a tomar 15 submuestras de suelo de los primeros 20 cm superficiales tomadas en la mayoría de los casos en la banda de fertilización y otras en el área entre plantas. Se trabajó así con una muestra por unidad de muestreo o lote representativo proveniente de una muestra compuesta de 15 submuestras. Cada muestra se subdividió en 2 porciones que se utilizaron, una para el análisis químico y otra para el análisis de la actividad enzimática.

De esta forma, una porción de la muestra de suelo fue llevada al Laboratorio de Suelos y Foliarens para realizar el análisis químico y la otra al Laboratorio de Microbiología Agrícola para el análisis enzimático; ambos laboratorios pertenecientes al Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) de la Universidad de Costa Rica.

Análisis químico de las muestras de suelo

Para el análisis químico, las muestras de suelo se secaron en una estufa a 60°C y luego se tamizaron a 2 mm. En el laboratorio se procedió a utilizar las soluciones extractoras Olsen Modificado (para extraer P, K, Cu, Mn, Zn, Fe) y KCl 1M (para extraer Ca, Mg y acidez intercambiable); el pH fue determinado en agua. Los elementos fueron medidos por medio de espectrofotometría de absorción atómica (Ca, Mg, K y los elementos menores catiónicos Cu, Mn, Zn y Fe), en el caso del P se determinó con colorimetría de azul de Mo. Finalmente la acidez intercambiable se realizó mediante una titulación de NaOH 1N (modificaciones hechas a Díaz-Romeu y Hunter 1978 y presentadas por Henríquez y Cabalceta 2012). El carbono total se analizó por el método de combustión seca; la materia orgánica fue estimada dividiendo el carbono orgánico total por un factor de 1,43 (Bremer y Tabatabai 1971).

Análisis de la actividad enzimática

Las muestras se secaron al aire a fin de homogenizar el estado de humedad de las mismas luego de lo cual se pasaron por un tamiz de 2 mm. Con respecto a este punto en particular, estudios

previos realizados por los autores demostraron que la actividad enzimática no se afectó por el tratamiento de secado al aire en comparación con el uso de la muestra con la humedad de campo (datos no publicados). Previo al análisis de la actividad enzimática, el suelo se llevó a capacidad de campo y se realizaron para cada una de las determinaciones 3 repeticiones por muestra y un control. Luego de esto, las muestras fueron sometidas a diferentes procedimientos según la enzima de interés, procedimiento que se explica a continuación (Trasar y Leirós 2003).

a) Determinación de las enzimas Fosfatasa y β -Glucosidasa

Se pesó 0,5 gramos de suelo en tubos plásticos con tapa para conformar 3 determinaciones y un control. Para el caso de la enzima Fosfatasa, a cada tubo de muestra se le añadió 0,5 ml de PNPP 0,115 mM (4-Nitrofenol-fosfato-p-nitrofenil-fosfato hexahidratado) como sustrato enzimático y al control se le agregó un volumen similar de agua desionizada. A todos los tubos se les agregó 2 ml de buffer maleato pH 6,5 y se incubaron durante 1,5 h a 37°C. Luego de la incubación, al control se le agregó 0,5 ml de PNPP e inmediatamente se procedió a añadirle a todos los tubos 0,5 ml de Cl_2Ca 0,5 M + 2 ml de NaOH 0,5 M, los tubos se mezclaron con un vortex y se centrifugaron a 3500 rpm durante 15 min; a partir de cada tubo se extrajo un volumen de 0,125 ml del líquido sobrenadante y se adicionaron 4,875 ml de agua desionizada. Finalmente se midió en un espectrofotómetro la absorbancia obtenida a una longitud de onda de 398 nm. Los resultados se expresaron en μg de P-Nitrofenol (PNP) $\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Para el caso de la enzima β -Glucosidasa, el procedimiento fue similar al anterior excepto que el sustrato enzimático utilizado fue el 4-Nitrophenil-B-D-glucopiranoside (PNG) 50 mM. Además la dilución que se utilizó consistió en tomar 0,5 ml del líquido sobrenadante y 4,5 ml de agua desionizada. La determinación fue la

misma utilizada para la Fosfatasa. Los resultados también se expresaron en μg de P-Nitrofenol ((PNP). $\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$).

b) Determinación de la enzima Deshidrogenasa

Se pesó a partir de cada muestra, 1,0 gramo de suelo en tubos de vidrio con tapa para conformar 3 determinaciones y un control. A las muestras se les añadió 0,2 ml de agua destilada y 0,2 ml de 2-p Iodofenil-3-p Nitrofenil-5-Feniltetrazolio (INT) al 0,4%; en el caso del control se le añadió 0,4 ml de agua desionizada. Posteriormente se incubaron las muestras y el control durante 20 h en la oscuridad a una temperatura de 20°C. Posteriormente se añadieron a todos los tubos 5 ml de la solución extractora (Tetracloroetileno+Acetona en proporción 1:1.5 v/v) y se agitó durante 1 min. Los tubos se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 min luego de lo cual se tomaron 2,5 ml del sobrenadante y se trasvasó a un tubo de vidrio vacío al que se agregó 2,5 ml de la solución extractora. Finalmente se midió la absorbancia a una longitud de 490 nm en un espectrofotómetro. Los resultados se expresaron en μg INTF. $\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

c) Determinación de la enzima Ureasa

Para cada muestra, se pesó 1,0 gramo de suelo en tubos de plástico con tapa para conformar 3 determinaciones y un control; el suelo fue previamente humedecido hasta aproximadamente capacidad de campo. A las muestras se les añadió 4 ml de tampón borato pH 10,0 y 0,5 ml de sustrato (solución de urea al 0,64%). En el caso del control en lugar de urea se le añadió 0,5 ml de agua destilada. Los tubos se incubaron bajo agitación constante durante 2 h en un baño a 37°C. Seguidamente se adicionó 6 ml de KCl (7,4%) a todos los tubos, se agitaron durante 30 min y se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 min. Posteriormente se trasvasó 9 ml del líquido sobrenadante de todos los tubos (muestras y blanco) a otros tubos de plástico con tapa limpio.

Finalmente se determinó la cantidad de NH_4^+ mediante el método colorimétrico a 525 nm. Los resultados se expresaron en μg N- NH_4 . $\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Análisis de los datos

Se correlacionaron los datos de actividad enzimática con las diferentes variables del análisis químico de suelos. Adicionalmente se aplicó el análisis de conglomerados, con el fin de determinar el grado de diferenciación que se podrá realizar con el análisis de actividad enzimática en el suelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis químicos de las muestras de suelo y cuyos datos se presentan en el Cuadro 2, muestran una alta variabilidad en el contenido de nutrientes disponibles así como en la acidez intercambiable (porcentajes de variación mayores del 69%); en menor grado en relación con el pH. Este comportamiento era esperable debido principalmente a la diversidad pedogenética de los suelos utilizados en el estudio y en menor grado al manejo agronómico al que el suelo estaba sometido al momento del muestreo, aspectos que fueron buscados para poder realizar este estudio. En general los Inceptisoles (con los cultivos de banano, palma y plátano), mostraron los valores de Ca y Mg, y en términos generales de fertilidad, más altos en comparación a los Ultisoles (Cuadro 1 y 2). Los porcentajes de variación de estas variables estuvieron entre 70 y 121% a excepción del pH que tuvo un valor de 8%. Con lo anterior se logró en este estudio tener muestras con una alta variabilidad, aspecto que se esperaba que también se reflejaran en su relación con la actividad enzimática.

Por otro lado, las variables porcentaje de carbono (%C) y nitrógeno (%N) así como la relación C/N (Cuadro 3), mostraron un porcentaje de variación entre 16 y 33%; estos porcentajes de variación fueron comparativamente menores a los encontrados para las variables químicas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Análisis químico de las muestras de suelo utilizadas para la determinación de la actividad enzimática del suelo en 12 cultivos de Costa Rica.

Cultivo	pH	Ca	Mg	K	ACIDEZ	P	Zn	Cu	Fe	Mn
		----- cmol(+).l ⁻¹ -----				----- mg.l ⁻¹ -----				
Banano	6,2	21,62	6,14	1,47	0,17	27	4,9	65	38	6
Caña	5,2	4,51	1,43	0,25	0,22	1	7,1	18	104	199
Maíz	6,0	6,71	2,20	0,10	0,12	1	2,0	10	148	35
Palma	5,5	16,03	5,20	1,25	0,98	28	2,7	11	111	20
Pimienta	4,6	1,09	0,52	0,11	1,88	2	0,5	17	451	10
Piña	5,7	6,47	2,16	0,12	0,1	1	2	11	140	56
Plátano	6,5	26,31	6,65	1,13	0,17	15	1,7	28	23	4
Pasto	5,4	4,42	1,39	0,33	0,72	15	1,7	5	179	11
Tiquisque	5,7	7,32	1,80	0,26	0,10	3	5,2	17	77	117
Vainilla	5,4	6,75	2,54	0,53	0,64	14	3,5	8	224	19
Vochysia	5,4	4,21	2,24	0,38	0,17	12	7,7	11	220	34
Yuca	5,5	5,12	1,66	0,46	0,12	2	1,2	6	131	56
Parámetro										
Mínimo	4,6	1,09	0,52	0,10	0,10	1,00	0,50	5,00	23,00	4,00
Máximo	6,5	26,31	6,65	1,47	1,88	28,0	7,70	65,0	451,0	199,0
Promedio	5,6	9,21	2,83	0,53	0,45	10,0	3,35	17,2	153,8	47,25
Desv. Std	0,5	7,80	2,01	0,48	0,54	10,0	2,36	16,3	112,7	57,36
% Variación	9	85	71	90	120	99	70	95	73	121

Cuadro 3. Porcentaje de carbono, nitrógeno, materia orgánica y la relación C/N de suelo en 12 cultivos de diferentes sitios de Costa Rica.

Cultivo	C	N	M.O.	C/N
		----- % -----		
Banano	1,62	0,19	2,3	8,5
Caña	2,82	0,27	4,0	10,4
Maíz	3,15	0,29	4,5	10,9
Palma	0,90	0,08	1,3	11,3
Pimienta	4,00	0,29	5,7	13,8
Piña	2,64	0,27	3,8	9,8
Plátano	1,98	0,17	2,8	11,6
Pasto	3,43	0,39	4,9	8,8
Tiquisque	3,15	0,28	4,5	11,3
Vainilla	3,10	0,39	4,4	7,9
Vochysia	3,02	0,28	4,3	10,8
Yuca	3,49	0,27	5,0	12,9
Parámetro				
Mínimo	0,9	0,08	1,3	7,9
Máximo	4,0	0,39	5,7	13,8
Promedio	2,8	0,26	3,97	10,67
Desv. Std	0,9	0,09	1,25	1,73
% Variación	32	33	31	16

Se encontró que el %C correlacionó en forma inversa con las bases del suelo Ca, Mg y K con coeficientes de correlación (r) de -0,80, -0,87 y -0,84 ($p < 0,01$) respectivamente. Un comportamiento similar se observó al comparar el % de N con estas mismas variables con valores de r de -0,70, -0,72 y -0,70 ($p < 0,01$) respectivamente. De aquí se puede deducir que para los tipos de suelos estudiados en este trabajo, una mayor fertilidad de suelos (esto es, altos niveles de Ca, Mg y K) estuvo relacionado a menores contenidos de C y N.

a) Actividad enzimática del suelo

La actividad de las 4 enzimas estudiadas en este trabajo se muestra en el Cuadro 4. Al igual que el contenido de nutrientes se encontró una variación importante entre los suelos por las razones expuestas con anterioridad. En este mismo cuadro se puede observar que los porcentajes de variación de la actividad enzimática, excepto para el caso de la Ureasa (la cual fue menor comparativamente con las otras enzimas estudiadas) fueron valores cercanos al 50%.

Cuadro 4. Estadística descriptiva de los valores promedio de la actividad de 4 enzimas del suelo encontrada en 12 cultivos de Costa Rica.

Cultivo	Deshidrogenasa ($\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	β -Glucosidasa ($\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	Fosfatasa ($\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	Ureasa ($\mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)
Mínimo	0,13	31,9	413,4	12,5
Máximo	4,46	208,1	3043,6	52,8
Promedio	1,17	108,1	1521,5	38,3
Desviación Std	1,19	61,2	844,9	13,9
% Variación	118	57	56	36

La Deshidrogenasa es una enzima considerada como un índice de actividad microbiana (Kuhur et ál. 2012); ésta varió en este estudio de 0,13 a 4,46 con un promedio de 1,17 $\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ y con un porcentaje de variación mucho más alto que el encontrado para las otras enzimas (Cuadro 4). El manejo agronómico que tuvo el mayor valor mayor fue Vochysia (4,46 $\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) en tanto que el valor más bajo se encontró en Palma (0,13 $\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), datos que se presentan en el Cuadro 5. Estos valores son menores a los reportados por Paz-Ferreiro et ál. (2007) quienes determinaron en pastos nativos y bosque en Galicia España, valores de 89,5 a 1093 $\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Gil-Sotres et ál. (2005) por otro lado, encontraron en suelos bajo bosque valores entre 47,1 a 160,2 $\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. En otro estudio, Caravaca et ál. (2002) encontraron en ambientes semiáridos del mediterráneo de Italia valores de

2,0 a 102,2 $\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; estos últimos autores encontraron una mayor actividad en los suelos bajo pasto natural que en los suelos cultivados.

Por otra parte, se encontró que la actividad de la enzima β -Glucosidasa varió de 31,9 a 208,1 con un promedio de 108,1 $\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, donde los cultivos banano, vainilla y plátano mostraron los valores más altos (208, 198 y 197 $\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ respectivamente) en tanto que Palma tuvo el valor más bajo (31,9 $\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) (Cuadros 4 y 5). La literatura reporta datos muy variados como son de 69,5 a 850,7 $\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Paz-Ferreiro et ál. 2007), de 93,13 a 636,62 $\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Gil-Sotres et ál. 2005) y de 12,51 a 56295 $\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Paul y Clark 2007), encontrándose los valores de este estudio dentro de estos rangos. Pese a lo anterior, Caravaca et ál. (2002) encontraron valores de 922-6430 $\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, mayores que los reportados en este estudio.

Cuadro 5. Actividad de 4 enzimas del suelo en 12 cultivos de Costa Rica.

Cultivo	Deshidrogenasa ($\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	β -Glucosidasa ($\mu\text{g INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	Fosfatasa ($\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	Ureasa ($\mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)
Banano	0,33	208,1	1129,7	39,2
Caña	0,48	74,4	1085,4	40,4
Maíz	2,69	64,0	2677,7	34,6
Palma	0,13	31,9	413,4	28,2
Pimienta	0,88	91,5	3043,6	51,0
Piña	2,81	66,0	681,1	13,1
Plátano	0,14	197,7	903,4	44,1
Pasto	0,28	117,9	1886,2	46,2
Tiquisque	0,60	53,1	1969,3	52,8
Vainilla	0,33	196,8	1504,7	51,4
Vochysia	4,46	121,1	707,1	12,5
Yuca	0,87	74,8	2257,0	46,4

Se encontró que los valores para la actividad de la enzima Fosfatasa fueron de 413,4 a 3043,6 con un promedio de $1521,5 \mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Cuadro 4 y 5), niveles que se encuentran en el ámbito reportado por Paz-Ferreiro (2007) $55,6$ a $4017 \mu\text{g PNP}/\text{gh}$ y los reportados por Paul y Clark (2007) $12,51$ a $56295 \mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Pese a lo anterior estos valores son mayores que los encontrados por otros autores como Kandeler et ál. (1999) (50 a $650 \mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Caravaca et ál. (2002) (340 a $2194 \mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Ferreras et ál. (2009) ($346,24$ a $682,17 \mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) y Gil-Sotres et ál. (2005) ($323,87$ a $2190,64 \mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). En este estudio, el manejo agronómico con el mayor valor fue Pimienta ($3043,6 \mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) en tanto que Palma tuvo el menor valor para esta enzima ($413,4 \mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) (Cuadro 5).

Con respecto a la Ureasa, la actividad de esta enzima mostró valores de $12,5$ a $52,8$ con un promedio de $38,3 \mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Cuadro 4 y 5). Los cultivos Tiquisque, Pimienta y Vainilla mostraron los valores más altos ($52,8$, $51,4$ y $51 \mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ respectivamente) en tanto que Piña y Vochysia los valores más bajos ($13,1$ y $12,5 \mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ respectivamente) (Cuadro 5). Estos valores son similares a los encontrados

por Uzun y Uyanöz (2011) en suelos bajo diferentes manejos en una zona semiárida de Turquía ($15,12$ a $67,30 \mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). Ferreras et ál. (2009) por otro lado encontraron valores de $24,0$ a $111,0 \mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; y Paul y Clark (2007) reportan valores de $1,96$ a $200,2 \mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, mientras que Kandeler et ál. (1999) obtuvieron niveles de $8,6-13,7 \mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en suelos bajo diferentes cultivos; estos últimos autores observaron un aumento en el nivel de la actividad de hasta $38,8 \mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ luego de adicionar enmiendas orgánicas y fertilizantes al suelo. Valores altos de la actividad enzimática de la Ureasa fueron reportados por Paz-Ferreiro et ál. (2007) ($11,62$ a $2704,38 \mu\text{g N-NH}_4\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) en pastos y bosques, con los valores más altos bajo el manejo de pastos.

b) Correlaciones entre la actividad enzimática y otras variables del suelo

En el caso particular de la enzima Deshidrogenasa según los resultados de las correlaciones realizadas entre esta enzima (Cuadro 5) y las variables de suelo analizadas (Cuadro 2 y 3), no se encontró ninguna relación. Esto último

no concuerda con lo reportado por otros autores como Cerón y Meigarejo (2005) y Marcote et ál. (2001) y Paz-Ferreiro et ál. (2007), estos últimos quienes mencionan una relación positiva entre la actividad de la enzima Deshidrogenasa y el contenido de materia orgánica, lo que sugiere que esta enzima puede ser un indicador del estado metabólico de la microflora del suelo y por lo tanto un indicador importante de calidad de suelos.

Se encontró que la Fosfatasa fue la enzima que correlacionó con una mayor cantidad de variables de suelo, como se puede apreciar en el Cuadro 6; particularmente esta enzima obtuvo las mejores correlaciones con el porcentaje de carbono en el suelo (r de 0,76 y $p < 0,01$), resultado que también es reportado por Paz-Ferreiro et ál. (2011). Se encontró una relación inversa entre la actividad de esta enzima y el contenido de P

disponible (r de -0,53 significativo a $p < 0,10$). Esto último sugiere una tendencia a la inhibición de la actividad de la enzima Fosfatasa cuando los contenidos de P disponible en el suelo son muy altos; ello podría ocurrir cerca de la rizosfera y en condiciones de una fertilización fosfórica reciente. Un comportamiento similar se observó al correlacionar la Fosfatasa con algunas otras variables químicas que se relacionan a la fertilidad del suelo, como son la CICE, K y Mg (-0,50, -0,52 y -0,57 respectivamente, significativo a $p < 0,10$). Todos estos datos concuerdan con los encontrados con Stursová y Baldrian (2011) quienes señalan que el pH mostró una correlación negativa con la actividad de esta enzima, en tanto M.O., C y N mostró una correlación positiva en suelos de bosques y pastos en Europa central.

Cuadro 6. Correlaciones entre la actividad de 4 enzimas del suelo y diversas variables en 12 cultivos de Costa Rica.

Variable	Variable	Correlación	Significancia
Fosfatasa	M.O.	0,75	**
	C	0,76	**
	Fe	0,53	+
	P	-0,53	+
	%S.A.	0,57	+
	CICE	-0,50	+
	K	-0,52	+
	Mg	-0,57	+
β -Glucosidasa	Cu	0,56	+
	CICE	0,51	+
	Mg	0,50	+
	Ca	0,51	+
Ureasa	Fosfatasa	0,61	*
Ureasa	Deshidrogenasa	-0,76	**

Correlaciones lineales de Pearson. **significancia $p < 0,01$; *significancia $p < 0,05$; +significancia $p < 0,10$.

La β -Glucosidasa por otro lado, presentó una relación opuesta a la encontrada para la Fosfatasa con respecto a las variables CICE y Mg (r de 0,51 y 0,50 respectivamente y $p < 0,10$). A diferencia de lo reportado por Baležentienė (2012), Paz-Ferreiro (2011) y Uzun y Uyanoz (2011), no se encontró ninguna correlación entre

la actividad de la Ureasa y otras variables ligadas a la fracción orgánica del suelos como son el %C, %N y la relación C/N del suelo. Por otro lado y como se observa en el Cuadro 6, al relacionar la actividad de las 4 enzimas entre sí, sólo se encontró correlación entre la actividad de la Ureasa y la Fosfatasa (r de 0,61 $p < 0,05$), y entre la Ureasa y la

Deshidrogenasa (r de $-0,77$ $p < 0,01$). En este caso tanto la Ureasa como la Fosfatasa, son del grupo de las hidrolasas.

c) Análisis de conglomerados y representación radial entre la actividad enzimática y el manejo del suelo

Al realizar el análisis multivariado de conglomerados se determinó que la actividad

enzimática es una característica en el suelo que permitió agrupar según el manejo de cultivo. Lo anterior podría ser una herramienta de utilidad para poder diferenciar los sistemas agroproductivos según la actividad enzimática mostrada. El análisis permitió realizar agrupamientos de acuerdo con el manejo agronómico o uso del suelo en correspondencia a la actividad de las 4 enzimas evaluadas (Figura 1).

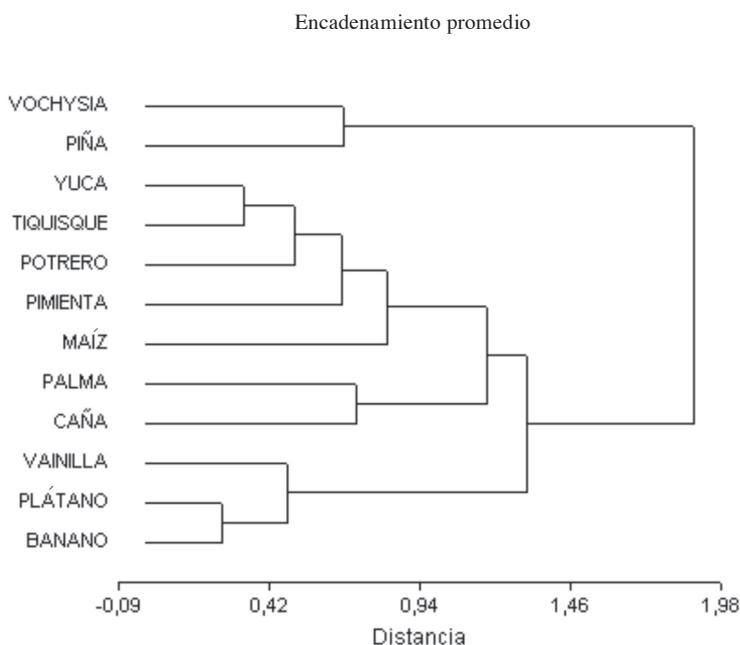


Fig. 1. Representación del Análisis de Conglomerados tomando como criterio de clasificación el uso del suelo y como variable de análisis el promedio de la actividad de 4 enzimas del suelo. Se consideró como referencia, la distancia Euclídea promedio.

Con los resultados de este análisis fue posible por ejemplo separar los cultivos Vochysia y Piña de todos los demás; esto concordó también con los valores más altos en la Deshidrogenasa y más bajos en Ureasa que presentaron los suelos bajo estos cultivos, datos que son presentados en el Cuadro 5; pese a ello no fue posible hacer alguna otra diferenciación con respecto a las otras variables del suelo que se presentan en el Cuadro 2. Igualmente como se aprecia en la Figura 1,

otros cultivos que presentaron las menores distancias de conglomeración, fueron las parejas Yuca-Tiquisque y Plátano-Banano, relacionado en mucho a la naturaleza de los cultivos y a un posible manejo similar.

A manera de ejemplo, se tomaron los datos de los cultivos de Vochysia y Piña, así como Yuca y Tiquisque los cuales se presentan en la Figura 2; en ella se graficó la participación relativa de las 4 enzimas, en relación con estos manejos o cultivos.

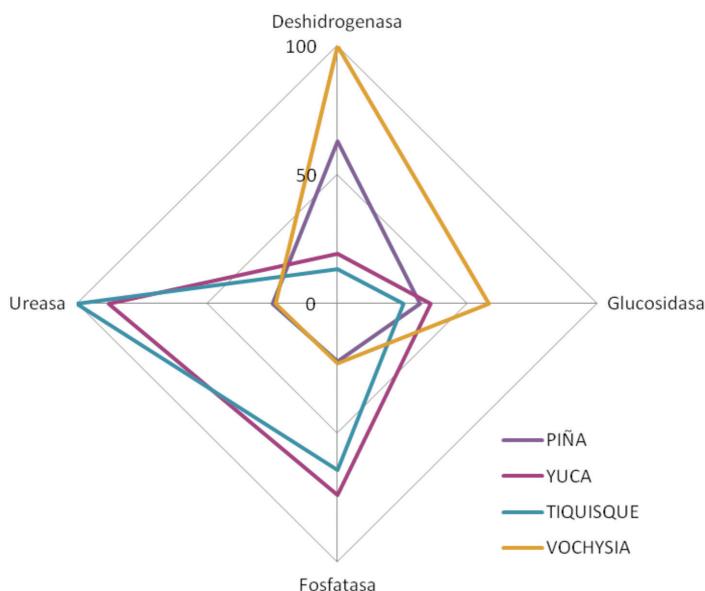


Fig. 2. Representación radial de la participación relativa de la actividad de 4 enzimas del suelo en relación con 4 tipos de manejo agronómico.

En este caso se observa una relación con los resultados obtenidos en análisis de conglomerados presentados en la Figura 1, al encontrarse que para el caso del grupo Vochysia-Piña, se encontraron los mayores valores de Deshidrogenasa y los menores valores de Ureasa y Fosfatasa.

Algunos otros grupos con tipos de emparejamiento por conglomerados fueron Yuca-Tiquizque y Plátano-Banano, los cuales se puede decir que presentan un tipo de manejo similar. Otro caso de emparejamiento de conglomerado fue Palma-Caña.

CONCLUSIONES

A manera de conclusión, es importante mencionar que debido a la naturaleza de este trabajo, no es posible explicar en forma detallada, el origen de estos agrupamientos por cultivos. Con este estudio se pretendió obtener datos de la actividad enzimática encontrados a nivel nacional y

en diferentes cultivos de una manera muy general, con el fin de tener valores de referencia para futuros estudios y experimentos con un mayor detalle.

Se encontró que el análisis de actividad enzimática puede servir para realizar una consistente separación entre los valores de las 4 enzimas estudiadas de acuerdo con el tipo de manejo del suelo lo que demuestra la potencial efectividad como un índice o biomarcador. Futuros trabajos podrían dilucidar el impacto de la alteración de las variables del suelo por efecto del manejo agrícola o bien la aplicación de diversos tipos de prácticas agronómicas en el suelo.

LITERATURA CITADA

- ALEF K., NANNIPIERI P. 1995. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press. 576 p.
- ALEXANDER M. 1980. Introduction to Soil Microbiology. 2ª Ed. John Wiley and Sons, Inc. New York, USA. 467 p.

- BALEŽENTIENĖ L. 2012. Hydrolases Related to C and N Cycles and Soil Fertility Amendment: Responses to Different Management Styles of Agro-Ecosystems. *Pol. J. Environ. Stud.* 21(5):1153-1159.
- BALEŽENTIENĖ L., KLIMAS E. 2009. Effect of organic and mineral fertilizers and land management on soil enzyme activities. Effect of organic and mineral fertilizers and land management on soil enzyme activities (Special issue I) 9:191-197.
- BOLTON J.R., ELLIOT L.F., PAPENDICK R.I., BEZDICEK D.F. 1985. Soil microbial biomass and selected soil enzyme activities: effect of fertilization and cropping practices. *Soil Biology and Biochemistry* 17:297-302.
- BREMER J.M., TABATABAI M.A. 1971. Use of automated combustion techniques for total carbon, total nitrogen and sulfur analysis of soils, pp. 1-6. In: L.M. Walsch (ed.) *Instrumental methods for analysis and plant tissues*.
- CALDWELL B.A. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiología* 49:637-644.
- CARAVACA F., MASCIANDARO G., CECCANTI B. 2002. Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semi-arid Mediterranean environment. *Soil and Tillage Research* 68(1):23-30.
- CARPA R. 2009. Enzymological research on soils from different environments. *Annals of RSCB* 16(1):44-48.
- CERÓN L., MEIGAREJO L. 2005. Enzimas del suelo: indicadores de salud y calidad. *Acta Biológica Colombiana* 10(1):5-18.
- COYNE M. 2000. *Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio*. Editorial Paraninfo, España. 416 p.
- DIAZ-ROMEY R., HUNTER A. 1978. *Metodologías de muestreo de suelos, análisis químico de suelos y tejido vegetal y de investigación en invernadero*. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 62 p.
- DICK W.A., TABATABAI M.A. 1993. Significance and potential uses of soil enzymes. *Soil Microbial Ecology Meeting*, pp. 95-127. Jr., F.B. (ed.). *Soil Microbial Ecology*. Marcel Dekker, New York.
- FERRERAS L., TORESANI S., BONEL B., FERNÁNDEZ E., BACIGALUPPO S., FAGGIOLI V., BELTRÁN C. 2009. Parámetros químicos y biológicos como indicadores de calidad del suelo en diferentes manejos. *CI. SUELO (ARGENTINA)* 27(1):103-114.
- GAJDA A., MARTYNIUK S. 2005. Microbial Biomass C and N and Activity of Enzymes in Soil under Winter Wheat Grown in Different Crop Management Systems. *Polish Journal of Environmental Studies* 14(2):159-163.
- GIL-SOTRES F., TRASAR-CEPEDA C., LEIRÓS M.C., SEOANE S. 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry* 37(5):877-887.
- HENRIQUEZ C., CABALCETA G. 2012. *Guía práctica para el estudio introductorio de los suelos con un enfoque agrícola*. Asociación Costarricense de la Ciencia del suelo. San José Costa Rica. 111 p.
- HU Y.L., WANG S.L., ZENG D.H. 2006. Effects of Single Chinese Fir and Mixed Leaf Litters on Soil Chemical, Microbial Properties and Soil Enzyme Activities. *Plant and Soil* 282(1-2):379-386.
- KANDELER E., STEMMER M., KLIMANEK E.M. 1999. Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fractions to long-term soil management. *Soil Biology and Biochemistry* 31(2):261-273.
- KUHUR M., GARTIA S.K., PATEL A.K. 2012. Quantifying the contribution of different soil properties on enzyme activities in dry tropical ecosystems. *Journal of Agricultural and Biological Science* 7(9):763-773.
- MARCOTE I., HERNÁNDEZ T., GARCÍA C., POLO A. 2001. Influence of one or two successive annual applications of organic fertilizers on the enzyme activity of a soil under barley cultivation. *Biorecourse Technology* 79:147-154.
- PAUL E.A., CLARK F.E. 2007. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press. 275 p.
- PAZ-FERREIRO J., TRASAR-CEPEDA C., LEIRÓS M.C., SEOANE S., GIL-SOTRES F. 2007. Biochemical properties of acid soils under native grassland in a temperate humid zone. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 50(4):537-548.
- TRASAR C., LEIROS M., GIL F. 2003. Consideraciones generales sobre la determinación de las actividades enzimáticas del suelo. In: *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos*. Ed. C. García, F. Gil, T. Hernández y C. Trasar. España. Mundiprensa. 371 p.
- UZUN N., UYANÖZ R. 2011. Determination of Urease Catalase Activities and CO₂ Respiration in Different Soils Obtained From in Semi Arid Region Konya, Turkey. *Trends in Soil & Plant Sciences Journal* 2(1):1-6.



Todos los derechos reservados. Universidad de Costa Rica. Este artículo se encuentra licenciado con Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Costa Rica. Para mayor información escribir a rac.cia@ucr.ac.cr