

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA



INSTITUTO DE INGENIERIA  
MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERIA

**“ACTIVIDAD ENZIMATICA EN SUELO ACONDICIONADO CON LODO RESIDUAL”**

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL GRADO  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:  
VIANEY SANCHEZ MEDINA

DIRECTORES DE TESIS  
M. en E. Pedro del Aguila Juárez  
Dr. Jorge Lugo de la Fuente

## **INDICE GENERAL**

RESUMEN	5
1. INTRODUCCION	6
2. ANTECEDENTES	7
2.1 Lodo residual	7
2.2.1 Aplicación de lodo residual en la agricultura	9
2.2 Enzimas	10
2.2.1 Generalidades	10
2.2.2 Clasificación de las enzimas	11
2.2.3 Factores que afectan la actividad de las enzimas	12
2.2.4 Origen e importancia de las enzimas en el suelo	14
2.2.5 Ureasa	15
2.2.6 Fosfatasa ácida y alcalina	16
2.2.7 $\beta$ -D glucosidasa	18
2.2.8 Catalasa	19
2.3 Lodo residual y actividad enzimática	19
2.4 Actividad enzimática como indicador de calidad del suelo	21
3. OBJETIVOS	22
3.1 Objetivo general	22
3.2 Objetivos particulares	22
4. MATERIALES Y METODOS	23
4.1 Zona de estudio	24
4.2 Diseño experimental	25
4.3 Toma de muestras	25
4.3.1 Muestreo de suelo pre-cultivo	25
4.3.2 Muestreo de lodo residual	25
4.3.3 Muestreo de suelo post-cosecha	25
4.4 Análisis de laboratorio	26
4.4.1 Análisis físico-químicos del suelo	26
4.4.2 Determinación de actividades enzimáticas	27
4.4.2.1 Ureasa	27
4.4.2.2 Fosfatasa ácida y alcalina	27
4.4.2.3 $\beta$ -D glucosidasa	28
4.4.2.4 Catalasa	29
4.5 Análisis estadístico	29
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
5.1 Parámetros físico-químicos del suelo pre-cultivo y lodo residual	30
5.2 Propiedades físico-químicas del suelo muestreo post-cosecha	33
5.3 Actividad enzimática en suelo post-cosecha	37

5.3.1 Ureasa	37
5.3.2 Fosfatasa ácida y alcalina	39
5.3.3 $\beta$ -D glucosidasa	42
5.3.4 Catalasa	43
5.3.5 Correlación de la actividad enzimática con las propiedades físico-químicas del suelo post-cosecha	44
6. CONCLUSIONES	47
7. LITERATURA CITADA	49

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales clases de enzimas	11
Tabla 2. Tratamientos utilizados en el experimento	24
Tabla 3. Análisis físico-químicos realizados al suelo precultivo, post-cosecha y l y lodo residual	26
Tabla 4. Parámetros físicoquímicos del suelo precultivo	30
Tabla 5. Contenido de metales totales en suelo precultivo	31
Tabla 6. Parámetros químicos de LR	32
Tabla 7. Concentración de metales totales en lodo residual	33
Tabla 8. Propiedades físico-químicas del suelo post-cosecha	34
Tabla 9. Contenido de metales pesados en suelo post-cosecha	35
Tabla 10. Porcentaje de disponibilidad de metales pesados en suelo post-cosecha	36
Tabla 11. Actividad de la $\beta$ -D glucosidasa	42
Tabla 12. Actividad de la catalasa	43
Tabla 13. Coeficientes de correlación entre la actividad enzimática y propiedades físicas y químicas del suelo post-cosecha	41

## INDICE DE FIGURAS

Fig 1. Representación general del proceso catalítico	11
Fig 2. Localización del municipio de Xonacatlán	23
Fig. 3 Distribución de la parcela experimental	20
Fig. 4 Actividad de la ureasa en suelo post-cosecha	38
Fig. 5 Actividad de la fosfatasa ácida en suelo post-cosecha	39
Fig 6 Actividad de la fosfatasa alcalina en suelo post-cosecha	41

## RESUMEN

Las enzimas del suelo son importantes indicadores de la fertilidad del suelo al estar implicadas en la descomposición de la materia orgánica y en la disponibilidad de nutrimentos para la planta, además se han propuesto como indicadores de la calidad del suelo, debido a su alta sensibilidad a la presencia de contaminantes y prácticas de manejo del suelo. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad enzimática (ureasa, fosfatasa ácida y alcalina,  $\beta$ -D glucosidasa y catalasa) de un suelo agrícola sembrado de maíz (*Zea mays*) acondicionado con diferentes dosis de lodo residual ( $T_1$ : 18 t ha<sup>-1</sup> de lodo residual y  $T_2$ : 36 t ha<sup>-1</sup> de lodo residual). El estudio se realizó en una pradera experimental ubicada en el municipio de Xonacatlan, Estado de México, la toma de muestras se llevó a cabo según la metodología propuesta por Cochran 1977, a las muestras colectadas se les realizaron análisis físico-químicos conforme a la NOM-021 RECNAT 2000, así como el contenido de metales pesados (Cu, Ni, Cr, Zn y Cd), con el método 3050 de la EPA (Agency Protección Ambiental). La determinación de la actividad enzimática se realizó mediante métodos propuestos por diferentes investigadores (ureasa: Tabatai y Bremmer 1972 citado en Tabatai (1994), fosfatasa ácida y alcalina: Tabatai y Bremmer (1969) citado en Alef y Nanipieri (1995),  $\beta$ -D glucosidasa: Tabatai 1982 y catalasa: Jhonson y Temple (1964). Se observó que la adición de lodo residual (18 y 36 t ha<sup>-1</sup> lodo residual) incrementó la actividad enzimática de la ureasa, fosfatasa ácida y alcalina con respecto al suelo testigo (0 t ha<sup>-1</sup> lodo residual), por lo que se sugieren a estas enzimas como indicadores de

calidad de suelos con LR debido a que presentan una mayor sensibilidad a la aplicación de dosis de LR.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las enzimas del suelo son proteínas especializadas cuyo papel fundamental es catalizar reacciones químicas, transformándolas en productos que forman parte de los ciclos biológicos; liberadas por los microorganismos y plantas a través de secreción o lisis celular. En el suelo participan principalmente en la descomposición de la materia orgánica, estabilización de la estructura del suelo y en la liberación de nutrimentos, (Coyne, 2000; Dick *et al.*, 2000).

Los lodos residuales (LR) son residuos generados a partir del tratamiento de las aguas residuales que presentan un alto contenido de MO y nutrimentos como nitrógeno (N) y fósforo (P). Su aplicación a suelos de cultivo, es una práctica que se ha extendido y se considera una alternativa viable para su disposición debido a que puede mejorar las características físico-químicas del suelo (Martin del Campo, 1996).

La actividad enzimática puede modificarse con la adición de LR al suelo como lo reportan trabajos realizados por Antonious (2009) quien menciona un incremento en la actividad de las enzimas ureasa e invertasa al adicionar LR al suelo. Asimismo, Furczak y Joniec (2007) reportan un incremento en la actividad de las enzimas del suelo en función de la dosis de LR aplicada al suelo.

La importancia de este estudio radica en conocer la actividad enzimática cuando se aplica lodo residual como enmienda orgánica a un suelo de cultivo, ya que estas enzimas pueden indicar cambios en la calidad del suelo al ser sensibles a la presencia de contaminantes y prácticas de manejo agrícola.

## 2 ANTECEDENTES

### 2.1 Lodos residuales

Los lodos residuales (LR) son un subproducto derivado del tratamiento de las aguas residuales industriales o municipales y están compuestos de material orgánico producido por desechos industriales o domésticos. Su composición varía según el origen de las aguas donde son separados y el proceso de tratamiento que es llevado a cabo para obtenerlos (Wild, 1992; Martín del Campo, 1996; Guzmán y Campos, 2004).

Los LR industriales o municipales contienen un elevado porcentaje de humedad, materia orgánica (MO) y nutrimentos como nitrógeno (N) y fósforo (P) que son de utilidad para las plantas. Los LR contienen metales pesados tales como cobre (Cu), cadmio (Cd), plomo (Pb), zinc (Zn), manganeso (Mn), níquel (Ni) y mercurio (Hg), además de microorganismos patógenos que pueden resultar tóxicos para las plantas, animales y ser humano (Jurado *et al.*, 2004).

La disposición de LR es un problema económico y ambiental de las plantas tratadoras de agua, por lo tanto la búsqueda de opciones que aminoren este problema resulta de gran importancia. Los LR se pueden disponer a cielo abierto, en bosques erosionados y el mar, así también, se reducen mediante el proceso físico de incineración y pueden ser aplicados al suelo como fertilizantes en la agricultura (Tchobanoglous, 1994).

### 2.1.1 Aplicación de lodo residual en la agricultura

El uso de los LR como mejorador bioorgánico a suelos agrícolas, se presenta como la alternativa más conveniente para su disposición debido a que permite el aprovechamiento de un recurso de bajo costo que permite mejorar la relación costo-beneficio (Cuevas y Walter, 2004).

La aplicación de LR permite favorecer algunas propiedades físico-químicas del suelo, debido al aporte de MO, mejorando la estructura, porosidad, permeabilidad y retención hídrica del suelo; así mismo, incrementa la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y pH (Andrade *et al.*, 2000; Illera *et al.*, 2001), por lo que la aplicación a suelos agrícolas degradados, puede ayudar a recuperar la productividad, incrementando la disponibilidad de nutrimentos para la planta. (Cuevas y Walter, 2004; Aravena *et al.*, 2007).

Cuando se utilizan LR como mejoradores bioorgánicos se han encontrado buenos resultados. Por ejemplo, Ortiz *et al.* (1999) al aplicar dosis de 1 y 5 t ha<sup>-1</sup> de LR a un suelo de cultivo, encontraron un incremento en la producción de maíz, y un aumento en la cantidad de MO, N y P total y disponible. Por otra parte, Andrade *et al.* (2000), reportan un incremento en la concentración de N, P y K disponible, así también, un incremento en la producción de *Hordeum vulgare* y *Zea mays* cuando aplicaron dosis de 5, 10, 20 y 40 t ha<sup>-1</sup> de LR. Mosquera *et al.* (2000), llevaron a cabo un estudio utilizando LR proveniente de una industria láctea encontrando un incremento en la productividad de raigrás inglés y trébol blanco. Por su parte Diez *et al.* (1996), estudiaron el efecto de la incorporación de

lodos secundarios de la industria de celulosa al cultivo de trigo y ballica presentando un incremento (10 a 15%) en la producción de estos cultivos.

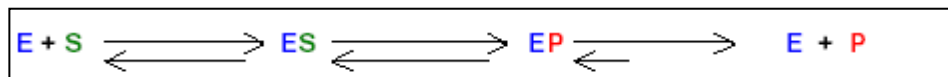
## 2.2 Enzimas

### 2.2.1 Generalidades

Las enzimas, son proteínas que actúan como catalizadores orgánicos disminuyendo la energía de activación, la cual se define como la energía necesaria para desestabilizar los enlaces químicos de un compuesto y de esta manera facilitar la formación de un producto al colocar los constituyentes químicos en una proximidad adecuada para que las reacciones se lleven a cabo, transformando los sustratos orgánicos en inorgánicos, sin presentar cambios en su estructura química (Coyne, 2000; Ceron y Melgarejo, 2005).

Entre sus características están el poseer una elevada eficacia catalítica que le permite aumentar millones de veces la velocidad de reacción recuperando su estado inicial al término del proceso catalítico. Las enzimas son catalizadores específicos, tanto para el tipo de reacción como para los compuestos sobre los que actúan (Lehninger, 2003; Lozano *et al.*, 2005).

La **Figura 1** muestra al sustrato (S) y la enzima (E) que se combinan para formar un complejo enzima-sustrato. Así, el sustrato se transforma para liberar el producto (P) y la enzima puede ser utilizada para catalizar reacciones adicionales (Coyne, 2000).



**Figura 1.** Representación general del proceso catalítico (Coyne, 2000).

La interacción enzima-sustrato es específica dado que la enzima presenta un centro de fijación al sustrato que se compone de cadenas laterales de aminoácidos dispuestos especialmente para fijarse a un sustrato específico (Devlin, 1999).

### 2.2.2 Clasificación de enzimas

La Unión Internacional de Biología Molecular y Bioquímica (IUBMB) ha establecido un sistema por el que todas las enzimas se incluyen en seis clases principales según el tipo de reacción catalizada como se muestra en el **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Principales clases de enzimas

Clase	Reacción	Enzimas
Oxidoreductasas	Reacciones de oxido-reducción (transferencia de electrones)	Catalasas, Deshidrogenasas
Hidrolasas	Ruptura hidrolítica de algún enlace del sustrato	Esterasas, Glicosidasas, Lipasas, Peptidasas, Fosfatasas y Ureasas.
Transferasas	Transferencia de un grupo químico de un donador a un aceptor	Transaminasas, Transmetilasas, Transglicosidasas.
Liasas	Ruptura de enlaces C-C, C-O, C-N y otros por eliminación o adición de grupos a dobles enlaces	Descarboxilasas, Desaminasas, Aldolasas.
Isomerasas	Catalizan un cambio en la configuración geométrica o espacial de una molécula	Triosafosfato isomerasas
Ligasas	Catalizan la unión de dos moléculas con el acoplamiento de la hidrólisis de un enlace de alta energía	Glutamina sintetetas

Fuente: Elaboración propia con información de IUBMB (Devlin, 1999)

Según este sistema cada enzima tiene asignado un número clasificador de cuatro dígitos y un nombre sistemático que identifica la reacción catalizada y al tipo de enlace en el que participa (Nelson y Cox, 2001).

### **2.2.3 Factores que afectan la actividad enzimática**

Estudios sobre la actividad enzimática en suelos han demostrado que la eficiencia con la que actúa una enzima sobre el sustrato es afectada por varios factores como: pH, MO y calidad de la misma, temperatura, textura, presencia de metales pesados; entre otros.

Las enzimas son afectadas por los valores de pH en suelo, debido a que valores extremadamente ácidos o básicos, pueden causar desnaturalización de la enzima, al modificar el estado de ionización de los grupos funcionales localizados en el centro activo de la enzima, que puede alterar el reconocimiento del sustrato y la reactividad de los sustratos implicados en la catálisis (Dick *et al.*, 2000; Quinteiro *et al.*, 2003; Berg, 2007). Normalmente la actividad de una enzima es máxima alrededor de un valor de pH determinado denominado pH óptimo, (aquel en el que el estado de ionización de los residuos de aminoácidos del centro activo son idóneos para el reconocimiento y la transferencia del sustrato) el cual suele estar para la mayoría de las enzimas próximo a la neutralidad (7), sin embargo existen enzimas cuyo pH óptimo es básico (tripsina) o ácido (pepsina) (Lozano *et al.*, 2005)

La adición de MO en suelo, modifica la actividad de las enzimas incrementando su actividad debido al aporte de sustratos enzimáticos que estimulan la producción de enzimas (Dick *et al.*, 2000; Quinteiro *et al.*, 2003).

La temperatura por su parte, afecta a las reacciones enzimáticas ya que elevadas temperaturas provocan una desnaturalización de las enzimas, lo que ocasiona que disminuya la concentración efectiva de la enzima y por tanto la velocidad de reacción (Li y Sarah, 2003). En general, las enzimas se inactivan a temperaturas comprendidas entre los 10° a 15° C y los 55°C a 60°C, sin embargo, existen excepciones, ya que algunas son estables y activas a temperaturas mayores (70 - 80°C) y próximas a los 0°C (García, 2010).

La textura es otro factor que afecta indirectamente la actividad enzimática por la influencia que tiene en el crecimiento microbiano y disponibilidad del sustrato, reflejándose en una menor síntesis de las enzimas en un suelo arcilloso (Li y Sarah, 2003; Melero *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2009).

La concentración de elementos traza o metales pesados también inhibe la actividad de algunas enzimas como la  $\beta$ -glucosidasas y  $\beta$ -galactosidasas, fosfatasas, arilsulfatasas y nitrato reductasa a través de la complejación del sustrato, por combinación con los grupos de proteína activos de las enzimas, por reacción del complejo enzima-sustrato (Senwo y Tabatai, 1999; Bandick y Dick, 1999).

Otros factores que afectan su actividad son el contenido de N y C orgánico, así como, la concentración de la enzima y sustrato (Dick *et al.*, 2000; Quinteiro *et al.*, 2003).

## 2.2.4 Origen e importancia de las enzimas en el suelo

En el suelo las enzimas son producidas por plantas, animales y microorganismos. Se encuentran asociadas con células viables (enzimas intracelulares) y fuera de las células (enzimas extracelulares). (Bandick y Dick, 1999; Askin y Kilsilkaya, 2005).

Las enzimas intracelulares juegan un rol central en los procesos de la vida y se pueden encontrar en el interior del citoplasma de células metabólicamente activas; también se encuentran en las células inactivas asociadas con células vegetativas, endosporas bacterianas, esporas fungales, quistes de protozoarios viables, protozoarios y algunas semillas de plantas; además están asociadas a los residuos de las células después de su muerte, pero sin presentar lisis (Yokiosho, 2005).

Las enzimas extracelulares (exoenzimas o abionticas) descritas por Skujins (1976) son secretadas al medio externo por los organismos vivos por lisis o muerte celular (Joachim *et al.*, 2008). Estas pueden encontrarse adsorbidas sobre las superficies arcillosas externas o internas y complejadas con los coloides húmicos a través de mecanismos de microencapsulación, formando copolímeros, entrapamiento o copolimerización durante la génesis de la MO (Rao *et al.*, 2000, Kinght y Dick, 2004; Acosta y Paolini, 2005). Cabe mencionar, que un bajo porcentaje de las enzimas que abandonan las células se encuentran estabilizadas, la mayoría son desnaturalizadas o degradadas por proteasas (Joachim *et al.*, 2008).

Las enzimas extracelulares, son importantes por que solubilizan o metabolizan sustratos, produciendo nutrimentos necesarios para los microorganismos y plantas. Además participan desintoxicando al ambiente y modificando el microambiente de la célula viva, mejorando la probabilidad de sobrevivencia celular (Bandick y Dick, 1999).

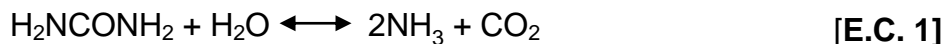
La importancia de las enzimas del suelo radica en las funciones que realizan, al participar estabilizando la estructura del suelo, el reciclaje de nutrimentos, descomposición de residuos orgánicos y formación de la MO. Además de que reflejan la actividad microbiana en el suelo actuando como indicadores de cambios en el suelo (Dick *et al.*, 2000; Joachim *et al.*, 2008).

En el suelo, se han detectado numerosas enzimas, pero solo se han evaluado hidrolasas como fosfatasas acidas y alcalinas, arilsulfatasas, celulasas, y ureasas, así como, oxidorreductasas como catalasas y deshidrogenasas, debido a su relación con la fertilidad del suelo y su participación en el proceso de descomposición de la MO y mineralización de los elementos C, N, P, S y (Narváez, 2008).

### **2.2.5 Ureasa**

La ureasa pertenece al grupo de las hidrolasas y es una enzima ampliamente distribuida en la naturaleza que se encuentra en los microorganismos, animales y vegetales responsable de la hidrólisis de urea formando dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y amonio ( $\text{NH}_3$ ) utilizando el mecanismo basado en la formación de carbonato como intermediario (Quinteiro *et al.*, 2003; Joachim *et al.*, 2008).

La reacción de la enzima ureasa [E.C. 1] se expresa de la siguiente manera:



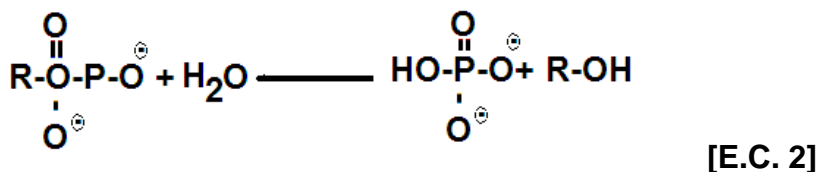
La actividad de ésta enzima, es resultado de la excreción de las raíces y la proliferación de microorganismos con la capacidad para sintetizarla (Tabatabai, 1994; Bachmeier *et al.*, 2002). La actividad de la ureasa es afectada por las concentraciones de los metales pesados, concentración de O<sub>2</sub> y disponibilidad de N en el suelo (Quinteiro *et al.*, 2003).

La actividad de la enzima ureasa incrementa con fertilización orgánica (adición de estiércol de vaca) y es afectada por las practicas de manejo por lo que se ha usado como un indicador de calidad del suelo (Gil *et al.*, 2005).

### 2.2.6 Fosfatasa ácida y alcalina

Las fosfatasas son enzimas inespecíficas que pertenecen al grupo de las hidrolasas y son las responsables de la mineralización del P orgánico a P inorgánico, hidrolizando esterres y anhídridos de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> reemplazando un grupo PO<sub>4</sub> por un grupo OH (García *et al.*, 2003; Criquet *et al.*, 2007).

El tipo de reacción general de las enzimas fosfatasas [E.C. 2] es la siguiente:



Estas enzimas se clasifican en dos tipos: fosfatasas ácidas y alcalinas dependiendo del pH en el que están presentes en el suelo (Dalurzo et al., 2000). Las fosfatasa ácidas (pH óptimo 4 a 6.5) son predominantes en suelos ácidos; mientras que las alcalinas (pH óptimo 9-10) se encuentran en mayor cantidad en suelos alcalinos (Narváez, 2008). Las fosfatasas ácidas, son producidas por los microorganismos y plantas superiores, mientras que las fosfatasas alcalinas, son sintetizadas principalmente por microorganismos (Speir y Ross, 1978; Tabatabai, 1994).

Estas enzimas son afectadas por el pH, temperatura, textura del suelo, disponibilidad de P y contenido de MO (García et al., 2000). Asimismo, su actividad puede ser estimulada por la presencia de sustrato y el producto final puede reprimir e inhibir la actividad de la fosfatasa (García et al., 2000).

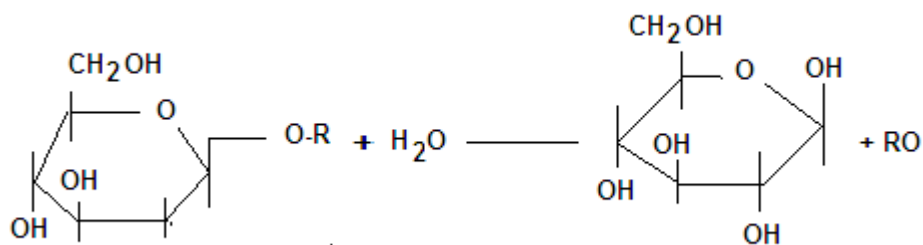
La actividad de las fosfatasas es de gran importancia, debido a que una gran cantidad de compuestos de fósforo orgánico presente en el suelo, se encuentran en forma de monoésteres y por su papel en la nutrición de las plantas al convertir el P orgánico a inorgánico que puede ser absorbido por la planta (Fernández et al., 2008).

Cabe destacar, que de manera general la actividad de la fosfatasa ácida es la más usada para estimar cambios en la calidad y cantidad de la MO debido a que es altamente sensible a prácticas de manejo y presencia de contaminantes. (Gil et al., 2005).

### 2.2.7 $\beta$ -D glucosidasa

La  $\beta$ -D glucosidasa pertenece al grupo de las glicosidasas, y es la responsable de la hidrólisis de compuestos de celulosa ( $\beta$  glucósidos) a glucosa presentes en la MO y en los residuos de las plantas en descomposición (Joachim *et al.*, 2008). Esta enzima juega un papel fundamental en la degradación de carbohidratos de bajo peso molecular en el suelo proporcionando sustratos orgánicos sencillos que pueden ser utilizados como fuente de energía para los microorganismos del suelo (García *et al.*, 2003; Joachim *et al.*, 2008).

La reacción de la glucosidasa [E.C. 3] se esquematiza de la siguiente manera:



[E.C. 3]

La  $\beta$ -D glucosidasa es muy sensible a cambios de pH en el suelo y ha sido propuesta como un indicador de la calidad de suelo debido a que cataliza el paso final en la biodegradación de la celulosa y el siguiente paso en la liberación de glucosa (fuente de energía para los microorganismos). Además es sensible a la presencia de contaminantes y cambios en el manejo del suelo modificando su actividad (Knight y Dick, 2004; García *et al.*, 2008).

### 2.2.8 Catalasa

La catalasa, es una enzima intracelular perteneciente al grupo de las oxidorreductasas que participa en el metabolismo oxidoreductor dentro del organismo; estando presente en todas las bacterias aeróbicas facultativas y ausente en las bacterias anaeróbicas obligadas. Se considera a esta enzima como un indicador de la actividad microbiana aeróbica e interviene en la respiración microbiana y se relaciona con la biomasa microbiana en el suelo fertilidad del mismo (Trasar *et al.*, 1999).

La reacción de la catalasa [E. C. 4] que descompone el peróxido liberando agua y oxígeno se presenta a continuación.



Esta enzima se ve afectada por el tipo de suelo, adición de MO, así como prácticas de manejo en el suelo y laboreo a largo plazo (Jhonson y Temple, 1964).

### 2.3 Lodo residual y actividad enzimática

Las enmiendas orgánicas que contienen LR aumentan la actividad de las enzimas en el suelo debido al aporte de MO y nutrientes. El LR contiene enzimas estabilizadas que ayudan a incrementar la fertilidad del suelo, sin embargo ciertos contaminantes como los metales pesados y compuestos orgánicos tóxicos modifican la composición y actividad de los microorganismos del suelo y por ende la actividad enzimática (Benítez *et al.*, 2000).

Los trabajos que tratan sobre la aplicación y la actividad enzimática reportan resultados contradictorios. Kingth *et al.* (1997) hacen mención de una disminución en la biomasa microbiana y actividad enzimática, esta última se ve modificada por la presencia de contaminantes en el suelo. Por otra parte, Sastre *et al.* (1996) y Barenjee *et al.* (1997) encontraron que el LR incrementa la actividad microbiana del suelo, respiración y la actividad enzimática (Kisilkaya y Bayrakli, 2005). Albiach *et al.* (2000) evaluaron el efecto de la aplicación de cinco enmiendas orgánicas encontrando un incremento en la biomasa microbiana y en las enzimas deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, fosfodiesterasa, arilsulfatasa y ureasa cuando la enmienda contiene LR. García *et al.* (2000) realizaron un estudio donde evaluaron el efecto anual y por espacio de 9 años de aplicación de LR composteado y abono orgánico sobre la actividad de las enzimas proteasa, glucosidasa, fosfatasa, ureasa, oxidorreductasas, y biomasa microbiana en un suelo agrícola, encontrando un incremento en las enzimas proteasa y glucosidasa así como en las oxidorreductasas y biomasa microbiana, mientras la fosfatasa y ureasa disminuyeron. Kilsilkaya y Baykarli (2005) evaluaron el efecto en la actividad de las enzimas  $\beta$ - glucosidasa, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa y ureasa al adicionar dosis de 0,100, 200 y 300 t ha<sup>-1</sup> de LR encontrando un incremento en las mismas. Asimismo, Ros *et al.* (2006) y Criquet *et al.* (2007) evaluaron el efecto de la adición de compostas de LR y abonos orgánicos encontrando un incremento en las enzimas fosfatasas.

## 2.4 Actividad enzimática como indicador de calidad del suelo

Doran y Parkin (1994) definen la calidad del suelo como la capacidad del suelo para funcionar dentro de los límites del ecosistema que sostienen la productividad biológica y mantienen la calidad del ambiente (Schoenholtz *et al.*, 2000).

La búsqueda de indicadores de calidad del suelo ha sido una de las principales prioridades en el ámbito de la Ecología del Suelo, durante las dos últimas décadas. La dificultad de esta tarea radica en que el suelo es una entidad dinámica con multitud de procesos biológicos y geoquímicos que muestran una elevada heterogeneidad espacial y temporal (Ochoa, 2007). Un indicador edáfico requiere cumplir con algunos de los siguientes criterios: i) describir procesos que ocurren en el sistema ii) integrar propiedades y procesos físico-,químicos y biológicos iii) ser accesible a muchos usuarios y aplicable a condiciones de campo, iv) reflejar atributos de sustentabilidad, v) que su medición pueda ser reproducible, vi) ser aplicable en amplio rango de sistemas y condiciones socioeconómicas, culturales y vii) ser sencillo de entender además de centrarse en aspectos prácticos (Moron, 2005, Dale *et al.*, 2008). La respiración, biomasa microbiana y actividades enzimáticas de un suelo son indicadores tempranos de estrés, haciéndolas idóneas para su uso en los diferentes programas de monitorización (Ochoa, 2007).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo general

Evaluar la actividad enzimática de ureasa, fosfatasa ácida y alcalina,  $\beta$ -D glucosidasa y catalasa como indicadores de cambios en la calidad de un suelo agrícola acondicionado con lodo residual al final de un ciclo de cultivo de maíz (*Zea mays*).

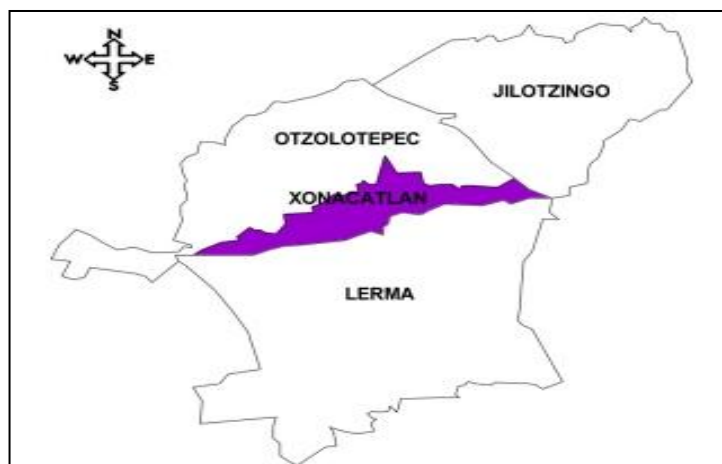
#### 3.2 Objetivos particulares

- Determinar la actividad enzimática de catalasa,  $\beta$ -D glucosidasa, ureasa, fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina de tratamientos y control.
- Determinar la influencia de parámetros químicos y físicos en la actividad enzimática de catalasa,  $\beta$ -D glucosidasa, ureasa, fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina de tratamientos y control.
- Establecer correlaciones entre los parámetros químicos y físicos del suelo y la actividad enzimática de catalasa,  $\beta$ -D glucosidasa, ureasa, fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina de tratamientos y control.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Zona de estudio

El estudio se llevó a cabo en una parcela perteneciente al municipio de Xonacatlán, el cual se encuentra localizado en la parte Norte del Estado de México en las siguientes coordenadas geográficas 19° 24' latitud norte y 99° 32' longitud oeste con una altitud de 2500 msnm. La **Figura 2** muestra la localización del municipio de Xonacatlán.



**Figura 2.** Localización del municipio de Xonacatlán (EMM, 2005)

El clima predominante de la región es templado subhúmedo con temperatura media anual de 12.4 °C y precipitación de 700-800 mm. El suelo se clasifica como Phaeozem háplico (INEGI, 2001). La vegetación presente está conformada por especies propias del bosque de pino y encino y algunos árboles frutales (EMM, 2005).

## 4.2 Diseño experimental

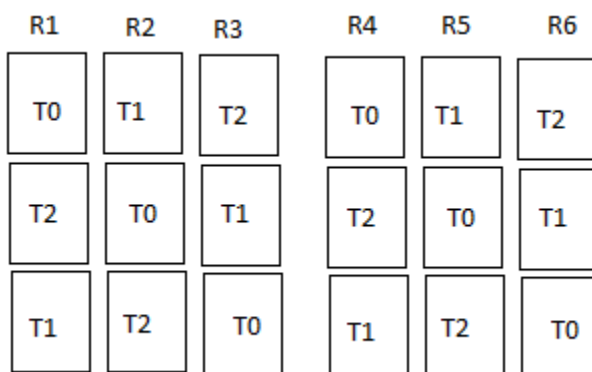
Las dosis de lodo residual estudiadas fueron, 18 y 36 t ha<sup>-1</sup> tomando en cuenta la cantidad de N aportada por el LR, de tal manera que los tratamientos quedaron como se observa en la tabla 2.

**Tabla 2.** Tratamientos utilizados en el experimento

Tratamiento	Tipo de fertilización	Dosis de LR
T <sub>0</sub>	Inorgánica N, P, K (150-75-30)	-
T <sub>1</sub>	LR	18 t ha <sup>-1</sup>
T <sub>2</sub>	LR	36 t ha <sup>-1</sup>

T<sub>0</sub>: testigo, T<sub>1</sub>: suelo + 18 t ha<sup>-1</sup> LR, T<sub>2</sub>: suelo + 36 ton ha<sup>-1</sup> LR

El estudio se realizó en una parcela (1306 m<sup>2</sup>) la cual fue dividida en 18 unidades experimentales (UE) de 64m<sup>2</sup>, con separación de 70 cm entre cada UE. Cada tratamiento contó con 6 repeticiones, distribuidos aleatoriamente como se muestra en la **Figura 3**.



**Figura 3.** Distribución de las parcelas experimentales

### **4.3 Toma de muestras**

#### **4.3.1 Muestreo de suelo pre-cultivo**

Se realizó un muestreo de suelo de cultivo en Abril de 2008, para evaluar las condiciones iniciales; colectándose de manera aleatoria once muestras utilizando una barrena de cilindro cerrado a una profundidad de 25-30 cm. Las muestras tomadas posteriormente fueron secadas, molidas, homogenizadas y tamizadas en una malla de 2 mm y colocadas en bolsas de polietileno para su posterior análisis físico-químico (Cochran, 1977).

#### **4.3.2 Muestreo del lodo residual**

El LR se obtuvo de la planta de lodos activados de origen municipal Planta Tratadora de Aguas Residuales "Toluca Oriente" perteneciente a Ecosistemas S. A. de C. V. El muestreo y las determinaciones químicas se realizaron como específica la Norma Oficial Mexicana (NOM-004- SEMARNAT 2002).

La incorporación de LR se realizó de manera manual en cada una de las unidades experimentales, distribuyendo el LR en el fondo del surco y colocando suelo para cubrir el LR. En el control se usaron como fuentes de N, P y fertilizantes químicos como la urea, el superfosfato de calcio triple y el cloruro de potasio respectivamente.

#### **4.3.3 Muestreo de suelo post-cosecha**

Las muestras pos-cosecha de suelo se obtuvieron en Octubre de 2008 y el tipo de muestreo que se utilizó fue de tipo preferencial (Cochran, 1977), tomando una muestra por triplicado de cada unidad experimental, para posteriormente elaborar una muestra compuesta, que se secó a la sombra por aproximadamente

15 días y fue molida, homogenizada, tamizada en una malla de 2 mm y guardada en bolsas de polietileno para su análisis físico y químico. Para la determinación de las actividades enzimáticas las muestras compuestas fueron tamizadas con una malla de 5 mm y mantenidas en refrigeración a 4°C.

#### 4.4 Análisis de laboratorio

##### 4.4.1 Análisis físico-químico del suelo

Para determinar las características del suelo se realizaron análisis fisicoquímicos antes de iniciar el estudio y después de recogida la cosecha. Dichos análisis se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3. Análisis físico-químicos realizados al suelo precultivo, post-cosecha y lodo residual.**

Parámetro	Norma	Análisis químico pre-cultivo	Análisis químico post-cosecha	Análisis químico LR
pH	AS-11-1997	X	X	X
MO	AS-14-1997	X	X	
CIC	AS-20-1997	X	X	
Ca <sup>+2</sup> , Mg <sup>+2</sup> , Na <sup>+</sup> y K <sup>+</sup>	AS-20-1997	X	X	
N	AS-16-1997	X	X	
P	AS-19-1997	X	X	
Cu, Zn, Ni, Pb y Cd Totales	3050 de la EPA (1988)	X	X	
Cu, Zn, Ni, Pb y Cd Disponibles	Lindsay y Norvell (1978)	X	X	
Textura	Bouyoucos (1963)	X	X	

\*Los análisis químicos del suelo se determinaron siguiendo la NOM 021 RECNAT 2000 (Diario oficial de la federación, 2001).

### **4.4.3 Determinación de actividades enzimáticas**

Las actividades enzimáticas se determinaron al final de la cosecha evaluándose las siguientes enzimas: ureasa, fosfatasa ácida y alcalina catalasa,  $\beta$ -D glucosidasasa.

#### **4.4.3.1 Ureasa**

La ureasa se determinó mediante el método propuesto por Tabatai y Bremmer (1972) citado en Tabatai (1994). Para ello se pesaron 2.5 g de suelo tamizado en malla de 2 mm y se colocaron en tubos de ensaye de 70 mL (se corrieron para cada suelo, una muestra blanco bajo el mismo procedimiento, sustituyendo con agua, el volumen de la solución de urea). Se agregaron 0.1 ml de tolueno y 4.5 ml de solución buffer THAM (Trishidroximetilaminometano), se agitaron por unos segundos para homogenizar y se agregaron 0.5 mL de urea 0.2 M se agitaron e incubaron a 37 °C por dos horas. Posteriormente se colocaron 15 mL de KCl-AgSO<sub>4</sub>, se dejaron enfriar y se aforaron a 25 ml de volumen con esta solución se mezclaron nuevamente y se determinó el amonio por arrastre de vapor.

#### **4.4.3.2 Fosfatasa ácida y alcalina**

Para la determinación de la fosfatasa ácida y alcalina se siguió el método propuesto por Tabatai y Bremmer (1969) citado en Alef y Nanipieri (1995). Para ello se pesaron 1 g de suelo de cada muestra y se colocaron en tubos de ensaye de 70 ml. Posteriormente se adicionaron 4 mL de MUB (Buffer Universal Modificado) pH 5 para la fosfatasa ácida o 11 para la fosfatasa alcalina. Se

agregaron 1 mL de *p*-nitrofenil fosfato se agitaron los tubos y se incubaron a 37 °C durante 1 h. Posteriormente se adicionó 1 mL de CaCl<sub>2</sub> y 4 mL de NaOH 0.5 M. La suspensión se agitó y filtró con papel Whatman no. 2 y se leyó a 400 nm de absorbancia. El *p*-nitrofenol se comparó con base en una curva de calibración.

#### **4.4.3.3 β-D glucosidasa**

La β- D glucosidasa se determinó siguiendo el método propuesto por Tabatai (1982). Para ello se pesaron 1 g de suelo de cada muestra en tubos de ensaye de 70 mL y se agregaron 4 mL de tampón MUB-HCl a pH 9 (previo ajuste con curva de neutralización) y 2 mL de agua destilada a las muestras y controles. A los patrones se agregaron 4 mL de tampón MUB-HCl a pH 9 y 1 mL de agua destilada. Se añadieron 1 mL de *p*-nitrofenil β-D glucopiranosido 25 mM a las muestras. El sustrato restante se transfirió a tubos de ensaye. Se agitaron los tubos y fueron incubados a 37 °C durante 1 h. Posteriormente se colocó 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0.5 M y 4 mL de la disolución extractante THAM (Trishidroximetilaminometano) -NaOH, pH 12 a los tubos de ensaye. A los controles y patrones se colocó 1 mL del sustrato incubado antes de agregar el CaCl<sub>2</sub> y el THAM pH 12. Los tubos se agitaron y la cantidad de *p*-nitrofenol liberado se determinó midiendo la absorbancia a 400 nm por referencia en la curva de calibración.

#### **4.4.3.5 Catalasa**

La catalasa fue determinada por el método Jhonson y Temple (1964) y medida del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> residual mediante permanganatometría. Para ello se pesaron 0.5 g de suelo en botes de polipropileno enseguida se añadieron 40 mL de agua destilada y se taparon. Se agitaron durante 30 min y se agregaron 5 mL de peróxido agitándose durante 10 min. Se colocaron 5 mL de ácido sulfúrico 1.5 M y se filtró. Posteriormente se tomó una alícuota de 25 mL y se valoró con permanganato 0.01 M.

#### **5.4.3.6 Análisis estadístico**

Los parámetros físico-químicos en suelo precultivo y LR se analizaron mediante estadística descriptiva.

Por su parte, los parámetros en suelo post-cosecha y las actividades enzimáticas fueron analizados aplicando una prueba de ANOVA y Tukey con un 0.05 con el objeto de determinar diferencias significativas entre tratamientos utilizando el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.0 (Montgomery, 2005).

Para determinar relaciones existentes entre parámetros físico-químicos del suelo post-cosecha y las actividades enzimáticas se realizó una correlación de Pearson que mide el grado de covariación entre distintas variables relacionadas linealmente (Montgomery, 2005).

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Parámetros físico-químicos del suelo precultivo y lodo residual

En este apartado se muestran los resultados de los parámetros físico-químicos evaluados al suelo precultivo.

En la **Tabla 4** se presentan los parámetros físico-químicos del suelo, donde se observa que el pH de la zona muestreada resulto medianamente ácido (5.1), según la clasificación de Porta *et al.* (2003). El pH encontrado indica una baja disponibilidad de Ca, Mg y P de acuerdo USDA, 1998. Por su parte, el contenido de MO se clasifico como medio y el porcentaje de N bajo según la NOM 021 REC/NAT-2000 El valor de la relación C/N indica un buen balance en los procesos de mineralización y humificación del suelo de acuerdo a Wild (1992).

**Tabla 4.** Parámetros físico-químicos del suelo precultivo.

Parámetro	Valores
pH	5.1
MO (%)	2.7
N total (%)	0.15
C/N (relación)	10.3
CIC (cmol kg <sup>-1</sup> )	23.1
Mg (cmol kg <sup>-1</sup> )	1.4
Na (cmol kg <sup>-1</sup> )	0.48
K (cmol kg <sup>-1</sup> )	0.75
Textura	F-ar-a

CIC: Capacidad de intercambio catiónico, F-ar-a: franco- arcillo- arenoso

La CIC se clasifica como categoría media. El contenido de cationes intercambiables es bajo según la NOM 021 REC/NAT 2000. La textura fue

clasificada como franco-arcillo-arenosa de acuerdo a Ortíz (1975). Este tipo de textura indica que la fracción arcillosa predomina sobre la arenosa y la limosa

El contenido de metales totales en suelo se muestra en la **Tabla 5** y presentó el siguiente orden decreciente: Zn<Ni<Pb<Cu, donde el Cd no fue detectado por el equipo.

**Tabla 5.** Contenido de metales totales en suelo precultivo.

Metales	Concentración (mgkg <sup>-1</sup> )	Límites permisibles (µg kg <sup>-1</sup> )
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	12.02	2-100
Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	44.38	10-300
Ni (mg kg <sup>-1</sup> )	22.42	10-100
Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	18.02	2-200
Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	ND*	0.01-7

ND: no detectable. Bohn *et al.*, 1993

El contenido de metales pesados encontrados en el suelo no rebasa los límites permisibles establecidos por Bohn *et al.*, (1993) lo que indica que el suelo no presenta problemas de contaminación por metales pesados.

En la **Tabla 6** se presentan los parámetros químicos encontrados en el LR y se observa que el pH (6.5) es ácido con tendencia a la neutralidad según Porta *et al.* (2003). Acosta *et al.* (2005) mencionan que el pH del LR aplicado al suelo debe ser cercano a la neutralidad (pH=7) para no afectar al sistema biológico, el crecimiento de las plantas y la estructura del suelo.

**Tabla 6.** Parámetros químicos de LR

Parámetros	Valores
Ph	6.5
MO (%)	43.9
N total (%)	4.1
Ca (cmol kg <sup>-1</sup> )	20.60
Na (cmol kg <sup>-1</sup> )	5.88
K (cmol kg <sup>-1</sup> )	3.31
Mg (cmol kg <sup>-1</sup> )	2.3

El porcentaje de MO (43.9%) puede considerarse alto en relación a otros LR aplicados a suelos de cultivo como el utilizado por Hernández *et al.* (2005); Martínez de la Cerda *et al.* (2004) y Salcedo *et al.* (2004) quienes reportan porcentajes de MO de 17.8%, 20% y 21.71% respectivamente. El contenido de N<sub>total</sub> fue de 4.1%. Por su parte los cationes intercambiables presentaron concentraciones en el siguiente orden decreciente: Ca < Na < K < Mg (20.60, 5.88, 3.31 y 2.3 cmol kg<sup>-1</sup>). El N, Ca, K y Mg son nutrimentos esenciales en la nutrición de las plantas que al encontrarse en el LR le confiere un valor como fertilizante orgánico.

El contenido de metales pesados totales en el LR **Tabla 7** presentó el siguiente orden decreciente: Zn < Cu < Pb < Ni, el Cd no fue detectado.

Los metales Zn y Cu se encuentran en mayor concentración en el LR y son microelementos importantes en la nutrición de las plantas (Luoé, 1988). Mientras que Pb, Ni presentaron bajas concentraciones, el Cd no fue detectado siendo este metal potencialmente tóxico para las plantas y ser humano (Jurado *et al.*, 2004).

**Tabla 7.** Concentración de metales pesados totales en LR

Metal	Concentración (mgkg <sup>-1</sup> )	Límites máximos permisibles NOM 004 SEMARNAT (2002)	
		Excelentes (mgkg <sup>-1</sup> )	Buenos (mgkg <sup>-1</sup> )
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	278	1500	4300
Zn(mg kg <sup>-1</sup> )	605	2800	7500
Ni(mg kg <sup>-1</sup> )	8.4	420	420
Pb(mg kg <sup>-1</sup> )	84.43	300	840
Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	ND*	39	85

ND: no detectado

De acuerdo a la NOM 004 SEMARNAT (2002) el contenido de metales pesados encontrados en el LR no rebaso los límites máximos permisibles y puede ser aplicado a suelos de cultivo.

## 5.2 Propiedades físico-químicas del suelo post-cosecha

Este apartado presenta las propiedades físico-químicas evaluadas en el suelo post-cosecha. La **Tabla 8** muestra que el pH es medianamente ácido para T<sub>1</sub> (5.25±0.12), T<sub>2</sub> (5.28±0.16) y T<sub>3</sub> (5.31±0.26) según la clasificación propuesta por Porta *et al.* (2003) no encontrándose diferencias significativas entre tratamientos. Lo anterior indica que la adición de LR aplicada al suelo, no modificó este parámetro en los tratamientos, dado que el suelo tiene una alta capacidad buffer que le permite recuperar su estado inicial. Por otra parte, el pH es una variable de importancia en la actividad de las enzimas dado que puede modificar la estructura terciaria de las enzimas importante para la catálisis enzimática (Berg, 2007).

**Tabla 8.** Propiedades físico-químicas del suelo post-cosecha

Parámetro	T <sub>0</sub>	d. e.	T <sub>1</sub>	d. e.	T <sub>2</sub>	d. e.
pH	5.25 <sup>a</sup>	0.12	5.28 <sup>a</sup>	0.16	5.31 <sup>a</sup>	0.26
MO (%)	1.28 <sup>a</sup>	0.40	1.85 <sup>a</sup>	0.44	<b>2.5<sup>b</sup></b>	0.56
N total (%)	0.01 <sup>a</sup>	0.009	0.01 <sup>a</sup>	0.004	0.02 <sup>a</sup>	0.006
CIC (cmol kg <sup>-1</sup> )	22.61 <sup>a</sup>	2.27	22.56 <sup>a</sup>	2.02	22.4 <sup>a</sup>	3.08
Arcilla (%)	32.06 <sup>a</sup>	2.03	30.92 <sup>a</sup>	1.36	26.98 <sup>a</sup>	1.78
Arena (%)	47.6 <sup>a</sup>	9.48	47.88 <sup>a</sup>	1.53	47.23 <sup>a</sup>	2.64
Limo (%)	20.28 <sup>a</sup>	7.45	21.19 <sup>a</sup>	4.59	26.48 <sup>a</sup>	6.90
Textura	F-ar-a	-----	F-ar-a	-----	F-ar-a	-----

\*F-ar-a=franco-arcillo-arenoso, d.e. desviación estándar, T<sub>0</sub>= Control, T<sub>1</sub>= LR 18 t ha<sup>-1</sup>, T<sub>2</sub>= LR 36 t ha<sup>-1</sup>. Literales diferentes por columnas indican diferencias significativas. p<0.05.

El porcentaje de MO en los tratamientos se clasifico como bajo según la NOM 021 RECNAT 2000, presentando diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (F=5.31, p<0.05); en donde el mayor porcentaje le correspondió a T<sub>2</sub> (2.5±0.56 %) con respecto a T<sub>1</sub> (1.85±0.44 %) y T<sub>0</sub> (1.28±0.40 %) esto se puede atribuir a que T<sub>2</sub> fue el tratamiento con mayor dosis de LR aportando una mayor cantidad de MO al suelo. Estudios similares realizados por Cuevas y Walter, 2004; Aravena *et al.* (2007); Ortiz *et al.* (1999) reportan un incremento de MO en suelo por adición de LR. El incremento en el porcentaje de la MO influye de manera positiva en la actividad enzimática porque incrementa los sustratos disponibles para las enzimas del suelo (Ochoa, 2007).

El N<sub>total</sub>, la CIC y el contenido de arcilla limo y arena no presentaron diferencias entre tratamientos. El contenido de N se clasifico como bajo y la CIC como media según la NOM 021 RECNAT 2000. Asimismo el contenido de arcilla, limo y arena no presentó diferencias entre tratamientos.

Por su parte, la textura en los tratamientos fue franco arcillo arenoso según la clasificación de Ortiz (1975).

La **Tabla 9** muestra el contenido de metales pesados totales (Cu, Zn, Ni, Pb y Cd) presentes en el suelo en el muestreo post-cosecha. En donde el Cu presentó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $F=14.86$ ,  $p<0.05$ ) encontrándose una mayor concentración en  $T_2$  ( $18.93\pm 3.77$  mg  $kg^{-1}$ ) con respecto a  $T_1$  ( $14.94\pm 2.71$  mg  $kg^{-1}$ ) y  $T_0$  ( $11.89\pm 2.92$  mg  $kg^{-1}$ ). Asimismo, el Zn presentó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $F=14.18$ ,  $p<0.05$ ) donde la mayor concentración le correspondió a  $T_2$  ( $55.18\pm 9.33$  mg  $kg^{-1}$ ) con respecto a  $T_1$  ( $45.46\pm 7.60$  mg  $kg^{-1}$ ) y  $T_0$  ( $37.78\pm 6.94$  mg  $kg^{-1}$ ).

**Tabla 9.** Contenido de metales pesados totales y disponibles en suelo post-cosecha

Metal	Totales			Disponibles		
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Cu(mg $kg^{-1}$ )	11.89 <sup>a</sup>	14.94 <sup>b</sup>	18.93 <sup>c</sup>	<b>0.83<sup>a</sup></b>	<b>1.41<sup>b</sup></b>	<b>1.83<sup>b</sup></b>
Zn(mg $kg^{-1}$ )	37.78 <sup>a</sup>	45.46 <sup>b</sup>	55.18 <sup>c</sup>	<b>1.91<sup>a</sup></b>	<b>2.84<sup>a</sup></b>	<b>5.74<sup>b</sup></b>
Ni(mg $kg^{-1}$ )	16.83 <sup>a</sup>	17.36 <sup>a</sup>	17.09 <sup>a</sup>	<b>0.15<sup>a</sup></b>	<b>0.17<sup>a</sup></b>	<b>0.22<sup>a</sup></b>
Pb(mg $kg^{-1}$ )	16.04 <sup>a</sup>	17.23 <sup>a</sup>	17.44 <sup>a</sup>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>
Cd(mg $kg^{-1}$ )	ND	ND	ND	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>

d.e. desviación estándar,  $T_0$ = Control,  $T_1$ = LR 18 t  $ha^{-1}$ ,  $T_2$ = LR 36 t  $ha^{-1}$ , ND. No detectable. Literales diferentes por columnas indican diferencias significativas.  $p<0.05$ .

El incremento en el contenido de los metales Cu y Zn en los tratamientos con dosis de LR, puede ser atribuido al aporte de estos metales por parte de LR el cual contenía grandes concentraciones de Cu y Zn. Por su parte, los contenidos de Ni y Pb no presentaron diferencias significativas entre tratamientos y el Cd no fue detectado. El contenido de los metales pesados totales (Cu, Zn, Ni, Pb y Cd) en la etapa post-cosecha no rebasó los límites permisibles de acuerdo a Bohn *et al.* (1993).

En lo referente al contenido de metales disponibles por tratamiento se encontró que para el Cu no existen diferencias significativas entre los tratamientos que contenían LR (T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub>), sin embargo si se encontraron diferencias (F=8.51 p<0.05) con el tratamiento testigo o control (T<sub>0</sub>) como se observa en la **Tabla 9**. Por su parte, el Zn presentó diferencias significativas (F=8.15 p<0.05) siendo diferente el tratamiento con mayor dosis de LR (T<sub>2</sub>) con respecto a T<sub>0</sub> y T<sub>1</sub>.

El contenido de metales totales y disponibles, permite informar de los cambios que se pueden presentar en los procesos bioquímicos del suelo que pueden afectar la actividad enzimática, debido a que los metales pueden provocar efectos desnaturalizantes en las proteínas además de competir con los metales involucrados en la formación del complejo enzima-sustrato (Gianfreda *et al.*, 2005).

En la **Tabla 10**. se presentan los porcentajes de biodisponibilidad para los metales Cu, Zn, Ni, Cd y Pb. En donde se observa que el porcentaje incremento en T<sub>2</sub> con respecto a T<sub>0</sub> y T<sub>1</sub>.

**Tabla 10.** Porcentaje de disponibilidad de metales pesados (suelo post-cosecha)

<b>Metal</b>	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>
Cu(%)	7.11	9.53	9.75
Zn(%)	6.85	6.21	9.89
Ni (%)	0.89	1.01	1.28
Pb (%)	----	----	----
Cd (%)	----	----	-

T<sub>0</sub>= Control, T<sub>1</sub>= LR (18 t ha<sup>-1</sup>), T<sub>2</sub>=LR (36 t ha<sup>-1</sup>).

El incremento en la biodisponibilidad en los metales Cu y Zn puede resultar beneficioso para las plantas al ser microelementos importantes en la nutrición de las mismas (Loué, 1988)

### **5.3 Actividad enzimática en suelo post-cosecha**

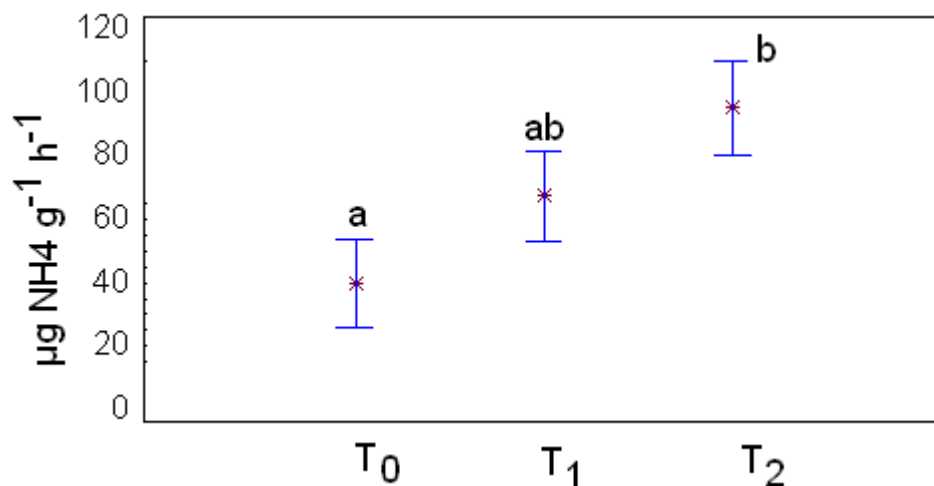
A continuación se presentan los resultados obtenidos con respecto a la actividad de las enzimas catalasa, ureasa, fosfatasa ácida, alcalina y  $\beta$ -D glucosidasa en los tratamientos en la etapa post-cosecha.

#### **5.3.1 Ureasa**

Con respecto a la actividad de la enzima ureasa **Fig 4** se observa que su actividad se modificó en los tratamientos en el muestreo post-cosecha, encontrándose diferencias significativas entre tratamientos ( $F=3.69$ ,  $p<0.05$ ). El valor más alto de actividad de la ureasa le correspondió a  $T_2$  ( $95.2 \mu\text{g NH}_4 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) con respecto a  $T_1$  ( $67.32 \mu\text{g NH}_4 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) y  $T_0$  ( $39.78 \mu\text{g NH}_4 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ).

El incremento de la actividad de la ureasa en  $T_1$  y  $T_2$  que contienen LR, se atribuye al contenido MO en el LR, que produjo una reactivación de las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo, estimulando la proliferación microbiana y la actividad metabólica, como consecuencia de aportes de nuevas fuentes lábiles de carbono que sirvieron como sustrato a la biota del suelo (García, 2001). Por su parte, la actividad de la biomasa microbiana facilita los procesos de descomposición y mineralización del material orgánico que es depositado en la superficie del suelo, lo cual genera mayor cantidad de sustratos y compuestos

nitrogenados que favorecen el accionar de la ureasa y de otras enzimas capaces de hidrolizar  $\text{NH}_3$  (Alvear *et al.*, 2007).

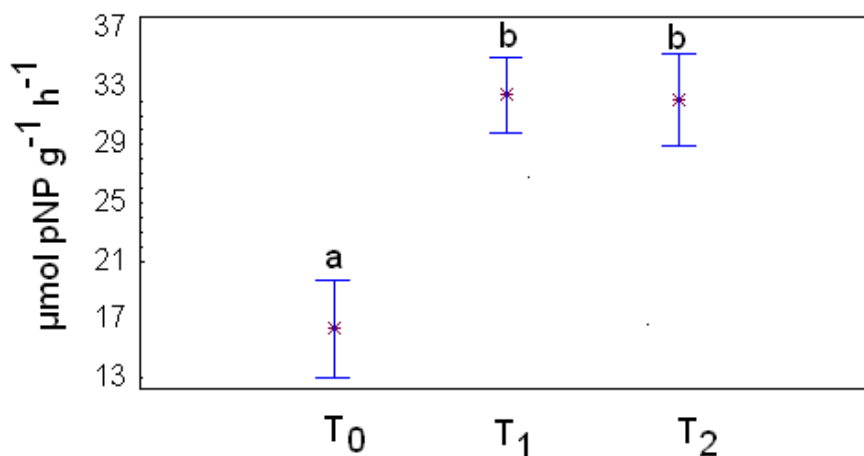


**Fig 4.** Actividad de la enzima ureasa en los tratamientos muestreo post-cosecha. T<sub>0</sub>= Control, T<sub>1</sub>= LR 18 t ha<sup>-1</sup>, T<sub>2</sub>= LR 36 t ha<sup>-1</sup>. Literales diferentes indican diferencias significativas (p<0.05).

Los resultados encontrados coinciden con investigaciones realizadas por Frankenberger, *et al.* (1983) quienes mencionan que altas dosis de LR incrementan la actividad de la enzima ureasa, al realizar un estudio a nivel de laboratorio en donde evaluaron cinco dosis de LR. Asimismo Albiach *et al.* (2000) encontraron un incremento en la actividad de esta enzima en el tratamiento que contenía dosis de 24 t ha<sup>-1</sup> de LR. Perotti *et al.* (2008) por su parte reportan, un incremento en la actividad de la ureasa y deshidrogenasa al adicionar dosis de 0, 3, 6 y 12 t ha<sup>-1</sup> de biosólidos en dos suelos Argiúdoles. Asimismo, Gascó *et al.* (2004) encontraron un incremento en la actividad de las enzimas fosfatasa y ureasa al aplicar urea al 35.5% y LR composteado a un suelo Gypsisol.

### 5.3.2 Fosfatasa ácida y alcalina

La actividad de la fosfatasa ácida se presenta en la **Fig 6** y se observa que presentó diferencias significativas ( $F=8.43$ ,  $p<0.05$ ) entre tratamientos, encontrando la mayor actividad en  $T_2$  y  $T_1$  ( $32.07$  y  $32.39 \mu\text{mol pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  respectivamente) con respecto a  $T_0$  ( $16.36 \mu\text{mol pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). De lo anterior se puede inferir que la adición de las dosis de LR tuvo efecto sobre la actividad de esta enzima. El incremento en la actividad de la fosfatasa ácida en  $T_1$  y  $T_2$  que contienen dosis de LR puede atribuirse a la adición de MO por parte de LR que puede contener enzimas intra y extracelulares que estimulan la actividad microbiana (Tejeda *et al.*, 2006). Singh y Agrawal (2008) mencionan que el incremento en la actividad enzimática es debido al aumento de la actividad microbiana estimulada por el alto contenido de nutrientes y MO contenido en el LR.



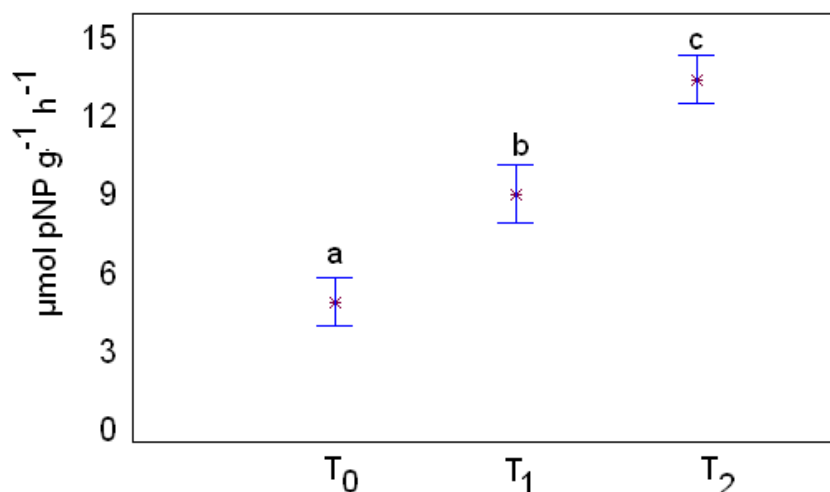
**Fig 6.** Actividad de la fosfatasa ácida en los tratamientos muestreo post-cosecha.  $T_0$ = Control,  $T_1$ = LR  $18 \text{ t ha}^{-1}$ ,  $T_2$ = LR  $36 \text{ t ha}^{-1}$ . Literales diferentes indican diferencias significativas ( $p<0.05$ ).

La fosfatasa ácida ha sido ampliamente usada para estimar cambios en la calidad del suelo, debido a su sensibilidad a la presencia de contaminantes y ha sido considerada como un buen índice de calidad y cantidad de MO en suelo (Gil *et al.*, 2005).

Por su parte, la fosfatasa alcalina (**Fig. 7**) presentó diferencias significativas ( $F=21.23$ ,  $p<0.05$ ) entre tratamientos encontrando una mayor actividad en  $T_2$  ( $13.44 \mu\text{mol pNP g}^{-1}$ ) con respecto a  $T_1$  ( $9.05 \mu\text{mol pNP g}^{-1}$ ) y  $T_0$  ( $4.91 \mu\text{mol pNP g}^{-1}$ ).

El incremento en la actividad de la fosfatasa alcalina puede ser atribuido a la dosis de LR adicionada y al aporte de MO por parte del LR. De acuerdo con García *et al.* (1993) y Kilsilkaya y Baykarli (2005) la MO contenida en el LR presentó una alta cantidad de sustratos enzimáticos que se encuentran en formas fácilmente disponibles lo que estimula la producción de enzimas y el crecimiento microbiano (Néble *et al.*, 2007).

Al comparar la actividad enzimática de la fosfatasa ácida y alcalina. La primera es mayor que la segunda, debido a que el pH del suelo es medianamente ácido, Fernández *et al.* (2008) mencionan que las fosfatasas ácidas predominan en suelos con pH ácido.



**Fig 7.** Actividad de la fosfatasa alcalina en los tratamientos muestreo post-cosecha. T<sub>0</sub>= Control, T<sub>1</sub>= LR 18 t ha<sup>-1</sup>, T<sub>2</sub>= LR 36 t ha<sup>-1</sup>. Literales diferentes indican diferencias significativas (p<0.05).

Estos resultados coinciden con los estudios reportados por Antolin *et al.* (2005) quienes reportan un incremento en la actividad de las fosfatasas en un estudio a nivel de campo para evaluar el efecto de aplicaciones de LR en las actividades enzimáticas. Por su parte, Kilsilkaya y Baykarli (2005) reportan un incremento en la actividad de las fosfatasas al adicionar dosis de 0, 100, 200 y 300 t ha<sup>-1</sup> de LR a un suelo. Asimismo, Criquet *et al.* (2007), quienes realizaron un estudio en la actividad de las fosfatasas en suelos del mediterráneo donde aplicaron repetidamente LR, encontrando un incremento en esta enzima.

Cabe destacar que la actividad de la fosfatasa ácida incremento con respecto a la dosis de LR adicionada Baran and Bielińska (1998) and Baran *et al.* (1999) reportan una alta correlación entre la dosis de LR y la actividad enzimática del suelo (Jezińska y Frac, 2008).

### 5.3.3 $\beta$ -D glucosidasa

La  $\beta$ -D glucosidasa como se observa en la **Tabla 11** no presentó diferencias significativas entre los tratamientos.

**Tabla 11.** Actividad de la  $\beta$ -D glucosidasa

Tratamiento	$\beta$ -D glucosidasa ( $\mu\text{mol pNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	d. e.
T <sub>0</sub>	1.37 <sup>a</sup>	0.17
T <sub>1</sub>	1.83 <sup>a</sup>	0.41
T <sub>2</sub>	1.35 <sup>a</sup>	0.20

d.e. desviación estándar, T<sub>0</sub>= Control, T<sub>1</sub>= LR 18 t ha<sup>-1</sup>, T<sub>2</sub>= LR 36 t ha<sup>-1</sup>. Literales diferentes por filas indican diferencias significativas (p<0.05).

La ausencia de diferencias significativas entre tratamientos puede atribuirse al incremento en el contenido de los metales Cu y Zn totales y disponibles en los tratamientos que contenían dosis de LR, que pudieron haber inhibido la actividad de esta enzima. García *et al.* (2003) mencionan que la  $\beta$ -D glucosidasa es altamente sensible a la presencia de contaminantes en el suelo por lo que su actividad se ve modificada. Por otra parte Geiger *et al.* (1998) mencionan que el Cu presenta alta afinidad por la  $\beta$ -D glucosidasa por lo que inhibe su actividad.

Los valores reportados en esta investigación son superiores a los reportados por Lakhdar *et al.* (2008) en un estudio a nivel de laboratorio donde evaluaron el efecto de la adición de 13.3 y 26.6 g kg<sup>-1</sup> dosis de LR en las actividades enzimáticas de un suelo salino.

Cabe destacar que los valores reportados en esta investigación se encuentran dentro del rango reportado por García *et al.*, 2003 quienes reportan un rango de 0.187 a 2.115  $\mu\text{mol PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

### 5.3.4 Catalasa

La actividad de la enzima catalasa en los tratamientos no presentó diferencias significativas entre tratamientos (**Tabla 12**). Sin embargo, sigue una tendencia, siendo mayor en T<sub>2</sub> (0.95 μmol O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) seguido de T<sub>0</sub> y T<sub>1</sub> (0.76 y 0.72 μmol O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> respectivamente).

Con lo anterior, se deduce que la dosis de LR adicionada al suelo no tuvo efecto sobre la actividad de esta enzima, Estudios de Gawronska *et al.* (1992) indican que, esta enzima es sensible a prácticas como el monocultivo sostenido por largos periodos de tiempo (Alvear *et al.*, 2006). Esto pudo haber originado cambios en la estructura de las comunidades microbianas del suelo descendiendo de forma general las poblaciones de los microorganismos aerobios responsables de esta actividad (García, 2001).

**Tabla 12.** Actividad de la enzima catalasa

Tratamiento	Catalasa (μmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	d.e.
T <sub>0</sub>	0.72 <sup>a</sup>	0.02
T <sub>1</sub>	0.76 <sup>a</sup>	0.02
T <sub>2</sub>	0.95 <sup>a</sup>	0.01

d.e. desviación estándar, T<sub>0</sub>= Control, T<sub>1</sub>= LR 18 t ha<sup>-1</sup>, T<sub>2</sub>= LR 36 t ha<sup>-1</sup>. Literales diferentes por filas indican diferencias significativas (p<0.05).

Otro factor que pudo haber afectado la actividad de la enzima catalasa fue el incremento de Cu en T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub>. Mateos y Carcedo (1988) reportan una inhibición en la actividad de esta enzima con el incremento de Cu en un estudio en donde se evaluó la influencia de metales pesados y LR en las enzimas deshidrogenasa y catalasa.

Los valores encontrados en este estudio son inferiores a los reportados por Alvear *et al.* (2006) quienes reportan rangos de 2,31 a 2,99  $\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  para un Alfisol al Sur de Chile, sin embargo. estos resultados se encuentran dentro del rango reportado por García *et al.* (2003) quienes mencionan un rango de la actividad para esta enzima de 0.60-1.50  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  para suelo agrícola, utilizando el método de Johnson y Temple (1964).

### **5.3.5 Correlaciones de la actividad enzimática y las propiedades físico-químicas del suelo post-cosecha.**

Las correlaciones presentes entre los parámetros físicos y químicos en suelo y las actividades enzimáticas se muestran en la **Tabla 13**. En donde el pH correlacionó negativamente con la enzima ureasa ( $r=-0.57$ ,  $p<0.05$ ). Shahinrokhsar *et al.* (2008) mencionan que la actividad de esta enzima disminuye con el incremento del pH en suelo. Por su parte. Montero *et al.* (2009), quienes evaluaron la actividad ureasica en suelos de la Ciudad de Buenos Aires que mencionan una correlación negativa entre la enzima y el pH en suelo. Por su parte.

Asimismo el pH se correlacionó positivamente con la fosfatasa alcalina ( $r=0.53$ ,  $p<0.05$ ) lo que puede ser atribuido a que la fosfatasa presenta una dependencia con el pH presente en el suelo (Garcia *et al.*, 2000)

La MO se correlacionó positivamente con las fosfatasa ácida y alcalina ( $r=0.59$   $p<0.01$  y  $r=0.55$   $p<0.05$  respectivamente), lo que coincide con lo reportado por Ross *et al.* (2006) quienes mencionan una relación directa entre estas dos

enzimas y el contenido de MO del suelo. Asimismo, Chang *et al.* (2008) encontraron correlaciones altamente significativas entre la fosfatasa ácida y la MO del suelo. Por su parte Bergstrom *et al.* (1998) mencionan que las fosfatasas podrían tomarse como indicadores de la MO del suelo.

**Tabla 13.** Coeficientes de correlación entre las actividades enzimáticas y propiedades físico-químicas del suelo post-cosecha.

Parámetros	Glucosidasa	Ureasa	Fosfatasa acida	Fosfatasa alcalina
pH	----	-0.57 (p<0.05)	----	0.53 (p<0.05)
MO (%)	----	----	0.59 (p<0.01)	0.55 (p<0.05)
Arena	-0.56 (p<0.05)	----	----	----
Cu total	0.51 (p<0.05)	----	----	0.73 (p<0.01)
Zn total	----	----	----	0.77 (p<0.01)
Ureasa	0.54 (p<0.05)	----	----	----
Cu disponible		----	----	0.5926 (p<0.01)

La glucosidasa presentó una correlación negativa con el porcentaje de arena ( $r=-0.56$ ,  $p<0.05$ ) que coincide con lo reportado por Gianfreda *et al.* (2005), quienes al evaluar dos sitios agrícolas al Sur de Italia encontraron una correlación negativa entre la glucosidasa y el porcentaje de arena.

El Cu y Zn correlacionaron con la fosfatasa alcalina ( $r=0.73$ ,  $p<0.01$  y  $r=0.77$ ,  $p<0.01$  respectivamente) que coincide con lo reportado por Wagner (2004) quien

encontró correlaciones positivas entre los metales Cu y Zn y las actividades de las enzimas: fosfatasa, ureasa, proteasa y  $\beta$ -D glucosidasa al realizar una investigación sobre indicadores de suelos forestales en Galicia España. Sin embargo, el efecto de los metales pesados en las enzimas puede variar considerablemente porque dependen de las propiedades físicas y químicas del suelo tales como el contenido de MO y arcilla, así como, enzima involucrada (Gianfreda *et al.*, 2005). Asimismo la fosfatasa alcalina presentó correlación positiva con el contenido de Cu disponible ( $r=0.59$ ,  $p<0.01$ ).

Con relación a las enzimas evaluadas la glucosidasa y ureasa se correlacionaron ( $r=0.54$ ,  $p<0.05$ ). Jiménez *et al.* (2002) encontraron una alta correlación entre estas dos enzimas al evaluar parámetros fisicoquímicos, bioquímicos y biológicos de suelos con diferentes formas de manejo.

## **6. CONCLUSIONES**

Con base en los resultados obtenidos en donde se midieron propiedades físico-químicas al suelo post-cosecha (pH, materia orgánica, nitrógeno total, capacidad de intercambio catiónico, textura y metales totales y disponibles) y actividades enzimáticas se concluye que:

Los parámetros del suelo  $N_{total}$ , capacidad de intercambio catiónico porcentaje de limo y arcilla no presentaron influencia sobre la actividad de las enzimas evaluadas.

El contenido de materia orgánica influyó positivamente en la actividad de las enzimas ureasa y fosfatasa ácida y alcalina.

El contenido de metales pesados totales y disponibles (Cu, Zn, Ni, Pb y Cd) presente en el suelo de los tratamientos, no inhibió la actividad de las enzimas ureasa, fosfatasa ácida y alcalina.

La actividad de la enzima  $\beta$ -D glucosidasa fue inhibida por las concentraciones de los metales Cu y Zn encontrados en el suelo post-cosecha.

La dosis de 18 y 36 t ha<sup>-1</sup> LR aplicado incrementó significativamente la actividad de las enzimas ureasa, fosfatasa ácida y alcalina.

La dosis de LR aplicado al suelo no modificó la actividad de las enzimas catalasa y  $\beta$ -D glucosidasa en los tratamientos con lodo residual con respecto al testigo..

La MO correlacionó positivamente con la actividad de las enzimas fosfatasa ácida y alcalina.

Las enzimas ureasa, fosfatasa acida y alcalina se pueden proponer como indicadores de calidad del suelo, porque su actividad se modificó cuando se adicionó LR además de correlacionar con parámetros químicos del suelo como MO y metales pesados Cu y Zn

## **7. Literatura citada**

- Acosta, Y. y Paolini, J. 2005. Actividad de la enzima deshidrogenasa en un suelo calciorthids enmendado con residuos orgánicos. *Agr. Trop.* 55(2): 217-232
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F. y Ingelmo, F. 2000. Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural Soil. *Biores. Technol.* 75(1):43-48.
- Alef, K. y Nanipieri, P. 1995. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry.* Academic Press, London. 575 pp.
- Alvear, M., Pino, M., Castillo, C., Trasar, C. y Gil, F. 2006. Efecto de la cero labranza sobre algunas actividades biológicas en un alfisol del sur de Chile. *C. Suelo Nutr. Veg.* 6 (2): 38-53
- Alvear, M., Reyes, F., Morales, A. y Arriagada, C. 2007. Actividad biológica y agregados estables al agua en dos tipos de formaciones vegetales de un bosque templado del Centro-Sur de Chile con perturbación antrópica. *Ecol. Austral.* 17 (1):113-122
- Andrade, M. A., Marcel, P., Reyzaal. M. L y Montero Ma. J. 2000. Contenido, evolución de nutrientes y productividad en un suelo tratado con lodos residuales urbanos. *Edafología.* 7(3) 21-29
- Antolin, M. C., Pascual, I., García, C., Polo, A. y Sánchez, M. 2005. Growth , yield and solute content of barley in soils treated with sewage sludge under semiarid Mediterranean conditions. *field crops. Res.* 94(2-3):224-237.
- Aravena, R. C., Valentín, C. C., Diez, J. C., Mora, G. Ma. De la Luz y Gallardo, A. F. 2007. Aplicación de lodos de planta de tratamiento de celulosa. Efecto de algunas

propiedades físicas y químicas de suelos volcánicos. C. Suelo. Nutr. Veg. 7(1):1-14.

Askin, T. y Kilsilkaya, R. 2005. The spatial variability of urease activity of surface agricultural soils within an urban area. J.Cent. Eur. Agric. 6(2):161-166

Bachmeier, K. L., Williams A. E, Warmington J R y Bang S. S. 2002. Urease activity in microbiologically induced calcite precipitation. J. Biotechnol. 93: 171–181.

Bandick, A. K. y Dick. P. R. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. Soil Biol. Biochem. 31 (11): 1471-1479.

Banerjee, M. R., Burton, D. L. y Depoe, S. 1997. Impact of sewage sludge application on soil biological characteristics. Agric. Ecosys. Environ. 66 (3): 241-249

Benítez, E., Melgar R., Sainz H., Gómez, M. y Nogales, R. 2000. Enzyme activities in the rhizosphere of pepper (*Capsicum annuum* L) grown with olive cake mulches. Soil Biol. Biochem. 32 (13): 1829-1835.

Berg, J. 2007. Capítulo 7. La hemoglobina: instantánea de una proteína en acción. Sexta ed. Freeman and Company. 193-197. consultado 16 de abril de 2010. Disponible en: [http:// en.wikibooks.org/wiki/Structural Biochemistry/Enzyme/Effects of pH on enzyme activity](http://en.wikibooks.org/wiki/Structural_Biochemistry/Enzyme/Effects_of_pH_on_enzyme_activity).

Bergstrom, D.W., Monreal, C.M., y King, D. 1998. Sensitivity of soil enzyme activities to conservation practices. Soil Sci. Soc. Am. J. 62: 1286-1295.

Bohn., H. Mcneal., B y O´conor G. 1993. Química del suelo. Ed. Limusa. México. D.F. 370 pp.

Bouyucos, G. V. 1963. Directions for making mechanical analysis of soil by hydrometer metod. J. Soil. Sci. 42: 23-30

- Ceron, R. L. E. y Melgarejo, M. L. M. 2005. Enzimas del suelo: indicadores de salud y calidad. Acta biológica colombiana. 10:(1): 5-18
- Chang,H., Chung, S. y Tsai H. 2007. Effect of different application rates of organic fertilizer on soil enzyme activity and microbial population. Soil Sci. Plant. Nutr. 53:132-140.
- Chapman, H. D., 1965. diagnostic criteria for plants and soil: in black, C. A. (Ed.), diagnostic criteria for plants and soils. American Society of Agronomy No. 9. riverside, California. 902-904 pags.
- Coyne, M. 2000. Microbiología del suelo: Un enfoque exploratorio. Madrid: Paraninfo. 416 pp.
- Criquet, S., Braud, A., y Neble, S. 2007. Short-term effects of sewage sludge application on phosphatase activities and available P fractions in Mediterranean soils. Soil Biol. Biochem. 39 (4): 921-929.
- Cochran, W. G. 1977.Sampling Techniques. New York. 428 pp.
- Cuevas, G. y Walter, G. 2004. Metales pesados en maíz (*Zea mays* L.) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. Rev. Int. Contam. Ambient. 20(2): 59-68
- Dale, V., Peacock A., Garten, C., Sobek, E. y Wolfe, A. 2008. Selecting indicators of soil, microbial, and plant conditions to understand ecological changes in Georgia pine forests, Ecol. Indic. 8: 818 – 827
- Dalurzo, H., Toledo, D. y Vázquez, S. 2000. Efecto del uso del suelo sobre la actividad de la fosfatasa acida en ultisoles al sur de Misiones. Universidad Nacional de Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Consultado el 17 de enero

de 2009, disponible en: [http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/2000/5\\_agrarias\\_pdf/a\\_021.pdf](http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/2000/5_agrarias_pdf/a_021.pdf).

Devlin, M. T. 1999. Bioquímica libro de texto con aplicaciones clínicas. 3ª ed. Ed. Reverte S. A. Vol. 1. España. 562 pp.

Dick, R. P. 1997. Soil Enzyme Activities as Integrative Indicators of Soil Health. In Pankhurst, C. Doube, B. M. and Gupta, V. V. Biological Indicator of Soil Health. CAB. International. Washington D. C.

Dick, W. A., Cheng, L. y Wang, P. 2000. Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. Soil Biol. Biochem. 32 (13):1915-1919.

Diez, M. C., Concha M. I, Gallardo F. 1996. Acid soil supplementation with sewage sludge for cereal growth. IV International Symposium on plant- soil Interactions at low pH. Belo Horizonte Brasil

Domínguez, I. V. y Aguilera N. 1983. Metodología de análisis físicos y químicos de suelos. UNAM. Facultad de Ciencias de Biología. pp 5- 10.

Doran, J., y Parkin, B. 1994. Defining and assessing soil quality. p. 3-21. In: J.W. Doran et al., (ed.) Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. SSSA Spec. Publ. No. 35, Soil Sci. Soc. Am., Inc. and Am. Soc. Agron., Inc., Madison, WI.

Effon, D., Jiménez, Ma. del P. Defrieri, R. y Prause, J. 2005. Relación de la actividad de fosfatasa ácida con especies forestales dominantes y con algunas propiedades del suelo de un bosque argentino. Información Tecnológica. 17(1):3-7.

EMM, 2005. Enciclopedia de los municipios de México. Estado de México, (en línea) Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, Gobierno del

Estado de México. Consultada el 16 de enero de 2010, disponible en:  
[http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/EMM\\_mexico](http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/EMM_mexico)

EPA. Design Manual. Constructed Wetlands and Aquatic Plant System for Municipal Wastewater Treatment. 1988. Consultado 18 de enero de 2010, disponible en:  
<http://www.epa.gov/Wetlands/pdf/design.pdf>

Fernández, A. L., Sagardo A. M. y Gómez M. A. 2008. Estudio de la fosfatasa ácida y alcalina en suelos de la región pampeana norte del área sojera argentina. R. C. Suelo. 26(1): 35-40.

Füsun, G. Erdogan, E. 2008. The effects of heavy metal pollution on enzyme activities and basal soil respiration of roadside soils. Environ, Monit. Asses. 145: 127-153.

Frankenberger, W. T. J. B. Johanson and Nelson, C. O. 1983. Urease activity in sewage sludge-amended soils Soil. Biol. Biochem. 15(5):543-548

García, G. J. 2001. Efectos residuales y acumulativos producidos por la aplicación de compost de residuos urbanos y lodos de depuradoras sobre agrosistemas mediterráneos degradados. Tesis doctoral. Centro de ciencias medioambientales. Madrid. Consultado 18 de enero de 2010, disponible en:  
<http://digital.csic.es/bitstream/10261/16622/1/2006%20Bio-suelos.pdf>

García, C., Hernández T., Costa, C., Cecanti, B., Masciandaro, G. y Ciardi, C. 1993. A study of biochemical parameter of composted and fresh municipal wastes. Bioresour. Technol. 44:17-23

García C., Gil, F., Hernández, T. y Trasar, C. 2003. Técnicas de Análisis Bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Ediciones Mundi-Prensa. España. 371 pp.

- García, R., Hernández, I. Lucena, J. y Niell, F. 2000. Significance of phosphomonoesterase activity in regeneration of phosphorous in a meso-eutrophic, P- limited reservoir. *Soil Biol. Biochem.* 32 (13):1953-1964
- García, A. y Rivero C. 2008. Efecto de lodo papelerero sobre la actividad enzimática de dos suelos de la cuenca del lago de Valencia, Venezuela. *Rev. Fac. Agron.* 34: 151-166
- Gascó, G., Martínez, M. J. y Lobo M. C. 2004. Soil organic matter transformation after a sewage sludge application. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.* 3(4)7 16-722
- Gawronska, A., Kulinska, D., Lenart, S., and Jaskowska, H. 1992. The effect of the maize monoculture on the biological properties of soil and on the yields of plants. *J. Soil Sci.* 25:89-94.
- Geiger, G., Brandi, H., Furrer, G. y Shulin, R. 1998. The effect of copper on the activity of cellulase and  $\beta$ -glucosidase in the presence of montmorillonite or Al-montmorillonite. *Soil Biol. Biochem.* 30(12): 1537-1544
- Gil, F., Trasar C, Leiros M. C. Seoane S. 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biol. Biochem.* 37 (5): 887-897.
- Gianfreda, L., Rao, M. A., Piotrowka, A., Palumbo, G. y Colombo C. 2005. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. *Sci. Environ.* 341 265-279.
- Gímenez V. 1984. Efecto inhibitor de algunos biocidas sobre la actividad enzimática del suelo. *Bol. Serv. Plagas.* 10:257-298.

- Gómez B. G. 1988. Variación estacional de metales pesados en lodos residuales de la planta tratadora de aguas Toluca Oriente. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Toluca. México.
- Guzmán C. y Campos C. 2004 Indicadores de contaminación fecal en biosólidos aplicados en la agricultura. Revista de la Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 9(1): 59-67
- Hernández, S. R.; Fernández, C. C. y Baptista, L. P. 2004. Metodología de la investigación. 3ª ed. McGraw-Hill Interamericana. México. pp 705.
- Herrick, J. E. 2000. Soil quality: an indicator of sustainable and management. Appl. Soil Ecol. 15:75-83.
- Illera, V., Walter I. y Cala V. 2001, Niveles de metales pesados en *Thymus zygis* desarrollado en suelos enmendados con residuos orgánicos urbanos. Rev. Int. Contam. Ambiental. 17(4) 179-186
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2001. Síntesis de Información Geográfica del Estado de México.
- Jackson, L.M. (1982). Análisis químico de suelos, Omega, Barcelona España.
- Jersieska, S. y Frac M. 2009. Impact of dairy sewage sludge on enzymatic activity and inorganic nitrogen concentrations in the soils. Int. Agrophysics. 23:31-37.
- Jímenez, Ma. De la Paz., De la Horra, A. Pruzzo, L. y Palma M. 2002. Soil quality: a new index base don microbiological and biochemical parameters. Biol. Fertil. Soils. 35:302:306.
- Jonhson, J. L. y Temple, K. L. 1964. Some variable affecting the measurement of catalase activity in soil. Soil Sci. Soc. Am. 28: 207-209.

- Joachim, H. J., Makoi, R. y Ndakimedi, P. A. 2008. Review: selected soil enzymes: examples of their potential roles in ecosystem. *Afr. J. Biotech.*; 7(3): 181-191.
- Jurado, J. P., Luna, L. M. y Barretero H. R. 2004. Aprovechamiento de biosólidos como abonos orgánicos en pastizales áridos y semiáridos. *Tec. Pecu. Mex.* 42 (3): 379-395.
- Kabata, A. y Pendias H. 1992. Trace elements in soil and plants. Vol 1 CCR. Press, Inc Boca Raton Florida. USA. 365 pp.
- Knight, B. P., Mc Grath. J. W. Doran, R. G. Cline, R.F. Haris, R. F. Y Schuman, G.E. 1997. Biomass carbon measurements and substrate utilization patterns of microbial populations from soils amended with cadmium, copper or zinc. *Appl. Env. Microb.* 63:39-43
- Knight, T. R and Dick, T. P. 2004. Differentiating microbial and stabilize  $\beta$ -glucosidase activity relative to soil quality.
- Kilsilkaya R. y Bayrakli B. 2005. Effects of N- enriched sewage sludge on soil enzyme activities. *Appl. Soil Ecol.* 30 (3): 192-202.
- Kunito, T., Saeki, K., Goto, S., Hayashi, H., Oyaizu, H. y Matsumoto, S. 2001. Copper and zinc fractions affecting microorganisms in long term sludge amended soils. *Biores. Tech.* 79(2):133-146.
- Lakhdar, A., Scelza, R., Scotti, R., Rao, Maria, A. Jedidi, N., Gianfreda, I., Abdelly, C. 2010. The effect of compost and sewage sludge on soil biologic activities in salt affected soil. *R. C. Suelo Nutr. Veg.* 10(1):40-47.
- Lehninger A. A. 2003. Bioquímica las bases moleculares de la estructura y función celular. Ed. Omega. 2ª ed. Ediciones Omega. Barcelona España. 1117 pp.

- Li, X. and Sarah, P. 2003. Arylsulfatase activity of soil microbial biomass along a Mediterranean-arid transect. *Soil Biol. Biochem.* 35:925-934
- Lindsay W. y Norvell, W. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *J. Soil. Sci. Soc. Am.*42:421-428.
- Lozano, J. A., Galindo, J. D., Garcia, J. C., Martínez, J. H. Peñafiel, R. y Solano, F. 2005. *Bioquímica y Biología Molecular para Ciencias de la Salud*. 3ª ed. Ed. Interamericana Mc Graw- Hill. Madrid. 804 pp.
- Loué, A. 1988. Los microelementos en la agricultura. Ed. Mundi Prensa. Madrid España. 384 pp
- Martínez de la C. J. 2004. Efecto residual del lodo en trigo (*Triticum spp. L.*). *Phyton* 73 237-242. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=arttext&pid=S1851-56572004000100029&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1851-5657.
- Martín del Campo, M. G. 1996. Caracterización de lodos residuales de dos plantas tratadoras de agua Toluca Norte y EPPCA) del Edo. de Méx. para una propuesta de utilización en la agricultura. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Toluca, México.
- Mateos, M. P. y Carcedo, S. G. 1988. Influence of heavy metal on soil oxidoreductases. *Biol. Agric. Hortic.* 5(2):135-142.
- Melero, S., Madejon, E., Ruíz, J. C. y Herencia, J. F. 2007. Chemical and biochemical properties of a clay soil under dryland agriculture system as affected by organic fertilization. *Eur. J. Agron.* 26: 327-335
- Montero, F. A. y Sargodoy M.A. 2008. Actividad enzimática de ureasa en suelos de Buenos Aires, entre Ríos, Córdoba y Santa Fe cultivados bajo siembra directa. En

línea: [www.engormix.com/articulo\\_actividad\\_enzimatica\\_ureasa\\_forumsvew17081.htm](http://www.engormix.com/articulo_actividad_enzimatica_ureasa_forumsvew17081.htm)

Montgomery, C. 2005. Diseño y Análisis de experimentos. 2ª ed. Ed. Limusa. 686 pp.

Moron, A., 2005. Indicadores para el diagnóstico de la calidad de suelos en sistemas agrícolas. En: Marelli, H.J. (Ed.), Indicadores de Calidad de Suelo. Seminario Internacional. Marcos Juárez, Argentina.

Mosquera, M. I. E., Bande, M. J. Y Seoane, S. 2000. Evaluación del efecto salino de un suelo fertilizado con lodos de la industria láctea. Edafología 7(1):73-83

Nanipieri, P., Cecanti, B., Cervelli, S. y Matarese, E. 1980. Extraction of phosphatase, urease, protease, organic carbon and nitrogen from soil. J. Agron. 44:1011-1016.

Narváez, C. M. C. 2008. Evaluación de actividad de fosfatasas y deshidrogenasas por efecto de la aplicación de vinazas en suelos cultivados con maíz dulce *Zea mays* L. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira.

N'oble, S. Calvert V. Le Petit, J. Criquet S. 2007. Dynamics of phosphatase activities in a cork oak litter (*Quercus suber* L.) following sewage sludge application. Soil Biol. Biochem. 39:2735-2742

Nelson, D. L. y Cox, M. M. 2001. Lehninger Principios de Bioquímica. Ediciones Omega. Barcelona España. pp 244-287.

Ochoa, V., Hinojosa, B., Gómez B. y García R. 2007. Actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo en agroecosistemas ecológicos. consultado 13 de marzo de 2008, disponible en: <http://www.revistaselectronicas.ujaen.es/index.php/ininv/article>

- Ortiz V. B. 1975. Edafología. UACH. Chapingo Mexico. 295 pp.
- Ortiz, H. Ma. L., Sánchez, S. E. y Gutiérrez, R. M. 1999. Efectos de la adición de lodos residuales sobre un suelo agrícola y un cultivo de maíz. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 15(2):77-96.
- Peña C. W. 2004. Los suelos desarrollados sobre serpentinas y su relación con la flora endémica. Tesis doctoral. Universidad de Santiago Compostela. Madrid España.
- Perotti, E. B. R., Pídello A. Leyendeker L., Trasar, C., Lairs, M. C. y Gil. F. 2008. Behaviour of enzymatic activities and root elongation in Argiudoll soils from the Argentine Humid Pampa treated with biosolids. *Rev. Arg. Microbiol.*; 40: 120-123
- Porta, J., López, M. y Roquero, C. 2003. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Ed. Mundi Prensa. 429 pp.
- Quinteiro, L. R., Ferrera, R., Etchevers, B. J. García C. N. E., Rodríguez K. R., Alcantar, G. G. y Aguilar S. A. 2003. Enzimas que participan en el vermicompostaje. *Terra Latinoamericana.* 21 (1): 73-80
- Rao, Ma. A., Violante, A. y Gianfreda, L. 2000. Interaction of acid phosphate with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. *Soil Biol. Biochem.* 32(7):1007-1014.
- Ros M., Pascual J. A., García C., Hernández M. T. y Insam H. 2006. Hydrolase activities. Microbial biomass and bacterial community in a soil after long term amendment with different composts. *Soil Biol. Biochem.* 38: 3443-3452.
- Salcedo, E., Vasquez, A., Krishnamurthy, L., Zamora, F., Hernandez, E. y Rodriguez, M. Evaluación de lodos residuales como abono orgánico en suelos volcánicos de uso agrícola y forestal en Jalisco, México. *INCI.* [online]. feb. 2007, vol.32, no.2 [citado

28 Julio 2010], p.115-120. Disponible en línea <[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442007000200009&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442007000200009&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0378-1844

Sastre, I., Vicente, M. A. y Lobo, M. C. 1996. Influence of the application of sewage sludges on soil microbial activity, *Bioresour. Technol.* 57 (1): 19-23

Senwo, Z. y Tabatai, M. 1999. Aspartase activity in soils: effects of trace elements and relationships to other amidolyses. *Soil Biol. Biochem.* 31: 213-219.

SEMARNAT 2000. NOM-021 RECNAT 2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación 23 de abril de 2003. México D. F. México. 85 pp.

SEMARNAT 2002. NOM-004 SEMARNAT 2002. Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Diario Oficial de la Federación 15 de agosto de 2003. México D. F. México. 43 pp.

Schoenholtz, S.H., Van Miegroet, H. y Burger, J.A. 2000. A review of chemical and physical properties as indicators of forest quality: challenges and opportunities. *For Ecol Manag.* 138, 335-35

Shahinrokhsar P. Shokry, H. y Haghadi A. 2008. Evaluation of some properties on urease enzyme activity. Conference on International Research on food security natural resource management and rural development. Consultado 18 de abril de 2010, disponible en: <http://www.tropentag.de/2008/abstracts.php?Showtime=0&noID=1&menu=11>.

- Sihgh R. P. y Agrawal, M. 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Management*. 28:347-358
- Speir T. W.; Ross, D. J. 1978. Soil phosphatase and sulphatase. En: Burnes RG (Ed). *Soil Enzymes*. Academic Press. London. pp: 197-250.
- Skujins, J. 1976. Extracellular enzymes in soil. *Crit. Rev. Microbiol*. 4:383-421.
- Tabatai A. M. 1982. Soil enzymes. En: García C., Gil, F., Hernández, T. y Trasar, C. 2003. *Técnicas de Análisis Bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana*. Ediciones Mundi-Prensa. España. 371 pp
- Tabatabai, M. A. 1994. Soil enzymes En: Weaver, R. W. Angel, J. S. y Bottomley, P. S. (Eds.) *Methods of Soil Analysis. Part 2: Microbiological and Biochemical Properties*. Soil Science of America, Madison WI. pp. 775-834
- Tabatai, M. A. y Bremmer J. M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem*. 1:301-323
- Tabatai, M. A. y Bremmer J. M. 1972. Assay of urease activity in soil. *Soil. Biol. Biochem*. 4:479-487
- Tejeda, M. García C. González J. L. y Hernández M. T. 2006. Organic Amendment based on fresh beet vinasse: influence on soil properties and wheat yield. *J. Soil Sci. Soc. Am.* 70:900-908.
- Tchobanoglous, G., Theisen, H. y Vigil, S. 1994. *Gestión integral de residuos sólidos*. Ed. Mc Graw Hill. España.
- Toresani, S., Ferreras, L., Bonel, B., Bacigaluppo, S., Bodrero, M., Galarza, C. y Villar, J. 2009. Parámetros edáficos como indicadores de calidad del suelo en diferentes sistemas de manejo. *SOJA*. 42:83-89

- Trasar, C., Camina, F., Leiros, M. C. and Gil , F., 1999. An improved method to measure catalase activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 31:483-485
- Vásquez N. M., Benito M. y Masaguer A. 2009. Evaluación de parámetros bioquímicos en un calcaric skeletal cambisol bajo diferentes usos de suelo. *Agr. Trop.* 59:2
- Walkey, A., y Black, I. A. 1947. An examination of the deghareff method for determinin soil organic and a poposed medication fo chromic acid titration method. *Soil. Sci.* 37:29-38
- Wild, A. 1992. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Rusell. Ed. Mundi Prensa. Madrid España. 1045 pp.
- Zhang, L., Zhijic, W. U., Chen, L., Jiang Y. y Dongpo, L. I. 2009. Kinetics of catalase and Dehydrogenase in main soils of Northeast China under different soil moisture conditions. *Agricultural Journal.* 4(2): 113-120.

## **8. Agradecimientos**

Al M en E. Pedro del Aguila Juárez, al Dr. Jorge A. Lugo de la Fuente y a la Dra. Rocio Vaca Paulin por el apoyo y la amistad brindada durante todo el desarrollo del trabajo.

A Elda García Velasco por el apoyo en laboratorio y la amistad brindada muchas gracias.

Al Dr. Gerardo Cruz Flores y al biólogo Enrique Suastegui Mendez por la capacitación en los analizados realizados.

A Elizabeth Martínez Galeana, Hortencia Sánchez Ramírez, Leticia Téllez López y Renato Armenta Vences quienes me apoyaron y me brindaron su amistad.

## **9. Dedicatorias**

A Dios por darme la vida.

A mis padres y mi hermano quienes han estado a mi lado siempre, apoyándome y dándome cariño.

A mi esposo gracias por tu cariño y apoyo.

A mi hija que ha dado sentido a mi vida.