

# EFFECTO DE LOS MANEJOS SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA $\beta$ -GLUCOSIDASA, FOSFATASA ÁCIDA Y DEHIDROGENASA EN UN SUELO VERTISÓLICO

M. DE LA PAZ JIMENEZ<sup>1</sup>, A. M. DE LA HORRA<sup>1</sup>, M. CONTI<sup>1</sup> y N. ARRIGO<sup>1</sup>

## RESUMEN

El uso continuo del suelo produce cambios que se manifiestan de diversas formas y conducen a modificaciones sobre algunas propiedades edáficas. El objetivo de este trabajo es relacionar la actividad de las enzimas  $\beta$ -glucosidasa y fosfatasa ácida con el C del suelo y con un índice de la población microbiana viable evaluado mediante la actividad de la dehidrogenasa. Este ensayo se realizó sobre suelos vertisólicos en el departamento de La Paz (Prov. de Entre Ríos). Se seleccionaron cuatro situaciones con distinto grado de degradación. Sobre las muestras extraídas a 10 cm de profundidad se realizaron las siguientes determinaciones: actividad de la  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa ácida, dehidrogenasa y C oxidable. La actividad de la  $\beta$ -glucosidasa fue significativamente más alta en las situaciones menos degradadas ( $p < 0,05$ ). La fosfatasa ácida resultó ser la variable más sensible para detectar diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre todas las situaciones. Ambas exoenzimas correlacionaron significativamente ( $p < 0,05$ ) con el contenido de C del suelo. La dehidrogenasa presentó un comportamiento similar a la  $\beta$ -glucosidasa. Los resultados obtenidos demuestran que las exoenzimas  $\beta$ -glucosidasa y fosfatasa ácida así como el sistema dehidrogenasa presentan distinta sensibilidad para discriminar los cambios causados por los diferentes manejos aplicados al suelo, siendo la fosfatasa ácida la más sensible en detectar dichos cambios.

**Palabras clave.**  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa ácida, dehidrogenasa, C oxidable, degradación del suelo

## MANAGEMENT EFFECTS ON THE ACTIVITY OF THE $\beta$ -GLUCOSIDASE, ACID PHOSPHATASE AND DEHYDROGENASE ENZYMES IN A VERTISOLIC SOIL

### SUMMARY

The inappropriate land use led to significant changes in different soil properties. The objective of this work is to relate the activity of two extracellular enzymes ( $\beta$ -glucosidase and acid phosphatase) with oxidizable C content and with an index of the viable microorganisms evaluated through the activity of the dehydrogenase enzyme. Soil samples were collected from a vertisolic soil located in Entre Ríos Province. Four situations with different degradation levels were selected.  $\beta$ -glucosidase, acid phosphatase and the dehydrogenase activities and oxidizable C content were measured on surface soil samples (10 cm). The activity of  $\beta$ -glucosidase and dehydrogenase were significantly higher in the situations of less degradation. Acid phosphatase was more sensitive to detect soil degradation since the activity of this enzyme differ significantly in the four situations. Both exoenzyme activities were correlated with the oxidizable C content. Results of this study show that activities of  $\beta$ -glucosidase, acid phosphatase and dehydrogenase enzymes can be used as different sensitive indexes of soil degradation.

**Key words.**  $\beta$ -glucosidase, acid phosphatase, dehydrogenase, oxidizable C, soil degradation.

### INTRODUCCIÓN

El uso continuo del suelo conduce inevitablemente a un progresivo deterioro del mismo. Esto ha suscitado una profunda y generalizada preocupación relacionada a la resiliencia y calidad de los

suelos (Papendick y Parr, 1992; Karlen *et al.*, 1997). Los cambios producidos se manifiestan de diversas formas y conducen a modificaciones de varias propiedades edáficas entre las cuales la disminución de la materia orgánica, la pérdida de

<sup>1</sup>Departamento de Recursos Naturales y Ambiente, Facultad de Agronomía UBA, Av. San Martín 4453 (1417), Buenos Aires. Telefax: 54 11 45248057. E-mail: mjimenez@mail.agro.uba.ar

nutrientes, la compactación y las variaciones en las características biológicas, son significativamente importantes.

Los innumerables procesos que se producen, tales como la descomposición de los residuos orgánicos, el reciclado de nutrientes, la síntesis de sustancias húmicas, la liberación de energía, la agregación y la fijación del nitrógeno entre otras, están estrechamente vinculadas con los componentes biológicos del suelo (Anderson y Domsch, 1985; Parr *et al.*, 1992; Turco *et al.*, 1994).

Entre los componentes bioquímicos, la actividad enzimática constituye una medida del potencial que tiene el suelo de catalizar los procesos responsables de la liberación de nutrientes para las plantas y microorganismos, mediante la degradación y transformación de los sustratos (Burns, 1978; Perucci, 1992; Dick, 1994; Nannipieri, 1994; Dick *et al.*, 1996; García *et al.*, 1997).

Las enzimas hidrolíticas son en general las que participan en la descomposición de los residuos orgánicos (Speir, 1977). Dentro de este grupo y relacionada con el ciclo del C es de gran importancia la  $\beta$ -glucosidasa (exoenzima) que cataliza la depolimerización de la celulosa originando subunidades de glucosa las que pueden ser utilizadas por los microorganismos heterótrofos como fuente de carbono y de energía (Tabatabai, 1994).

Otro grupo importante de enzimas lo constituyen el grupo de las fosfatasa (exoenzima) que catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos del ácido fosfórico, liberando fosfatos aprovechables para las plantas (Eivazi y Tabatabai, 1977).

El complejo de la dehidrogenasa (endoenzima) es un indicador de la actividad metabólica de los microorganismos viables (Skujins, 1973; Casida, 1977; Beyer *et al.*, 1992; García *et al.*, 1997) y participaría en las etapas iniciales de la oxidación de las sustancias orgánicas (Von Mersi y Schinner, 1991).

El objetivo de este trabajo fue relacionar la actividad de las enzimas  $\beta$ -glucosidasa y fosfatasa ácida con el C oxidable del suelo y con un índice de la población microbiana viable evaluado mediante la actividad de la dehidrogenasa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este ensayo se realizó en el sur del Departamento de La Paz (Prov. de Entre Ríos), caracterizado por tener suelos vertisólicos. Se seleccionaron cuatro situaciones con distinto grado de degradación: monte nativo (situación 1) con un horizonte A de 27 a 30 cm de espesor; pastizal en recuperación (situación 2) con un horizonte A de 20 a 30 cm; un lote cultivado durante 26 años posteriores al desmonte (situación 3) con un horizonte A de 10 a 12 cm y otro con 40 años de cultivo después del desmonte (situación 4) con un horizonte A de 9 a 12 cm. El contenido de C oxidable del suelo en cada una de las situaciones, fue 2,56, 2,95, 1,53 y 1,8 % respectivamente.

La vegetación natural del área en estudio corresponde al denominado monte o selva de Montiel que es una formación boscosa xerofítica constituida por diversas especies arbóreas entre las que se destacan el ñandubay (*Prosopis affinis*), el algarrobo (*Prosopis nigra*) y el quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*). El manejo agrícola produjo disminución de la superficie cubierta por estos montes y se incrementaron los pastizales y chilcales (matorrales de *Baccharis* sp.).

Se tomaron 8 muestras compuestas de cada situación. Las mismas fueron extraídas a 10 cm de profundidad y refrigeradas hasta el momento en que se realizaron las siguientes determinaciones analíticas:

- actividad de  $\beta$ -glucosidasa (EC 3.2.1.2.1.) (Dick *et al.*, 1996)
- actividad de fosfatasa ácida (EC 3.1.3.) (Dick *et al.*, 1996)
- actividad de dehidrogenasa (García *et al.*, 1997).
- C oxidable (Nelson y Sommers, 1982).

Los datos fueron analizados estadísticamente asumiendo un diseño experimental completamente aleatorizado. Se realizó un ANVA, se aplicó el test de Tukey para detectar diferencias entre medias y se correlacionaron las variables para determinar su asociación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Enzimas extracelulares

Se encontró que la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa varió entre 115 y 454  $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1}\text{suelo h}^{-1}$ . El análisis estadístico indica que no hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las situaciones 1 y 2, las que sí difirieron de la 3 y de la 4 correspondiendo los mayores valores a las situaciones menos degradadas (Figura 1).

Se relacionó la actividad de esta enzima con el contenido de C orgánico, encontrándose una correlación positiva ( $r=0,80$ ;  $p<0,05$ ). Este resultado coincide con el encontrado por Tabatabai (1994), Deng y Tabatabai (1996), García y Hernández (1997). Esta relación entre la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa y el C orgánico se debe a que esta enzima interviene en la transformación y en el ciclo de la materia orgánica del suelo (Deng y Tabatabai, 1996). Martens *et al.*, (1992) comprobaron que la adición de residuos incrementa significativamente la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa. El incremento de 1,01% de C (obtenido entre los promedios de las situaciones más degradadas con respecto a las menos degradadas) significó un aumento de  $134 \mu\text{g } p\text{-nitrofenol } \text{g}^{-1} \text{suelo } \text{h}^{-1}$  en la actividad de esta enzima.

La fosfatasa ácida es esencial para la liberación de P asimilable para las plantas y microorganismos ya que participa en la hidrólisis de los componentes orgánicos. La actividad de la fosfatasa resultó ser la más sensible de las enzimas estudiadas ya que presentó diferencias significativas ( $p<0,05$ ) entre las 4 situaciones (Figura 2). Los mayores contenidos de C en el suelo se asocian con los valores más elevados de la actividad de esta enzima, el análisis de correlación presenta un coeficiente

$r=0,82$  ( $p<0,05$ ). Resultados similares fueron encontrados por Skujins (1976) y por Deng y Tabatabai (1996).

Se comprobó que el aumento de la actividad de estas enzimas extracelulares (fosfatasa ácida y  $\beta$ -glucosidasa) coincide con la acumulación de materia orgánica. Este hecho estaría vinculado con el efecto estabilizante originado por la formación de los complejos enzima-humus (García y Hernández, 1997) y puede relacionarse a la dinámica poblacional de la microbiota del suelo (Speir, 1977).

#### Actividad de la enzima dehidrogenasa

El promedio de los valores de la actividad de la dehidrogenasa obtenidos en la situación 1 fue  $19,2 \mu\text{g formazan } \text{g}^{-1} \text{suelo } 20 \text{hs}^{-1}$ , en la situación 2 se registró un valor de  $14,1 \mu\text{g formazan } \text{g}^{-1} \text{suelo } 20 \text{hs}^{-1}$ , disminuyendo a  $2,3 \mu\text{g formazan } \text{g}^{-1} \text{suelo } 20 \text{hs}^{-1}$  y trazas en las situaciones 3 y 4, respectivamente (Figura 3). La actividad de esta enzima presentó valores significativamente mayores en las situaciones 1 y 2 que en las situaciones 3 y 4, no difiriendo estas últimas entre sí. Se encontró una correlación positiva ( $r=0,65$ ;  $p<0,05$ ) entre la actividad de esta enzima y el contenido de C oxidable del suelo, siendo este índice de correlación menor a los calcu-

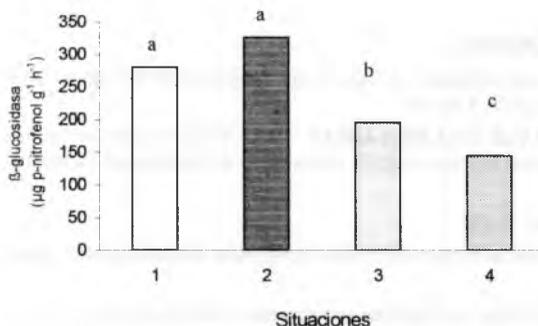


Figura 1. Actividad de la enzima  $\beta$ -glucosidasa ( $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol } \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), en cuatro situaciones de degradación (1 monte nativo; 2 pastizal en recuperación; 3 lote cultivado durante 26 años posteriores al desmonte y 4 lote cultivado durante 40 años después del desmonte).

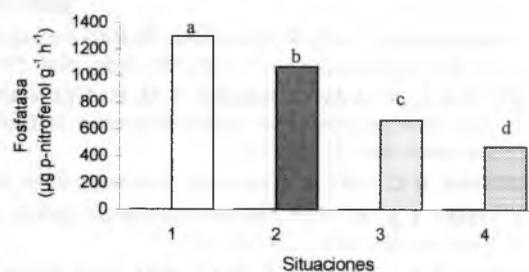


Figura 2. Actividad de la enzima fosfatasa ácida ( $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol } \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), en cuatro situaciones de degradación (1 monte nativo; 2 pastizal en recuperación; 3 lote cultivado durante 26 años posteriores al desmonte y 4 lote cultivado durante 40 años después del desmonte).

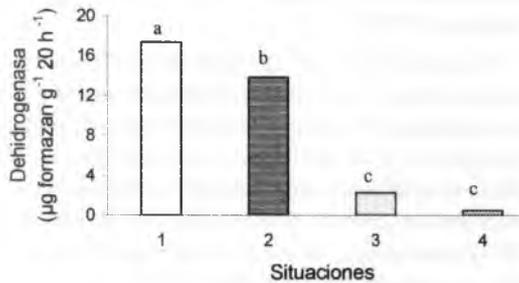


Figura 3. Actividad de la enzima dehidrogenasa ( $\mu\text{g formazan g}^{-1} 20 \text{ h}^{-1}$ ), en cuatro situaciones de degradación (1 monte nativo; 2 pastizal en recuperación; 3 lote cultivado durante 26 años posteriores al desmonte y 4 lote cultivado durante 40 años después del desmonte).

lados para la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa y fosfatasa. Este comportamiento era esperable ya que la dehidrogenasa es una enzima endocelular y no tiene una relación tan directa con la materia orgánica estable del suelo.

La actividad de la dehidrogenasa constituye un índice confiable en detectar los cambios en la

población de microorganismos viables que se hallan presentes en cada situación, ya que su actividad es parte del metabolismo de los mismos. La utilización de este índice es una herramienta interesante para su relación con las exoenzimas presentes en el suelo fundamentalmente cuando se produce la lisis de las células microbianas. La correlación encontrada para la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa y de la fosfatasa con respecto a la dehidrogenasa presenta el mismo coeficiente de correlación ( $r=0,74$ ;  $p<0,05$ ), siendo también significativa la correlación entre las dos exoenzimas ( $r=0,79$ ;  $p<0,05$ ).

### CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que la exoenzima  $\beta$ -glucosidasa y el sistema dehidrogenasa son indicadores promisorios en discriminar los cambios causados por los diferentes manejos aplicados al suelo mientras que la fosfatasa resultó ser el marcador más sensible en detectar dichos cambios.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el aporte del subsidio PIP 4403.

### BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, T. AND K. H. DOMSCH. 1985. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. *Biol. Fert. Soils*. 1:81-89.
- BEYER, L., C. WACKENDORF, F. M. BALZEN AND V. R. BALZER-GRAF. 1992. The effect of soil texture and soil management on microbial biomass and soil enzyme activities in arable soils of Northwest Germany. *Agrobiol. Res.* 45:276-283.
- BURNS, R. G. 1978. Soil enzymes. Academic Press, New York.
- CASIDA, L. E., Jr. 1977. Microbial metabolic activity in soil as measured by dehydrogenase determinations. *Appl. Environ. Microbiol.* 34:630-636.
- DENG, S. P. AND M. A. TABATABAI. 1996. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. II. Glycosidases. *Biol. Fert. Soils*. 22:208-213.
- DICK, R. P. 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. pp 107-124. In J. W. Doran et al. (ed). Defining soil quality for a sustainable environment. SSSA Spec. Publ. 35. SSSA and ASA, Madison, WI.
- DICK, R. P., D. P. BRAKWELL AND R. F. TURCO. 1996. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. pp 247-271. In J. Doran y A. Jones (eds) *Methods for Assessing Soil Quality*. SSSA Spec. Publ. Número 49.

- EIVAZI, F. AND M.A. TABATABAI. 1977. Phosphatases in soil. *Soil Biol. Biochem.* 9:167-172.
- GARCÍA, C. AND T. HERNÁNDEZ. 1997. Biological and biochemical indicators in derelict soils subjected to erosion. *Soil Biol. Biochem.* 29:171-177.
- GARCÍA, C., T. HERNÁNDEZ, AND F. COSTA. 1997. Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 28:123-134.
- KARLEN, D.L., M.J. MAUSBACH, J.W. DORAN, R.G. CLINE, R.F. HARRIS, AND G.E. SCHUMAN. 1997. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation (A Guest Editorial). *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:4-10.
- MARTENS, D.A., J.B. JOHANSON, AND W.B. FRANKENBERGER. 1992. Production and persistence of soil enzymes with repeated addition of organic residues. *Soil Sci.* 153:53-61.
- NANNIPIERI, P. 1994. The potential use of enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. pp. 238-244. In C.E. Pankhurst, B.M. Doube, V.V.S.R. Gupta and P.R. Grace (eds.), *Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems*. CSIRO Press: East Melbourne.
- NELSON, D.W. AND L.E. SOMMERS. 1982. Total C, organic C and organic matter. Chapter 29. In *Methods of Soil Analysis*. Part 2. 2<sup>nd</sup>. Edition. Page editor. Am. Soc. of Agron. Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- PAPENDICK, R.I. AND J.F. PARR. 1992. Soil quality: The key to sustainable agriculture. *Am. J. Altern. Agric.* 7:2-3.
- PARR, J.F., R.I. PAPENDICK, S.B. HORNICK AND R.E. MEYER. 1992. Soil Quality: Attributes and relationship to alternative and sustainable agriculture. *Am. J. Altern. Agric.* 7:5-11.
- PERUCCI, P. 1992. Enzyme activity and microbial biomass in a field soil amended with municipal refuse. *Biol. Fert. Soils* 14:54-60.
- SKUJINS, J. 1973. Dehydrogenase: An indicator of biological activities in arid soils. *Bull. Ecol. Res. Commun. NFR* 17:235-241.
- SPEIR, T.W. 1977. Studies on a climosequence in soils in tussock grasslands. Urease, phosphatase and sulfatase activities of topsoils and their relationships with other properties including plant available sulphur. *N. Z. J. Sci.* 20:159-166.
- TABATABAI, M. A. 1994. Soil enzymes. pp. 775-883. In R. W. Weaver et al. (ed.) *Methods of soil analysis: Microbiological and biochemical properties*. Part 2. SSSA. Book Ser. 5. SSSA, Madison, WI.
- TURCO, R.F., A.C. KENNEDY AND M.D. JAWSON. 1994. Microbial indicators of soil quality. pp. 73-90. In J. W. Doran et al. (ed) *Defining soil quality for a sustainable environment*. SSSA Spec. Publ. 35, SSSA and ASA, Madison, WI.
- VON MERSI, W. AND F. SCHINNER. 1991. An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with iodinitrotetrazolium chloride. *Biology and Fertility of Soils* 11: 216-220.