



Universidad de Carabobo
Facultad experimental de Ciencias y Tecnología
Departamento de Química



**Efecto del tratamiento de suelos agrícolas con diferentes enmiendas
orgánicas sobre parámetros fisicoquímicos y actividades enzimáticas**

Autor: Gabriela Martínez

Junio de 2015



Universidad de Carabobo
Facultad experimental de Ciencias y Tecnología
Departamento de Química



**Efecto del tratamiento de suelos agrícolas con diferentes enmiendas
orgánicas sobre parámetros fisicoquímicos y actividades enzimáticas**

***Trabajo Especial de Grado presentado ante la ilustre Universidad de Carabobo
como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Química***

Tutor Académico:
Dr. Arnaldo Armado

Autor: Gabriela Martínez
C.I.: 20512699

Junio de 2015

Agradecimientos

Son tantas las personas a las que les debo su apoyo por haber logrado esta meta, que siento se me olvidara nombrar a algunas. Primeramente a Dios por permitirme estar aquí con mucha salud y fuerza, a mis padres que les debo absolutamente todo lo que soy: Gilberto Martinez por inculcarme el aplomo, esfuerzo y responsabilidad que se deben tener en la vida para lograr cualquier meta, a mi madre Neira Mendoza por inculcarme esos sentimientos de solidaridad, paciencia y humildad, de verdad siempre les estaré inmensamente agradecida por todo lo que han hecho por mí y mi hermana Roxana Martinez, esta hermana mayor que ha roto todos los paradigmas de lo que una “hermana mayor” significa, ella que me ha ensañado a disfrutar cada momento de la vida, a ver las dos caras de la moneda, a ver el vaso medio lleno y no medio vacío, en fin a ver y disfrutar la parte bella de la vida.

A mi novio, amigo fiel y compañero en esta ardua pero hermosa carrera, Carlos Alvizu muchas gracias por siempre apoyarme, estar junto a mí en los buenos y malos momentos y sobre todo por ayudarme a ver la parte positiva de los momentos negativos.

A mis amigas y compañeras de lucha, Beliesky Sarrin (paciente), Feriannys Rivas (arriesgada), Giskarly Aguirre (sincera), Grisette Daher (relajada), Lennys Orozco (perseverante), Armeliz Ortega (responsable), Natacha Malavé (luchadora), cada una posee muchas características por las cuales son mis amigas y una en especial por la cual las admiro y respeto.

A aquel que sin su apoyo y ayuda no hubiese sido posible este trabajo, Arnaldo Armado, muchas gracias por permitirme realizar este trabajo tan maravilloso

A mis compañeros de Laboratorio de suelos, Minerva Márquez, Lisamdys Salamanca, Teresa Cadenas, Yuri Cordero, Emelys Hurtado, Sandy Deivis y Jesús Pérez, igualmente a mis compañeros de electiva Lody Luyando, Gabriel Cordero y Lisander Moncada.

A aquellas personas que sin esperar nada a cambio me brindaron sus conocimientos para que pudiera terminar este trabajo: Yelitza Armas, Beatriz Moy Lesbia Martinez y Dioleidy Gonzalez.

A esas personas que me abrieron las puertas de su casa al iniciar esta hermosa experiencia: Jairo Sarrin y Belén Gonzalez, quienes me brindaron su apoyo y me aconsejaron en los momentos más difíciles, de verdad muchas gracias.

Finalmente a todas esas personas que pusieron ese granito de arena en mi formación, a todos los que me hicieron el largo camino más llevadero, a todos les estaré siempre agradecida.



Efecto del tratamiento de suelos agrícolas con diferentes enmiendas orgánicas sobre parámetros fisicoquímicos y actividades enzimáticas

Autor: Gabriela Martinez. Tutor Académico: Arnaldo Armado

Resumen

Se estudió el efecto de la aplicación de lodo papelerero (LP), aceite comestible usado (ACU) y lignito (Lig) sobre parámetros fisicoquímicos y bioquímicos, al enmendar un suelo agrícola ubicado en las adyacencias del Lago de Valencia, Estado Carabobo en La Agropecuaria La Concepción. Los indicadores evaluados fueron de dos tipos: fisicoquímicos (pH, conductividad eléctrica, contenido de amonio, contenido de nitrato, materia orgánica, textura, humedad y retención de humedad) y bioquímicos (actividad: celulasa, proteasa, ureasa y catalasa). Para tal fin se planteó un diseño de experimento 3^2 siendo los factores: porcentaje de enmienda y tiempo de incubación. En términos generales el pH o reacción del suelo aumentó a mayores dosis de LP, observando el efecto contrario al usar ACU y Lig. La conductividad eléctrica permitió clasificar los diferentes tratamientos suelo-enmienda como un suelo de salinidad normal. Con respecto al contenido de nitrógeno en forma de nitrato, éste fue mayor al nitrógeno amoniacal en los diferentes tratamientos suelo-enmienda. El contenido de materia orgánica siempre fue mayor en los tratamientos suelo-enmienda con respecto a los controles, por su parte la humedad y retención de humedad presentaron los máximos valores al usar 30%LP-T30. Tomando en cuenta que las propiedades bioquímicas son las más sensibles a las ligeras alteraciones del suelo, se hace uso de estas al momento de elegir la mejor enmienda orgánica, siendo los tratamientos suelo-LP donde se encontraron los mejores valores de actividad proteasa (491,78ug de tirosina/gss*h), actividad ureasa (144,8 ug $[N - NH_4^+]$ /gss*h) y actividad catalasa (1,35mmolH₂O₂/gss*h), mientras que al enmendar el suelo con Lig la variabilidad de las respuestas obtenidas para la actividad celulasa, ureasa y catalasa fueron mejor explicadas, ya que los coeficientes de determinación (R^2) obtenidos según el modelo matemático fueron cercanos a 100%.

Palabras Claves: lignito, lodos papeleros, aceites comestibles usados, diseño factorial, ureasa, catalasa, proteasa, celulasa.

Índice de contenido

2. Planteamiento del problema.....	2
3. Justificación.....	4
4. Objetivos.....	5
4.1. General.....	5
4.2. Específicos.....	5
5. Marco Teórico.....	6
5.1. Antecedentes.....	6
5.1.1. Estudio de la capacidad del suelo para la degradación de aceites comestibles usados y su incorporación como materia orgánica. (Montoya, 2012).....	6
5.1.2. Aplicación de lignitos nacionales para el mejoramiento de suelos agrícolas: estudios en microcosmos. (Piñero, 2012).....	6
5.1.3. Evaluación de indicadores de calidad en respuesta a la aplicación de lodos papeleros como enmienda orgánica en suelos agrícolas (Luyando, 2014).....	7
5.2. Bases teóricas.....	7
5.2.1. Importancia del suelo.....	7
5.2.2. Concepto de calidad del suelo.....	8
5.2.3. Ciclo de nutrientes.....	8
5.2.3.1. Ciclo del carbono.....	8
5.2.3.2. Ciclo del nitrógeno.....	9
5.2.4. Contenido de nitrógeno, amonio y nitrato.....	11
5.2.5. Materia orgánica.....	14
5.2.6. Indicadores bioquímicos de la calidad del suelo.....	14
5.2.6.1. Actividades enzimáticas.....	15
5.2.6.1.1. Clasificación de las enzimas del suelo.....	16
5.2.6.1.2. Celulasa.....	17
5.2.6.1.3. Proteasas.....	18
5.2.6.1.4. Ureasa.....	19
5.2.6.1.5. Catalasa.....	20
5.2.7. Enmiendas orgánicas.....	21
5.2.7.1. Lignitos.....	22
5.2.7.2. Lodos papeleros.....	23

5.2.7.3. Aceites comestibles usados.....	24
5.2.8. Diseño de experimentos.....	25
5.2.8.1. Diseño factorial 3 ²	25
6. Marco Metodológico.....	26
6.1. Área de estudio y muestreo de suelo.....	26
6.2. Procedencia de enmiendas orgánicas.....	27
6.3. Diseño de experimento utilizado.....	28
6.4. Análisis estadístico.....	29
6.5. Medición de indicadores de calidad del suelo.....	30
6.5.1. Indicadores químicos.....	30
6.5.1.1. pH y conductividad eléctrica (<i>Olarte, 1979 modificado</i>).....	30
6.5.1.2. Determinación del contenido de amonio(<i>Kandeler y Gerber, 1988 modificado</i>).....	30
6.5.1.3. Determinación del contenido de nitrato (<i>Anderson e Ingram, 1989</i>)...	30
6.5.1.4. Textura (<i>Jaramillo, 2002</i>).....	31
6.5.1.5. Humedad (<i>Jackson, 1970</i>).....	32
6.5.1.6. Materia orgánica (<i>Faithfull, 2005</i>).....	33
6.5.1.7. Retención de humedad (<i>Jackson, 1970</i>).....	33
6.5.3. Indicadores bioquímicos.....	34
6.5.3.2.1. Actividad Celulasa (<i>Ghose, 1987; Wood y Bhat 1988</i>).....	34
6.5.3.2.2. Actividad Proteasa (<i>Ladd y Butler, 1972</i>).....	35
6.5.3.2.3. Actividad Ureasa (<i>Kandeler y Gerber, 1988</i>).....	36
6.5.3.2.4. Actividad Catalasa (<i>Johnson y Temple, 1964</i>).....	37
7. Análisis de resultados.....	40
7.2. Estudio de parámetros fisicoquímicos en sistemas suelo-enmienda.....	40
7.2.1. Indicadores fisicoquímicos.....	40
7.2.2. Indicadores bioquímicos.....	47
7.2.2.1. Actividad celulasa en los sistemas suelo-enmienda.....	49
7.2.2.2. Actividad proteasa en los sistemas suelo-enmienda.....	56
7.2.2.3. Actividad ureasa en los sistemas suelo-enmienda.....	60
7.2.2.4. Actividad catalasa en los sistemas suelo-enmienda.....	64
7.2.3. Correlación entre parámetros fisicoquímicos y biológicos en sistemas suelo-LP.....	69
7.2.4. Correlación entre parámetros fisicoquímicos y biológicos en sistemas suelo-ACU.....	71
7.2.5. Correlación entre parámetros fisicoquímicos y bioquímicos en sistemas suelo-Lig.....	73

5.2.7.3. Aceites comestibles usados.....	24
5.2.8. Diseño de experimentos.....	25
5.2.8.1. Diseño factorial 3 ²	25
6. Marco Metodológico.....	26
6.1. Área de estudio y muestreo de suelo.....	26
6.2. Procedencia de enmiendas orgánicas.....	27
6.3. Diseño de experimento utilizado.....	28
6.4. Análisis estadístico.....	29
6.5. Medición de indicadores de calidad del suelo.....	30
6.5.1. Indicadores químicos.....	30
6.5.1.1. pH y conductividad eléctrica (<i>Olarte, 1979 modificado</i>).....	30
6.5.1.2. Determinación del contenido de amonio(<i>Kandeler y Gerber, 1988 modificado</i>).....	30
6.5.1.3. Determinación del contenido de nitrato (<i>Anderson e Ingram, 1989</i>)...	30
6.5.1.4. Textura (<i>Jaramillo, 2002</i>).....	31
6.5.1.5. Humedad (<i>Jackson, 1970</i>).....	32
6.5.1.6. Materia orgánica (<i>Faithfull, 2005</i>).....	33
6.5.1.7. Retención de humedad (<i>Jackson, 1970</i>).....	33
6.5.3. Indicadores bioquímicos.....	34
6.5.3.2.1. Actividad Celulasa (<i>Ghose, 1987; Wood y Bhat 1988</i>).....	34
6.5.3.2.2. Actividad Proteasa (<i>Ladd y Butler, 1972</i>).....	35
6.5.3.2.3. Actividad Ureasa (<i>Kandeler y Gerber, 1988</i>).....	36
6.5.3.2.4. Actividad Catalasa (<i>Johnson y Temple, 1964</i>).....	37
7. Análisis de resultados.....	40
7.2. Estudio de parámetros fisicoquímicos en sistemas suelo-enmienda.....	40
7.2.1. Indicadores fisicoquímicos.....	40
7.2.2. Indicadores bioquímicos.....	47
7.2.2.1. Actividad celulasa en los sistemas suelo-enmienda.....	49
7.2.2.2. Actividad proteasa en los sistemas suelo-enmienda.....	56
7.2.2.3. Actividad ureasa en los sistemas suelo-enmienda.....	60
7.2.2.4. Actividad catalasa en los sistemas suelo-enmienda.....	64
7.2.3. Correlación entre parámetros fisicoquímicos y biológicos en sistemas suelo-LP.....	69
7.2.4. Correlación entre parámetros fisicoquímicos y biológicos en sistemas suelo-ACU.....	71
7.2.5. Correlación entre parámetros fisicoquímicos y bioquímicos en sistemas suelo-Lig.....	73

8. Conclusiones y recomendaciones.....	75
9. Bibliografía.....	77
Apéndice.....	89

Índice de figuras

Figura 1. El ciclo del carbono en suelos agrícolas. Obtenido de Haynes (2005).....	10
Figura 2. El ciclo del nitrógeno en el suelo. Tomado de Ridley <i>et al.</i> (2004)..	11
Figura 3. Reacción de nitrificación.....	13
Figura 4. Tiempo de respuesta de diversos parámetros del suelo a cambios en el manejo (Janzen, 2004).....	15
Figura 5. Esquema de la hidrólisis de celulosa cristalina a glucosa, catalizada por las enzimas exocelulasa, endocelulasa y β -glucosidasa. (Fuente: García <i>et al.</i> , 2003).....	18
Figura 6. Reacción de hidrólisis de la urea.....	19
Figura 7. Reacción de ruptura de H_2O_2	20
Figura 8. Ubicación satelital de la posible área de estudio. Agropecuaria La Concepción, Guácara- Estado Carabobo. Coordenadas: 10.185838,- 67.857748.....	26
Figura 9. Reacción de reducción del permanganato potásico por el H_2O_2 en solución ácida.....	38
Figura 10. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de LP (a), ACU (b) y Lig (c) al transcurrir los días de incubación, sobre la actividad celulasa.....	50
Figura 11. Diagrama de pareto de los efectos y sus interacciones sobre la actividad celulosa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	51
Figura 12. Diagrama de superficie respuesta de la actividad celulosa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	53
Figura 13. Diagrama de superficie respuesta de la actividad celulasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica.....	54
Figura 14. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de LP (a), ACU (b) y Lig (c) al transcurrir los días de incubación, sobre la actividad proteasa.....	56
Figura 15. Diagrama de superficie respuesta de la actividad proteasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	57
Figura 16. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de LP (a), ACU (b) y Lig (c) al transcurrir los días de incubación, sobre la actividad ureasa.....	58
Figura 17. Diagrama de pareto de los efectos y sus interacciones sobre la actividad ureasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	60

Figura 18. Diagrama de superficie respuesta de la actividad ureasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	62
Figura 19. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de LP (a), ACU (b) y Lig (c) al transcurrir los días de incubación, sobre la actividad catalasa.....	62
Figura 20. Diagrama de pareto de los efectos y sus interacciones sobre la actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	65
Figura 21. Diagrama de superficie respuesta de la actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	66
Figura 22. Diagrama de superficie respuesta de la actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	67

Índice de tablas

Tabla 1. Enzimas presentes en los suelos.....	16
Tabla 2. ANOVA para el diseño 3^2 (Gutierrez y De La Vara, 2008).....	26
Tabla 3. Características de los lodos papeleros procedentes de división higiénico (Marques, 2011).....	27
Tabla 4. Características del lignito proveniente de la empresa PROMIVECA (Lizcano, 2011).....	28
Tabla 5. Valores de porcentaje de enmienda (%E) y tiempos de incubación (TI) en días, elegidos para el diseño de experimento, según bibliografía.....	28
Tabla 6. Intervalo de variación de los contenidos de arena, limo y arcilla en las diferentes clases texturales de los suelos. (Jaramillo, 2002).....	32
Tabla 7. Preparación de las soluciones patrones de tirosina, para la realización de la curva de calibración (Fuente: Suarez, 2010).....	36
Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos, para un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica	40
Tabla 9. Resultados experimentales de parámetros fisicoquímicos, para un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica.....	41
Tabla 10. Resultados experimentales de parámetros fisicoquímicos, para un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica.....	42
Tabla 11. Resultados experimentales de parámetros bioquímicos, usando diseño experimental 3^2 para un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica	47
Tabla 12. Resultados experimentales de parámetros bioquímicos, usando diseño experimental 3^2 para un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica.....	48
Tabla 13. Resultados experimentales de parámetros bioquímicos, usando diseño experimental 3^2 para un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica.....	49
Tabla 14. ANOVA para la variable respuesta actividad celulosa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	51
Tabla 15. ANOVA para la variable respuesta actividad celulosa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica.....	54
Tabla 16. ANOVA para la variable respuesta actividad celulosa en un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica.....	55
Tabla 17. ANOVA para la variable respuesta actividad proteasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	57

Tabla 18. ANOVA para la variable respuesta actividad proteasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica.....	58
Tabla 19. ANOVA para la variable respuesta actividad proteasa en un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica.....	59
Tabla 20. ANOVA para la variable respuesta actividad ureasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	61
Tabla 21. ANOVA para la variable respuesta actividad ureasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica.....	63
Tabla 22. ANOVA para la variable respuesta actividad ureasa en un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica.....	63
Tabla 23. ANOVA para la variable respuesta actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	66
Tabla 24. ANOVA para la variable respuesta actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica.....	67
Tabla 25. ANOVA para la variable respuesta actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica.....	68
Tabla 26. Coeficientes de correlación de Pearson entre los indicadores fisicoquímicos y bioquímicos estudiados, para un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica.....	70
Tabla 27. Coeficientes de correlación de Pearson entre los indicadores fisicoquímicos y bioquímicos estudiados para un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica	71
Tabla 28. Coeficientes de correlación lineal entre los indicadores fisicoquímicos y bioquímicos estudiados para un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica	73

1. Introducción

El suelo es uno de los recursos naturales más importante ya que es un recurso no renovable a escala de tiempo humano (Jenny 1980; 1984), donde se dan interacciones naturales que afectan las poblaciones de los organismos que las habitan, estos procesos son amenazados por el aumento de la población y la industrialización que esto conlleva, ocasionando un impacto en la sostenibilidad agrícola y calidad medioambiental.

Es de vital importancia el estudio de la calidad del suelo como garante del normal desarrollo de este ecosistema global, uno de los indicadores biológicos de la calidad del suelo que se ha utilizado es la actividad de diferentes enzimas involucradas en ciclos de nutrientes, ya que son muy sensibles a las alteraciones que el suelo pueda sufrir, proporcionan información sobre la actividad microbológica del mismo y juegan un papel fundamental en los procesos de degradación y evolución de la materia orgánica (Ceccanti y García, 1994).

La práctica de emplear adecuadamente enmiendas orgánicas en el proceso agrícola permite el uso más eficiente de los recursos sobre el sistema de producción y ofrece una alternativa para reducir los costos de fertilización, además de reducir los problemas asociados a la disposición de residuos de diferentes orígenes.

En general, se ha demostrado ampliamente que las enmiendas orgánicas incrementan la actividad de las enzimas en el suelo (Fraser *et al.*, 1988; Martens *et al.*, 1992; Perucci, 1992). En recientes investigaciones se ha comprobado que lodos papeleros (Luyando, 2014), aceites comestibles usados (Montoya, 2012) y lignitos (Piñero, 2012) pueden ser empleados como enmiendas orgánicas, obteniendo mejorías en diferentes propiedades, de cada uno de los suelos estudiados. En base al uso de estos materiales como enmienda en suelos, se estudio el efecto que ejercen sobre las actividades enzimáticas como indicador de calidad del suelo.

Se utilizó un diseño de experimento 3^2 de dos factores: porcentaje de enmienda y tiempo de incubación, con tres niveles (bajo, medio y alto), con el fin

de analizar diferentes indicadores de calidad en suelos, así como su evolución con respecto a los factores estudiados. Los indicadores a evaluar serán de dos tipos: fisicoquímicos (pH, conductividad eléctrica, contenido de amonio, contenido de nitrato, materia orgánica, textura, humedad y retención de humedad) y bioquímicos (actividad celulasa, ureasa, proteasa y catalasa).

2. Planteamiento del problema

El incremento de la población mundial, asociado a una mayor demanda de alimentos, ha provocado un uso excesivo de los recursos naturales. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) ha señalado que la población mundial alcanzará 9 billones antes del 2050 (FAO, 2005) esto afectará la sustentabilidad de los sistemas productivos. Según el Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (MPPA) solo 2% del territorio nacional Venezolano posee tierras de buena calidad agrícola; mientras que gran porcentaje de los suelos tiene como principal factor limitante el relieve, riesgos de erosión, problemas de fertilidad y limitaciones de drenaje (MPPA, 2009); todo esto demanda internalizar conocimientos para garantizar la producción de alimentos, tal como el manejo de enmiendas agrícolas aplicadas al suelo.

En Venezuela el uso de las enmiendas orgánicas es cada vez mayor. Sin embargo, los productores las aplican sin conocer sus niveles nutricionales ni sus características biológicas y físicas. Jaramillo (2002) define como enmienda orgánica todos aquellos materiales orgánicos que se aplican al suelo, con algunos propósitos específicos como suministrar nutrientes rápidamente disponibles para la planta y/o mejorar las condiciones físicas del suelo. Dentro de las enmiendas orgánicas más recientemente estudiadas y caracterizadas se encuentran los lodos papeleros (LP), aceite comestible usado (ACU) y lignito (Lig), los dos primeros se han convertido en un problema ambiental.

Desde el siglo XX la disposición de los lodos papeleros ha generado problemas en el suelo ya que afecta las propiedades del mismo generando contaminación de corrientes de aguas cercanas debido a la lixiviación; por su parte el aceite está catalogado mundialmente como un material peligroso por su alto poder contaminante, este puede causar severos daños al ambiente, pudiendo contaminar 1000 litros de agua por cada litro arrojado a corrientes fluviales, inclusive los ACU arrojados desproporcionadamente al suelo destruyen la fertilidad del mismo, por esto es importante disponer de estos materiales de manera adecuada en términos ecológicos.

Una razón por la que se ha fomentado el uso de enmiendas orgánicas, es la necesidad de reducir el uso descontrolado de fertilizantes químicos para mejorar los rendimientos en la producción agrícola, su elevado costo de producción hoy día y la creciente contaminación ambiental, ha determinado la urgente necesidad de desarrollar alternativas que minimicen el impacto negativo de estos sobre el ambiente.

En recientes investigaciones se ha comprobado la mejoría que presentan algunos parámetros de calidad del suelo, al usar estos materiales como enmienda orgánica, tal es el caso estudiado por Montoya (2012) donde se evaluó el efecto producido en dos tipos de suelos, uno de uso agrícola ubicado en Tocuyito, Edo. Carabobo y otro de uso industrial ubicado en Tinaquillo, Edo. Cojedes, al ser tratados por diferentes cantidades de ACU. Luyando (2014), por su parte, realizó un estudio sobre el uso de LP como enmienda orgánica en un suelo agrícola, ubicado en las adyacencias del Lago de Valencia. Además Piñero (2012), usó Lig como enmienda en suelos agrícolas ubicados en Tocuyito, Edo. Carabobo, comprobando el mejoramiento de diferentes propiedades en dichos suelos.

Basándose en estos resultados, surge la necesidad de contar con un indicador para seleccionar la mejor enmienda orgánica, por tal motivo se busca comparar el efecto que tienen estas enmiendas orgánicas en la actividad de

ciertas enzimas, ya que se ha señalado las variables vinculadas a la actividad de los microorganismos como las más apropiadas para determinar modificaciones tempranas en el suelo, de este modo se han encontrado correlaciones positivas entre las actividades enzimáticas celulasa, β -glucosidasa y ureasa con el carbono orgánico del suelo (Nangari, 2012), mientras García *et al.* (2003) emplearon la actividad enzimática como medida de fertilidad y del impacto de la agricultura sobre el suelo.

3. **Justificación**

La calidad de las enmiendas orgánicas se determina a través de las propiedades físicas químicas y biológicas (Lasardi *et al.*, 2006). Al usar LP, ACU y Lig se ha encontrado mejoría en ciertas propiedades del suelo; por tal razón se busca extender estas investigaciones comparando los efectos de estas enmiendas sobre las actividades de algunas enzimas presentes en el suelo, ya que esta es una de las propiedades más sensibles usadas como indicador de calidad del suelo.

Se estudiarán diversas actividades enzimáticas como lo son la ureasa, proteasa, celulasa y catalasa, las dos primeras vinculadas al ciclo del nitrógeno; la ureasa encargada de catalizar la hidrólisis de la urea en amonio y dióxido de carbono (Steubing *et al.*, 2002), mientras la segunda es la responsable de la ruptura de los enlaces peptídicos contenidos en las proteínas hasta formar aminoácidos, por su parte la celulasa participa en el ciclo del carbono, catalizando la hidrólisis de la celulosa, ya que esta es insoluble y no puede ser directamente asimilada por los microorganismos; finalmente la catalasa se considera un indicador de la actividad de los organismos aerobios y se ha relacionado con la fertilidad del suelo (García y Hernández, 1997).

Simultáneamente se estudiarán otros parámetros fisicoquímicos indicadores de la calidad del suelo; como lo son: pH, conductividad eléctrica, contenido de amonio, contenido de nitrato, materia orgánica, textura, humedad y retención de

humedad, para finalmente según el diseño de experimento 3^2 obtener un análisis estadístico y la comparación de las respuestas obtenidas según el factor estudiado, esta información estadística confiable permitirá a los productores agrícolas, la planificación del uso de enmiendas orgánicas en los cultivos establecidos en sus predios.

4. **Objetivos**

4.1. **Objetivo general**

- Evaluar los efectos de la aplicación de lodos papeleros, aceites comestibles usados y lignitos como enmiendas orgánicas sobre ciertas propiedades fisicoquímicas y actividades enzimáticas de un suelo agrícola.

4.2. **Objetivos específicos**

- Determinar en sistemas suelo-enmienda, parámetros fisicoquímicos tales como: pH, conductividad eléctrica, contenido de amonio, contenido de nitrato, materia orgánica, textura, humedad y retención de humedad
- Estudiar la actividad enzimática celulasa, ureasa, proteasa y catalasa en los sistemas suelo-enmienda, según el diseño de experimento planteado.
- Comparar estadísticamente el efecto generado por las diferentes enmiendas en los parámetros de calidad determinados.

5. Marco teórico

5.1. Antecedentes

5.1.1. Estudio de la capacidad del suelo para la degradación de aceites comestibles usados y su incorporación como materia orgánica. (Montoya, 2012)

Se analizó el efecto producido por la aplicación de aceites comestibles usados (ACU's) en dos tipos de suelos: de origen industrial y agrícola ubicados en Tinaquillo y Tocuyito respectivamente, sobre algunas propiedades químicas y biológicas, comparando los resultados con un suelo control. Se incubaron sistemas suelo-aceite con diferentes dosis de Aceites Comestibles Usados (5, 10, 15, 30 y 50)%p/p por un periodo de tres meses. Con respecto a los resultados en las propiedades químicas (Capacidad de intercambio catiónico, pH, conductividad, materia orgánica) se observaron cambios significativos; se obtuvo una tasa de degradación por encima del 50% para los dos suelos a los distintos porcentajes de aceite agregado, indicando una alta efectividad por parte de los microorganismos del suelo para degradar el ACU en un corto periodo de tiempo; de igual modo para que el suelo permanezca en los parámetros adecuados de pH cultivable, la máxima cantidad de aceite agregado debe ser de 5% para el suelo industrial (Tinaquillo) y 15% para el suelo Agrícola (Tocuyito).

5.1.2. Aplicación de lignitos nacionales para el mejoramiento de suelos agrícolas: estudios en microcosmos. (Piñero, 2012)

El estudio consistió en evaluar los efectos de la aplicación de distintas dosis de lignitos sobre algunas propiedades físicas, químicas y biológicas de suelos agrícolas a nivel de microcosmos. Para ello se incubaron 12 microcosmos de suelo, previamente caracterizado por un periodo de 2 meses, los factores evaluados fueron porcentaje de lignito (0, 2, 4, 6, 12 y 20)% y tiempo de incubación. Se obtuvo correlación de los parámetros químicos (pH, CE, MOS, CIC y Nitrógeno total) y biológicos (Respiración basal y Coeficiente metabólico) con respecto a los diferentes

tratamientos de lignitos, mientras los parámetros físicos medidos en esta investigación no resultaron afectados con la aplicación de las distintas dosis de lignitos. Finalmente se obtuvo mejora de las propiedades del suelo usando 20% de lignito.

5.1.3. Evaluación de indicadores de calidad en respuesta a la aplicación de lodos papeleros como enmienda orgánica en suelos agrícolas (Luyando, 2014)

Se estudió la aplicación de lodos papeleros como enmienda orgánica en suelos agrícolas ubicados en la agropecuaria La Concepción, Estado Carabobo. Se analizaron sistemas con diferentes dosis de lodo (0, 1 y 10)% en diferentes días de incubación (10, 20 y 30), en cada caso se determinaron indicadores de la calidad del suelo: físicos (contenido de humedad), químicos (pH, CE, CIC, bases intercambiables) y biológicos (contenido de materia orgánica, respiración basal, carbono de la biomasa microbiana, actividad ureasa y celulasa). Se determinó que los parámetros químicos (CE, CIC y bases intercambiables) no tienen relación con la aplicación de LP. Como resultado se obtuvo una mejor condición de los suelos agrícolas con la mayor cantidad de lodo aplicado (10%) y al día 20 de incubación.

5.2. **Bases teóricas**

5.2.1. **Importancia del suelo**

El papel del suelo en la naturaleza es muy complejo, ya que se considera como un sistema abierto, interfaz entre la hidrosfera, atmósfera, litosfera y biosfera. Por lo tanto, la edafosfera, hidrosfera, atmósfera y biosfera son compartimentos medioambientales que se superponen y están íntimamente asociados en el ecosistema, por lo que cualquier alteración que se produzca en el suelo tendrá un profundo impacto no sólo en la salud del suelo, sino también en la salud del ecosistema (Cihacek *et al.*, 1996).

La productividad de un suelo está determinada por sus propiedades y atributos. Evidentemente, las condiciones de la capa superficial del suelo, tiene un

rol especial en lo que se refiere al aporte de agua y nutrientes por parte del suelo a los organismos vivos que están en él y, para el caso especial de los ecosistemas agrarios, los organismos vivos son, básicamente los cultivos.

5.2.2. **Concepto de calidad del suelo**

Según Larson y Pierce (1994), la calidad del suelo se define en base a sus funciones y representa una combinación de sus propiedades físicas, químicas y biológicas, de manera que un suelo de calidad debe:

- a) Proporcionar un medio para el crecimiento de las plantas y para que se desarrolle la actividad biológica.
- b) Regular los flujos de agua que pasen a través de él.
- c) Ejercer un efecto tampón en la formación y destrucción de compuestos peligrosos para el medio ambiente.

Aunque a veces se emplean los términos “salud del suelo” y “calidad del suelo” de forma intercambiable (Harris y Bezdicek, 1994; Doran y Safley, 1997), es importante aclarar que este último se refiere de un modo más específico a la capacidad del suelo de satisfacer las necesidades humanas, como el crecimiento de un cultivo en particular, mientras que el primero se refiere a los atributos ecológicos del suelo (biodiversidad, estructura de la cadena alimenticia, actividad, etc.), más allá de su calidad o capacidad para producir un cultivo determinado.

5.2.3. **Ciclo de nutrientes**

5.2.3.1. **Ciclo del carbono**

El carbono es un elemento fundamental para la vida en la Tierra. Se encuentra presente en la atmósfera, plantas, animales, combustibles fósiles, rocas y se

encuentra disuelto en los océanos. El ciclo del carbono (Figura 1) es el más importante desde el punto de vista cuantitativo.

Conceptualmente, los modelos del ciclo del carbono se pueden reducir a procesos asociados con la transformación del dióxido de carbono en materia orgánica y el retorno de este carbono fijado primariamente a través del proceso de fotosíntesis a su forma mineral a través de la mineralización; es decir, el carbono entra en el suelo a través de la fotosíntesis, que transforma el CO_2 atmosférico en compuestos orgánicos, que pueden entrar en el suelo formando parte de las hojas, raíces y exudados de las raíces. Estos residuos orgánicos son descompuestos por los organismos y microorganismos del suelo, lo que da lugar a que una gran parte del carbono retorne a la atmósfera como CO_2 . La materia orgánica representa una importante reserva de carbono orgánico. La mayor parte del carbono del suelo se encuentra formando parte de las sustancias húmicas (Tate, 2000).

5.2.3.2. **Ciclo del nitrógeno**

El ciclo del nitrógeno en el suelo es parte de un ciclo más completo (Schulten y Schnitzer, 1998); en la Figura 2 se representa el ciclo del nitrógeno en el suelo. El suelo recibe nitrógeno a través de la adición de fertilizantes y de la atmósfera, por medio de precipitación o de deposición seca, por medio de residuos vegetales o deposiciones de animales y se elimina del sistema por medio de lavado, a través de la cosecha y como transferencia de nitrógeno gas y óxidos de nitrógeno (durante procesos de nitrificación y desnitrificación).

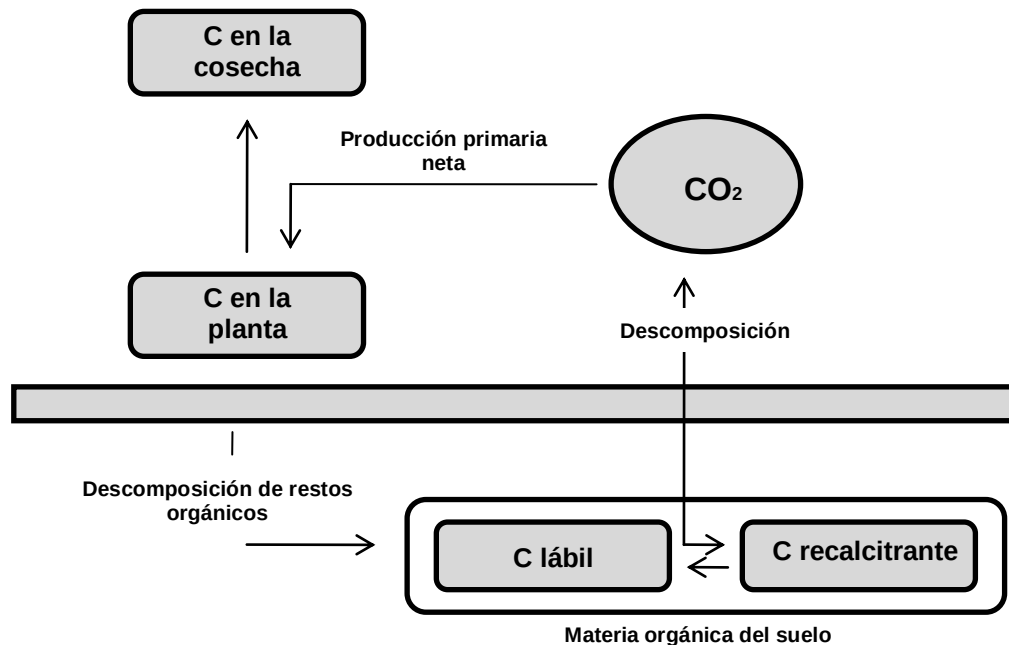


Figura 1. El ciclo del carbono en suelos agrícolas. Obtenido de Haynes (2005)

La mayor parte del nitrógeno presente en el suelo está en forma de nitrógeno orgánico. Este nitrógeno orgánico representa una importante reserva de nutrientes y está constituido en aproximadamente un 40% por material proteico (Hayano, 1996) (proteínas, péptidos y aminoácidos), aunque también abundan los compuestos heterocíclicos (Schulten y Schnitzer, 1998) de nitrógeno (aproximadamente un 35%).

El nitrógeno es el único nutriente esencial para las plantas que no es liberado por medio de la mineralización, por lo que frecuentemente se comporta como un factor limitante en la productividad de los ecosistemas.

La amonificación se produce debido a la acción de un gran número de microorganismos, tanto aerobios como anaerobios, y diversos tipos de organismos como bacterias y hongos mientras que la nitrificación (conversión de amonio a nitrato por oxidación enzimática) es un proceso que ocurre en dos etapas:

Conversión de amonio a nitrito y su posterior transformación en nitrato (De Boer y Kowalchuk, 2001).

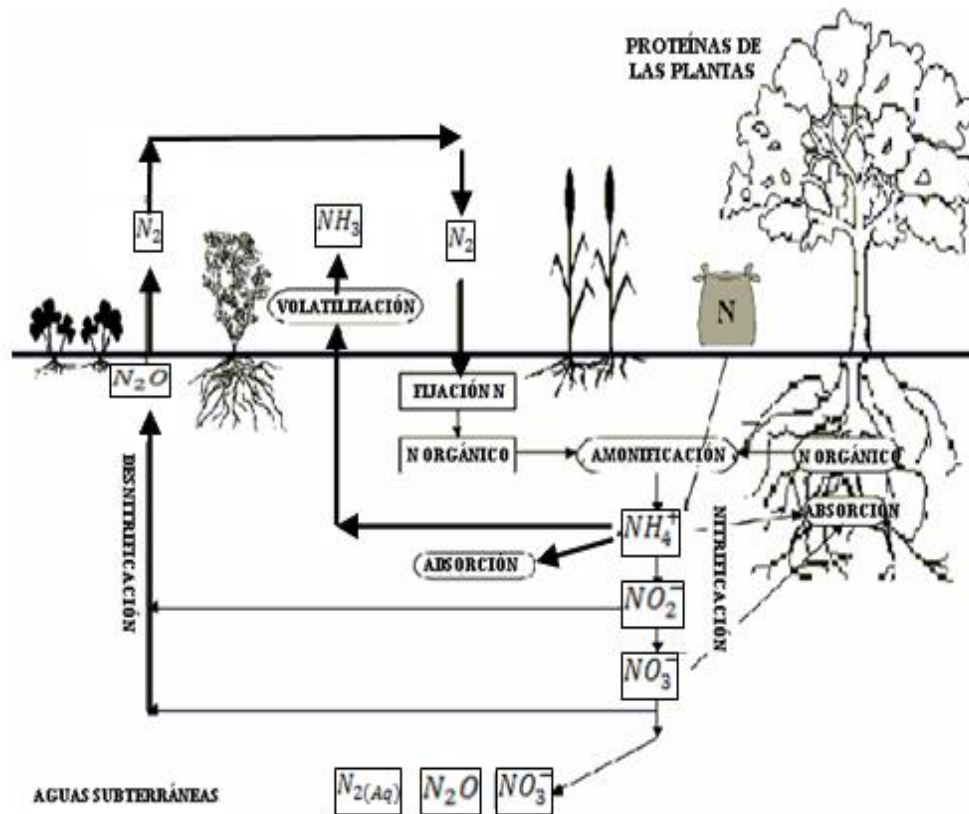


Figura 2. El ciclo del nitrógeno en el suelo. Tomado de Ridley et al. (2004)

Cada una de estas etapas implicadas en la conversión del nitrógeno orgánico a amonio, se encuentra catalizada por una enzima específica. Así, por ejemplo, las deshidrogenasas y oxidasas catalizan la conversión de los aminoácidos en amonio.

5.2.4. Contenido de nitrógeno, amonio y nitrato

El ciclo global del nitrógeno se puede considerar dinámico y cerrado, mientras que los sistemas que lo integran (amonificación, nitrificación) son dinámicos, pero abiertos, con flujos de entrada y salida de nitrógeno, que es transferido de unos a

otros (Porta *et al.*, 1999). A través de este ciclo el nitrógeno orgánico se transforma en especies disponibles para la vegetación (amonio y nitrato).

A la transformación del nitrógeno orgánico en nitrógeno amoniacal se le denomina mineralización, mientras que a la oxidación de amonio a nitrato se le conoce como nitrificación. Tanto el amonio como el nitrato son liberados por los microorganismos al emplear el nitrógeno orgánico como fuente de energía (Jansson y Persson, 1982).

Es frecuente el empleo de fertilizaciones con nitrógeno para incrementar la cantidad de nitrógeno que el suelo es capaz de proporcionar a las plantas. Sin embargo, el abuso en el empleo de fertilizantes supone un problema de contaminación por exceso de nitratos en las aguas subterráneas (Porta *et al.*, 1999). Numerosos autores (Jarvis *et al.*, 1996; Silgram y Shepherd, 1999) han puesto de manifiesto la necesidad de mejorar el conocimiento de los factores que regulan la mineralización de nitrógeno con objeto de mejorar las recomendaciones sobre el uso de fertilizantes nitrogenados en suelos.

La amonificación es una medida neta de la mineralización de nitrógeno, ya que la inmovilización de NH_4^+ por parte de los microorganismos en forma de nueva biomasa se produce simultáneamente con el proceso de mineralización. La amonificación se ve catalizada por las siguientes enzimas: proteasas, peptidasas, algunos tipos de deshidrogenasas y oxidasas y por amidohidrolasas (Ladd y Buttler, 1972; Nannipieri *et al.*, 1990), aunque aún no se entiende muy bien la relación entre la mineralización de nitrógeno, la actividad enzimática extracelular y la actividad microbiana (Nannipieri *et al.*, 1979).

En muchas circunstancias la mayor parte del amonio en el suelo procede de su liberación mediante procesos de mineralización, la excepción es cuando se añade amonio en forma de fertilizantes de composición basada en la urea, o cuando retornan al suelo excreciones de animales. En general, se asume que en los suelos

de cultivo no es un proceso limitante, ya que la amonificación suele ser más rápida que la nitrificación (Jarvis *et al.*, 1996).

La amonificación se ve afectada fuertemente por las condiciones físicas y químicas del suelo (Grant, 1994). Así, ésta se ve inhibida en suelos fuertemente ácidos, por las bajas temperaturas, en suelos con valores extremos de humedad (suelos muy secos o encharcados) y en suelos poco aireados. Por el contrario, se ve favorecida por un pH neutro, en suelos bien aireados, por temperaturas moderadamente elevadas y en suelos húmedos (MacDuff y White, 1985; Pilbeam *et al.*, 1993).

La nitrificación es el proceso de oxidación de los compuestos de nitrógeno reducidos, principalmente NH_4^+ por dos grupos de bacterias autótrofas (Nitrosomas y Nitrobacter) de acuerdo con los procesos mostrados en la Figura 3.

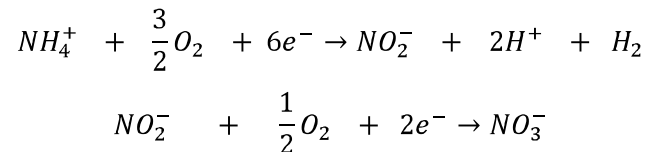


Figura 3. Reacción de nitrificación

La transformación de una especie relativamente inmóvil, como es el amonio, en otra con una mayor movilidad (NO_3^-), vía nitrito, es un paso clave del ciclo del nitrógeno en el suelo, y, con frecuencia, lleva a un exceso de NO_3^- y una subsiguiente pérdida de nitrógeno por medio de lavado o desnitrificación (Jarvis *et al.*, 1996).

La nitrificación depende de la aerobividad del suelo, y por lo tanto, de la textura, estructura y contenido en agua del suelo, del pH (por lo que puede ser inhibido por el elevado pH causado por fertilizaciones líquidas o de anhídrido

amónico), de la disponibilidad de sustrato (amonio) y de la disponibilidad de poblaciones microbianas (Jarvis *et al.*, 1996).

5.2.5. **Materia orgánica**

Según el Soil Survey Laboratory (SSL, 1995, 1996), la materia orgánica del suelo, llamada también humus, se define como la fracción orgánica que posee el suelo, excluyendo los residuos vegetales y animales sin descomponer.

La materia orgánica del suelo es un indicador clave de la calidad del suelo (Swift y Wooster, 1993; Park y Cousins, 1995), debido a su gran influencia sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del mismo, ya que, por ejemplo, es una fuente de energía y nutrientes para los microorganismos del suelo y es una fuente de nutrientes para las plantas vía mineralización de nitrógeno, azufre y carbono, afecta a la estabilidad de los agregados, a la retención de agua y a las propiedades hidráulicas.

5.2.6. **Indicadores bioquímicos de la calidad del suelo**

En general los parámetros físico-químicos no son muy útiles para evaluar la calidad del suelo, ya que sólo se alteran cuando éste sufre cambios drásticos (Filip, 2002). Sin embargo, las propiedades biológicas y bioquímicas son muy sensibles a las ligeras alteraciones que el suelo pueda sufrir, como se observa en la Figura 4 (Nannipieri *et al.*, 1990; Yakovchenko *et al.*, 1996). Además, el componente biológico del suelo es fundamental en numerosos procesos y funciones que son llevadas a cabo en los suelos (Dick *et al.*, 1996), como pueden ser la descomposición de residuos orgánicos, el ciclo de nutrientes y la síntesis de sustancias húmicas.

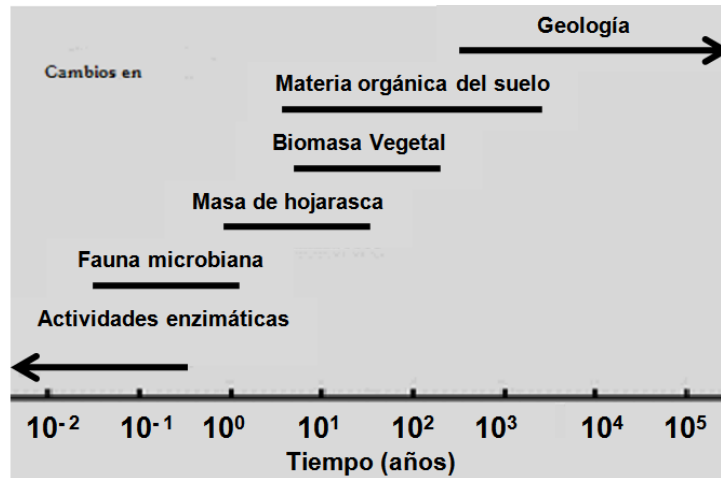


Figura 4. Tiempo de respuesta de diversos parámetros del suelo a cambios en el manejo (Janzen, 2004)

He *et al.* (2003) sitúan la medida indirecta de diversas actividades enzimáticas relacionadas con el ciclo del carbono y nitrógeno, dentro de los parámetros biológicos más frecuentemente estudiados. Este indicador se clasifica como un parámetro bioquímico específico que son, hasta cierto punto, independientes de la dinámica de la población microbiana, debido a su estabilización en los coloides del suelo (Burns, 1982).

5.2.6.1. Actividades enzimáticas

Las actividades enzimáticas se pueden emplear como medidas de la actividad microbiana, de la productividad del suelo y del efecto inhibitorio de contaminantes (Tate, 2000) y han demostrado responder al manejo del suelo (Nannipieri *et al.*, 2002). Taylor *et al.* (2002) citan como principales razones para medir la actividad de las enzimas las siguientes:

a) Informan del potencial bioquímico del suelo y del potencial para manipular el ecosistema suelo.

b) Son indicadores de calidad del suelo, ya que cambios en actividades enzimáticas clave pueden proporcionar información sobre el progreso de operaciones de recuperación de suelos o sobre la sostenibilidad de determinados sistemas de manejo agrícolas.

En casi todos los procesos que ocurren en el suelo intervienen los microorganismos y se encuentran catalizados por enzimas (Kandeler *et al.*, 1996), ya que estas son las mediadoras directas del catabolismo biológico de los componentes orgánicos y mineral del suelo, lo que las hace adecuadas como indicadores de la actividad biológica, ya que indican la velocidad de reacción de importantes procesos que ocurren en el suelo.

5.2.6.1.1. **Clasificación de las enzimas del suelo**

Se han clasificado las enzimas según la reacción que catalizan (Tabla1).

Tabla 1. *Enzimas presentes en los suelos*

Clase de enzima	Reacción química catalizada	Nombre de la enzima (Ej.)
Oxido-Reductasa	Oxido-Reduccion	Glucosa Oxidasa, Catalasa
Transferasas	Transferencia de grupos funcionales	Glucoquinasa
Hidrolasas	Hidrólisis	Celulosa, Ureasa, Proteasa
Liasas	Adición de dobles enlaces	Descarboxilasa
Isomerasas	Isomerización	Fosfoglucosa Isomerasa
Ligasas	Formación de enlaces	Piruvato Carboxilasa

Las enzimas del suelo se han clasificado según su localización de la siguiente manera (Nannipieri *et al.*, 2002):

- a) Enzimas bióticas, asociadas a células activas, localizadas intracelularmente, en el citoplasma celular, en el espacio periplásmico y en superficies exteriores de las células.
- b) Enzimas abióticas, que son aquellas excretadas por células vivas, unidas a células muertas o presentes extracelularmente en el suelo en donde pueden existir como enzimas estabilizadas en dos lugares: adsorbidas a la superficie interna o externa de las arcillas y complejadas con los coloides húmicos a través de procesos adsorción o por haber sido atrapadas o copolimerizadas durante la formación del humus.

5.2.6.1.2. Celulasa

La celulosa es uno de los polisacáridos más importantes en la naturaleza y el más abundante en las paredes celulares de las plantas, que consisten en un (40-70)% de celulosa. Su molécula posee más de 2000 unidades de D-(+)-glucosa, unidas por un enlace glucosídico (1,4) de tipo β .

Charpentier (1968) distingue tres fases en el proceso de degradación de la celulosa (Figura 5) en el que participan tres enzimas:

- (1) la exocelulasa, que rompe enlaces glucosídicos terminales de la estructura de celulosa cristalina (insoluble), transformándola a celulosa amorfa (soluble);
- (2) la endocelulasa, que rompe enlaces β (1,4) de la celulosa formando celobiosa y;
- (3) la β -glucosidasa, que transforma la celobiosa en unidades de D-glucósidos, por lo tanto el producto de la celulasa sirve como sustrato para la enzima β - glucosidasa (Turner *et al.*, 2002).

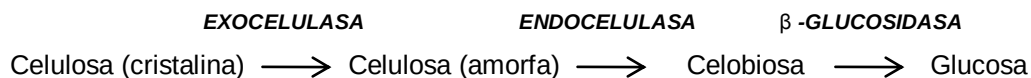


Figura 5. Esquema de la hidrólisis de celulosa cristalina a glucosa, catalizada por las enzimas exocelulasa, endocelulasa y β -glucosidasa. (Fuente: García et al., 2003)

La degradación microbiana de la celulosa es uno de los procesos más importantes en la degradación del material vegetal, transformando compuestos orgánicos complejos (celulosa, hemicelulosa y lignina) a compuestos más sencillos (*D*-glucósidos). Este proceso es llevado a cabo por los microorganismos del suelo a través de la secreción de enzimas, con el fin de obtener compuestos más sencillos que ellos puedan digerir (Martínez et al., 2008; Castillo, 2005; Alef y Nannipieri, 1995).

La medida de la actividad celulasa del suelo se ha revelado adecuada para comprobar la influencia de la fertilización en diversos tipos de suelos (Schinner y von Mersi, 1990). Esta enzima es parcialmente responsable de la descomposición de la hojarasca, al igual que la invertasa.

5.2.6.1.3. **Proteasa**

Las proteasas (EC 3.4.4) son enzimas que limitan la velocidad en el ciclo del nitrógeno en el suelo (Ladd y Paul, 1973; Hayano, 1996), siendo las responsables de la ruptura de enlaces peptídicos para formar aminoácidos. En cuanto al origen de las proteasas en el suelo, Hayano (1996) concluye que éstas proceden principalmente de animales y microorganismos, así como, en mucha menor proporción, de los residuos vegetales.

Las actividades de los diferentes tipos de proteasas pueden determinarse de manera selectiva según el tipo de sustrato y las condiciones (pH, temperatura) de la técnica que se emplee en su determinación (Ladd y Paul, 1973). Así, las proteasas

se pueden clasificar como serinaproteasas (alcalinas), metaloproteasas (neutras), cisteína proteasas (neutras) y proteasas ácidas.

Para la determinación de la actividad proteasa se utilizó la caseína como sustrato inespecífico consistente en una mezcla de diferentes fosfoproteínas contenidas en el suero de la leche, con masas moleculares que oscilan entre 75000 y 375000 daltons. Bajo el término de actividad proteasa-caseína se engloban las proteasas del suelo capaces de degradar la caseína a aminoácidos, es decir, la proteasa-caseína actúa catalizando la hidrólisis de grandes cadenas de proteínas. Watanabe y Hayano (1995) encontraron que la actividad caseína del suelo se puede originar a partir de la proteasa serina intracelular de la bacteria *Bacillus* spp.

5.2.6.1.4. Ureasa

La ureasa (urea amidohidrolasa; EC 3.5.1.5) está ampliamente distribuida en la naturaleza, encontrándose presente en un gran número de microorganismos, animales y plantas superiores (Tabatabai, 1994), pero a pesar de que un gran número de plantas contienen actividad ureasa, se cree que la mayor parte de la actividad ureasa del suelo es de origen microbiano (Klose y Tabatabai, 1999).

La ureasa cataliza la reacción química por la que la urea se hidroliza para dar lugar a amonio y carbamato, que se hidroliza rápidamente para formar dióxido de carbono y una segunda molécula de amonio, según la reacción presentada en la Figura 6.

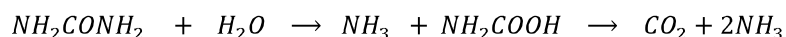


Figura 6. Reacción de hidrólisis de la urea

Es una de las enzimas más estudiadas, no solo por su relación con el ciclo del nitrógeno sino también debido a la importancia agrícola del sustrato sobre el que actúa, la urea.

La ureasa es una enzima muy estable en el suelo y raramente es influenciada por la sequedad, irradiación y temperatura (McLaren, 1969; Pancholy y Rice, 1973; Zantua y Bremner, 1975; Fenn *et al.*, 1992, citados por García *et al.*, 2003). La cantidad de materia orgánica no parece ser la responsable de la actividad ureasa, sino el tipo de materia orgánica (García *et al.*, 2003), aunque Casanova y Benavides (1995) encontraron una alta correlación entre la actividad ureasa y el contenido de materia orgánica del suelo.

Las enmiendas orgánicas aumentan en la fracción arcilla la capacidad para proteger la ureasa, ya que está se encuentra fundamentalmente adsorbida en micro unidades estructurales menores de 50um (Kandeler *et al.*, 1999).

5.2.6.1.5. **Catalasa**

Durante los procesos biológicos (metabolismo) se generan especies químicas conocidas como radicales libres, los cuales se caracterizan por presentar un electrón desapareado y por ser muy reactivas. Entre estos radicales, las especies reactivas derivadas del oxígeno (EROS) resultan de gran interés debido a su estructura birradical y al gran número de procesos que las generan y en los que pueden verse involucradas. Las principales EROS son el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH^-), el oxígenosinglete y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

En los organismos existe un sistema de protección antioxidante formado por enzimas y compuestos de bajo peso molecular. Una de las enzimas que intervienen en esta protección y en el mantenimiento del balance oxidante/antioxidante es la catalasa (UACH, 2009). La catalasa forma parte de los sistemas de destoxificación de las células animales y vegetales, y de bacterias aerobias y anaerobias facultativas. La reacción específica que cataliza es la ruptura del H_2O_2 para formar agua y oxígeno, según la Figura 7.

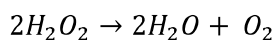


Figura 7. Reacción de ruptura de H_2O_2

El H_2O_2 se forma en el transporte de electrones de la cadena respiratoria y en ciertas reacciones de hidroxilación y oxigenación (Alef y Nannipieri, 1998). Esta actividad se considera un indicador de la actividad de los organismos aerobios y se ha relacionado con la fertilidad del suelo (García y Hernández, 1997).

La catalasa se relaciona con la actividad microbiana del suelo por ser una enzima intracelular presente en microorganismos aerobios y en la mayoría de los anaerobios facultativos.

5.2.7. **Enmiendas orgánicas**

El empleo de enmiendas orgánicas o inorgánicas se usa con el fin de incrementar la disponibilidad de nutrientes para las plantas. Los suelos en los que se emplean enmiendas orgánicas generalmente poseen actividades enzimáticas más elevadas (Fauci y Dick, 1994) y una mayor cantidad de carbono asociado a la biomasa bacteriana que aquellos que no han recibido ningún tipo de enmienda orgánica (Dick *et al.*, 1988).

La actividad microbiana del suelo se ve fuertemente incrementada por la adición de enmiendas orgánicas a través de la modificación de las características físicas del suelo y de la adición de fuentes de carbono y de nitrógeno fácilmente disponibles (Fraser *et al.*, 1988). Los parámetros biológicos (respiración basal y carbono de la biomasa microbiana) se ven fuertemente favorecidos por la adición de lodos papeleros como enmienda orgánica, encontrando mejores niveles en los indicadores de calidad del suelo evaluados usando dosis altas de enmienda orgánica (Luyando, 2014), igualmente usando lignitos para el mejoramiento de suelos agrícolas, se obtuvieron mejoras en las propiedades del suelo al usar la mayor dosis de lignito (Piñero, 2012). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que no siempre una dosis elevada de enmienda orgánica influye de forma positiva en las propiedades del suelo, tal es el caso del uso de aceites comestibles usados donde la mayor actividad microbiológica y biomasa microbiana, se obtuvo al usar la menor dosis de enmienda (Montoya, 2012).

5.2.7.1. Lignitos

El lignito es un mineral perteneciente a la familia del carbón, constituido en su mayoría por materia orgánica proveniente de residuos vegetales. Sus componentes principales son los ácidos húmicos, estos son moléculas complejas formadas por la descomposición de materia orgánica, los cuales influyen directamente en el suelo principalmente por su capacidad de retención de agua, contribución a la estabilidad y fertilidad de los suelos incidiendo en la absorción de nutrientes.

Los lignitos se diferencian de los carbones más antiguos por su color, que varía de pardo a negro, por su textura amorfa y fibrosa, por su contenido de humedad que puede alcanzar hasta un 60% en los casos extremos y su porcentaje de carbono no mayor a 80%. Como componentes adicionales presenta en poca cantidad minerales arcillosos, siderita, pirita y calcita. Los lignitos solo aparecen en sedimentos no compactados o muy poco compactados (Garreaud *et al.*, 2004).

Debido al contenido de ácidos húmicos los lignitos proporcionan grandes beneficios en los suelos, en suelos arcillosos los ácidos húmicos promueven la aireación de los mismos y mejoran su estructura, permitiendo una mejor penetración de agua y elementos nutritivos. En suelos arenosos con muy poco humus, el lignito puede atrapar las partículas de arena incrementando la capacidad de intercambio catiónico (CIC), la retención de humedad y elementos nutritivos. Por lo tanto los ácidos húmicos evitan la lixiviación de los nutrientes hacia las aguas subterráneas, sobre todo de nitrato. Estos son retenidos en el suelo con el agua quedando así disponibles para las plantas (Humintech, 2005).

5.2.7.2. Lodos papeleros

La industria papelera utiliza en la fabricación de sus productos materias primas, que son fibras de madera y papel reciclado, cargas, gomas, pegantes y colorantes entre otros, en concentraciones elevadas que durante el proceso o al final de él deben ser lavadas produciendo las “aguas blancas”, tal como se establece en el manual de tratamiento de aguas negras, del Departamento de Sanidad del Estado de Nueva York (1998). Estas aguas deben tratarse antes de ser vertidas a un cauce o antes de ser reincorporadas al proceso, debido a que generan como residuo un lodo compuesto básicamente por materiales celulósicos, arcillas, materiales húmicos, productos químicos de la coagulación y microorganismos. La cantidad de humedad presente en el lodo al final del proceso de tratamiento alcanza a ser 45% después de su deshidratación con un sistema de filtro prensa. (Wang, 1992; Sundstrom *et al.*, 1979 y Velásquez, 2003).

En el proceso productivo de la pasta papelera se generan principalmente tres tipos de lodos: lodos de destinado, lodos de lejías verdes y lodos de depuradora. Los dos primeros son lodos de proceso, mientras que los terceros son los lodos de la planta de tratamiento de aguas de la instalación.

Con respecto al uso de lodos papeleros como enmienda orgánica Beyer *et al.* (1997) plantearon que el primer efecto directo es sobre el carbono orgánico total del suelo, el cual constituye el combustible para la vida en el sistema, pero acotan que esta práctica debe ser sistematizada en el tiempo porque se pierden los efectos en muy corto plazo; además se ha señalado que los residuos de lodos papeleros poseen elevadas cantidades de sustratos capaces de activar la síntesis de enzimas de origen básicamente microbiano (Pascual *et al.*, 1998).

5.2.7.3. **Aceites comestibles usados**

Los aceites son componentes biológicos que son solubles en solventes no polares como benceno, cloroformo y éter, y son prácticamente insolubles en agua. Estas moléculas son diversas tanto en lo referente a su estructura química como a su función biológica. Se distinguen entre ellos los ácidos grasos, las grasas y aceites, entre otros.

Hoy en día los aceites son ampliamente utilizados en la industria de los alimentos, en este sentido los productos fritos son de gran aceptación por el consumidor ya que el aceite confiere un sabor característico derivado de la formación de productos de la alteración de las grasas tales como los compuestos de oxidación lipídica (benzopirenos que se forman por combustión incompleta de las grasas) y degradación de proteínas (Barrera, 1998). A medida que el aceite comestible se sigue calentando en el tiempo, aumentan los compuestos de oxidación lipídica, hasta llegar un momento donde el aceite pierde sus cualidades como (color, olor y viscosidad) y debe desecharse.

Estos aceites usados generan problemas de contaminación ambiental, solo un litro de aceite comestible contamina casi mil de litros de agua (Galvalizi, 2009). Se ha reportado que en los suelos existe una serie de microorganismos capaces de degradar diferentes sustratos, en especial materia orgánica (Innyeperumal y Shy, 2007). En el caso de los aceites y grasas se produce la degradación mediante la desfragmentación de las largas cadenas de carbono por la acción de los microorganismos heterótrofos presentes en el suelo los cuales lo degradan hasta CO₂ y lo convierte en materia orgánica propia del suelo.

Al degradarse el aceite comestible por medio de la acción microbiana, se produce la fijación de mayor cantidad de materia orgánica en el suelo, parámetro que establece la capacidad de desarrollo en plantas como fuente de carbono y nitrógeno (Crosara, 2009).

5.2.8. Diseño de experimentos

Según Gutierrez y De La Vara (2008) el diseño de experimento es la aplicación del método científico para generar conocimiento acerca de un sistema o proceso, por medio de pruebas planeadas adecuadamente. Esta metodología se ha ido consolidando como un conjunto de técnicas estadísticas y de ingeniería, que permiten entender mejor situaciones complejas de relación causa-efecto. A continuación se describen una serie de términos usados en el diseño de experimento:

- a. Factor: se refiere a cualquier efecto que influye en el resultado de un experimento. Pueden ser controlables (variables de proceso o características de los materiales experimentales que se pueden fijar en un nivel dado), no controlables (variables ambientales como luz, humedad, temperatura, partículas, ruido, etc.), y estudiados (son las variables que se investigan en el experimento, respecto a cómo influyen o afectan a la(s) variable(s) de respuesta).
- b. Nivel: son Los diferentes valores que se asignan a cada factor estudiado en un diseño experimental.
- c. Bloque: es un grupo de resultados que contienen una medida para cada tratamiento.

5.2.8.1. Diseño factorial 3^2

El diseño 3^k , es recomendable cuando se tienen factores de tipo continuo e interesa estudiar efectos cuadráticos, esto se hace cuando se cree que la variable respuesta no es lineal en el intervalo de variación de los factores estudiados. El diseño factorial 3^2 consiste en 9 tratamientos diferentes, que corresponden a todas las posibles maneras en que se pueden combinar dos factores en tres niveles cada uno, sean A y B los factores, cada uno con tres niveles, el análisis de varianza para este diseño se muestra en la Tabla 2 (Gutiérrez y De La Vara, 2008).

Tabla 2. ANOVA para el diseño 3^2 (Gutiérrez y De La Vara, 2008)

Fuente de variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F0	Valor-p
A	SC_A	2	CM_A	$F_o = \frac{CM_A}{CM_E}$	$P(F > F_o)$
B	SC_B	2	CM_B	$F_o = \frac{CM_B}{CM_E}$	$P(F > F_o)$
AB	SC_{AB}	4	CM_{AB}	$F_o = \frac{CM_{AB}}{CM_E}$	$P(F > F_o)$
Error	SC_E	$3^2(n - 1)$	CM_E		
Total	SC_T	$n3^k - 1$			

6. Marco metodológico

6.1. Área de estudio y muestreo del suelo

Las muestras de suelo se tomaron en Guácara, Estado Carabobo, específicamente en el sector Araguita (Boca del Rio), en las adyacencias del Lago de Valencia en la agropecuaria “La Concepción”, la cual realiza cultivos de cebolla, quienes facilitaron su terreno para los estudios a realizar, con el fin de mejorar las propiedades del mismo.



Figura 8. Ubicación satelital del área de estudio. Agropecuaria La Concepción, Guacacara- Estado Carabobo. Coordenadas: 10.185838,-67.85774

El área de estudio se definió en el sector 1, siendo este el más cercano al Lago de Valencia, se realizó el muestreo tomándose muestras simples de forma aleatoria en el campo, realizándose un recorrido en el terreno en forma de zigzag. Las muestras se recogieron en cada vértice donde se cambió la dirección del recorrido, delimitándolo en 20 cm de profundidad y de ancho. Cada sub-muestra se recolectó en bolsas plástica, para mezclar y homogenizar, finalmente se formó una muestra compuesta del sector de estudio.

6.2. Procedencia de las enmiendas orgánicas

Los lodos utilizados son los lodos papeleros de división higiénico caracterizados por Marques (2011) y usados como enmienda orgánica en suelos agrícolas por Luyando (2014), procedentes de una empresa papelera ubicada en la ciudad de Maracay, Estado-Aragua.

Tabla 3. Características de los lodos papeleros procedentes de división higiénico (Marques, 2011)

Característica	Resultado
Humedad ($h \pm \Delta h$) (%)	70,4 $\pm$ 0,3
Materia Orgánica (%)	26 $\pm$ 1

Los Lignitos fueron suministrados por la empresa PROMIVECA, los cuales suministran lignitos nacionales provenientes de un yacimiento en el Estado Táchira. En la tabla 4 se muestra la caracterización del lignito a utilizar.

Tabla 4. Características del lignito proveniente de la empresa PROMIVECA (Lizcano, 2011)

Característica	Resultado
Carbono Orgánico total (%)	47±1
Nitrógeno total (%)	0,93±0,05

Los ACU serán proporcionados por el cafetín del Departamento de Química de FACYT.

6.3. Diseño de experimento utilizado

Se realizó un diseño factorial 3² controlando los factores (Tiempo de incubación y porcentaje de enmienda); donde los tres factores tienen la misma cantidad de niveles.

En la Tabla 5 se presentan los porcentajes de enmienda y tiempos de incubación a empleados para cada tratamiento usado. Los valores fueron tomados según Luyando (2014), Piñero (2012) y Montoya (2012).

Tabla 5. Valores de porcentaje de enmienda (%E) y tiempo de incubación (TI) en días, elegidos para el diseño de experimento, según bibliografía

Niveles	Iodos Papeleros		ACU		Lignitos	
	Factores		Factores		Factores	
	% E	TI	% E	TI	% E	TI
Bajo	0	10	0	10	0	10
Medio	10	20	5	30	10	30
Alto	30	30	10	90	20	60

6.4. Análisis estadísticos

El programa *Stargraphic Centurión* se empleó para realizar los siguientes estudios estadísticos: La tabla ANOVA, el Contraste de Múltiple Rango y la correlación de Pearson. Estos se emplearon para evaluar si existe diferencia significativa o no entre los promedios de cada uno de los sistemas suelo-enmienda evaluados con respecto al control.

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo y se emplea el factor F-ratio, para establecer si existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las variables a un nivel de confianza del 95,0%.

El Contraste de Múltiple Rango aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras. El método actualmente utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de las menores diferencias significativas de Fisher. Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar cada par de medias como significativamente diferentes cuando la diferencia real es igual a 0.

El coeficiente de Pearson es una prueba estadística para analizar la relación entre dos variables medidas por un nivel de intervalos o de razón, puede variar de -1.00 (correlación negativa perfecta) a 1.00 (correlación positiva perfecta) (Camacho C. 2007).

Se calculó el coeficiente de Pearson para correlacionar dos conjuntos de datos según el indicador fisicoquímico o biológico a estudiar; para verificar si poseen una correlación significativa (positiva o negativa), con un nivel de significancia del 95% y empleando el valor $t_{(95\%)} = 2,309$ como referencia.

6.5. Medición de indicadores de calidad del suelo

6.5.1 Indicadores fisicoquímicos

6.5.1.1. pH y conductividad eléctrica(Olarte, 1979 modificado)

Para la obtención de los valores de pH y conductividad eléctrica (relación 1:2) se pesaron 3 g de suelo y se mezclaron con 6 mL de agua destilada en un tubo tipo Falcon, sometiéndolo a agitación por 30 minutos en un agitador orbital, luego se centrifugó por 10 minutos a 1500 rpm. Al sobrenadante se le determinó pH, con un pH-metro, y la conductividad eléctrica con el conductímetro.

6.5.1.2. Determinación del contenido de amonio(Kandeler y Gerber, 1988 modificado)

Se pesaron 5 g de suelo y se adicionó 8 mL de cloruro de potasio 2M, se agitó por 30 min y se centrifugó por 10 minutos a 3500 rpm. Se tomó una alícuota de 2 mL de sobrenadante, se adicionó 2 mL de cloruro de potasio 2M, 5mL de la solución de salicilato/hidróxido y 2 mL de solución de dicloroisocianurato de sodio al 0,1%. Se dejó en reposo durante 30 minutos para desarrollo de color y se determinó la absorbancia a 690 nm. Adicionalmente, se realizó una curva de calibración a partir de cloruro de amonio con concentraciones comprendidas entre 0,5 y 2,5 µg/mL.

6.5.1.3. Determinación del contenido de nitrato(Anderson e Ingram, 1989)

Se pesó 5 g de suelo al cual se le añadió 2 mL de KCl, se tomó 0,5 mL de la muestra a la cual se le adicionó una solución al 5% de ácido salicílico en ácido sulfúrico al 97%, se dejó reposar por 30 minutos, luego se adicionó hidróxido de sodio 2M, se dejó en reposo por 1 hora para desarrollo de color y se midió su absorbancia a 410 nm. Adicionalmente se realizó una curva de calibración con concentraciones desde 2 a 10 mg/L de $[N-NO_3^-]$.

6.5.1.4. Textura (Jaramillo, 2002)

Se determinó la textura del suelo empleando el método cuantitativo del hidrómetro (Bouyoucos, 1934).

Se pesaron 25 g de suelo, cernido por tamiz de 2 mm seco al aire, se colocó el suelo en un cilindro graduado, se le agregaron 20 mL de dispersante (40 g de pirofosfato de sodio y 10 g de bicarbonato de sodio en 1L de agua destilada), agitándolo durante 10 minutos, se completó el volumen del cilindro con agua destilada. Se agitó la suspensión unas 10 veces, vigorosamente y se dejó reposar, tomando registro del tiempo.

A los 40 segundos de reposo se realizó la primera lectura con el hidrómetro y la temperatura de la suspensión; con esta lectura se calcula el contenido de arena (A%) con la Ecuación I.

$$\%A = 100 - \frac{\text{lectura corregida en 40 segundos}}{\text{peso de la muestra}} * 100 \quad Ec I$$

Al terminar la lectura de los 40 segundos, se retiró el hidrómetro y se dejó en reposo la suspensión hasta completar 2 horas. Al cabo de éstas, se introdujo nuevamente el hidrómetro y se realizó otra lectura; se tomó también la temperatura; con esta lectura se calcula el contenido de arcilla (Ar%), utilizando la Ecuación II.

$$\%Ar = \frac{\text{lectura corregida en 2 horas}}{\text{Peso de la muestra}} * 100 \quad Ec II$$

A continuación, se calcula el contenido de limo (L%) con la Ecuación III.

$$\%L = 100 - \%Ar - \%A \quad Ec III$$

Tabla 6. Intervalo de variación de los contenidos de arena, limo y arcilla en las diferentes clases texturales de los suelos (Jaramillo, 2002)

Clase textural	Intervalo en el contenido de		
	Arena (2-0,05)mm*	Limo (0,05-0,002)mm*	Arcilla (<0,002)mm*
Arenosa	100-85	15-0	10-0
Arenosa franca	90-70	30-0	15-0
Franco arenosa	85-43	50-0	20-0
Franca	52-23	50-32	27-7
Franco limosa	50-0	87-50	27-0
Limosa	20-0	100-80	12-0
Franco arcillo arenosa	80-45	28-0	35-20
Franco arcillosa	45-20	53-15	40-27
Franco arcillo limosa	20-0	73-40	40-27
Arcillo arenosa	67-45	20-0	55-35
Arcillo limosa	20-0	60-40	60-40
Arcillosa	45-0	40-0	100-40

* Según el sistema USDA.

6.5.1.5. Humedad (Jackson, 1970)

Para la determinación de este parámetro se pesaron 5 g de suelo, tamizado previamente, en un crisol de porcelana pesado con anterioridad, se colocaron las muestras en la estufa por 24 horas a 105°C, para luego colocarlas en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente y pesar nuevamente. El valor de humedad se obtuvo por diferencia de peso según la Ecuación IV

$$P_w = \frac{(masa\ de\ la\ muestra\ húmeda - masa\ de\ la\ muestra\ seca)}{masa\ de\ la\ muestra\ seca} * 100 \quad Ec\ IV$$

Posteriormente, estas mismas muestras se utilizaron para la determinación de materia orgánica.

6.5.1.6. **Materia orgánica (Faithfull, 2005)**

Luego de realizar el procedimiento para la determinación de la humedad, se tomaron los crisoles con las muestras y se colocaron en la mufla a 400°C, durante 20 horas, posteriormente se retiraron de la mufla, se dejaron en el desecador hasta enfriar y se pesaron nuevamente. Se calculó la diferencia de peso entre las medidas antes y después de calcinar; esta diferencia de peso equivale a la cantidad de materia orgánica (Ecuación V) que se perdió por efecto de la calcinación. Se expresa la diferencia de peso en porcentaje, con respecto al peso inicial de la muestra (seca a 105°C) y ese es el resultado de materia orgánica.

$$\%Materia\ orgánica = \frac{masa\ de\ suelo\ seco - masa\ de\ muestra\ calcinada}{masa\ de\ muestra\ calcinada} * 100 \quad Ec\ V$$

6.5.1.7. **Retención de humedad (Jackson, 1970)**

Este procedimiento es de tipo gravimétrico. Se pesaron 10 g de suelo, secado previamente por doce horas a temperatura ambiente, se colocó en un embudo provisto de lana de vidrio previamente pesado e identificado. Por último se adicionó agua hasta que se observó goteo, se dejó reposar por 6 horas y se pesó nuevamente. Se calculó la retención de humedad con la Ecuación VI

$$\%Retención\ de\ humedad = \frac{masa\ del\ agua\ retenida}{masa\ del\ suelo} * 100 \quad Ec\ VI$$

6.5.3. INDICADORES BIOQUÍMICOS

6.5.3.1. **Actividad Celulasa(Ghose, 1987; Wood y Bhat 1988)**

El método se basa en el análisis de azúcares reductores en suelos

1. Preparación de las soluciones:

- a. Solución DNS (250 mL) se pesaron 2,5 g de ácido 3,5-dinitro salicílico y se disolvieron en 50 mL de NaOH 2M. Se agregaron 75 g de tartrato de sodio/potasio y se agitó en calor hasta completa dilución. Se aforó a 250 mL con agua destilada.
 - b. Buffer acetato pH 5: se disolvieron 16,4 g de acetato de sodio en aproximadamente 500 mL de agua destilada. Se añadieron 11,4 mL del ácido acético concentrado y se ajustó a pH 5 con NaOH 2M. Se llevó a un volumen final de 1000 mL.
 - c. Solución de CMC 0,2%: se pesaron 0,5 g de carboximetil celulosa, se agregó agua destilada para diluir en caliente. Se llevó a un volumen final de 250 mL.
 - d. Solución madre de glucosa 0,003M: se disolvieron 0,1350 g de glucosa en buffer acetato pH 5. Se aforó hasta un volumen de 250 mL.
 - e. Soluciones de glucosa a diferentes concentraciones (curva de calibración): se tomaron 4 balones aforados de 25 mL, se añadieron alícuotas de 4, 8, 12, y 16 mL de solución concentrada de glucosa respectivamente. Se llevó al aforo con buffer acetato pH 5.
2. Para la incubación del suelo, se pesaron aproximadamente 2,0 g de suelo seco y tamizado en tubos plásticos de tipo falcon, se le agregó 10 mL del buffer al blanco y 10 mL de solución de carboximetil-celulosa a las muestras. Posteriormente se dejó incubando por 24 horas a 37°C. Luego se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos. Se tomó una alícuota de 3 mL del sobrenadante al cual se le añadió 3 mL de DNS, se desarrolló el color en baño de maría a 80°C y se midió la absorbancia a 540 nm en el espectrofotómetro. Se realizaron 2 réplicas de cada muestra y un blanco.

3. La curva de calibración se realizó tomando 3 mL de cada solución de referencia de glucosa y añadiendo 3 mL de DNS, se desarrolló el color en baño de agua a 80°C y se midió la absorbancia a 540 nm en el espectrofotómetro. Finalmente la actividad celulasa se determina según la Ecuación VII

$$\text{Actividad Celulasa} = \frac{\mu\text{g glucosa}}{\text{masa de suelo seco}} * \text{horas de incubación} \quad \text{Ec VII}$$

6.5.3.2. Actividad Proteasa(Ladd y Butler, 1972)

Se pesaron 0,5 g de suelo fresco previamente tamizado a 2 mm y se colocó en tubos tipo falcón, se adicionó a cada uno 2 mL de solución amortiguadora, Tris-HCl pH 9 y 2 mL de solución calentada de caseinato de sodio al 2% p/v (solo a los envases de muestra), seguidamente se incubaron la muestras y los blancos a 50°C por 2 horas, en un baño termostático. Finalizada la incubación se adicionó 5 mL de Ácido cloracético (ACA) al 20% a todos los envases y 2 mL de solución calentada de caseinato de sodio al 2% p/v (sólo a los envases de los blancos o control), se agitó y centrifugó. A continuación se tomó 1 mL de sobrenadante y se colocó en un vial con 7 mL de Na₂CO₃, 1 mL de CuSO₄ (0,06%), se agitó y se dejó en reposo por 30 minutos, se le adicionó 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1:3), se coloca por 5 minutos a 37°C, se dejó reposar y se determinó la absorbancia a 578 nm. Se realizó una curva de calibración para determinar los aminoácidos solubles en ACA, usando una solución de tirosina de 200 µg/mL, a partir de la cual se prepararon soluciones patrones como se muestra en la tabla 7.

Luego, las soluciones de la curva patrón, se centrifugaron y se adicionó el reactivo de Folin-Ciocalteu para el desarrollo de color, de la misma manera que las muestras. Los resultados fueron reportados en base a peso de suelo seco, como µg Tirosina (g⁻¹ x h⁻¹), que es igual a la actividad de la caseinasa, como se muestra en la ecuación VIII.

$$Act. Caseinasa = \mu g \text{ Tirosina } g^{-1} h^{-1} = \frac{(\mu g \text{ Tirosina muestra} - \mu g \text{ Tirosina Blanco})}{PS * h} \quad Ec \text{ VIII}$$

Dónde:

Act. Caseinasa= actividad de la enzima caseinasa

Muestra = Promedio de las muestras (μg Tirosina)

Blanco = Promedio de los blancos (μg Tirosina)

PS = masa de suelo seco (g)

h = tiempo de incubación (h)

Tabla 7. Preparación de las soluciones patrones de tirosina, para la realización de la curva de calibración (Fuente: Suarez, 2010)

Cantidad de tirosina por tubo (μg)	Volumen de solución de tirosina (mL)	Volumen de solución amortiguadora Tris (mL)
0	0,0	5,0
100	0,5	4,5
200	1,0	4,0
400	2,0	3,0
600	3,0	2,0
800	4,0	1,0
1000	5,0	0,0

Nota: se usaran 2 mL de la solución del sustrato y 5 mL de la solución de ACA

6.5.3.3. Actividad Ureasa (Kandeler y Gerber, 1988)

En un tubo de centrifuga tipo falcón se pesó 1 g de suelo, se añadió 0,5 mL de solución de urea 79,7 mM (en el caso de las muestras) y 0,5 mL de agua destilada (en el caso de los blancos o control). Se incubaron las muestras y blancos a 37°C por 2 horas en un baño termostático. Se añadió 10 mL de solución extractora KCl-HCl 1M, a todos los tubos y posteriormente a las muestras se les agregó 0,5 mL de agua destilada y a los blancos 0,5 mL de solución de urea 79,7mM. Se agitaron por un periodo de 30 minutos en un agitador horizontal, seguido de una centrifugación

por 10 minutos a 3500 rpm en una centrifuga. Se tomó cuidadosamente, una alícuota de 2 mL de cada sobrenadante y se colocó en un vial. Se adicionó 8 mL de agua destilada, 5 mL de la solución salicilato/hidróxido y 2 mL de solución de dicloroisocianurato de sodio al 0,1% p/v. Se dejó en reposo por 30 minutos para el desarrollo de color, y se midió la absorbancia de las soluciones a 690 nm con un espectrofotómetro. Se realizó una curva de calibración para determinar el amonio liberado, usando una solución madre de cloruro de amonio de 500 µg N-NH₄/mL, a partir de la cual se prepararon soluciones patrones con concentraciones de 0,5 a 2,5 ppm, desarrollando el color de igual manera que las muestras y midiendo su absorbancia a 690 nm. La actividad de la ureasa se reportó en base a peso de suelo seco, como µg [N-NH₄⁺] (g⁻¹ x h⁻¹). El cálculo de dicha actividad se realiza mediante la ecuación IX

$$Act. Ureasa = \frac{\mu g[N-NH_4]}{g \times t} = \frac{\left(\frac{\mu g[N-NH_4]}{mL} \right) \times 10 \times 11}{PS \times h} \quad Ec IX$$

Dónde:

Act. Ureasa= actividad de la enzima Ureasa

10 = Factor de dilución (2 mL de muestra o patrón + 8 mL de agua)

11 = Volumen Final (0,5 mL de sol. urea + 10 mL de KCl-HCl + 0,5 mL de agua)

t = tiempo de incubación (h).

PS = masa de suelo seco de la muestra (g)

µg[N-NH₄] /mL = Concentración de amonio liberado determinado por la curva de calibración.

6.5.3.4. Actividad Catalasa (Johnson y Temple, 1964)

Se utilizó el método de Johnson y Temple (1964) descrito por García *et al.*, (2003), que mide el H₂O₂ residual, para lo cual se adicionó una cantidad determinada de H₂O₂ al suelo incubando a 20°C durante un tiempo determinado en el que actúa la

enzima. El H_2O_2 residual se valoró con permanganato potásico. Esta valoración se basa en la reducción del permanganato potásico por el H_2O_2 en solución acida, según la siguiente reacción mostrada en la Figura 9.

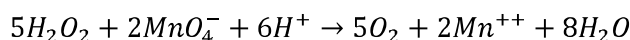


Figura 9. Reacción de reducción del permanganato potásico por el H_2O_2 en solución acida

Preparación de soluciones

- a. Solución de ácido sulfúrico 1,5M: Se depositaron 82,6 mL de H_2SO_4 de 98% en matraz aforado y se llevó a 1000 mL.
 - b. Solución de permanganato de potasio 0,01M: Se pesó 1,5804 g de $KMnO_4$ y se depositó en un matraz Erlenmeyer. Se adicionó 400 mL de agua destilada, agitando con agitador magnético y calentando hasta su disolución completa. Se dejó enfriar, se filtró y se aforó a 1000 mL utilizando un matraz aforado. Se guardó en frasco ámbar. La solución se valoró cada vez que se utilizó con oxalato de sodio para conocer su normalidad.
 - c. Solución de peróxido de hidrogeno (1:100): Se tomó una alícuota de 1 mL de H_2O_2 al 30% y se afora a 100 mL. Esta solución se preparó inmediatamente antes de su uso.
1. Preparación de la muestra: se depositaron 0,5 g de suelo (tamizado en una malla con tamaño de poro < 2 mm) en un matraz Erlenmeyer, se le agregó 40 mL de agua destilada, se tapó y agitó el matraz por 30 min en agitador rotatorio (a una velocidad aproximada de 30 vueltas por min). Transcurrido el tiempo, se adicionó 5 mL de la solución de H_2O_2 (1:100), para luego realizar una agitación por 10 minutos. Se adicionó 5 mL de la solución de H_2SO_4 1,5M con la finalidad de parar la reacción enzimática y estabilizar el H_2O_2 remanente; posteriormente se filtró.

2. Medición del peróxido de hidrógeno remanente: Se tomó una alícuota de 25 mL del filtrado de cada muestra y se tituló lentamente con la solución de KMnO_4 0,01M, con agitación.
3. Preparación de controles: Los controles se prepararon sustituyendo los 5 mL de H_2O_2 por un volumen igual de agua destilada y se adicionaron al suelo; se procedió de la misma forma que para las muestras problema. También se preparó un blanco con 40 mL de agua destilada, 5 mL de H_2O_2 (1:100) y 5 mL de H_2SO_4 1,5M. A este blanco no se le adicionó suelo, pero sí H_2O_2 . Sirve para indicar la cantidad de H_2O_2 que podría poseer la muestra como remanente al final de la incubación, si la actividad de la catalasa fuese nula. Se obtiene una solución de peróxido 8,8mM (con 0,44 moles de H_2O_2). El procedimiento de titulación es igual, tanto para los controles como para el blanco. La concentración inicial del H_2O_2 que se añade al suelo se determinó por la valoración con la solución de KMnO_4 0,01M del blanco sin suelo y con H_2O_2 .

Por medio de la Ecuación X se realizó el cálculo de actividad catalasa

$$A_c = \frac{[B - (M - C)] * N * V}{S_s} \quad \text{ec X}$$

Donde

A_c = Actividad de catalasa, (mmoles de H_2O_2 consumidos / g de suelo seco * h)

B= Cantidad de KMnO_4 (mL) gastados en la valoración del blanco sin suelo y con H_2O_2 .

M= Cantidad de KMnO_4 (mL) gastados en la valoración de las muestras.

C= Cantidad de KMnO_4 (mL) gastados en la valoración del control correspondiente a cada muestra de suelo.

N= Normalidad de la solución KMnO_4 .

S_s = factor relativo a la cantidad de suelo utilizado.

7. Análisis de resultados

7.2. Estudio de parámetros fisicoquímicos en sistemas suelo-enmienda

7.2.1. Indicadores fisicoquímicos

En la Tabla 8 se presentan los resultados de parámetros fisicoquímicos en los sistemas suelo-LP para pH (1:1) H₂O, conductividad eléctrica, contenido de amonio, contenido de nitrato, humedad, materia orgánica y retención de humedad.

Tabla 8. *Parámetros fisicoquímicos, para un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica*

Factores		Respuesta						
LP (%)	T (Días)	pH (1:1) H ₂ O	CE (uS)	Amonio $\frac{\mu g\ N-NH_4^+}{gss}$	Nitrato $\frac{\mu g\ N-NO_3^-}{gss}$	H (%)	MO (%)	RH (%)
0	10	6,6±0,1 (a)	680±19 (d)	2,24±0,04 (a)	16,42±0,59 (a)	1,6±0,1 (a)	2,0±0,1 (a)	41,1±0,1 (c)
10	10	7,2±0,2 (b,c)	713,5±60 (d)	3,74±0,038 (e)	58,42±2,86 (c,d)	5,8±0,6 (b)	4,0±0,3 (c)	43,1±0,1 (d)
30	10	7,1±0,1 (b)	404,5±14 (b,a)	4,23±0,02 (f)	97,33±0,34 (f)	19,7±0,1 (c)	6,1±0,2 (e)	50,0±0,3
0	20	6,6±0,1 (a)	660,5±48 (d)	2,32±0,04 (a,b)	16,73±0,37 (a)	7,6±1,1 (b)	2,0±0,1 (a)	43,8±0,2 (e)
10	20	7,2±0,1 (b,c)	553,0±15 (c)	3,19±0,01 (c)	66,43±0,55 (d,e)	18,7±0,7 (c)	3,0±0,3 (b)	47,2±0,1 (f)
30	20	7,2±0,1 (b,c)	395,5±20 (a,b)	3,34±0,07 (d)	53,87±1,05 (c)	42,4±0,5 (e)	4,9±0,1 (d)	51,8±0,3 (g)
0	30	6,7±0,1 (a)	581,5±10 (c)	2,34±0,03 (b)	18,94±0,52 (a)	16,7±0,2 (c)	2,0±0,1 (a)	39,2±0,1 (b)
10	30	7,2±0,1 (b)	444,0±18 (b)	3,28±0,04 (d)	72,59±0,57 (e)	26,2±0,1 (d)	2,6±0,1 (a)	30,8±0,2 (a)
30	30	7,4±0,1 (c)	370,0±17 (a)	3,12±0,01 (c)	43,09±0,27 (b)	53,1±3,8 (f)	4,9±1,1 (c,d)	55,6±0,1 (h)

Leyenda: LP = Lodo paplero. T = Tiempo de incubación. CE = Conductividad eléctrica. H = Humedad. MO = Materia orgánica. RH = Retención de humedad. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas.

En cuanto al efecto de la aplicación de LP sobre el pH del suelo se observa diferencia significativa en los diferentes sistemas tratados con LP ($p < 0,05$) respecto a cada sistema sin dosis de LP (control), de manera general se obtuvo un aumento

de este parámetro con respecto a la cantidad de enmienda usada. Para los casos T10 y T20 el pH se mantuvo neutro, mientras que para T30 paso de neutro a ligeramente alcalino.

Tabla 9. Resultados experimentales de parámetros fisicoquímicos, para un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica

Factores				Factores				
ACU (%)	T (Días)	pH (1:1) H ₂ O	CE (uS)	Amonio $\frac{\mu g \text{ N-NH}_4^+}{gss}$	Nitrato $\frac{\mu g \text{ N-NO}_3^-}{gss}$	H (%)	MO (%)	RH (%)
0	10	6,5±0,1 (d)	759,0±29 (c)	2,31±0,05 (e)	19,16±1,01 (e)	1,3±0,1 (a)	1,5±0,1 (a)	40,1±0,1 (h)
5	10	6,8±0,1 (e)	813,5±27 (d)	1,05±0,10 (a)	21,59±0,27 (f)	1,6±0,1 (a)	5,9±0,2 (c)	35,4±0,1 (f)
10	10	5,4±0,1 (a,b)	1495,0±4 (e)	1,34±0,05 (b)	6,91±0,31 (a,b)	2,5±0,1 (a)	10,8±0,7 (d)	19,3±0,2 (a)
0	30	6,1±0,1 (c)	601,0±8 (b)	2,38±0,11 (e)	21,14±0,91 (e,f)	19,9±0,2 (c)	1,4±0,2 (a)	38,2±0,1 (g))
5	30	6,4±0,1 (d)	627,0±14 (b)	3,66±0,06 (f)	11,60±0,82 (d)	18,5±0,2 (b,c)	6,1±0,6 (c)	30,0±0,1 (d)
10	30	5,5±0,1 (b)	1483,5±19 (e)	1,65±0,02 (c)	9,93±1,03 (c,d)	18,5±0,1 (c,d)	10,4±0,4 (d)	29,4±0,3 (c)
0	90	6,4±0,1 (d)	596,0±23 (b)	2,35±0,01 (e)	19,17±1,22 (e)	17,8±0,3 (b,d)	1,6±0,2 (a)	38,6±0,3 (g)
5	90	6,1±0,2 (c)	504,1±21 (a)	1,86±0,07 (d)	8,51±0,46 (b,c)	18,4±1,4 (c,b)	5,0±0,5 (b)	27,2±0,1 (b)
10	90	5,2±0,1 (a)	1891,0±34 (f)	1,24±0,06 (b)	5,99±0,9 (a)	18,9±0,5 (c,b)	10,0±0,3 (d)	34,6±0,5 (e)

Leyenda: ACU= Aceite comestible usado. T = Tiempo de incubación. CE = Conductividad eléctrica. H = Humedad. MO = Materia orgánica. RH = Retención de humedad. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas.

La reacción del suelo obtenida para los diferentes sistemas suelo-LP no es un factor limitante en cuanto a la disponibilidad de nutrientes ya que esta suele ser más elevada entre pH (6,5-7,5). De igual modo la actividad biológica es también mayor en niveles intermedios de pH (alrededor de pH 7), de manera que se incrementa la descomposición de la materia orgánica del suelo y la liberación de nutrientes como el nitrógeno (FAO, 1986).

Tabla 10. Resultados experimentales de parámetros físicoquímicos, para un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica

Factores		Respuesta						
Lig (%)	T (Días)	pH (1:1) H ₂ O	CE (uS)	Amonio $\frac{\mu g \text{ N-NH}_4^+}{gss}$	Nitrato $\frac{\mu g \text{ N-NO}_3^-}{gss}$	H (%)	MO (%)	RH (%)
0	10	6,6±0,2 (b,c)	723±31 (a)	2,40±0,06 (a,b)	16,02±1,03 (a)	1,3±0,1 (a)	1,5±0,1 (a)	42,6±0,1 (d)
10	10	6,0±0,1 (a)	975,5±16 (b)	2,01±0,07 (a)	46,95±1,46 (d)	17,7±0,7 (d)	9,6±1,8 (b,c)	41,1±0,1 (c)
20	10	5,8±0,1 (a)	1338,5±16 (d)	6,33±0,11 (h)	39,32±2,79 (c)	5,3±0,1 (b)	17,0±0,9 (d)	44,1±0,1 (e)
0	20	6,5±0,1 (b,c)	721±12 (a)	2,35±0,31 (a)	15,60±1,16 (a)	17,7±0,3 (d)	1,8±0,2 (a)	41,3±0,1 (c)
10	20	6,4±0,1 (b,c)	933±28 (b)	3,10±0,49 (b,d,f)	47,08±0,60 (d)	19,6±0,7 (e)	10,8±0,4 (c)	40,2±0,1 (b)
20	20	6,0±0,1 (a)	1343±35 (d)	4,14±0,15 (g)	44,39±1,94 (d)	21,6±0,3 (f)	18,3±1,1 (d)	53,3±0,9 (g)
0	60	6,5±0,1 (b,c)	692±34 (a)	2,65±0,01 (a,b,c)	15,85±0,73 (a)	15,7±0,1 (c)	1,5±0,1 (a)	37,7±0,4 (a)
10	60	6,5±0,1 (b)	949,5±4 (b)	3,19±0,16 (c,d,e)	51,01±0,07 (e)	16,5±0,1 (c)	9,0±0,3 (b)	52,5±0,1 (g)
20	60	6,3±0,1 (b)	1179±16 (c)	3,62±0,12 (e,f,g)	22,54±0,12 (b)	17,9±0,1 (d)	16,8±0,3 (d)	49,5±0,5 (f)

Leyenda: Lig= Lignito. T = Tiempo de incubación. CE = Conductividad eléctrica. H = Humedad. MO = Materia orgánica. RH = Retención de humedad. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas.

Con respecto al sistema suelo-ACU (Tabla 9), se observa una disminución significativa ($p<0,05$) en el pH del suelo al usar la máxima cantidad de ACU con respecto a los sistemas control, para el tratamiento 5%ACU-T10 se obtuvo un pH neutro (6,8) siendo esta la mejor condición de este parámetro, ya que para T-30 y T-90 el suelo paso de clasificarse como ligeramente ácido a fuertemente ácido. En investigaciones recientes realizada por Rivas (2013) se logró disminuir el pH de un suelo contaminado con escoria metálica de 10 a 6, lo que pone en evidencia que esta enmienda orgánica puede ser utilizada para corregir problemas de basicidad en el suelo.

En términos generales el pH o reacción del suelo en los sistemas suelo-Lig (Tabla 10) disminuyó con respecto a los controles, esta disminución del pH, pudiera

deberse a la mineralización de la materia orgánica presente en los Lig, que en su mayoría está formada por ácidos húmicos (Lizcano, 2011). Para T-10 y T-20 los sistemas se mantuvieron dentro del intervalo característico de un suelo ligeramente ácido (SSDS, 1993).

La disminución del pH se debe a la formación de ácidos débiles como producto de la mineralización de la materia orgánica por acción de los microorganismos, lo que conlleva a una producción de iones H^+ cada vez que los microorganismos realizan la metabolización del aceite o Lig, esta una de las razones por las cuales puede disminuir el pH del suelo al ir aumentando el contenido de materia orgánica.

Desde el punto de vista de tolerancia de pH que presentan los cultivos de cebolla el cual es entre 6 y 8 (Nikus y Muguleta, 2010), no es recomendable el uso de ACU en dosis mayores del 5% como enmienda orgánica en el suelo estudiado, sin embargo se ha reportado pH de tolerancia de 4,8 a 5,5 para cultivos de papa, yuca, piña y pastos; y de 5,6 a 6,4 para cultivos arroz, tomate, trigo y frijol (Espinosa, J. 1994).

La conductividad eléctrica proporciona información sobre la presencia y cantidad de sales solubles, se pueden clasificar los suelos con los distintos tratamientos, como un suelo de salinidad normal ($CE < 2dS$) (Linares *et al.*, 2006). Para los sistemas tratados con LP se observó una diferencia significativa de los sistemas T-20 y T-30 con respecto a los controles. No se encontró diferencia significativa entre los tratamientos 30%LP-T10, 30%LP-T20 y 30%LP-T30, por lo que al usar 30%LP el efecto no es considerable sobre la conductividad eléctrica al transcurrir el tiempo de incubación, caso similar sucede con los sistemas 10%lig-T10, 10%lig-T20 y 10%lig-T60, por lo cual se llega a la misma conclusión.

La conductividad eléctrica aumentó significativamente ($p < 0,05$) en todos los tratamientos suelo-Lig y en la mayoría de los tratamientos suelo-ACU, con respecto a los controles, manteniéndose en valores de salinidad normal ($CE < 2dS$) (Linares *et al.*, 2006). Con respecto a sistemas tratados con ACU como enmienda orgánica,

Montoya (2012), obtuvo tendencias similares en el pH y conductividad eléctrica, al aplicar dosis de ACU desde (0-50)% a un suelo de tipo agrícola ubicado en Tocuyito.

Al analizar el contenido de amonio y nitrato se observan diferencias significativas en los tratamientos suelo-LP con respecto al control. En los sistemas suelo-Lig se encontró un aumento significativo en el contenido de amonio (excepto en el sistema 10%Lig-T10), con respecto a los controles, mientras que para el contenido de nitrato se encontró un aumento significativo en todos los sistemas con respecto a cada control. Por su parte, para los sistemas suelo-ACU se obtuvo una disminución significativa del contenido de amonio y nitrato (excepto en el sistema 5%ACU-T30 para amonio y 5%ACU-T10 para nitrato) con respecto a los controles.

El contenido máximo de amonio ($6,3 \pm 0,1$) $\mu\text{gNH}_4^+/\text{gss}$ se obtuvo en el sistema 20%lig-T10 y en contenido máximo de nitrato ($97,3 \pm 0,3$) $\mu\text{gNO}_3^-/\text{gss}$ en el sistema 30LP-T10.

En los diferentes sistemas tratados con LP, ACU y Lig la cantidad de nitrógeno en forma de nitrato con respecto al nitrógeno amoniacal es mayor, los niveles bajos de amonio obtenidos, estarían indicando la ocurrencia de procesos que consumen amonio, como nitrificación e inmovilización, principalmente, lo que impediría su acumulación (Paz, 2006). Estos procesos de consumo de amonio son confirmados por la tendencia a incrementar las cantidades de $N - \text{NO}_3^-$ en todos los tratamientos estudiados.

El contenido de materia orgánica aumentó con respecto al porcentaje de LP añadido en todos los tratamientos, encontrándose diferencia significativa entre la mayoría de los sistemas con respecto a los controles. La cantidad de materia orgánica no varió significativamente al pasar de 30%LP-T20 a 30%LP-T30, por lo que el efecto del tiempo de incubación deja de ser predominante en el contenido de materia orgánica. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Luyando

(2014), donde se obtuvo la máxima cantidad de materia orgánica al aplicar la mayor dosis de LP (10%).

Para los tratamientos suelo-ACU se observó un aumento significativo de materia orgánica en todos los sistemas con respecto a los controles, igual caso ocurrió en los sistemas suelo-Lig. Los resultados obtenidos al usar ACU como enmienda siguen la misma tendencia a la reportada por Montoya (2012), en el cual la materia orgánica fue aumentando con respecto a la cantidad de ACU aplicado a un suelo agrícola, de igual modo Piñero (2014) al usar Lig como enmienda obtuvo los mejores valores de materia orgánica al aplicar dosis mayores.

En todos los casos de suelo-LP, suelo-ACU y suelo-Lig el contenido de materia orgánica paso de ser bajo a muy alto ($MO > 3,6\%$), según la clasificación aportada por Rioja (2002). La mejor condición de este parámetro, al comparar las tres enmiendas orgánicas usadas, se obtuvo en el tratamiento 20%Lig-T20 ($18,3 \pm 1,1\%$).

Al usar LP como enmienda orgánica, la humedad presentó un aumento significativo con respecto a los controles, mientras que para la retención de humedad se encontró diferencia significativa entre todos los tratamientos, mostrando de igual modo un aumento significativo en la mayoría de los casos. Con respecto a la humedad al tratar el suelo con ACU está no presentó diferencia significativa al variar el %ACU manteniendo constante los días de incubación, para la retención de humedad se encontró una disminución significativa entre todos los tratamientos con respecto a los controles.

Cabe acotar que tanto al usar LP, ACU y Lig como enmienda orgánica siempre la retención de humedad fue mayor a la humedad, este comportamiento concuerda con lo señalado por Paulet (1983), el cual establece que a medida que disminuye el contenido de humedad, es mayor la proporción del agua que es retenida fuertemente en forma de película alrededor de las partículas. Esto significa que para los sistemas con bajo porcentaje de humedad, incluyendo los suelos control, la retención debe ser mayor, ya que por capilaridad, la fuerza de adhesión

entre las moléculas de agua y las partículas sólidas del suelo es elevada y por lo tanto el agua es retenida con mayor fuerza.

El mejor valor tanto para humedad como para retención de humedad se encontró en el tratamiento 30%LP-T30. Se esperaba este efecto al tratar el suelo con LP ya que estos presentan un alto contenido de humedad (70,4%), aumentando así la humedad del suelo al aplicar la máxima cantidad de LP. Se obtuvieron tendencias similares a los reportados por Luyando (2014), donde el pH, humedad y materia orgánica aumentaron con respecto a la dosis de LP.

Con respecto a la textura del suelo es importante acotar que esta se mantuvo constante en los diferentes tratamientos suelo-enmienda, donde las cantidades relativas de partículas de diámetro menor a 2mm no se vieron afectadas por la presencia de enmienda en el suelo, bajo los niveles seleccionados del estudio, pudiéndose clasificar al suelo como Franco, según Jaramillo (2003), este tipo de suelo posee sus separados (arena, limo y arcilla) en una proporción tal que ninguno de ellos domina las propiedades del suelo; desde el punto de vista de la planta, esta clase textural es la que presenta un mejor equilibrio entre sus separados.

De modo general comparando los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica preliminar del suelo de estudio realizada por Luyando (2014), se encontró mejoría en cuanto al pH, retención de humedad y contenido de materia orgánica al tratar el suelo con LP, mientras que al usar ACU se encontró mejoría en el contenido de materia orgánica por último al usar Lig aumentaron los niveles de retención de humedad y de materia orgánica.

7.2.2. Indicadores Bioquímicos

Con el fin de estudiar el efecto de la aplicación de las diferentes enmiendas sobre las actividades enzimáticas celulasa, proteasa, ureasa y catalasa presentes en el suelo, se planteó un diseño factorial 3^2 . Para los sistemas suelo-LP se usaron los factores porcentaje de enmienda (0, 10 y 30)% y tiempo de incubación (10, 20 y 30) días, las respuestas se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Resultados experimentales de parámetros bioquímicos, usando diseño experimental 3^2 para un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

N° de experimento	Factores		Respuesta			
	LP (%)	Tiempo de incubación (Días)	Actividad celulasa (ug/gss*h)	Actividad Proteasa (ug/gss*h)	Actividad Ureasa (ug/gss*h)	Actividad Catalasa (mmol/gss*h)
1	0	10	2,60	169,75	15,85	0,97
1"	0	10	2,21	138,85	15,98	0,97
2	10	10	2,83	278,63	29,01	0,96
2"	10	10	3,24	233,56	28,06	0,92
3	30	10	6,13	542,07	162,04	0,97
3"	30	10	6,44	508,04	146,38	0,94
4	0	20	1,70	184,55	16,14	1,00
4"	0	20	2,07	157,58	17,00	1,03
5	10	20	3,22	424,86	33,07	1,38
5"	10	20	2,37	394,50	34,02	1,39
6	30	20	4,97	470,23	81,23	1,43
6"	30	20	4,67	439,36	81,86	1,41
7	0	30	1,84	157,43	18,04	0,97
7"	0	30	2,07	188,20	17,20	1,03
8	10	30	1,71	451,60	34,15	1,05
8"	10	30	2,38	414,17	33,98	1,02
9	30	30	4,31	281,37	60,41	1,07
9"	30	30	5,64	259,30	61,96	1,09

(") indica replica.

Por su parte en los sistemas suelo-ACU se usaron los factores porcentaje de enmienda (0, 5 y 10)% y tiempo de incubación (10, 30 y 90) días, las respuestas se muestran en la Tabla 12. Por último para los sistemas suelo-Lig se usaron los

factores porcentaje de enmienda (0, 10 y 20)% y tiempo de incubación (10, 20 y 60) días, las respuestas se muestran en la Tabla 13.

La Tabla 11 y 13 muestra un marcado aumento de las actividades enzimáticas (excepto actividad catalasa) con respecto a los controles al aumentar la dosis de LP y Lig respectivamente.

Tabla 12. Resultados experimentales de parámetros bioquímicos, usando diseño experimental 3² para un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica

N° de experimento	Factores		Respuesta			
	ACU (%)	Tiempo de incubación (Días)	Actividad celulasa (ug/gss*h)	Actividad Proteasa (ug/gss*h)	Actividad Ureasa (ug/gss*h)	Actividad Catalasa (mmol/gss*h)
1	0	10	1,87	171,87	20,91	0,87
1"	0	10	2,34	139,49	19,75	0,97
2	5	10	4,22	268,86	35,05	0,77
2"	5	10	3,90	242,34	33,83	0,74
3	10	10	2,00	201,23	10,53	0,71
3"	10	10	2,64	227,21	9,80	0,74
4	0	30	2,02	178,28	20,74	1,10
4"	0	30	2,35	133,46	21,59	1,11
5	5	30	3,62	269,56	34,68	1,06
5"	5	30	3,27	256,61	33,03	1,08
6	10	30	2,26	172,37	16,09	0,94
6"	10	0	2,50	181,41	15,05	0,93
7	0	90	2,14	180,92	21,08	0,96
7"	0	90	2,29	184,65	20,26	0,96
8	5	90	2,23	322,98	13,70	0,75
8"	5	90	2,72	302,53	12,21	0,85
9	10	90	1,51	75,61	7,81	0,67
9"	10	90	1,75	103,22	9,52	0,69

(") indica replica.

En la Tabla 12 se observa la tendencia de la mayoría de las actividades enzimáticas a aumentar al usar 5%ACU para los diferentes días de incubación, en algunos casos se observó una disminución de estos parámetros al usar la mayor cantidad de ACU con respecto a los controles.

Para determinar cuáles factores afectan significativamente la respuesta se procede a realizar un análisis de varianza de cada actividad enzimática, con el fin de obtener el mejor tratamiento que maximice la respuesta, de este modo se obtuvo una Ecuación del modelo matemático reducida para aquellos factores que presentan un efecto significativo sobre la respuesta.

Tabla 13. Resultados experimentales de parámetros bioquímicos, usando diseño experimental 3^2 para un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica

N° de experimento	Factores		Respuesta			
	Lig (%)	Tiempo de incubación (Días)	Actividad celulasa (ug/gss*h)	Actividad Proteasa (ug/gss*h)	Actividad Ureasa (ug/gss*h)	Actividad Catalasa (mmol/gss*h)
1	0	10	1,77	160,17	22,63	0,99
1"	0	10	2,15	142,63	24,95	1,02
2	10	10	5,96	187,01	45,12	1,26
2"	10	10	5,49	175,33	38,18	1,21
3	20	10	7,46	239,44	62,62	1,18
3"	20	10	7,36	221,13	55,42	1,27
4	0	20	2,11	175,30	23,79	0,99
4"	0	20	2,58	160,62	22,14	0,95
5	10	20	5,95	202,77	45,35	0,97
5"	10	20	6,41	236,71	47,52	0,99
6	20	20	6,76	303,64	63,38	0,83
6"	20	20	7,09	341,61	66,11	0,83
7	0	60	2,45	200,00	22,35	0,97
7"	0	60	2,68	156,70	23,88	1,01
8	10	60	5,90	218,51	45,79	0,83
8"	10	60	6,15	247,74	49,41	0,84
9	20	60	7,88	251,54	64,61	0,95
9"	20	60	8,53	211,37	65,54	0,90

(") indica replica.

7.2.2.1. Actividad Celulasa en los sistemas suelo- enmienda

Como se muestra en la Figura 10(a), el tratamiento donde se obtuvo la mayor actividad celulasa fue en 30%LP-T10, Luyando (2014) obtuvo resultados similares al estudiar el efecto de la aplicación de diferentes dosis de LP (0,1 y 10)% por un

tiempo de incubación de 10, 20 y 30 días, obteniendo la mejor condición para el tratamiento 10%LP-T20.

Por su parte la Figura 10(b) muestra la máxima actividad celulasa para dosis media (5%) de ACU, mientras que al usar Lig como enmienda orgánica se encontró la máxima actividad celulasa en el tratamiento 20%Lig-T60.

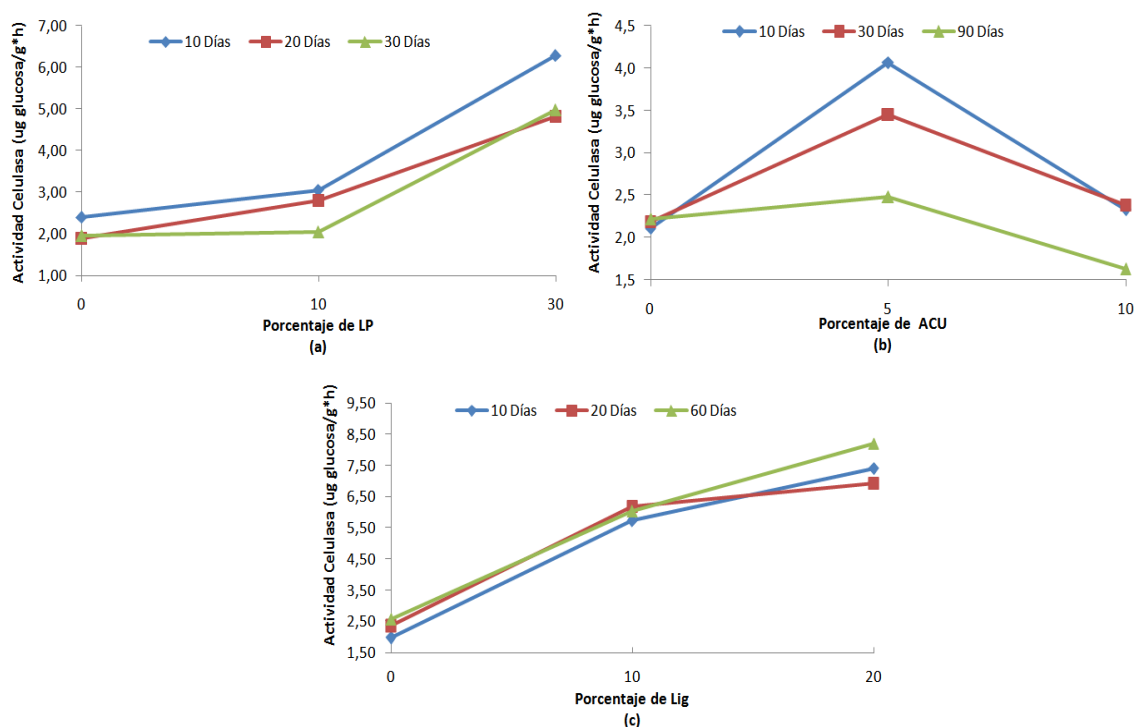


Figura 10. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de LP (a), ACU (b) y Lig (c) al transcurrir los días de incubación, sobre la actividad celulasa

En la Tabla 14 se presenta el análisis de varianza del diseño realizado para la actividad celulasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica, donde se establece una significancia estadística de cada efecto por medio de la comparación de la media de los cuadrados frente a un estimado del error experimental. En este caso, los dos factores estudiados, porcentaje de enmienda (A) y tiempo (B) ejercen un efecto significativo sobre la respuesta, además de la interacción AA (Porcentaje de enmienda-Porcentaje de enmienda), estos tres

efectos tienen un $p\text{-valor} < 0,05$, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 14. ANOVA para la variable respuesta actividad celulosa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A: Porcentaje de enmienda	32,2424	1	32,2424	138,97	0,0000*
B: Tiempo	2,52083	1	2,52083	10,87	0,0132*
AA	4,8034	1	4,8034	20,70	0,0026*
AB	0,937669	1	0,937669	4,04	0,0843
BB	0,321111	1	0,321111	1,38	0,2779

(*) Indica efecto significativo.

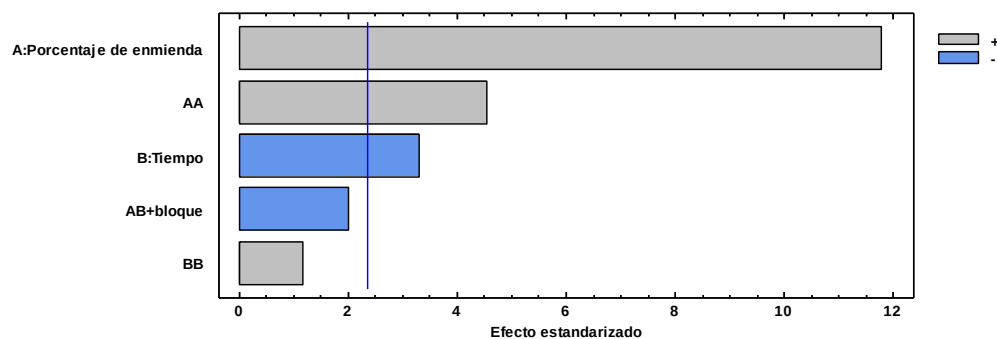


Figura 11. Diagrama de Pareto de los efectos y sus interacciones sobre la actividad celulosa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

Con el fin de observar gráficamente el efecto de los factores sobre la variable respuesta se usa el diagrama de Pareto estandarizado (Figura 11) en el cual se representan los efectos divididos entre su error estándar, en el eje de las abscisas se coloca la magnitud de cada efecto estimado, ordenado en sentido decreciente, de este modo los efectos cuyas barras superen la línea vertical (que indica el valor crítico) serán significativos (Gutierrez y De la vara, 2008). Así, para el caso de la

actividad celulasa, los efectos significativos serán A, AA y B en ese orden de importancia.

De lo anterior se deduce que los factores en estudio afectan significativamente la actividad celulasa, aunque en forma diferente. Por un lado, la interacción del efecto entre la cantidad de lodo paplero indica que la respuesta de la actividad enzimática no es lineal, aunque es positivo su efecto, es decir aumenta al aumentar la cantidad de enmienda añadida, pero en forma cuadrática. De esto se infiere que a mayor cantidad de lodo paplero se favorece la presencia de microorganismos capaces de liberar enzimas, al respecto se han vinculado los siguientes organismos como algunos donde las celulasas del suelo tienen su origen: *Trichoderme*, *Aspergillus*, *Chaetomiun*, *Fusarium*, *Cytophaga*, *Cellomonas* y *Trychonymph* (Schinner y Von Mersi, 1990).

Con respecto al factor B (Tiempo de incubación), se evidencia que afectó negativamente la actividad de celulasas, alcanzando los mejores valores en los primeros 10 días de incubación, obteniéndose una disminución al aumentar el tiempo de incubación, lo que se puede explicar por la posible presencia de moléculas orgánicas de mayor recalcitrancia en los residuos de LP capaces de actuar negativamente sobre los procesos naturales que se llevan a cabo en el suelo, luego de periodos largos de incubación, o por simple agotamiento de sustratos de fácil degradación.

La Ecuación XI representa la Ecuación matemática reducida a aquellos factores que afectan significativamente la respuesta, desde el punto de vista estadístico es posible predecir el comportamiento de la actividad celulasa, según las condiciones experimentales establecidas en el diseño de experimento, ya que la variabilidad de la respuesta es explicada con un $R^2 = 87,29\%$ por esta ecuación.

$$\text{Act. Celulasa} = 2,43611 + 1,63917 * \text{Porcentaje de LP} - 0,458333 * \text{Tiempo} + 1,09583 * \text{Porcentaje de LP}^2 \quad \text{Ec. XI}$$

La Figura 12 muestra la superficie de respuesta tridimensional generada a partir del modelo reducido, el programa estadístico arroja un máximo de 5,81 ug de glucosa/gss*h, para el tratamiento 30%LP-T10.

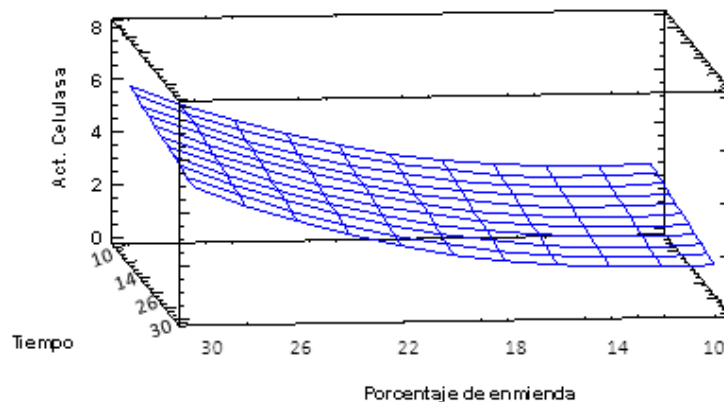


Figura 12. Diagrama de superficie respuesta de la actividad celulosa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

En la Tabla 15 se observa que de los factores estudiados solo el factor B afecta significativamente la actividad celulasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica, además de la interacción AA, el efecto del factor B sobre la actividad celulasa se observa en los primeros 10 días de incubación, apreciándose que luego de este tiempo la respuesta tiende a disminuir, lo que se sustenta en el diagrama de pareto (apéndice B.2.8) el cual indica un efecto negativo de este factor sobre la actividad celulasa, explicado principalmente por la presencia de compuestos tóxicos en el ACU. La Ecuacion del modelo matemático (Ecuación XII), arrojó un $R^2 = 73\%$.

$$\text{Act. Celulasa} = 3,46167 - 0,360833 * \text{Tiempo} - 1,1875 * \text{Porcentaje de ACU}^2 \quad \text{Ec. XII}$$

Tabla 15. ANOVA para la variable respuesta actividad celulasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A: Porcentaje de enmienda	0,0102083	1	0,0102083	0,07	0,8012
B: Tiempo	1,56241	1	1,56241	10,18	0,0086*
AA	5,64063	1	5,64063	36,75	0,0001*
AB	0,32	1	0,32	2,09	0,1766
BB	0,164025	1	0,164025	1,07	0,3234

(*) Indica efecto significativo.

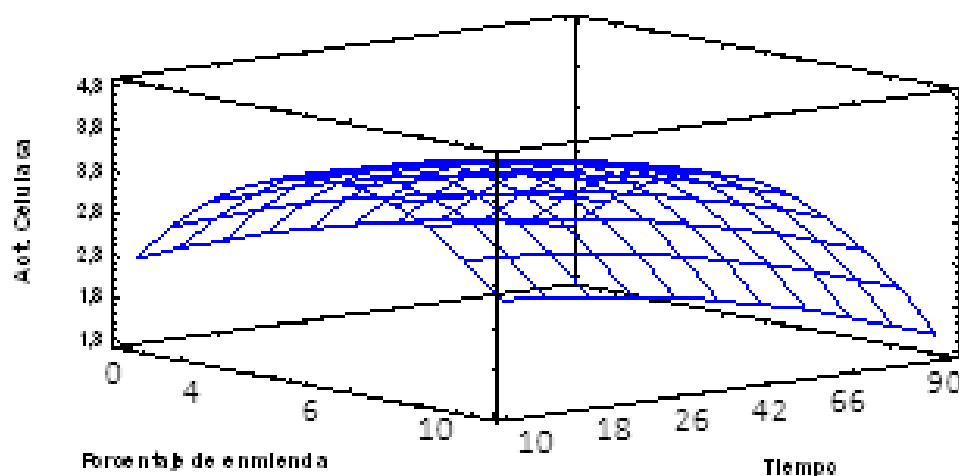


Figura 13. Diagrama de superficie respuesta de la actividad celulasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica

La Figura 13 muestra el valor máximo de actividad celulasa (3,63 ug glucosa/gss*h) al usar ACU como enmienda orgánica, además se observa un efecto cuadrático (A^2) o efecto de curvatura ya que la variable respuesta no es lineal en el intervalo de variación de los factores estudiados. Las condiciones para alcanzar el máximo según el programa estadístico son: 5,33%ACU-T11,6

El análisis de varianza para la actividad celulasa al usar Lig como enmienda orgánica (Tabla 16), muestra que los factores A y B afectan significativamente la respuesta, además de la interacción AA, el diagrama de pareto (apéndice B.3.8) muestra efectos positivos de los factores estudiados sobre la respuesta, indicando posiblemente la presencia de mayor cantidad de sustratos fácilmente biodegradables aportados por el lignito, ya que el aumento de la actividad celulasa se mantuvo al transcurrir el tiempo.

Tomando en cuenta los factores que generan efecto sobre la respuesta se obtiene la Ecuación XIII con un $R^2 = 97\%$, la cual explica gran variabilidad de los datos.

$$\text{Act. Celulasa} = 5,86667 + 2,61167 * \text{Porcentaje de Lig} - 0,283333 * \text{Tiempo} + 1,075 * \text{Porcentaje de Lig}^2 \quad \text{Ec. XIII}$$

La superficie respuesta (apéndice B.3.8) muestra un valor máximo 7,9 ug de glucosa/gss*h, para el tratamiento 20%Lig-T60.

En términos generales al comparar los resultados obtenidos de actividad celulasa para las distintas enmiendas, se puede decir que el Lig es la enmienda que más beneficia este parámetro bioquímico.

Tabla 16. ANOVA para la variable respuesta actividad celulasa en un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A: Porcentaje de enmienda	81,8496	1	81,8496	553,14	0,0000*
B: Tiempo	0,963333	1	0,963333	6,51	0,0269*
AA	4,6225	1	4,6225	31,24	0,0002*
AB	0,01805	1	0,01805	0,12	0,7335
BB	0,1089	1	0,1089	0,74	0,4093

(*) Indica efecto significativo.

7.2.2.2. Actividad Proteasa en los sistemas suelo-enmienda

La Figura 14 muestra el comportamiento general de la actividad proteasa al usar las diferentes enmiendas.

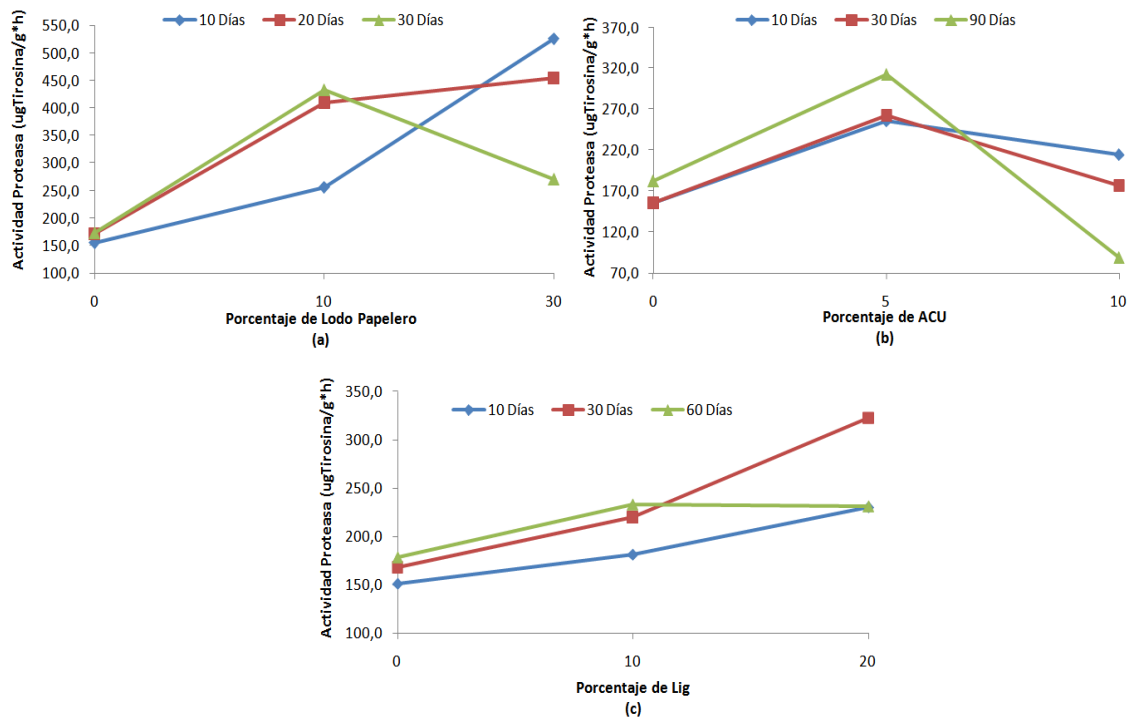


Figura 14. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de LP (a), ACU (b) y Lig (c) al transcurrir los días de incubación, sobre la actividad proteasa

El análisis de varianza para la actividad proteasa al usar LP como enmienda orgánica (Tabla 17) arrojó que solo el Factor A afecta significativamente la respuesta, según el diagrama de pareto (Figura 15), este factor afecta positivamente la respuesta, indicando la presencia en el LP de sustratos fácilmente accesibles capaces de activar la síntesis de esta enzima. El programa estadístico arrojó la Ecuación del modelo matemático (Ecuación XIV) con un $R^2 = 68\%$, la cual indica que la variabilidad de los datos está siendo explicada de manera poco eficiente por el diseño experimental planteado.

$$\text{Act. Proteasa} = 395,067 + 125,338 * \text{Porcentaje de LP}$$

Ec. XIV

Tabla 17. ANOVA para la variable respuesta actividad proteasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A: Porcentaje de enmienda	188516	1	188516	32,01	0,0008*
B: Tiempo	1175,72	1	1175,72	0,20	0,6685
AA	22398,1	1	22398,1	3,80	0,0922
AB+bloque	25138,1	1	25138,1	4,27	0,0777
BB	7489,17	1	7489,17	1,27	0,2966

(*) Indica efecto significativo.

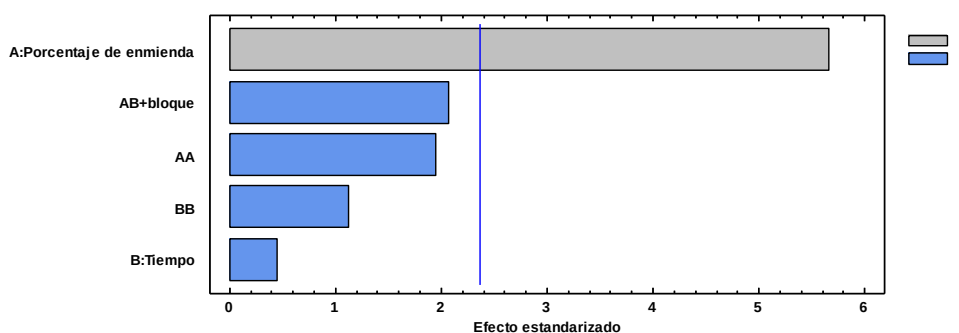


Figura 15. Diagrama de Pareto de los efectos y sus interacciones sobre la actividad proteasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

La Figura 16 permite observar el máximo valor de actividad proteasa (491,78 ug de tirosina/gss*h) obtenido para el tratamiento 30%LP-T10.

Por su parte el análisis de varianza realizado para la actividad proteasa al usar ACU como enmienda orgánica (Tabla 18) arrojó que ninguno de los factores estudiados afecta significativamente la respuesta, sin embargo se encuentra un efecto significativo de las interacciones AA y AB.

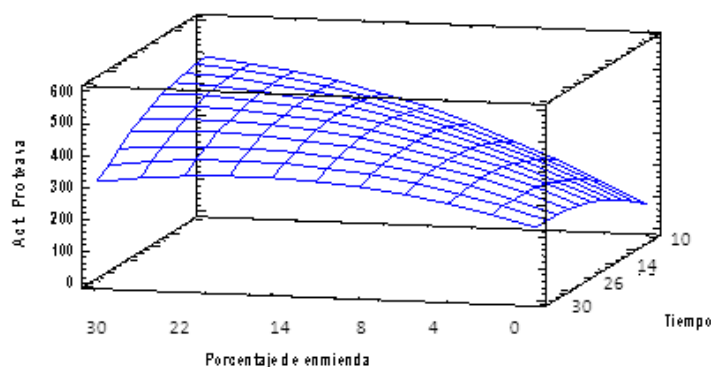


Figura 16. Diagrama de superficie respuesta de la actividad proteasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

Tabla 18. ANOVA para la variable respuesta actividad proteasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A: Porcentaje de enmienda	68,2587	1	68,2587	0,06	0,8055
B: Tiempo	561,564	1	561,564	0,52	0,4845
AA	52673,3	1	52673,3	49,09	0,0000*
AB	11614,4	1	11614,4	10,82	0,0072*
BB	37,0678	1	37,0678	0,03	0,8559

(*) Indica efecto significativo.

El efecto negativo de la interacción AB el cual se aprecia gráficamente en el diagrama de pareto (apéndice B.2.9), estaría indicando una descomposición lenta de la fracción orgánica aportada por el ACU. Gutierrez y De la Vara (2008), plantean que este efecto de interacción se da cuando el efecto de un factor depende del nivel de otro, evidenciando un efecto del factor “X” muy diferente en cada nivel del otro factor “Y”, o viceversa. La Ecuación del modelo matemático proporcionada por el programa estadístico (Ecuación XV), arrojó un $R^2 = 76\%$. La superficie respuesta (apéndice B.2.9) muestra el máximo valor para la actividad proteasa, siendo

280,31ug de Tirosina/gss*h, según el programa estadístico este máximo corresponde a las condiciones 4,2%ACU-T90.

$$\text{Act. Proteasa} = 275,117 - 2114,753 * \text{Porcentaje de ACU}^2 - 38,1025 * \text{Porcentaje de ACU} * \text{Tiempo} \quad \text{Ec. XV}$$

Tabla 19. ANOVA para la variable respuesta actividad proteasa en un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A:Porcentaje de enmienda	27399,9	1	27399,9	27,08	0,0003*
B:Tiempo	2140,01	1	2140,01	2,11	0,1738
AA	21,638	1	21,638	0,02	0,8864
AB	333,594	1	333,594	0,33	0,5774
BB	5132,05	1	5132,05	5,07	0,0457*

(*) Indica efecto significativo.

Con respecto a la actividad proteasa al usar Lig como enmienda orgánica, el análisis de varianza (Tabla 19) muestra que el factor A y la interacción BB afectan la respuesta. La Ecuación de modelo matemático (Ecuación XVI), que arrojó un $R^2 = 63\%$, el cual indica que bajo los niveles estudiados de los factores, el modelo explica de manera poco eficiente la variabilidad de los resultados, no obstante el programa arroja un máximo de 287,5 ug de Tirosina/gss*h (apéndice B.3.9) usando 20%Lig por 23,8 días de incubación.

$$\text{Act. Proteasa} = 235,224 + 47,7842 * \text{Porcentaje de Lig} - 35,8192 * \text{Tiempo}^2 \quad \text{Ec. XVI}$$

Al comparar los resultados de las tres enmiendas con respecto a la actividad proteasa se encontró mayor actividad al usar LP, seguido de Lig y finalmente ACU. Para el tratamiento con LP y Lig el porcentaje de enmienda resultó ser un factor que ejerció efecto significativo sobre la respuesta.

7.2.2.3. Actividad Ureasa en los sistemas suelo-enmienda

En la Figura (17a), se observa un marcado incremento en la actividad ureasa con respecto al porcentaje de enmienda y tiempo de incubación, se aprecia un máximo de esta actividad en el tratamiento 30%LP-T10; tendencia similar obtuvo Luyando (2014), obteniendo la mayor actividad ureasa al usar la máxima dosis de LP (10%) y el valor medio de tiempo de incubación (20 días).

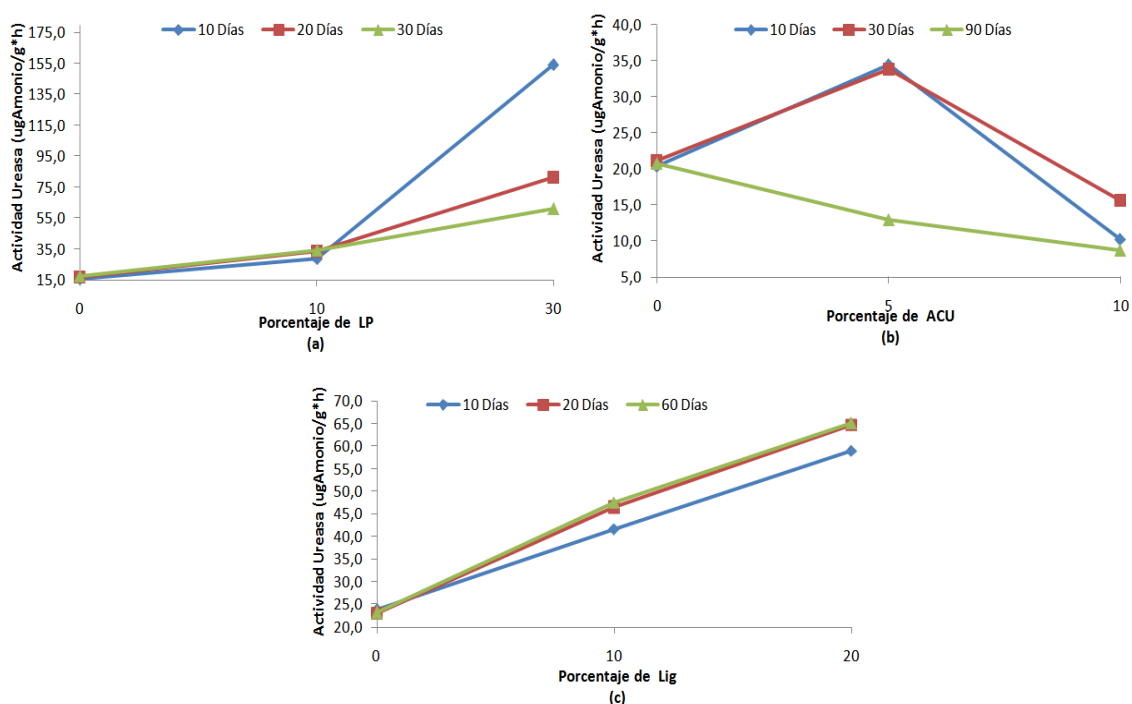


Figura 17. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de LP (a), ACU (b) y Lig (c) al transcurrir los días de incubación, sobre la actividad ureasa

Por su parte al usar ACU como enmienda orgánica se observa (Figura 17(b)) las máximas actividades de ureasa para T10 y T30 al usar 5%ACU, igual caso ocurre al usar Lig donde se presentan dos tratamientos con actividades ureasa similares (20%Lig-T20 y 20%Lig-T30). Al usar lignito como enmienda se observa un mayor valor al aumentar el porcentaje para todos los tiempos de incubación.

Los factores que afectan significativamente la actividad ureasa en un suelo tratado con LP son el factor A y B, así como la interacción AA y la interacción BB, para todos se obtuvo un $p\text{-valor} < 0,05$ en el análisis de varianza realizado (Tabla 20) lo cual se puede apreciar gráficamente en la Figura 18, con respecto al factor B, el efecto de esta enmienda sobre la actividad ureasa, se concentro en los primeros días de incubación, apreciándose que a partir de este momento no se detectaron incrementos en la respuesta, se puede inferir la presencia en los LP de compuestos recalcitrantes. La Ecuación XVII representa el modelo matemático reducido a los factores que afectan significativamente la actividad ureasa, la cual arrojó un $R^2 = 98\%$. La superficie respuesta obtenida (figura 19) muestra un máximo de 144,8 ug $[N - NH_4^+]/gss \cdot h$ para el tratamiento 30%LP-T10.

$$\text{Act. Ureasa} = 26,7467 + 41,14 * \text{Porcentaje de LP} - 14,3408 * \text{Tiempo} + 25,71 * \text{Porcentaje de LP}^2 + 8,0775 * \text{Tiempo}^2 \quad \text{Ec. XVII}$$

Tabla 20. ANOVA para la variable respuesta actividad ureasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A: Porcentaje de enmienda	20310,0	1	20310,0	482,05	0,0000*
B: Tiempo	2467,91	1	2467,91	58,57	0,0001*
AA	2644,02	1	2644,02	62,75	0,0001*
AB+bloque	3313,73	1	3313,73	78,65	0,0000*
BB	260,984	1	260,984	6,19	0,0417*

(*) Indica efecto significativo.

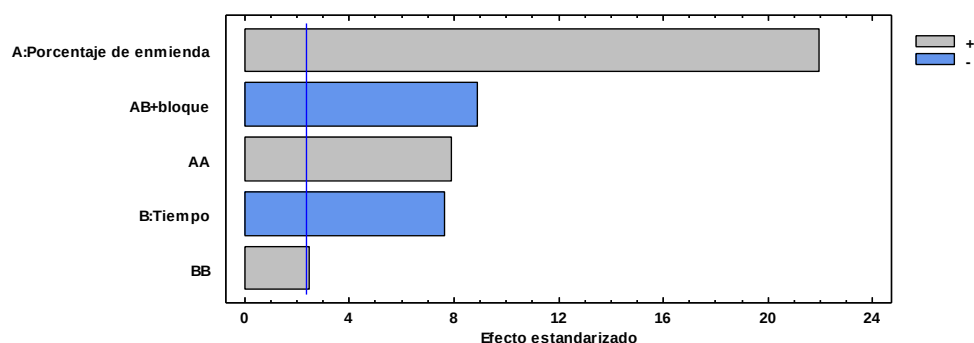


Figura 18. Diagrama de pareto de los efectos y sus interacciones sobre la actividad ureasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

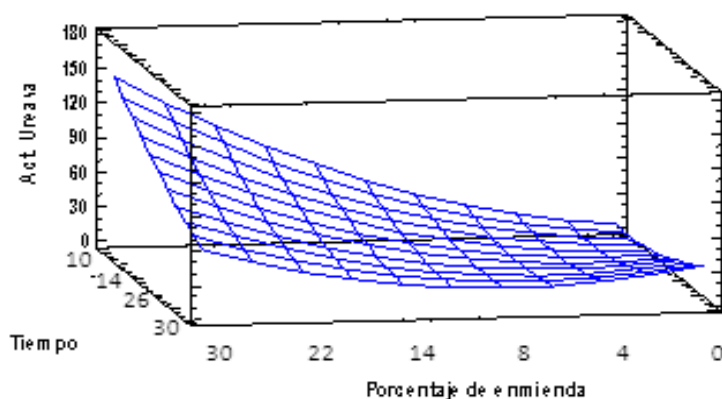


Figura 19. Diagrama de superficie respuesta de la actividad ureasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

Al usar ACU como enmienda, la respuesta actividad ureasa se vió afectada significativamente por los factores A y B, además de la interacción AA (Tabla 21). Es importante destacar que el factor A y B afectan negativamente la respuesta, lo cual se aprecia gráficamente en el diagrama de pareto (apéndice B.2.10) mostrando una tendencia marcada por parte de esta enmienda a promover una inhibición enzimática. Se obtuvo la Ecuación XVIII con un $R^2 = 61\%$, la cual describe muy poco la variabilidad de los datos. Sin embargo la superficie respuesta (apéndice B.2.10) arroja un máximo $31,34 \text{ ug } [N - NH_4^+]/\text{gss}\cdot\text{h}$ usando 3,95%ACU-T10.

$$\text{Act. Ureasa} = 30,8561 - 4,6275 * \text{Porcentaje de ACU} - 3,77417 * \text{Tiempo} - 10,9892 * \text{Porcentaje de ACU}^2 \quad \text{Ec. XVIII}$$

Tabla 21. ANOVA para la variable respuesta actividad ureasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A: Porcentaje de enmienda	256,965	1	256,965	7,92	0,0169*
B: Tiempo	170,932	1	170,932	5,27	0,0424*
AA	483,047	1	483,047	14,88	0,0027*
AB	1,6928	1	1,6928	0,05	0,8236
BB	128,105	1	128,105	3,95	0,0724

(*) Indica efecto significativo.

El análisis de varianza para la actividad ureasa al usar Lig como enmienda (Tabla 22), muestra que los dos factores estudiados afectan significativamente la respuesta. Según el diagrama de pareto (apéndice B.3.10) estos efectos son positivos, igual caso ocurrió para la actividad celulasa al usar Lig como enmienda, por lo cual se llega a la misma conclusión.

Tabla 22. ANOVA para la variable respuesta actividad ureasa en un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A: Porcentaje de enmienda	4717,95	1	4717,95	631,08	0,0000*
B: Tiempo	42,7896	1	42,7896	5,72	0,0357*
AA	17,8084	1	17,8084	2,38	0,1510
AB	22,6465	1	22,6465	3,03	0,1096
BB	7,1824	1	7,1824	0,96	0,3481

(*) Indica efecto significativo.

La Ecuación XIX representa el modelo matemático reducido a los factores que afectan significativamente la actividad ureasa, la cual arrojó un $R^2 = 97\%$. La superficie respuesta obtenida (apéndice B.3.10) muestra un máximo de 66,07 ug $[N - NH_4^+]/gss \cdot h$ para el tratamiento 20%Lig-T60.

$$\text{Act. Ureasa} = 46,1217 + 19,8283 * \text{Porcentaje de Lig} + 1,88833 * \text{Tiempo} \quad \text{Ec. XIX}$$

Al usar LP como enmienda orgánica, se encontró la máxima de actividad ureasa y proteasa, lo que está de acuerdo con lo señalado por Pascual y *et al.*, (1997) los cuales plantearon la existencia de elevadas cantidades de sustratos capaces de activar la síntesis de enzima de origen básicamente microbiano en los residuos de LP.

7.2.2.4. **Actividad Catalasa en los sistemas suelo-enmienda**

La Figura 20 (a) muestra un aumento de la actividad catalasa al ir aumentando la dosis de LP, encontrado la mayor respuesta en el tratamiento 30%LP-T20, por el contrario al usar ACU como enmienda orgánica se observa una disminución de este parámetro, lo que evidencia una clara inhibición por parte de esta enmienda a los microorganismos promotores de la actividad catalasa.

Mientras que al usar Lig la tendencia no es clara, pero gráficamente (Figura 20(c)) se logra una máxima cantidad de actividad catalasa en el tratamiento 10%Lig-T10 (1,235 ugH₂O₂/gss*h) y luego se observa una ligera disminución (1,22 ugH₂O₂/gss*h) al aumentar la dosis de Lig (20%) manteniendo constante el tiempo de incubación. De este modo el diseño de experimento permitirá descartar los factores que no afectan significativamente la respuesta, para así obtener un valor máximo según la superficie respuesta.

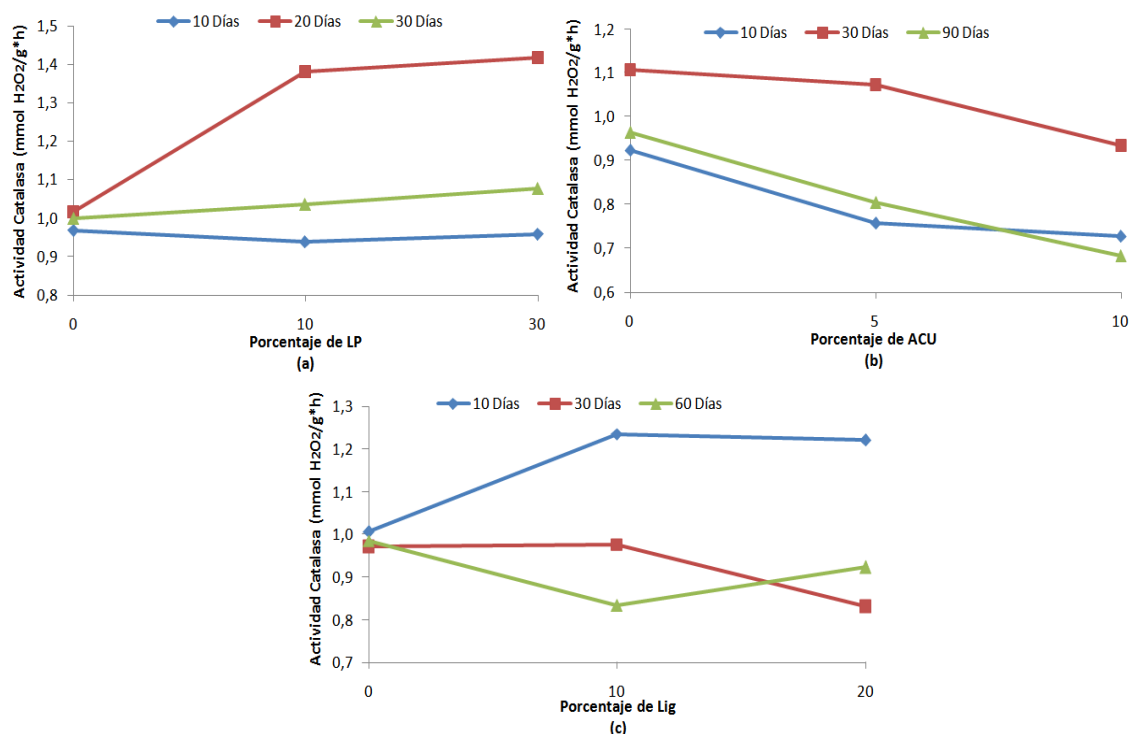


Figura 20. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de LP (a), ACU (b) y Lig (c) al transcurrir los días de incubación, sobre la actividad catalasa

El análisis de varianza realizado para la actividad catalasa al usar LP como enmienda (Tabla 23) arrojó un efecto significativo del factor A y la interacción BB. Como se muestra en la Figura 21 la cantidad de LP aplicado a los sistemas genera un efecto positivo sobre la actividad enzimática, al igual que para la actividad celulasa, proteasa y ureasa, este efecto se explica por la presencia de sustratos en el LP capaz de activar la síntesis de estas enzimas. Tomando en cuenta estos efectos la Ecuación reducida (Ec. XX), explica la variabilidad de los datos con un $R^2 = 72\%$.

$$\text{Act. Catalasa} = 1,30444 + 0,0783333 * \text{Porcentaje de LP} - 0,276667 * \text{Tiempo}^2 \quad \text{Ec. XX}$$

Tabla 23. ANOVA para la variable respuesta actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A: Porcentaje de enmienda	0,0736333	1	0,0736333	9,41	0,0181*
B: Tiempo	0,0208333	1	0,0208333	2,66	0,1468
AA	0,00871111	1	0,00871111	1,11	0,3265
AB+bloque	0,00537778	1	0,00537778	0,69	0,4346
BB	0,306178	1	0,306178	39,11	0,0004*

(*) Indica efecto significativo.

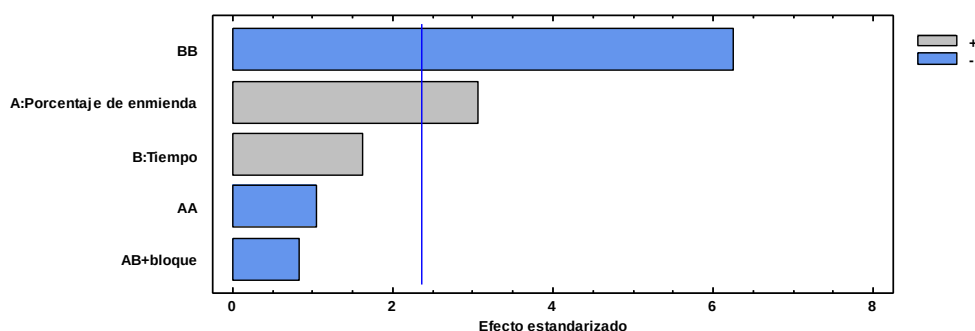


Figura 21. Diagrama de pareto de los efectos y sus interacciones sobre la actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

En la Figura 22 se observa el valor máximo obtenido según el programa estadístico ($1,35 \text{ mmolH}_2\text{O}_2/\text{gss}\cdot\text{h}$) el cual corresponde al tratamiento 30%LP-T20.

El análisis de varianza aplicado sobre la respuesta actividad catalasa al usar ACU como enmienda (Tabla 24), muestra que el factor B no afectó significativamente el resultado, pero si la interacción BB y el factor A. En el diagrama de pareto (apéndice B.2.11) se observa que ambos efectos son negativos, tal como se ha mencionado anteriormente los ACU están proporcionando compuestos tóxicos. Además se presume que debido a la estructura química de los aceites, el acceso eficiente por parte de las enzimas al sustrato no es eficiente, generando así una inhibición enzimática.

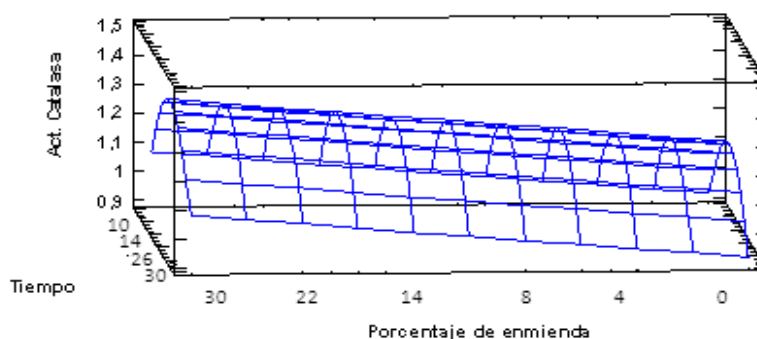


Figura 22. Diagrama de superficie respuesta de la actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

La EcuaciónXXI predice el comportamiento dela actividad catalasa bajo el diseño de experimento utilizado al usar ACU como enmienda, la cual arrojó un $R^2=92\%$.

$$\text{Act. Catalasa} = 1,02833 - 0,1075 * \text{Porcentaje de ACU} - 0,23 * \text{Tiempo}^2 \quad \text{Ec. XXI}$$

Tabla 24. ANOVA para la variable respuesta actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A: Porcentaje de enmienda	0,138675	1	0,138675	74,21	0,0000*
B: Tiempo	0,0005333	1	0,0005333	0,29	0,6038
AA	0,000625	1	0,000625	0,33	0,5747
AB	0,0036125	1	0,0036125	1,93	0,1919
BB	0,2116	1	0,2116	113,24	0,0000*

(*) Indica efecto significativo.

El diagrama de superficie respuesta de la actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica (apéndice B.2.11) arrojó un valor máximo 1,14 mmol/gss*h usando 0% ACU por 30 días de incubación, lo que supone una inhibición de los microorganismos promotores de esta enzima al usar ACU como enmienda orgánica.

La Tabla 25 muestra el análisis de varianza realizado para la respuesta actividad catalasa al usar Lig como enmienda, en la cual se observa un efecto significativo del factor B en la respuesta, además de las interacciones AB y BB. Al ser el efecto generado por la interacción AB negativo (apéndice B.3.11), se presume una lenta descomposición de la fracción orgánica aportada por el Lig. La Ecuación XXII muestra la Ecuación del modelo matemático reducido, la cual arrojó $R^2 = 97\%$, según la superficie respuesta (apéndice B.3.11) el valor máximo (1,22mmol $H_2O_2/gss \cdot h$) se halla al aplicar 20%Lig-T10.

$$\text{Act. Catalasa} = 0,943889 - 0,119167 * \text{Tiempo} - 0,046667 - 0,07125 * \text{Porcentaje de Lig} * \text{Tiempo} + 0,109167 * \text{Tiempo}^2 \quad \text{Ec. XXII}$$

Tabla 25. ANOVA para la variable respuesta actividad catalasa en un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
A:Porcentaje de enmienda	0,000075	1	0,000075	0,01	0,9234
B:Tiempo	0,170408	1	0,170408	21,97	0,0007*
AA	0,00266944	1	0,00266944	0,34	0,5693
AB	0,0406125	1	0,0406125	5,24	0,0429*
BB	0,0476694	1	0,0476694	6,15	0,0306*

(*) Indica efecto significativo.

Un resultado notorio con respecto al uso de ACU como enmienda se muestra en la Figura 10(b), 14(b) y 16(b) donde se observa que las actividades celulasa, proteasa y ureasa aumentan al usar 5%ACU y luego disminuyen al aumentar la dosis de ACU, esta disminución en la actividad enzimática pudiera atribuirse a los bajos valores de pH alcanzados en los tratamientos donde se usó mayor dosis de ACU. Al respecto Rivas (2013) al estudiar el comportamiento de la respiración del suelo, la cual representa la actividad biológica del mismo, en suelos contaminados con escoria metálica y enmendados con dosis de ACU desde (0-15)%, encontró los mejores valores de este parámetro al usar dosis de (3-6)%ACU, argumentando la falta de elementos nutritivos del sustrato, acumulación de productos finales del

metabolismo que puedan ser tóxicos o inhibidores, ácidos orgánicos o alcoholes obtenidos a partir de la degradación de carbohidratos, modificación de pH, entre otros (Masson S.A., 1987) como algunos de los factores que retarda el progreso numérico de los microorganismos.

7.2.3. Correlación entre parámetros fisicoquímicos y biológicos en sistemas suelo-LP

Para investigar qué propiedades del suelo son las responsables de la variación de las propiedades bioquímicas se analizó la correlación lineal entre éstas últimas y diferentes propiedades fisicoquímicas. En términos generales las actividades enzimáticas, exceptuando la actividad catalasa, se correlaciona con el contenido de amonio, nitrato y materia orgánica, lo que sugiere que el proceso de amonificación y nitrificación favorece las actividades enzimáticas. Se observa que la actividad celulasa y ureasa se correlacionan más fuertemente con el contenido de materia orgánica, el hecho de que la materia orgánica se correlacione bien con las propiedades bioquímicas está de acuerdo con lo indicado por la mayoría de los autores que han estudiado dichas propiedades, entre otros Káiseret *al.* (1992), Tabatabai (1994), Trasar *et al.* (2000), Zeller *et al.* (2001).

Además estas elevadas correlaciones entre materia orgánica y actividades enzimáticas son de esperar, ya que la materia orgánica del suelo juega un importante papel, protegiendo a las enzimas, de manera que éstas quedan inmovilizadas en una red tridimensional de complejos húmicos y arcillosos (Burns, 1982; Tabatabai, 1994). Sin embargo, en el caso de la actividad catalasa no se encontró fuerte correlación con ningún parámetro fisicoquímico, mientras que para la actividad proteasa la correlación estadísticamente más fuerte se dio con el contenido de amonio y nitrato, diferentes autores (Ladd y Buttler, 1972; Nannipieri *et al.*, 1990) han señalado que el proceso de amonificación se ve afectado por las proteasas.

Además de la relación entre las propiedades bioquímicas y las propiedades fisicoquímicas del suelo tratado con LP, también se investigó la relación de las propiedades bioquímicas entre sí, mediante relaciones lineales, se observa que las enzimas presentan una gran correlación entre ellas, aunque hay ausencia de correlación entre la actividad catalasa y las demás actividades enzimáticas.

Tabla 26. Coeficientes de correlación de Pearson entre los indicadores fisicoquímicos y bioquímicos estudiados, para un suelo agrícola tratado con LP como enmienda orgánica

	CE	NH_4^+	NO_3^-	H	MO	RH	Cel	Ure	Cat	Prot
pH (1:1) H₂O	-0,61*	0,73*	0,685*	0,69*	0,61*	-0,43	0,58*	0,43	0,40	0,64*
CE		-0,45	-0,52*	-0,86*	-0,56*	0,54*	-0,67*	-0,68*	-0,38	-0,70*
NH_4^+			0,93*	0,28	0,77*	0,07	0,70*	0,76*	0,09	0,80*
NO_3^-				0,25	0,60*	0,06	0,59*	0,73*	0,17	0,91*
H					0,48*	-0,74*	0,54*	0,39	0,47*	0,42
MO						0,69*	0,64*	0,85*	0,18	0,57*
RH							-0,05	0,11	-0,07	-0,02
Cel								0,90*	0,17	0,59*
Ure									0,09	0,75*
Cat										0,45

n=18. (*) Correlación significativa ($p < 0,05$). CE=Conductividad eléctrica. H=Humedad. MO=Materia orgánica. RH=Retención de humedad. Cel=Actividad celulasa. Ure=Actividad ureasa. Cat=Actividad Catalasa. Prot=Actividad Proteasa.

7.2.4. Correlación entre parámetros fisicoquímicos y biológicos en sistemas suelo-ACU

Se encontró correlación entre el pH y la actividad celulasa y ureasa, observando para estos tres parámetros las mejores condiciones al usar dosis media (5%) de ACU por un tiempo de incubación de 30 días, era de esperarse este comportamiento ya que el pH en el tratamiento 5%ACU-T30 entra en el intervalo señalado por algunos autores (Arroyo y Quesada, 2004) donde se lleva a cabo el mayor crecimiento de microorganismos.

Tabla 27. Coeficientes de correlación de Pearson entre los indicadores fisicoquímicos y bioquímicos estudiados, para un suelo agrícola tratado con ACU como enmienda orgánica

	CE	NH_4^+	NO_3^-	H	MO	RH	Cel	Ure	Cat	Prot
pH (1:1) H₂O	-0,84*	0,37	0,80*	-0,26	-0,75*	0,54*	0,60*	0,81*	0,39	0,42
CE		-0,58*	-0,64*	-0,05	0,83*	-0,36	-0,38	-0,59*	-0,59*	-0,56*
NH_4^+			0,19	0,38	-0,48*	0,20	0,10	0,46	0,81*	0,18
NO_3^-				-0,25	-0,79*	0,74*	0,32	0,64*	0,47*	-0,03
H					-0,02	0,08	-0,30	-0,17	0,40	-0,10
MO						-0,72*	-0,03	-0,39	-0,58*	-0,054
RH							-0,08	0,36	0,38	-0,44
Cel								0,82*	0,11	0,64*
Ure									0,45	0,39
Cat										0,01

n=18. (*) Correlación significativa ($p < 0,05$). CE=Conductividad eléctrica. H=Humedad. MO=Materia orgánica. RH=Retención de humedad. Cel=Actividad celulasa. Ure=Actividad ureasa. Cat=Actividad Catalasa. Prot=Actividad Proteasa.

Además la reacción de la actividad ureasa provoca la formación de NH_4^+ y un aumento en el pH del suelo, lo que podría explicar la fuerte correlación entre estos parámetros.

No existe correlación entre la actividad proteasa y el pH del suelo bajo el diseño de experimento planteado. Se encontró correlación entre la conductividad eléctrica y las actividades ureasa, catalasa y proteasa, de modo que al aumentar la conductividad eléctrica disminuyen las actividades enzimáticas, esto puede ser explicado por el aumento de cantidad de sales presentes en el suelo, que aunque no sobrepasa los límites de salinidad normal, parece estar afectando la proliferación de microorganismos en el suelo y con esto las actividades enzimáticas, al respecto Steinborn y Roughley (1975) aseguran que la actividad microbiana puede estar afectada por la severidad del estrés osmótico.

El contenido de materia orgánica aumento en todos los tratamientos con respecto a los controles, sin embargo no se encontró correlación entre este parámetro y las actividades enzimáticas, lo que hace suponer que el ACU proporcione algunas sustancias que inhibieron la proliferación de microorganismos, tal como los compuestos de oxidación lipídica que se generan en el proceso de fritura (Barrera, 1998), estos compuestos llegan a ser tóxicos para algunos de los microorganismos del suelo y afecta aquellos procesos en los cuales intervienen (Jaramillo, 2002).

Al respecto Montoya (2012) obtuvo un aumento de la materia orgánica al usar ACU como enmienda orgánica, asevero que este comportamiento se debe a la baja mineralización de la materia orgánica, ya que en los suelos donde se agregó más de 15%ACU disminuyó la actividad microbiana, implicando una menor degradación del aceite comestible incorporado, generando que el aceite no degradado se incorpore como materia orgánica en el suelo.

7.2.5. Correlación entre parámetros fisicoquímicos y bioquímicos en sistemas suelo-Lig

Tabla 28. Coeficientes de correlación lineal entre los indicadores fisicoquímicos y bioquímicos estudiados, para un suelo agrícola tratado con Lig como enmienda orgánica

	CE	NH_4^+	NO_3^-	H	MO	RH	Cel	Ure	Cat	Prot
pH (1:1) H₂O	-0,79*	-0,64*	-0,51*	0,03	-0,73*	-0,20	-0,61*	-0,62*	-0,49*	-0,49*
CE		0,78*	0,54*	0,89	0,97*	0,63*	0,88*	0,94*	0,05	0,78*
NH_4^+			0,28	-0,25	0,70*	0,35	0,60*	0,66*	0,17	0,52*
NO_3^-				0,34	0,58*	0,41	0,65*	0,58*	0,05	0,55*
H					0,25	0,23	0,31	0,28	-0,42	0,44
MO						0,62*	0,94*	0,97*	-0,01	0,78*
RH							0,59*	0,70*	-0,58*	0,74*
Cel								0,96*	0,02	0,69*
Ure									-0,11	0,81*
Cat										-0,40

n=18. (*) Correlación significativa ($p < 0,05$). CE=Conductividad eléctrica. H=Humedad. MO=Materia orgánica. RH=Retención de humedad. Cel=Actividad celular. Ure=Actividad ureasa. Cat=Actividad Catalasa. Prot=Actividad Proteasa.

Al usar Lig como enmienda orgánica se encontraron las mejores correlaciones entre la materia orgánica y las actividades enzimáticas (exceptuando la actividad catalasa) comparadas con las correlaciones obtenidas al usar LP y ACU como enmienda. Lo que pone en evidencia la participación de las enzimas en el proceso de degradación de la materia orgánica aportada por el Lig, hidrolizando moléculas (enzimas hidrolíticas), favoreciendo la liberación de nutrientes como C y N al medio, lo que aumenta la proliferación de microorganismos que a su vez liberan enzimas,

generando entonces una retroalimentación positiva entre la materia orgánica y enzimas.

Como se ha visto a lo largo de esta discusión las correlaciones estadísticamente significativas entre propiedades bioquímicas y fisicoquímicas, así como de propiedades bioquímicas con estas mismas, han sido más abundantes en los suelos tratados con LP como enmienda orgánica, lo que podría revelar un mayor equilibrio entre las propiedades bioquímicas y fisicoquímicas, al enmendar un suelo con LP. Por su parte tomando en cuenta solo las correlaciones entre las actividades enzimáticas, estas fueron más significativas al enmendar el suelo con Lig lo que pone en evidencia la presencia de un mayor equilibrio e interrelación entre los ciclos biogeoquímicos del carbono y nitrógeno.

8. Conclusiones

En cuanto a las propiedades fisicoquímicas determinadas se encontraron los mejores valores de algunos de estos parámetros al usar LP y Lig como enmienda orgánica, al respecto se puede afirmar que:

- ✓ Al usar LP como enmienda orgánica el pH en la mayoría de los casos se mantuvo neutro, mientras que al usar ACU y Lig esta propiedad disminuyó con respecto a los controles en la mayoría de los tratamientos.
- ✓ La conductividad eléctrica permitió clasificar el suelo tratado con las diferentes enmiendas como un suelo de salinidad normal.
- ✓ El uso de Lig como enmienda orgánica favoreció el proceso de amonificación, mientras que el proceso de nitrificación se vio favorecido al usar LP.
- ✓ En todos los casos de suelo-LP, suelo-ACU y suelo-Lig el contenido de materia orgánica pasó de ser bajo a muy alto ($MO > 3,6\%$), según la clasificación aportada por Rioja (2002).
- ✓ El mejor valor tanto para humedad como para retención de humedad al comparar las diferentes enmiendas utilizadas se obtuvo al usar LP.

En general se obtuvieron los mejores valores de actividades enzimáticas al usar LP como enmienda orgánica, al respecto se puede afirmar que:

- ✓ El máximo valor de actividad celulasa ($7,9 \text{ ug de glucosa/gss} \cdot \text{h}$) se obtuvo al usar 20%Lig-T60.
- ✓ El máximo valor de actividad proteasa ($491,78 \text{ ug de tirosina/gss} \cdot \text{h}$) se obtuvo en el tratamiento 30%LP-T10.
- ✓ El máximo valor de actividad ureasa ($144,8 \text{ ug/gss} \cdot \text{h}$) fue en el tratamiento 30%LP-T10.
- ✓ El máximo valor de actividad catalasa ($1,35 \text{ mmolH}_2\text{O}_2/\text{gss} \cdot \text{h}$) corresponde al tratamiento 30%LP-T20.

Según los parámetros estudiados en el diseño de experimento la variabilidad de las respuestas obtenidas para la actividad celulasa, ureasa y catalasa fueron más eficientemente explicadas al usar Lig como enmienda orgánica, ya que los coeficientes de determinación (r^2) obtenidos según el modelo matemático fueron cercanos a 100%.

Recomendaciones

Se recomienda realizar nuevos estudios estadísticos con respecto a la factibilidad de usar ACU como enmienda orgánica, con el fin de obtener una condición optima de %ACU-Tiempo de incubación, trabajando con intervalos entre (3,95-5,33)%ACU.

Usar los modelos matemáticos donde se obtuvieron R^2 bajos y agregarle otros experimentos, donde se amplíen los niveles de estudio (en los casos donde se obtuvieron mejores condiciones al aumentar la dosis de enmienda) o se usen intervalos mas pequeños (en los casos donde según la superficie respuesta haya presencia de un máximo), con el fin de mejorar la respuesta y obtener un nuevo modelo matemático que permita predecir estadística y confiablemente la variabilidad de las actividades enzimáticas según la enmienda organica utilizada.

Tomando en cuenta que el suelo posee varios indicadores de calidad , se recomienda aplicar un método para optimizar varias respuestas simultáneamente y así obtener una Ecuación que describa la calidad de un suelo en específico en función de varios parámetros fisicoquímicos y bioquímicos, al respecto Nannipieri *et al.* (2002) han compilado expresiones matemáticas que relacionan las propiedades bioquímicas del suelo con su calidad.

8. Bibliografía

ALEF, K. and P. NANNIPIERI.(1995).Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press. San Diego, Estados Unidos. 375 p.

ALEF, K., NANNIPIERI, P. (1998). Enzyme activities: Catalase activity. En: Alef, K., Nannipieri, P. (editores). Methods in applied soil microbiology and biochemistry, Academic Press. Gran Bretana.

ANDERSON, J.M. E IMGRAM J.S.I. (1989). Tropical soil biology and fertility: Handbook of methods. CAB International, Wallingford.

ARROYO, M., QUESADA, J. (2004). Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. Geocisa. División de Protección Ambiental, Guadalajara-México. p. 299.

BARRERA D. (1998). Estabilidad y utilización de nitrógeno en aceites y grasas, facultad de ingeniería de alimento vol. 49 55-63.

BEYER, L., R. FRÜND Y K. MUELLER. (1997). Short-term effects of a secondary paper mill sludge application on soil properties in a PsammenticHaplumbrept under cultivation. Science of the Total Environment. 197(1-3):127-137.

BOUYOUCOS, G, J. (1962).hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. Agron, J. 54 464-465.

BURNS, R.G. (1982). Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. Soil Biology and Biochemistry 14:423-427.

CAMACHO C. (2007). Coeficiente de Correlación Lineal de Pearson. Análisis de Datos II. Universidad de Sevilla. Referencia Electrónica. Recuperado 10 septiembre del 2011. <http://personal.us.es/vararey/adatos2/correlacion.pdf>

CASANOVA, M. y C. BENAVIDES. (1995). Actividad de la ureasa en suelos de la zona central de Chile. *Agricultura Técnica*, 55(2): 154-158.

CASTILLO, F. (2005). *Biotecnología ambiental*. Editorial Tebar. Madrid, España. 616p. Tate, R.L. (2000). *Soil Microbiology*. John Wiley and sons, New York. 508 pp.

CECCANTI, B. and C. GARCÍA. (1994). Coupled chemical and biochemical methodologies to characterize a composting process and the humic substances. **In:** *Humic Substances in the global Environment and its implication on human health*. N. Senesi and T. Miano (eds.). Elsevier, New York. pp. 1279-1285.

CHARPENTIER, M. (1968). Degradation de la cellulose dans le sol. *Mecanismes enzymatiques*. *Annales de l'Institut Pasteur*, 115: 487-537.

CIHACEK, L.J., ANDERSON, W.L. Y BARAK, P.W. (1996). Methods for assesing soil quality. En: Doran, J.W. y Jones, A.J. (Eds.). *Methods for Assessing Soil Quality*, SSSA Special publication, 49. SSSA y ASA, Madison, WI, pp 9-24.

CROSARA, A. (2009). Clase 3 MOS. Universidad de la República de Uruguay, facultad de ciencias. Disponible en internet el 12 de enero de 2012. <http://www.edafología.fcien.edu.uy/archivos/clase%203%20MOS>.

DE BOER, W. Y KOWALCHUK, G.A. (2001). Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms. *Soil Biology and Biochemistry* 33:853-866.

DEPARTAMENTO DE SANIDAD DEL ESTADO DE NUEVA YORK. Manual de tratamiento de aguas negras. México: Limusa Noriega, 1998. 303 p.

DICK, R.P., BREAKWELL, D.P. Y TURCO, R.F. (1996). Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. En: Doran, J.W. y Jones, A.J. (Eds.). *Methods for Assessing Soil Quality*, SSSA Special publication, 49. SSSA y ASA, Madison, WI, pp 247-271.

DICK, R.P., RASMUSSEN, P.E. Y KERLE, E.A. (1988). Influence of long-term residue management on soil enzyme activities in relation to soil chemical properties of a wheatfallow system. *Biology and Fertility of Soils* 6:159-164.

DORAN, J.W. Y SAFLEY, M. (1997). Defining and assessing soil health and sustainable productivity. En: Pankhurst, C.E., Doube, B.M. y Gupta, V.V.S.R. (Eds.). Biological Indicators of Soil Health. CAB International, Wallingford, pp 3-21.

ESPINOSA, J. (1994).Acidez y encalado de los suelos. En: Fertilidad de suelos: Diagnóstico y control. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo (SCCS). Bogotá. pp 113-128.

FAITHFULL, NIGEL T. (2005). Métodos de análisisquímicoagrícola. Manual práctico. Ed. Acribia. Madrid. 114 p.

FAO. (2005). <FTP://ftp.FAO.org/docret/FAO/008/a==57e/Aoo57e01.pdf>

FAUCI, M.F. Y DICK, R.P. (1994). Soil microbial dynamics: short- and long-term effects of inorganic and organic nitrogen. Soil Science Society of America Journal 58:801-806.

FILIP, Z. (2002). International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. Agriculture, Ecosystems and Environment 88:169-174.

FRASER, D.G., DORAN, J.W., SAHS, W.W. Y LESOING, G.W. (1988). Soil microbial populations and activities under conventional and organic management. Journal of Environmental Quality 17:585-590.

GALVALIZI, D. (2009). Contaminación de aguas producto de aceites comestibles. [Http://opinionsur.org.ar/el-aceite-de-cocina-contamina-el agua disponible en internet](Http://opinionsur.org.ar/el-aceite-de-cocina-contamina-el-agua-disponible-en-internet), consultado el 12 de enero 2012.

GARCÍA, C. Y HERNÁNDEZ, T. (1997). Biological and biochemical indicators in derelict soils subjected to erosion. Soil Biology and Biochemistry 29:171-177.

GARCÍA, C., GIL, F., HERNANDEZ, T. Y C. TRASAR. (2003). Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos. Ediciones Mundi Prensa, España. 373p.

GARREAUD et al. (2004). Modernización e Integración Transversal de la Enseñanza de Pregrado en Ciencias de la Tierra. Universidad de Chile. Extraído el

10 de octubre del 2010 desde la página web:
http://mct.dgf.uchile.cl/AREAS/mine_mod230.pdf

GHOSE K.T. (1987). Measurent of cellulase activities. Pure & Appl. Chem.

GRANT, R.F. (1994). Simulation of ecological controls on nitrification. Soil Biology and Biochemistry 26:305-315.

GUTIERREZ Y DE LA VARA SALAZAR. (2008). Análisis y diseño de experimentos. 2da edición. Mc Graw Hill. México. Pág. 109

HARRIS, R.F. Y BEZDICEK, D.F. (1994). Descriptive aspects of soil quality/health. En: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F. y Stewart, B.A. (Eds.). Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. Soil Science Society of America special publication nº 35, Madison, and Wisconsin. Pp 23-35.

HAYANO, K. (1996). Characterization and origin of protease activity in cultivated soils. Japan Agricultural Research Quarterly 30: 79-84.

HAYNES, R.J. (2005). Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: An overview. Advances in Agronomy 85:221-268.

HE, Z.L., YANG, X.E., BALIGAR, V.C. Y CALVERT, D.V. (2003). Microbiological and biochemical indexing systems for assessing quality of acid soils. Advances in Agronomy 78:89-138.

HUMINTECH. (2015). Humic materials for agriculture. www.humintech.com

INNYEPERUMAL K., SHY W. (2007). Soil Microbial Community Composition and Structure: Residual Effects of Contrasting N Fertilization of Swine Lagoon Effluents versus Ammonium Nitrate. Plant and Soil. 232. 233-244.

JACKSON, M. L. (1970) Análisis químico de suelos. 2ª Ed. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. Pp. 662.

JANSSON, S.L. Y PERSSON, J. (1982). Mineralization and inmovilization of soil nitrogen. En: Stevenson, F.J. (Ed.). Nitrogen in Agricultural Soils. ASA, CSSA, SSSA, Madison, USA, pp 229-252.

JANZEN, H. (2004). Carbon cycling in earth system a soil science perspective. Agriculture, Ecosystems and Environment 104:399–417.

JARAMILLO, D. (2002). Introducción a la ciencia del suelo. 2ª edición. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, España. Pp.662, 192, 417.

JARVIS, S., STOCKDALE, E., SHEPHERD, M. AND POWLSON, D. (1996). Nitrogen mineralization in temperate agricultural soil: processes and measurements. Advances in Agronomy 57:187-235.

JENNY, H. (1980). The Soil Origin: Origin and Behaviour. Ecological studies 37, Springer-Verlag, New York.

JENNY, H. (1984). The making and making of fertile soil. En: Jackson, W., Berry, W. y Colman, B. (Eds.). Meeting the Expectations of the and North Point Press, San Francisco, California, pp 44-45.

JOHNSON, J. L. AND K. L. TEMPLE. (1964). Some variables affecting the measurement of catalase activity in soil. Soil Sci. Soc. Am. Proc.28: 207-209.

JURY, W. and W. H. GARDNER. (1991). Soil physics. 5ª Ed. John Wiley and Sons, Inc. New York. 328 p.

KAISER, E.A., MÜLEER, T., JOERGENSEN, R.G., INSAM, H. Y HEINEMEYER, O. (1992). Evaluation of methods estimatethesoilmicrobialbiomass and therelationshipwithsoiltexture and organicmatter. Soil Biology and Biochemistry 24:675-683.

KANDELER, E. Y GERBER, H. (1988). Short-term assay of urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils.*, 6: 68-72.

KANDELER, E., KAMPICHLER, O., Y HORAK, C. (1996). Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biology and Fertility of Soils* 23:299-306.

KANDELER, E., STEMMER, M. Y KLIMANEK, E.M. (1999). Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fraction to long-term soil management. *Soil Biology and Biochemistry* 31:261-273.

KLOSE, S. Y TABATABAI, M.A. (1999). Urease activity of microbial biomass in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 31:205-211.

LADD, J.N. Y BUTLER, H.A. (1972). Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 4:19-30.

LADD J.N. Y PAUL, E.A. (1973). Changes in enzymatic activity and distribution of acid-soluble, amino acid-nitrogen in soil during nitrogen immobilization and mineralization. *Soil Biology and Biochemistry* 5:825-840.

LARSON, W.E. Y PIERCE, F.J. (1994). The dynamics of soil quality as a measure of sustainable land management. En: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F. y Stewart, B.A. (Eds.). *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Soil Science Society of America Special Publication nº 35, Madison, Wisconsin. Pp 37-51.

LIKON MARKO Y TREBŠE POLONCA. (2012). *Recent Advances in Paper Mill Sludge Management*. University of Nova Gorica. Nova Gorica – Eslovenia.

LINARES L., ROJAS N., ROLDAN T., ISLAS M., ZEGARRA H., HERNÁNDEZ R., REYES R., HERNÁNDEZ D. y ARCE J. (2006). *Manual de Técnicas de Análisis de Suelos aplicadas a la remediación de sitios Contaminados*. Instituto Mexicano de Petróleo. México D.F.

LIZCANO. (2011). Caracterización físico química y espectroscópica de lignitos nacionales. Trabajo Especial de Grado UC. Venezuela 2011.

LOLL, M.J. Y BOLLAG, J.M. (1983). Protein transformations in soils. *Advances in Agronomy* 36:351-382.

LUYANDO, L. (2014). Evaluación de indicadores de calidad en respuesta a la aplicación de lodos papeleros como enmienda orgánica en suelos agrícolas. Trabajo Especial de Grado. Universidad de Carabobo. Valencia-Venezuela.

MACDUFF, J.H. Y WHITE, R.E. (1985). Net mineralization and nitrification rates in a clay soil measured and predicted in permanent grassland from soil temperature and moisture content. *Plant and Soil* 86:151-172.

MARQUES G. (2011). Evaluación a escala de laboratorio del biotratamiento de lodos celulósicos provenientes de una empresa manufacturera de papel. Trabajo Especial de Grado. Universidad de Carabobo. Valencia – Venezuela.

MARTÍNEZ, E., FUENTES, J. y E. ACEVEDO. (2008). Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, 8(1): 68-96.

MARTENS, D.A., JOHANSON, J.B. Y FRANKERBERGER, J.R.W. (1992). Production and persistence of soil enzyme with repeated additions of organic residues. *Soil Science* 153:61-83.

MASÍS, W. Y GONZÁLEZ, J. (2007). Estimación de la mineralización neta de nitrógeno del suelo en sistemas agroforestales y a pleno sol en el cultivo del café (*Coffea arabica* L.), en el pacífico de Nicaragua, departamento de Carazo. Universidad nacional agraria, Facultad de agronomía, departamento de producción vegetal. Trabajo de diploma. Pp 12.

MASSON S.A. (1987). *Microbiología y Parasitología Médica*. Ronda General Mitre. Barcelona, España.

MINISTERIO DEL PODER POPULAR PARA EL AMBIENTE (MPPA). (2009). Plan nacional de implementación del convenio de Estocolmo sobre COP. Pág. 24

MONTOYA, F. (2012). Estudio de la capacidad del suelo para la degradación de aceites comestibles usados y su incorporación como materia orgánica. Trabajo Especial de Grado. Universidad de Carabobo. Valencia-Venezuela.

NANGARI, A. (2012). Variación de la actividad enzimática del suelo en formaciones vegetacionales esclerófilas de la zona central de Chile. Trabajo especial de grado. Universidad de Chile. Santiago-Chile. Pág. 29

NANNIPIERI, P., CECCANTI, B. Y GREGO, S. (1990). Ecological significance of biological activity in soil. En: Bollag, J.M. y Stotzky, G. (Eds.). Soil Biochemistry, vol. 6. Marcel Dekker, New York, pp 293-335.

NANNIPIERI, P., KANDELER, E. Y RUGGIERO, P. (2002). Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soils. En: Burns, R.G. y Dick, R.P. (Eds.). Enzymes in the Environment: Activity, Ecology and Applications. Marcel Dekker Inc, Nueva York, pp 1-34.

NANNIPIERI, P., MUCCINI, L. Y CIARDI, C. (1983). Microbial biomass and enzyme activities: production and persistence. Soil Biology and Biochemistry 15:679-685.

NANNIPIERI, P., PEDRAZZINI, F., ARCARA, P.G. Y PIOVANELLI, C. (1979). Changes in amino acids, enzyme activities, and biomasses during microbial growth. Soil Science 127:26- 34.

NIKUS OLANI Y MULUGETA FIKRE. (2010). UnionSeedProductionTechniques: A Manual forExtensionAgents and SeedProducers. Asella – Ethiopia.

NORTCLIFF, S. (2002). Standarization of soil quality attributes. Agriculture, Ecosystems and Environment 88:161-168.

OLARTE, L. I. (1979). Métodos analíticos del laboratorio de suelos 4ta Ed. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá, Colombia. 664pp.

PARK, J. Y COUSINS, S.H. (1995). Soil biological health and agro-ecological change. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 56:137-148.

PASCUAL J. A, T. HERNÁNDEZ, C. GARCÍA Y M. AYUSO. (1998). Enzymatic activities in an Arid soil amended with urban organic waste: Laboratory Experiment. *Bioresour. Technol.* 64: 131-138.

PAULET, MANUEL. (1983). Relación Agua-Suelo-Planta: Requerimientos de Agua de las Plantas en relación con el clima y el suelo para una producción óptima. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Santo Domingo.

PAZ, J. (2006). Propiedades bioquímicas de suelos de prado de Galicia. Tesis Doctoral. Universidad de Compostela. España.

PERUCCI, P. (1992). Enzyme activity and microbial biomass in a field soil amended with municipal refuse. *Biology and Fertility of Soils* 14:54-60.

PILBEAM, C.J., MAHAPATRA, B.S. Y WOOD, M. (1993). Soil matric potential effects on gross rates of nitrogen mineralization in an Orthic Ferralsol from Kenya. *Soil Biology and Biochemistry* 25:1409-1413.

PIÑERO, Susan. (2012). Aplicación de lignitos nacionales para el mejoramiento de suelos agrícolas: estudios en microcosmos. Trabajo Especial de Grado. Universidad de Carabobo. Valencia-Venezuela.

PORTA, J., LÓPEZ ACEVEDO, M. Y ROQUERO, C. (1999). Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, 849 pp.

RIDLEY, A.M., MELE, P.M. Y BEVERLY, C.R. (2004). Legume-based farming in Southern Australia: developing sustainable systems to meet environmental challenges. *Soil Biology and Biochemistry* 36:1213-1221.

RIOJA MOLINA, A. (2002). Apuntes de Fitotecnia General, E.U.I.T.A., Ciudad Real.

RIVAS F. (2013). Tratamiento de suelos impactados con escoria metálica empleando residuos de aceites comestibles como enmienda orgánica. Trabajo especial de grado. Universidad de Carabobo. Valencia-Venezuela,

SCHINNER, F. AND VON MERSE, W. (1990). Xylanase-, CM-cellulase- and invertase activity in soil: An improved method. *Soil Biology and Biochemistry* 22:511-515.

SCHULTEN, H.R. Y SCHNITZER, M. (1998). The chemistry of soil organic nitrogen: a review. *Biol. Fert. Soils* 26: 1-15

SILGRAM, M. Y SHEPHERD, M.A. (1999). The effects of cultivation on soil nitrogen mineralization. *Advances in Agronomy* 65:267-311.

SKUJINS, J.J. (1976). Extracellular enzymes in soil. *C.R.C. Critical Reviews in Microbiology* 4:383-421. *Soil Biology and Biochemistry* 5:825-840.

SOIL SURVEY DIVISION STAFF (SSDS). (1993). Soil survey manual. Handbook No. 18. United States Department of Agriculture (USDA). Washington D. C. 437 p.

SOIL SURVEY LABORATORY (SSL). (1995). Information manual. Soil Survey Investigations Report N° 45. Version 1.0. USDA. Lincoln. 305 p.

SOIL SURVEY LABORATORY (SSL). (1996). Methods manual. Soil Survey Investigations Report N° 42. Version 3.0. United States Department of Agriculture (USDA). Lincoln. 693p.

SOIL SURVEY STAFF (SSS). (1999). Soil Taxonomy. A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting

STEINBORN J, ROUGHLEY R.J. (1975). Toxicity of sodium and chloride ion *Rhizobium* spp. En broth and peat cultura. 133-138

STEUBING L, R GODOY & M ALBERDI. (2002). Métodos de Ecología Vegetal. Editorial Universitaria Santiago, Chile. 345 pp.

SUAREZ, Z. (2010). Estudio de Actividades Enzimáticas involucradas en el Ciclo del Nitrógeno en suelos impactados con petróleo ubicados en Yaracal - Estado Falcón. Universidad de Carabobo, Facultad experimental de ciencias y tecnología, Facultad de Química. Trabajo de grado. Pp. 11-26.

SUNDSTROM, Donald W. and KLEI, Herbert E. Wastewater treatment. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1979. p. 387.

SWIFT, M.J. Y WOOMER, P. (1993). Organic matter and the sustainability of agricultural systems: definition and measurement. En: Mulongoy, K. y Merckx, R. (Eds.). Soil Organic Matter and Sustainability of Tropical Agriculture. Wiley-Sayce Publishing Company, New York and Chichester, pp 3-18.

SZABOLCS, I. (1989). Ecological Impact of Acidification. En: Szabolcs, I. (Ed.). Proceedings of the Joint Symposium Environmental Threats to Forest and Other Natural Ecosystems. University of Oulu, Finland, 1-4 November 1988 Budapest.

TABATABAI, M. A. (1994). Soil Enzymes. En: Weaver, R.W., Angle, J.S. y Bottomley, P.S. (Eds.). Methods of Soil Analysis, Parte 2, Microbiological and Biochemical Properties. ASA-SSSA. Madison, pp 775-833.

TRASAR-CEPEDA, C., LEIRÓS, M.C. Y GIL-SOTRES, F. (2000). Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic Oakwood) in an area of the European temperate humid zone (Galicia, N.W. Spain): specific parameters. Soil Biology and Biochemistry 32:747-755.

TURNER, B., HOPKINS, D., HAYGARTH, P. and N. OESTLE. (2002). B-Glucosidase activity in pasture soils. Applied Soil Ecology, 20: 157-162.

TATE, R.L. (2000). Soil Microbiology. John Wiley and sons, New York. 508 pp.

TAYLOR, J.P., WILSON, M., MILLS, S. Y BURNS, R.G. (2002). Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. Soil Biology and Biochemistry 34:387-401.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS (UACH). (2009). Catalasa. Practica No.1. Laboratorio de Bioquímica. Facultad de Ciencias Químicas. Tapachula, Chiapas, México. [http:// www.scribd.com/doc/20709625/practica-CATALASA](http://www.scribd.com/doc/20709625/practica-CATALASA). Consultado en octubre de 2010.

VELÁSQUEZ, Juan Esteban y POSADA, Juan Camilo. (2003). Factibilidad de disposición de biosólidos de la planta de tratamiento de aguas residuales “San Fernando” –PTAR– en suelos recuperables de diferente textura. Envigado. Trabajo de Grado (Ingenieros Ambientales). Escuela de Ingeniería de Antioquia. Ingeniería Ambiental.

WANG, M. C.; HULL, J. Q.; JAO, M.; DEMPSEY, B.A.; CORNWELL, D. A. Engineering behavior of water treatment sludge. En: Journal of Environmental Engineering. Vol. 118, No. 6 (nov.-dic. 1992); p. 849.

WATANABE, K. Y HAYANO, K. (1995). Seasonal variation of soil protease activities and their relation to proteolytic bacteria and bacillus spp in paddy field soil. Soil Biology and Biochemistry 27:197-203.

WICK, B., KÜHNE, R.F., VIELHAUER, K. Y VLEK, P.L.G. (2001). Temporal variability of detected soil microbiological and biochemical indicators under different soil quality conditions in south-western Nigeria. Biology and Fertility of Soils 35:155-167.

WOOD T.M Y BATH K.T. (1988). Methods for measuring cellulase activities. In “Methods in Enzymology” (W. Wood y S.T. Kellog)

YAKOVCHENKO, V.I., SIKORA, L.J. Y RAUFFMAN, D.D. (1996). A biologically based indicator of soil quality. Biology and Fertility of Soils 21:245-251.

ZELLER, V., BARDGETT, R.D. Y TAPPEINER, U. (2001). Site and management effects on soil microbial properties of subalpine meadows: a study of land Bandon metaling a northsouth gradient in the European Alps. Soil Biology and Biochemistry 33:639-649.

APENDICE

A. CURVAS DE CALIBRACIÓN.

A.1. DETERMINACION DE AMONIO

Tabla A.1. Concentración de Amonio y absorbancia correspondiente a cada patrón

ppm amonio	Abs (690nm)
0,287424	0,188
0,574848	0,376
1,149696	0,6
2,299392	0,8
3,449088	1,204

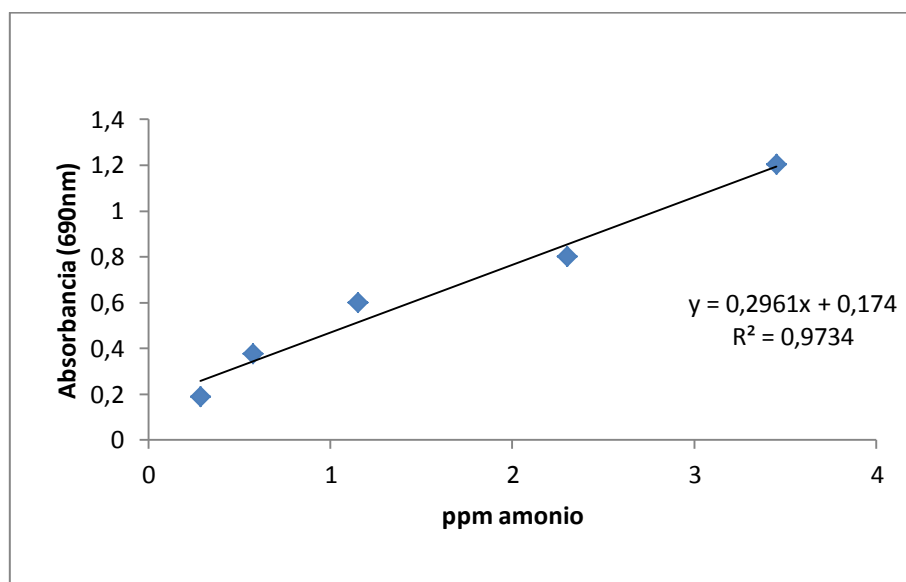


Figura A.1. Curva de calibración para la determinación de amonio

A.2. DETERMINACION DE NITRATO

Tabla A.2. Concentración de Nitrato y absorbancia correspondiente a cada patrón

ppm Nitrato	Abs (410nm)
0,00	0,053
2,01	0,15
4,02	0,187
6,02	0,213
8,03	0,275
10,04	0,33

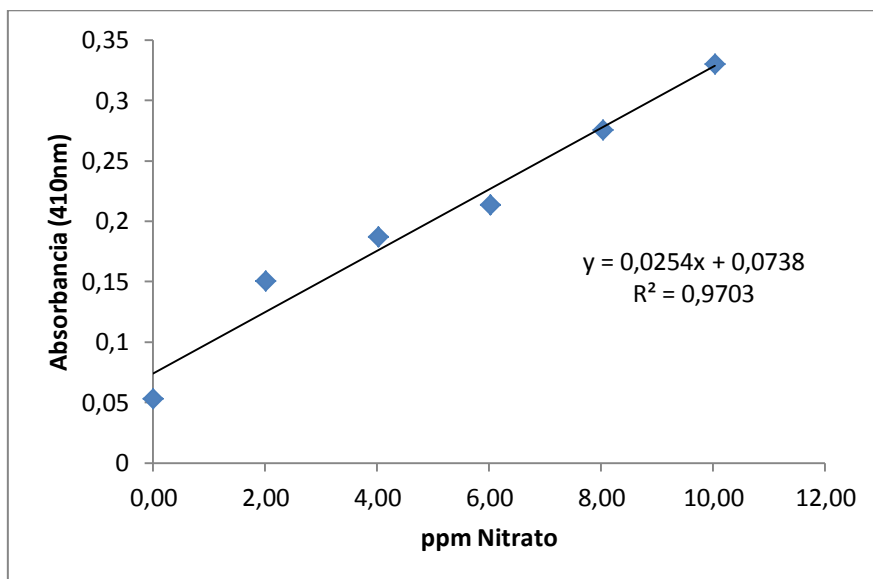


Figura A.2. Curva de calibración para la determinación de Nitrato

A.3. DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD CELULASA

Tabla A.3. Concentración de glucosa y absorbancia correspondiente a cada patrón

ppm glucosa	Abs (540nm)
0,0	0,0194
31,7	0,245
63,4	0,387
126,7	0,773
190,1	1,094
253,4	1,433

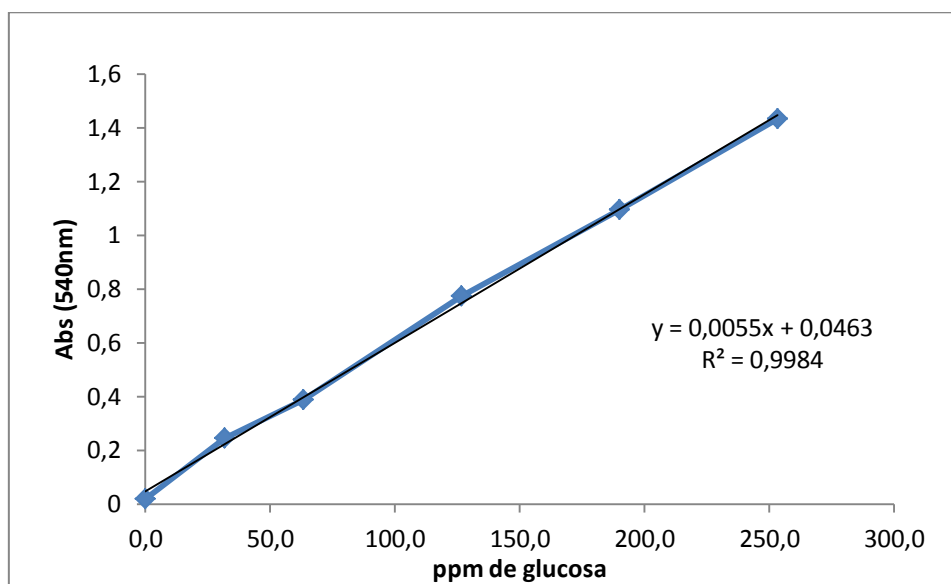


Figura A.3. Curva de calibración para la determinación de glucosa.

A.4. DETERMINACION DE ACTIVIDAD UREASA

Tabla A.4. Concentración de amonio y absorbancia correspondiente a cada patrón

ppm amonio	Abs (690nm)
0,00	0
0,59	0,234
1,17	0,5
1,76	0,665
2,35	0,823
3,52	1,125

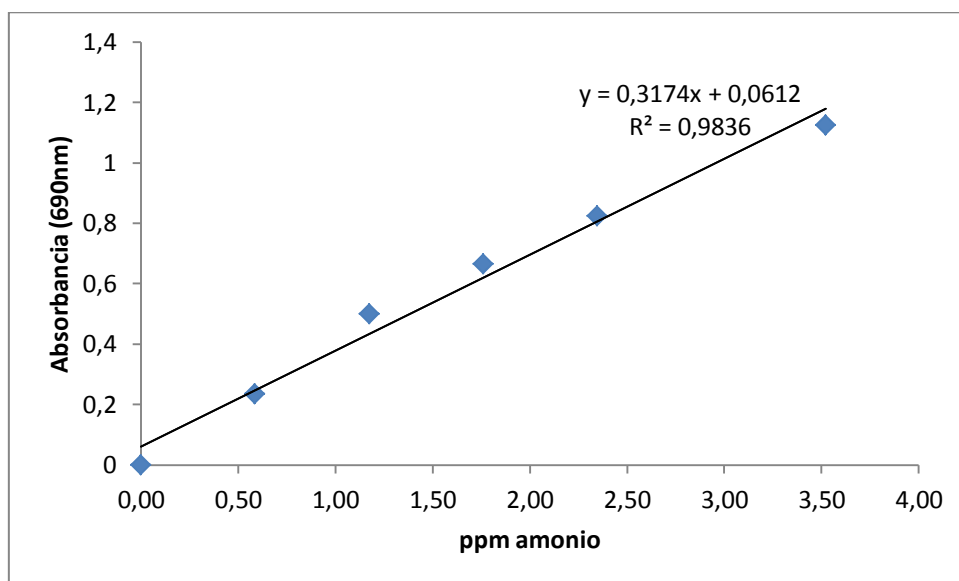


Figura A.4. Curva de calibración para la determinación de amonio

A.5. DETERMINACION DE ACTIVIDAD PROTEASA

Tabla A.5. Concentración de y absorbancia correspondiente a cada patrón

Ug de Tirosina	Abs (578nm)
0,00	0
104,94	0,132
209,88	0,329
419,76	0,484
629,64	0,672
839,52	0,85

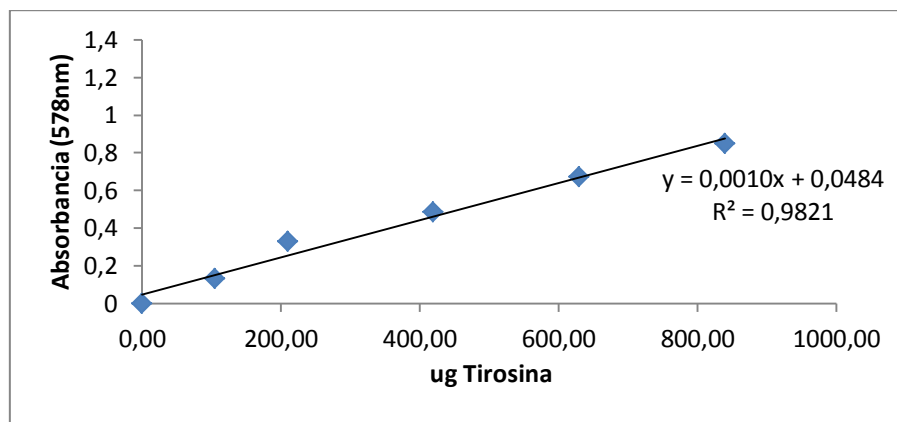


Figura A.5. Curva de calibración para la determinación de Actividad proteasa

B. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

B.1. PARAMETROS FISICOQUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DE SISTEMA SUELO-LP

B.1.1. PH O REACCIÓN DEL SUELO

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,71268	8	0,214085	20,70	0,0001
Intra grupos	0,0931	9	0,0103444		
Total (Corr.)	1,80578	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D20LP0	2	6,55	x
D10LP0	2	6,55	x
D30LP0	2	6,67	x
D10LP30	2	7,085	x
D20LP10	2	7,19	xx
D10LP10	2	7,2	xx
D30LP10	2	7,23	xx
D20LP30	2	7,235	xx
D30LP30	2	7,39	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10LP0 - D10LP10	*	-0,65	0,230079
D10LP0 - D10LP30	*	-0,535	0,230079
D10LP0 - D20LP0		0	0,230079
D10LP0 - D20LP10	*	-0,64	0,230079
D10LP0 - D20LP30	*	-0,685	0,230079
D10LP0 - D30LP0		-0,12	0,230079
D10LP0 - D30LP10	*	-0,68	0,230079
D10LP0 - D30LP30	*	-0,84	0,230079
D10LP10 - D10LP30		0,115	0,230079
D10LP10 - D20LP0	*	0,65	0,230079
D10LP10 - D20LP10		0,01	0,230079
D10LP10 - D20LP30		-0,035	0,230079
D10LP10 - D30LP0	*	0,53	0,230079
D10LP10 - D30LP10		-0,03	0,230079
D10LP10 - D30LP30		-0,19	0,230079
D10LP30 - D20LP0	*	0,535	0,230079
D10LP30 - D20LP10		-0,105	0,230079
D10LP30 - D20LP30		-0,15	0,230079
D10LP30 - D30LP0	*	0,415	0,230079
D10LP30 - D30LP10		-0,145	0,230079
D10LP30 - D30LP30	*	-0,305	0,230079
D20LP0 - D20LP10	*	-0,64	0,230079
D20LP0 - D20LP30	*	-0,685	0,230079
D20LP0 - D30LP0		-0,12	0,230079

D20LP0 - D30LP10	*	-0,68	0,230079
D20LP0 - D30LP30	*	-0,84	0,230079
D20LP10 - D20LP30		-0,045	0,230079
D20LP10 - D30LP0	*	0,52	0,230079
D20LP10 - D30LP10		-0,04	0,230079
D20LP10 - D30LP30		-0,2	0,230079
D20LP30 - D30LP0	*	0,565	0,230079
D20LP30 - D30LP10		0,005	0,230079
D20LP30 - D30LP30		-0,155	0,230079
D30LP0 - D30LP10	*	-0,56	0,230079
D30LP0 - D30LP30	*	-0,72	0,230079
D30LP10 - D30LP30		-0,16	0,230079

* indica una diferencia significativa.

B.1.2. CONDUCTIVIDAD ELECTRICA

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	279435,	8	34929,4	45,72	0,0000
Intra grupos	6876,5	9	764,056		
Total (Corr.)	286312,	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D30LP30	2	370,0	x
D20LP30	2	395,5	xx
D10LP30	2	404,5	xx
D30LP10	2	444,0	x
D20LP10	2	553,0	x
D30LP0	2	581,5	x
D20LP0	2	660,5	x
D10LP0	2	668,0	x
D10LP10	2	713,5	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10LP0 - D10LP10		-45,5	62,5297
D10LP0 - D10LP30	*	263,5	62,5297
D10LP0 - D20LP0		7,5	62,5297
D10LP0 - D20LP10	*	115,0	62,5297
D10LP0 - D20LP30	*	272,5	62,5297
D10LP0 - D30LP0	*	86,5	62,5297
D10LP0 - D30LP10	*	224,0	62,5297
D10LP0 - D30LP30	*	298,0	62,5297
D10LP10 - D10LP30	*	309,0	62,5297
D10LP10 - D20LP0		53,0	62,5297
D10LP10 - D20LP10	*	160,5	62,5297
D10LP10 - D20LP30	*	318,0	62,5297
D10LP10 - D30LP0	*	132,0	62,5297
D10LP10 - D30LP10	*	269,5	62,5297
D10LP10 - D30LP30	*	343,5	62,5297
D10LP30 - D20LP0	*	-256,0	62,5297

D10LP30 - D20LP10	*	-148,5	62,5297
D10LP30 - D20LP30		9,0	62,5297
D10LP30 - D30LP0	*	-177,0	62,5297
D10LP30 - D30LP10		-39,5	62,5297
D10LP30 - D30LP30		34,5	62,5297
D20LP0 - D20LP10	*	107,5	62,5297
D20LP0 - D20LP30	*	265,0	62,5297
D20LP0 - D30LP0	*	79,0	62,5297
D20LP0 - D30LP10	*	216,5	62,5297
D20LP0 - D30LP30	*	290,5	62,5297
D20LP10 - D20LP30	*	157,5	62,5297
D20LP10 - D30LP0		-28,5	62,5297
D20LP10 - D30LP10	*	109,0	62,5297
D20LP10 - D30LP30	*	183,0	62,5297
D20LP30 - D30LP0	*	-186,0	62,5297
D20LP30 - D30LP10		-48,5	62,5297
D20LP30 - D30LP30		25,5	62,5297
D30LP0 - D30LP10	*	137,5	62,5297
D30LP0 - D30LP30	*	211,5	62,5297
D30LP10 - D30LP30	*	74,0	62,5297

* indica una diferencia significativa.

B.1.3. AMONIO

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7,38128	8	0,92266	675,12	0,0000
Intra grupos	0,0123	9	0,00136667		
Total (Corr.)	7,39358	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D10LP0	2	2,24	x
D20LP0	2	2,32	xx
D30LP0	2	2,345	x
D30LP30	2	3,12	x
D20LP10	2	3,19	x
D30LP10	2	3,28	x
D20LP30	2	3,34	x
D10LP10	2	3,74	x
D10LP30	2	4,225	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10LP0 - D10LP10	*	-1,5	0,0836287
D10LP0 - D10LP30	*	-1,985	0,0836287
D10LP0 - D20LP0		-0,08	0,0836287
D10LP0 - D20LP10	*	-0,95	0,0836287
D10LP0 - D20LP30	*	-1,1	0,0836287
D10LP0 - D30LP0	*	-0,105	0,0836287
D10LP0 - D30LP10	*	-1,04	0,0836287
D10LP0 - D30LP30	*	-0,88	0,0836287

D10LP10 - D10LP30	*	-0,485	0,0836287
D10LP10 - D20LP0	*	1,42	0,0836287
D10LP10 - D20LP10	*	0,55	0,0836287
D10LP10 - D20LP30	*	0,4	0,0836287
D10LP10 - D30LP0	*	1,395	0,0836287
D10LP10 - D30LP10	*	0,46	0,0836287
D10LP10 - D30LP30	*	0,62	0,0836287
D10LP30 - D20LP0	*	1,905	0,0836287
D10LP30 - D20LP10	*	1,035	0,0836287
D10LP30 - D20LP30	*	0,885	0,0836287
D10LP30 - D30LP0	*	1,88	0,0836287
D10LP30 - D30LP10	*	0,945	0,0836287
D10LP30 - D30LP30	*	1,105	0,0836287
D20LP0 - D20LP10	*	-0,87	0,0836287
D20LP0 - D20LP30	*	-1,02	0,0836287
D20LP0 - D30LP0		-0,025	0,0836287
D20LP0 - D30LP10	*	-0,96	0,0836287
D20LP0 - D30LP30	*	-0,8	0,0836287
D20LP10 - D20LP30	*	-0,15	0,0836287
D20LP10 - D30LP0	*	0,845	0,0836287
D20LP10 - D30LP10	*	-0,09	0,0836287
D20LP10 - D30LP30		0,07	0,0836287
D20LP30 - D30LP0	*	0,995	0,0836287
D20LP30 - D30LP10		0,06	0,0836287
D20LP30 - D30LP30	*	0,22	0,0836287
D30LP0 - D30LP10	*	-0,935	0,0836287
D30LP0 - D30LP30	*	-0,775	0,0836287
D30LP10 - D30LP30	*	0,16	0,0836287

* indica una diferencia significativa.

B.1.4. NITRATO

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	13703,3	8	1712,91	97,35	0,0000
Intra grupos	158,36	9	17,5956		
Total (Corr.)	13861,7	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D10LP0	2	16,42	X
D20LP0	2	16,73	X
D30LP0	2	18,94	X
D30LP30	2	43,09	X
D20LP30	2	53,865	X
D10LP10	2	58,425	XX
D20LP10	2	66,43	XX
D30LP10	2	72,595	X
D10LP30	2	102,33	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
-----------	------	------------	-------------

D10LP0 - D10LP10	*	-42,005	9,48911
D10LP0 - D10LP30	*	-85,91	9,48911
D10LP0 - D20LP0		-0,31	9,48911
D10LP0 - D20LP10	*	-50,01	9,48911
D10LP0 - D20LP30	*	-37,445	9,48911
D10LP0 - D30LP0		-2,52	9,48911
D10LP0 - D30LP10	*	-56,175	9,48911
D10LP0 - D30LP30	*	-26,67	9,48911
D10LP10 - D10LP30	*	-43,905	9,48911
D10LP10 - D20LP0	*	41,695	9,48911
D10LP10 - D20LP10		-8,005	9,48911
D10LP10 - D20LP30		4,56	9,48911
D10LP10 - D30LP0	*	39,485	9,48911
D10LP10 - D30LP10	*	-14,17	9,48911
D10LP10 - D30LP30	*	15,335	9,48911
D10LP30 - D20LP0	*	85,6	9,48911
D10LP30 - D20LP10	*	35,9	9,48911
D10LP30 - D20LP30	*	48,465	9,48911
D10LP30 - D30LP0	*	83,39	9,48911
D10LP30 - D30LP10	*	29,735	9,48911
D10LP30 - D30LP30	*	59,24	9,48911
D20LP0 - D20LP10	*	-49,7	9,48911
D20LP0 - D20LP30	*	-37,135	9,48911
D20LP0 - D30LP0		-2,21	9,48911
D20LP0 - D30LP10	*	-55,865	9,48911
D20LP0 - D30LP30	*	-26,36	9,48911
D20LP10 - D20LP30	*	12,565	9,48911
D20LP10 - D30LP0	*	47,49	9,48911
D20LP10 - D30LP10		-6,165	9,48911
D20LP10 - D30LP30	*	23,34	9,48911
D20LP30 - D30LP0	*	34,925	9,48911
D20LP30 - D30LP10	*	-18,73	9,48911
D20LP30 - D30LP30	*	10,775	9,48911
D30LP0 - D30LP10	*	-53,655	9,48911
D30LP0 - D30LP30	*	-24,15	9,48911
D30LP10 - D30LP30	*	29,505	9,48911

* indica una diferencia significativa.

B.1.5.HUMEDAD

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4658,3	8	582,288	316,41	0,0000
Intra grupos	16,5627	9	1,8403		
Total (Corr.)	4674,86	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D10LP0	2	1,64	x
D10LP10	2	5,825	x
D20LP0	2	7,59	x

D30LP0	2	16,695	X
D20LP10	2	18,72	X
D10LP30	2	19,71	X
D30LP10	2	26,19	X
D20LP30	2	42,43	X
D30LP30	2	53,15	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
D10LP0 - D10LP10	*	-4,185	3,0688
D10LP0 - D10LP30	*	-18,07	3,0688
D10LP0 - D20LP0	*	-5,95	3,0688
D10LP0 - D20LP10	*	-17,08	3,0688
D10LP0 - D20LP30	*	-40,79	3,0688
D10LP0 - D30LP0	*	-15,055	3,0688
D10LP0 - D30LP10	*	-24,55	3,0688
D10LP0 - D30LP30	*	-51,51	3,0688
D10LP10 - D10LP30	*	-13,885	3,0688
D10LP10 - D20LP0		-1,765	3,0688
D10LP10 - D20LP10	*	-12,895	3,0688
D10LP10 - D20LP30	*	-36,605	3,0688
D10LP10 - D30LP0	*	-10,87	3,0688
D10LP10 - D30LP10	*	-20,365	3,0688
D10LP10 - D30LP30	*	-47,325	3,0688
D10LP30 - D20LP0	*	12,12	3,0688
D10LP30 - D20LP10		0,99	3,0688
D10LP30 - D20LP30	*	-22,72	3,0688
D10LP30 - D30LP0		3,015	3,0688
D10LP30 - D30LP10	*	-6,48	3,0688
D10LP30 - D30LP30	*	-33,44	3,0688
D20LP0 - D20LP10	*	-11,13	3,0688
D20LP0 - D20LP30	*	-34,84	3,0688
D20LP0 - D30LP0	*	-9,105	3,0688
D20LP0 - D30LP10	*	-18,6	3,0688
D20LP0 - D30LP30	*	-45,56	3,0688
D20LP10 - D20LP30	*	-23,71	3,0688
D20LP10 - D30LP0		2,025	3,0688
D20LP10 - D30LP10	*	-7,47	3,0688
D20LP10 - D30LP30	*	-34,43	3,0688
D20LP30 - D30LP0	*	25,735	3,0688
D20LP30 - D30LP10	*	16,24	3,0688
D20LP30 - D30LP30	*	-10,72	3,0688
D30LP0 - D30LP10	*	-9,495	3,0688
D30LP0 - D30LP30	*	-36,455	3,0688
D30LP10 - D30LP30	*	-26,96	3,0688

* indica una diferencia significativa.

B.1.6. MATERIA ORGÁNICA

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	41,5472	8	5,19341	39,18	0,0000
Intra grupos	1,193	9	0,132556		

Total (Corr.)	42,7402	17			
---------------	---------	----	--	--	--

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D30LP10	2	1,74	X
D30LP0	2	1,99	X
D20LP0	2	2,025	X
D10LP0	2	2,04	X
D20LP10	2	3,02	X
D10LP10	2	4,045	X
D30LP30	2	4,865	XX
D20LP30	2	4,915	X
D10LP30	2	6,1	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10LP0 - D10LP10	*	-2,005	0,823612
D10LP0 - D10LP30	*	-4,06	0,823612
D10LP0 - D20LP0		0,015	0,823612
D10LP0 - D20LP10	*	-0,98	0,823612
D10LP0 - D20LP30	*	-2,875	0,823612
D10LP0 - D30LP0		0,05	0,823612
D10LP0 - D30LP10		0,3	0,823612
D10LP0 - D30LP30	*	-2,825	0,823612
D10LP10 - D10LP30	*	-2,055	0,823612
D10LP10 - D20LP0	*	2,02	0,823612
D10LP10 - D20LP10	*	1,025	0,823612
D10LP10 - D20LP30	*	-0,87	0,823612
D10LP10 - D30LP0	*	2,055	0,823612
D10LP10 - D30LP10	*	2,305	0,823612
D10LP10 - D30LP30		-0,82	0,823612
D10LP30 - D20LP0	*	4,075	0,823612
D10LP30 - D20LP10	*	3,08	0,823612
D10LP30 - D20LP30	*	1,185	0,823612
D10LP30 - D30LP0	*	4,11	0,823612
D10LP30 - D30LP10	*	4,36	0,823612
D10LP30 - D30LP30	*	1,235	0,823612
D20LP0 - D20LP10	*	-0,995	0,823612
D20LP0 - D20LP30	*	-2,89	0,823612
D20LP0 - D30LP0		0,035	0,823612
D20LP0 - D30LP10		0,285	0,823612
D20LP0 - D30LP30	*	-2,84	0,823612
D20LP10 - D20LP30	*	-1,895	0,823612
D20LP10 - D30LP0	*	1,03	0,823612
D20LP10 - D30LP10	*	1,28	0,823612
D20LP10 - D30LP30	*	-1,845	0,823612
D20LP30 - D30LP0	*	2,925	0,823612
D20LP30 - D30LP10	*	3,175	0,823612
D20LP30 - D30LP30		0,05	0,823612
D30LP0 - D30LP10		0,25	0,823612
D30LP0 - D30LP30	*	-2,875	0,823612
D30LP10 - D30LP30	*	-3,125	0,823612

* indica una diferencia significativa.

B.1.7. RETENCION DE HUMEDAD

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2247,94	8	280,993	9702,42	0,0000
Intra grupos	0,26065	9	0,0289611		
Total (Corr.)	2248,2	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
D30LP30	2	15,62	X
D30LP10	2	20,79	X
D20LP30	2	31,75	X
D30LP0	2	39,22	X
D10LP0	2	41,1	X
D10LP10	2	43,05	X
D20LP0	2	43,795	X
D20LP10	2	47,19	X
D10LP30	2	49,97	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
D10LP0 - D10LP10	*	-1,95	0,384974
D10LP0 - D10LP30	*	-8,87	0,384974
D10LP0 - D20LP0	*	-2,695	0,384974
D10LP0 - D20LP10	*	-6,09	0,384974
D10LP0 - D20LP30	*	9,35	0,384974
D10LP0 - D30LP0	*	1,88	0,384974
D10LP0 - D30LP10	*	20,31	0,384974
D10LP0 - D30LP30	*	25,48	0,384974
D10LP10 - D10LP30	*	-6,92	0,384974
D10LP10 - D20LP0	*	-0,745	0,384974
D10LP10 - D20LP10	*	-4,14	0,384974
D10LP10 - D20LP30	*	11,3	0,384974
D10LP10 - D30LP0	*	3,83	0,384974
D10LP10 - D30LP10	*	22,26	0,384974
D10LP10 - D30LP30	*	27,43	0,384974
D10LP30 - D20LP0	*	6,175	0,384974
D10LP30 - D20LP10	*	2,78	0,384974
D10LP30 - D20LP30	*	18,22	0,384974
D10LP30 - D30LP0	*	10,75	0,384974
D10LP30 - D30LP10	*	29,18	0,384974
D10LP30 - D30LP30	*	34,35	0,384974
D20LP0 - D20LP10	*	-3,395	0,384974
D20LP0 - D20LP30	*	12,045	0,384974
D20LP0 - D30LP0	*	4,575	0,384974
D20LP0 - D30LP10	*	23,005	0,384974
D20LP0 - D30LP30	*	28,175	0,384974
D20LP10 - D20LP30	*	15,44	0,384974
D20LP10 - D30LP0	*	7,97	0,384974
D20LP10 - D30LP10	*	26,4	0,384974
D20LP10 - D30LP30	*	31,57	0,384974
D20LP30 - D30LP0	*	-7,47	0,384974

D20LP30 - D30LP10	*	10,96	0,384974
D20LP30 - D30LP30	*	16,13	0,384974
D30LP0 - D30LP10	*	18,43	0,384974
D30LP0 - D30LP30	*	23,6	0,384974
D30LP10 - D30LP30	*	5,17	0,384974

* indica una diferencia significativa.

B.2. PARAMETROS FISICOQUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DE SISTEMA SUELO-ACU

B.2.1. PH O REACCIÓN DEL SUELO

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5,0044	8	0,62555	63,36	0,0000
Intra grupos	0,08885	9	0,00987222		
Total (Corr.)	5,09325	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D90ACU10	2	5,235	X
D10ACU10	2	5,35	XX
D30ACU10	2	5,48	X
D90ACU5	2	6,125	X
D30ACU0	2	6,13	X
D30ACU5	2	6,365	X
D90ACU0	2	6,415	X
D10ACU0	2	6,49	X
D10ACU5	2	6,815	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10ACU0 - D10ACU5	*	-0,325	0,224766
D10ACU0 - D10ACU10	*	1,14	0,224766
D10ACU0 - D30ACU0	*	0,36	0,224766
D10ACU0 - D30ACU5		0,125	0,224766
D10ACU0 - D30ACU10	*	1,01	0,224766
D10ACU0 - D90ACU0		0,075	0,224766
D10ACU0 - D90ACU5	*	0,365	0,224766
D10ACU0 - D90ACU10	*	1,255	0,224766
D10ACU5 - D10ACU10	*	1,465	0,224766
D10ACU5 - D30ACU0	*	0,685	0,224766
D10ACU5 - D30ACU5	*	0,45	0,224766
D10ACU5 - D30ACU10	*	1,335	0,224766
D10ACU5 - D90ACU0	*	0,4	0,224766
D10ACU5 - D90ACU5	*	0,69	0,224766
D10ACU5 - D90ACU10	*	1,58	0,224766
D10ACU10 - D30ACU0	*	-0,78	0,224766
D10ACU10 - D30ACU5	*	-1,015	0,224766
D10ACU10 - D30ACU10		-0,13	0,224766
D10ACU10 - D90ACU0	*	-1,065	0,224766
D10ACU10 - D90ACU5	*	-0,775	0,224766
D10ACU10 - D90ACU10		0,115	0,224766

D30ACU0 - D30ACU5	*	-0,235	0,224766
D30ACU0 - D30ACU10	*	0,65	0,224766
D30ACU0 - D90ACU0	*	-0,285	0,224766
D30ACU0 - D90ACU5		0,005	0,224766
D30ACU0 - D90ACU10	*	0,895	0,224766
D30ACU5 - D30ACU10	*	0,885	0,224766
D30ACU5 - D90ACU0		-0,05	0,224766
D30ACU5 - D90ACU5	*	0,24	0,224766
D30ACU5 - D90ACU10	*	1,13	0,224766
D30ACU10 - D90ACU0	*	-0,935	0,224766
D30ACU10 - D90ACU5	*	-0,645	0,224766
D30ACU10 - D90ACU10	*-	0,245	0,224766
D90ACU0 - D90ACU5	*	0,29	0,224766
D90ACU0 - D90ACU10	*	1,18	0,224766
D90ACU5 - D90ACU10	*	0,89	0,224766

* indica una diferencia significativa.

B.2.2. CONDUCTIVIDAD

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4,13436E6	8	516795,	1202,72	0,0000
Intra grupos	3867,19	9	429,687		
Total (Corr.)	4,13822E6	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D90ACU5	2	504,05	X
D90ACU0	2	596,0	X
D30ACU0	2	601,0	X
D30ACU5	2	627,0	X
D10ACU0	2	759,0	X
D10ACU5	2	813,5	X
D30ACU10	2	1483,5	X
D10ACU10	2	1495,0	X
D90ACU10	2	1891,0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10ACU0 - D10ACU5	*	-54,5	46,8921
D10ACU0 - D10ACU10	*	-736,0	46,8921
D10ACU0 - D30ACU0	*	158,0	46,8921
D10ACU0 - D30ACU5	*	132,0	46,8921
D10ACU0 - D30ACU10	*	-724,5	46,8921
D10ACU0 - D90ACU0	*	163,0	46,8921
D10ACU0 - D90ACU5	*	254,95	46,8921
D10ACU0 - D90ACU10	*	-1132,0	46,8921
D10ACU5 - D10ACU10	*	-681,5	46,8921
D10ACU5 - D30ACU0	*	212,5	46,8921
D10ACU5 - D30ACU5	*	186,5	46,8921
D10ACU5 - D30ACU10	*	-670,0	46,8921
D10ACU5 - D90ACU0	*	217,5	46,8921

D10ACU5 - D90ACU5	*	309,45	46,8921
D10ACU5 - D90ACU10	*	-1077,5	46,8921
D10ACU10 - D30ACU0	*	894,0	46,8921
D10ACU10 - D30ACU5	*	868,0	46,8921
D10ACU10 - D30ACU10		11,5	46,8921
D10ACU10 - D90ACU0	*	899,0	46,8921
D10ACU10 - D90ACU5	*	990,95	46,8921
D10ACU10 - D90ACU10	*	-396,0	46,8921
D30ACU0 - D30ACU5		-26,0	46,8921
D30ACU0 - D30ACU10	*	-882,5	46,8921
D30ACU0 - D90ACU0		5,0	46,8921
D30ACU0 - D90ACU5	*	96,95	46,8921
D30ACU0 - D90ACU10	*	-1290,0	46,8921
D30ACU5 - D30ACU10	*	-856,5	46,8921
D30ACU5 - D90ACU0		31,0	46,8921
D30ACU5 - D90ACU5	*	122,95	46,8921
D30ACU5 - D90ACU10	*	-1264,0	46,8921
D30ACU10 - D90ACU0	*	887,5	46,8921
D30ACU10 - D90ACU5	*	979,45	46,8921
D30ACU10 - D90ACU10	*	-407,5	46,8921
D90ACU0 - D90ACU5	*	91,95	46,8921
D90ACU0 - D90ACU10	*	-1295,0	46,8921
D90ACU5 - D90ACU10	*	-1386,95	46,8921

* indica una diferencia significativa.

B.2.3. AMONIO

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	10,3887	8	1,29859	277,94	0,0000
Intra grupos	0,04205	9	0,00467222		
Total (Corr.)	10,4308	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D10ACU5	2	1,045	x
D90ACU10	2	1,235	x
D10ACU10	2	1,34	x
D30ACU10	2	1,655	x
D90ACU5	2	1,86	x
D10ACU0	2	2,315	x
D90ACU0	2	2,35	x
D30ACU0	2	2,385	x
D30ACU5	2	3,66	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10ACU0 - D10ACU5	*	1,27	0,154627
D10ACU0 - D10ACU10	*	0,975	0,154627
D10ACU0 - D30ACU0		-0,07	0,154627
D10ACU0 - D30ACU5	*	-1,345	0,154627

D10ACU0 - D30ACU10	*	0,66	0,154627
D10ACU0 - D90ACU0		-0,035	0,154627
D10ACU0 - D90ACU5	*	0,455	0,154627
D10ACU0 - D90ACU10	*	1,08	0,154627
D10ACU5 - D10ACU10	*	-0,295	0,154627
D10ACU5 - D30ACU0	*	-1,34	0,154627
D10ACU5 - D30ACU5	*	-2,615	0,154627
D10ACU5 - D30ACU10	*	-0,61	0,154627
D10ACU5 - D90ACU0	*	-1,305	0,154627
D10ACU5 - D90ACU5	*	-0,815	0,154627
D10ACU5 - D90ACU10	*	-0,19	0,154627
D10ACU10 - D30ACU0	*	-1,045	0,154627
D10ACU10 - D30ACU5	*	-2,32	0,154627
D10ACU10 - D30ACU10	*	-0,315	0,154627
D10ACU10 - D90ACU0	*	-1,01	0,154627
D10ACU10 - D90ACU5	*	-0,52	0,154627
D10ACU10 - D90ACU10		0,105	0,154627
D30ACU0 - D30ACU5	*	-1,275	0,154627
D30ACU0 - D30ACU10	*	0,73	0,154627
D30ACU0 - D90ACU0		0,035	0,154627
D30ACU0 - D90ACU5	*	0,525	0,154627
D30ACU0 - D90ACU10	*	1,15	0,154627
D30ACU5 - D30ACU10	*	2,005	0,154627
D30ACU5 - D90ACU0	*	1,31	0,154627
D30ACU5 - D90ACU5	*	1,8	0,154627
D30ACU5 - D90ACU10	*	2,425	0,154627
D30ACU10 - D90ACU0	*	-0,695	0,154627
D30ACU10 - D90ACU5	*	-0,205	0,154627
D30ACU10 - D90ACU10	*	0,42	0,154627
D90ACU0 - D90ACU5	*	0,49	0,154627
D90ACU0 - D90ACU10	*	1,115	0,154627
D90ACU5 - D90ACU10	*	0,625	0,154627

* indica una diferencia significativa.

B.2.4. NITRATO

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	656,987	8	82,1233	87,17	0,0000
Intra grupos	8,479	9	0,942111		
Total (Corr.)	665,466	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D90ACU10	2	5,995	x
D10ACU10	2	6,91	xx
D90ACU5	2	8,505	xx
D30ACU10	2	9,93	xx
D30ACU5	2	11,6	x
D10ACU0	2	19,165	x
D90ACU0	2	19,17	x

D30ACU0	2	21,145	XX
D10ACU5	2	21,59	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
D10ACU0 - D10ACU5	*	-2,425	2,19571
D10ACU0 - D10ACU10	*	12,255	2,19571
D10ACU0 - D30ACU0		-1,98	2,19571
D10ACU0 - D30ACU5	*	7,565	2,19571
D10ACU0 - D30ACU10	*	9,235	2,19571
D10ACU0 - D90ACU0		-0,005	2,19571
D10ACU0 - D90ACU5	*	10,66	2,19571
D10ACU0 - D90ACU10	*	13,17	2,19571
D10ACU5 - D10ACU10	*	14,68	2,19571
D10ACU5 - D30ACU0		0,445	2,19571
D10ACU5 - D30ACU5	*	9,99	2,19571
D10ACU5 - D30ACU10	*	11,66	2,19571
D10ACU5 - D90ACU0	*	2,42	2,19571
D10ACU5 - D90ACU5	*	13,085	2,19571
D10ACU5 - D90ACU10	*	15,595	2,19571
D10ACU10 - D30ACU0	*	-14,235	2,19571
D10ACU10 - D30ACU5	*	-4,69	2,19571
D10ACU10 - D30ACU10	*	-3,02	2,19571
D10ACU10 - D90ACU0	*	-12,26	2,19571
D10ACU10 - D90ACU5	-	-1,595	2,19571
D10ACU10 - D90ACU10		0,915	2,19571
D30ACU0 - D30ACU5	*	9,545	2,19571
D30ACU0 - D30ACU10	*	11,215	2,19571
D30ACU0 - D90ACU0		1,975	2,19571
D30ACU0 - D90ACU5	*	12,64	2,19571
D30ACU0 - D90ACU10	*	15,15	2,19571
D30ACU5 - D30ACU10		1,67	2,19571
D30ACU5 - D90ACU0	*	-7,57	2,19571
D30ACU5 - D90ACU5	*_	3,095	2,19571
D30ACU5 - D90ACU10	*	5,605	2,19571
D30ACU10 - D90ACU0	*	-9,24	2,19571
D30ACU10 - D90ACU5		1,425	2,19571
D30ACU10 - D90ACU10	*	3,935	2,19571
D90ACU0 - D90ACU5	*	10,665	2,19571
D90ACU0 - D90ACU10	*	13,175	2,19571
D90ACU5 - D90ACU10	*	2,51	2,19571

* indica una diferencia significativa.

B.2.5. HUMEDAD

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1147,5	8	143,438	282,70	0,0000
Intra grupos	4,5665	9	0,507389		
Total (Corr.)	1152,07	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D10ACU0	2	1,255	X
D10ACU5	2	1,56	X
D10ACU10	2	2,47	X
D90ACU0	2	17,79	X
D90ACU5	2	18,425	XX
D30ACU10	2	18,46	XX
D30ACU5	2	18,52	XX
D90ACU10	2	18,86	XX
D30ACU0	2	19,86	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10ACU0 - D10ACU5		-0,305	1,61137
D10ACU0 - D10ACU10		-1,215	1,61137
D10ACU0 - D30ACU0	*	-18,605	1,61137
D10ACU0 - D30ACU5	*	-17,265	1,61137
D10ACU0 - D30ACU10	*	-17,205	1,61137
D10ACU0 - D90ACU0	*	-16,535	1,61137
D10ACU0 - D90ACU5	*	-17,17	1,61137
D10ACU0 - D90ACU10	*	-17,605	1,61137
D10ACU5 - D10ACU10		-0,91	1,61137
D10ACU5 - D30ACU0	*	-18,3	1,61137
D10ACU5 - D30ACU5	*	-16,96	1,61137
D10ACU5 - D30ACU10	*	-16,9	1,61137
D10ACU5 - D90ACU0	*	-16,23	1,61137
D10ACU5 - D90ACU5	*	-16,865	1,61137
D10ACU5 - D90ACU10	*	-17,3	1,61137
D10ACU10 - D30ACU0	*	-17,39	1,61137
D10ACU10 - D30ACU5	*	-16,05	1,61137
D10ACU10 - D30ACU10	*	-15,99	1,61137
D10ACU10 - D90ACU0	*	-15,32	1,61137
D10ACU10 - D90ACU5	*	-15,955	1,61137
D10ACU10 - D90ACU10	*	-16,39	1,61137
D30ACU0 - D30ACU5		1,34	1,61137
D30ACU0 - D30ACU10		1,4	1,61137
D30ACU0 - D90ACU0	*	2,07	1,61137
D30ACU0 - D90ACU5		1,435	1,61137
D30ACU0 - D90ACU10		1,0	1,61137
D30ACU5 - D30ACU10		0,06	1,61137
D30ACU5 - D90ACU0		0,73	1,61137
D30ACU5 - D90ACU5		0,095	1,61137
D30ACU5 - D90ACU10		-0,34	1,61137
D30ACU10 - D90ACU0		0,67	1,61137
D30ACU10 - D90ACU5		0,035	1,61137
D30ACU10 - D90ACU10		-0,4	1,61137
D90ACU0 - D90ACU5		-0,635	1,61137
D90ACU0 - D90ACU10		-1,07	1,61137
D90ACU5 - D90ACU10		-0,435	1,61137

* indica una diferencia significativa.

B.2.6. MATERIA ORGÁNICA

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	239,035	8	29,8794	172,01	0,0000
Intra grupos	1,5634	9	0,173711		
Total (Corr.)	240,599	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D30ACU0	2	1,435	x
D10ACU0	2	1,515	x
D90ACU0	2	1,6	x
D90ACU5	2	4,98	x
D10ACU5	2	5,93	x
D30ACU5	2	6,125	x
D90ACU10	2	10,015	x
D30ACU10	2	10,43	x
D10ACU10	2	10,75	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10ACU0 - D10ACU5	*	-4,415	0,942839
D10ACU0 - D10ACU10	*	-9,235	0,942839
D10ACU0 - D30ACU0		0,08	0,942839
D10ACU0 - D30ACU5	*	-4,61	0,942839
D10ACU0 - D30ACU10	*	-8,915	0,942839
D10ACU0 - D90ACU0		-0,085	0,942839
D10ACU0 - D90ACU5	*	-3,465	0,942839
D10ACU0 - D90ACU10	*	-8,5	0,942839
D10ACU5 - D10ACU10	*	-4,82	0,942839
D10ACU5 - D30ACU0	*	4,495	0,942839
D10ACU5 - D30ACU5		-0,195	0,942839
D10ACU5 - D30ACU10	*	-4,5	0,942839
D10ACU5 - D90ACU0	*	4,33	0,942839
D10ACU5 - D90ACU5	*	0,95	0,942839
D10ACU5 - D90ACU10	*	-4,085	0,942839
D10ACU10 - D30ACU0	*	9,315	0,942839
D10ACU10 - D30ACU5	*	4,625	0,942839
D10ACU10 - D30ACU10		0,32	0,942839
D10ACU10 - D90ACU0	*	9,15	0,942839
D10ACU10 - D90ACU5	*	5,77	0,942839
D10ACU10 - D90ACU10		0,735	0,942839
D30ACU0 - D30ACU5	*	-4,69	0,942839
D30ACU0 - D30ACU10	*	-8,995	0,942839
D30ACU0 - D90ACU0		-0,165	0,942839
D30ACU0 - D90ACU5	*	-3,545	0,942839
D30ACU0 - D90ACU10	*	-8,58	0,942839
D30ACU5 - D30ACU10	*	-4,305	0,942839
D30ACU5 - D90ACU0	*	4,525	0,942839
D30ACU5 - D90ACU5	*	1,145	0,942839

D30ACU5 - D90ACU10	*	-3,89	0,942839
D30ACU10 - D90ACU0	*	8,83	0,942839
D30ACU10 - D90ACU5	*	5,45	0,942839
D30ACU10 - D90ACU10		0,415	0,942839
D90ACU0 - D90ACU5	*	-3,38	0,942839
D90ACU0 - D90ACU10	*	-8,415	0,942839
D90ACU5 - D90ACU10	*	-5,035	0,942839

* indica una diferencia significativa.

B.2.7. RETENCION DE HUMEDAD

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	719,498	8	89,9372	1636,71	0,0000
Intra grupos	0,49455	9	0,05495		
Total (Corr.)	719,992	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

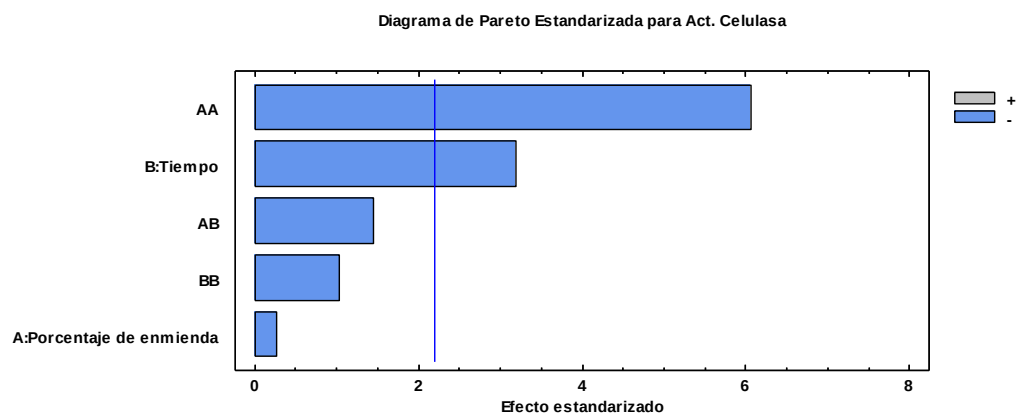
	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D10ACU10	2	19,28	X
D90ACU5	2	27,22	X
D30ACU10	2	29,355	X
D30ACU5	2	30,04	X
D90ACU10	2	34,635	X
D10ACU5	2	35,4	X
D30ACU0	2	38,24	X
D90ACU0	2	38,63	X
D10ACU0	2	40,095	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10ACU0 - D10ACU5	*	4,695	0,530283
D10ACU0 - D10ACU10	*	20,815	0,530283
D10ACU0 - D30ACU0	*	1,855	0,530283
D10ACU0 - D30ACU5	*	10,055	0,530283
D10ACU0 - D30ACU10	*	10,74	0,530283
D10ACU0 - D90ACU0	*	1,465	0,530283
D10ACU0 - D90ACU5	*	12,875	0,530283
D10ACU0 - D90ACU10	*	5,46	0,530283
D10ACU5 - D10ACU10	*	16,12	0,530283
D10ACU5 - D30ACU0	*	-2,84	0,530283
D10ACU5 - D30ACU5	*	5,36	0,530283
D10ACU5 - D30ACU10	*	6,045	0,530283
D10ACU5 - D90ACU0	*	-3,23	0,530283
D10ACU5 - D90ACU5	*	8,18	0,530283
D10ACU5 - D90ACU10	*	0,765	0,530283
D10ACU10 - D30ACU0	*	-18,96	0,530283
D10ACU10 - D30ACU5	*	-10,76	0,530283
D10ACU10 - D30ACU10	*	-10,075	0,530283
D10ACU10 - D90ACU0	*	-19,35	0,530283
D10ACU10 - D90ACU5	*	-7,94	0,530283
D10ACU10 - D90ACU10	*	-15,355	0,530283

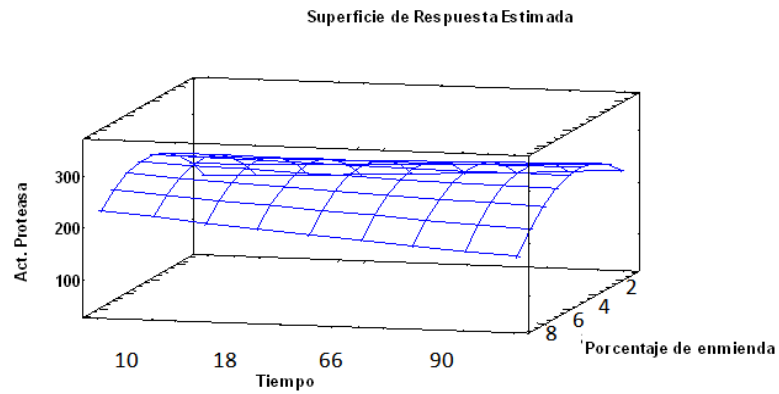
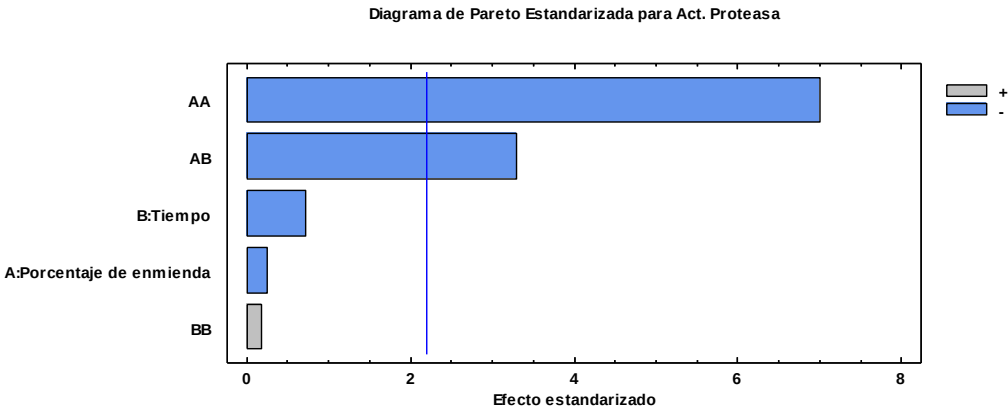
D30ACU0 - D30ACU5	*	8,2	0,530283
D30ACU0 - D30ACU10	*	8,885	0,530283
D30ACU0 - D90ACU0		-0,39	0,530283
D30ACU0 - D90ACU5	*	11,02	0,530283
D30ACU0 - D90ACU10	*	3,605	0,530283
D30ACU5 - D30ACU10	*	0,685	0,530283
D30ACU5 - D90ACU0	*	-8,59	0,530283
D30ACU5 - D90ACU5	*	2,82	0,530283
D30ACU5 - D90ACU10	*	-4,595	0,530283
D30ACU10 - D90ACU0	*	-9,275	0,530283
D30ACU10 - D90ACU5	*	2,135	0,530283
D30ACU10 - D90ACU10	*	-5,28	0,530283
D90ACU0 - D90ACU5	*	11,41	0,530283
D90ACU0 - D90ACU10	*	3,995	0,530283
D90ACU5 - D90ACU10	*	-7,415	0,530283

* indica una diferencia significativa.

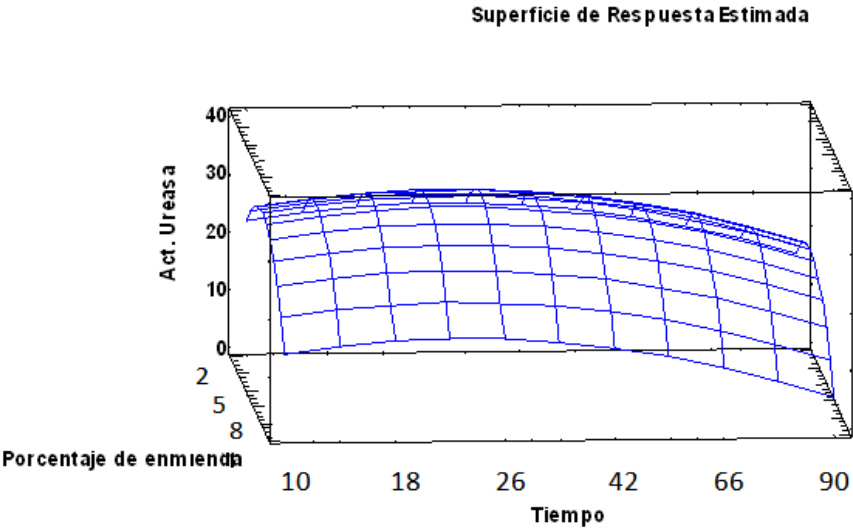
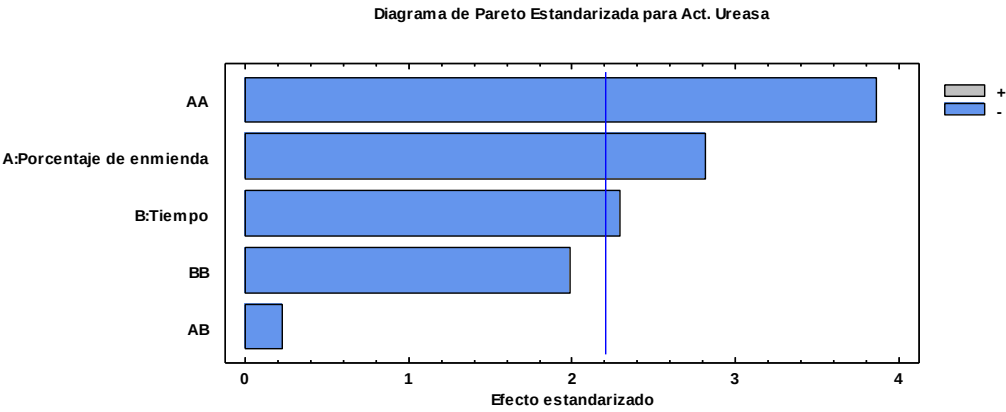
B.2.8. ACTIVIDAD CELULASA



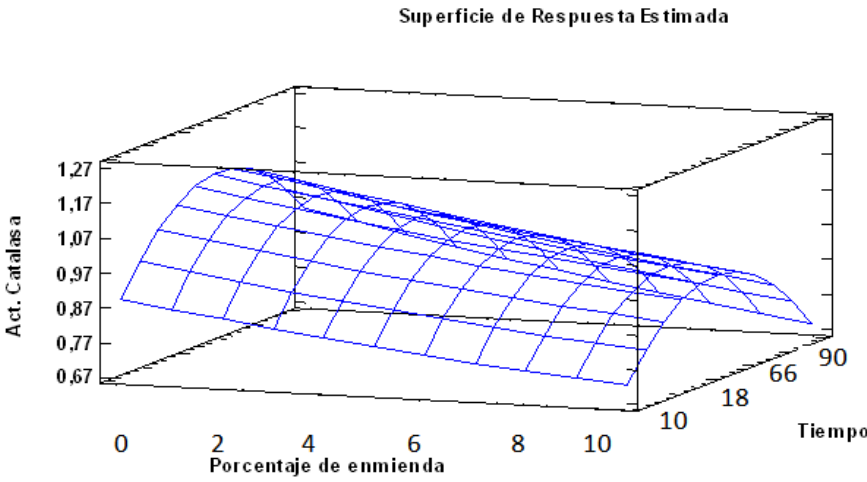
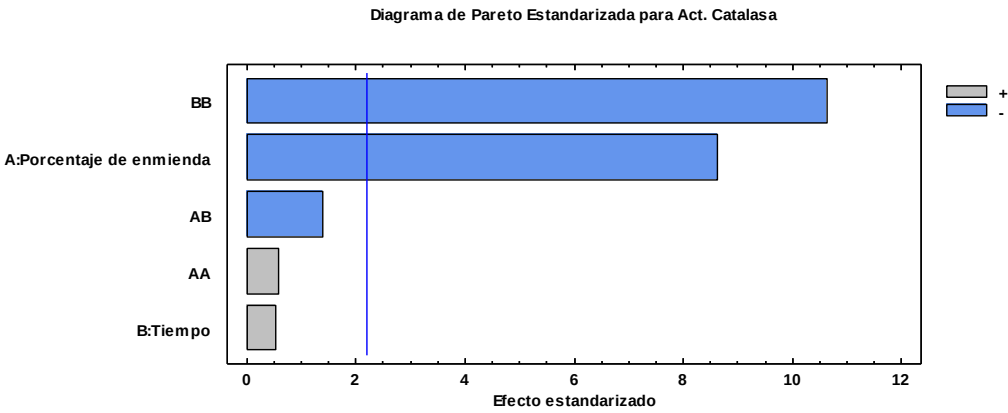
B.2.9. ACTIVIDAD PROTEASA



B.2.10. ACTIVIDAD UREASA



B.2.11. ACTIVIDAD CATALASA



B.3. PARAMETROS FISICOQUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DE SISTEMA SUELO- LIG

B.3.1. PH O REACCIÓN DEL SUELO

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,33004	8	0,166256	12,92	0,0004
Intra grupos	0,1158	9	0,0128667		
Total (Corr.)	1,44584	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D10LIG20	2	5,77	X
D20LIG20	2	6,015	X
D10LIG10	2	6,02	X
D60LIG20	2	6,345	X
D20LIG10	2	6,385	X
D60LIG10	2	6,5	X
D20LIG0	2	6,53	X
D60LIG0	2	6,545	X
D10LIG0	2	6,55	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10LIG0 - D10LIG10	*	0,53	0,2566
D10LIG0 - D10LIG20	*	0,78	0,2566
D10LIG0 - D20LIG0		0,02	0,2566
D10LIG0 - D20LIG10		0,165	0,2566
D10LIG0 - D20LIG20	*	0,535	0,2566
D10LIG0 - D60LIG0		0,005	0,2566
D10LIG0 - D60LIG10		0,05	0,2566
D10LIG0 - D60LIG20		0,205	0,2566
D10LIG10 - D10LIG20		0,25	0,2566
D10LIG10 - D20LIG0	*	-0,51	0,2566
D10LIG10 - D20LIG10	*	-0,365	0,2566
D10LIG10 - D20LIG20		0,005	0,2566
D10LIG10 - D60LIG0	*	-0,525	0,2566
D10LIG10 - D60LIG10	*	-0,48	0,2566
D10LIG10 - D60LIG20	*	-0,325	0,2566
D10LIG20 - D20LIG0	*	-0,76	0,2566
D10LIG20 - D20LIG10	*	-0,615	0,2566
D10LIG20 - D20LIG20		-0,245	0,2566
D10LIG20 - D60LIG0	*	-0,775	0,2566
D10LIG20 - D60LIG10	*	-0,73	0,2566
D10LIG20 - D60LIG20	*	-0,575	0,2566
D20LIG0 - D20LIG10		0,145	0,2566
D20LIG0 - D20LIG20	*	0,515	0,2566
D20LIG0 - D60LIG0		-0,015	0,2566
D20LIG0 - D60LIG10		0,03	0,2566
D20LIG0 - D60LIG20		0,185	0,2566
D20LIG10 - D20LIG20	*	0,37	0,2566
D20LIG10 - D60LIG0		-0,16	0,2566
D20LIG10 - D60LIG10		-0,115	0,2566

D20LIG10 - D60LIG20		0,04	0,2566
D20LIG20 - D60LIG0	*	-0,53	0,2566
D20LIG20 - D60LIG10	*	-0,485	0,2566
D20LIG20 - D60LIG20	*	-0,33	0,2566
D60LIG0 - D60LIG10		0,045	0,2566
D60LIG0 - D60LIG20		0,2	0,2566
D60LIG10 - D60LIG20		0,155	0,2566

* indica una diferencia significativa.

B.3.2.CONDUCTIVIDAD

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,03799E6	8	129748,	227,74	0,0000
Intra grupos	5127,5	9	569,722		
Total (Corr.)	1,04311E6	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D60LIG0	2	692,0	X
D20LIG0	2	721,0	X
D10LIG0	2	723,0	X
D20LIG10	2	933,0	X
D60LIG10	2	949,5	X
D10LIG10	2	975,5	X
D60LIG20	2	1179,0	X
D10LIG20	2	1338,5	X
D20LIG20	2	1343,0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10LIG0 - D10LIG10	*	-252,5	53,9952
D10LIG0 - D10LIG20	*	-615,5	53,9952
D10LIG0 - D20LIG0		2,0	53,9952
D10LIG0 - D20LIG10	*	-210,0	53,9952
D10LIG0 - D20LIG20	*	-620,0	53,9952
D10LIG0 - D60LIG0		31,0	53,9952
D10LIG0 - D60LIG10	*	-226,5	53,9952
D10LIG0 - D60LIG20	*	-456,0	53,9952
D10LIG10 - D10LIG20	*	-363,0	53,9952
D10LIG10 - D20LIG0	*	254,5	53,9952
D10LIG10 - D20LIG10		42,5	53,9952
D10LIG10 - D20LIG20	*	-367,5	53,9952
D10LIG10 - D60LIG0	*	283,5	53,9952
D10LIG10 - D60LIG10		26,0	53,9952
D10LIG10 - D60LIG20	*	-203,5	53,9952
D10LIG20 - D20LIG0	*	617,5	53,9952
D10LIG20 - D20LIG10	*	405,5	53,9952
D10LIG20 - D20LIG20		-4,5	53,9952
D10LIG20 - D60LIG0	*	646,5	53,9952

D10LIG20 - D60LIG10	*	389,0	53,9952
D10LIG20 - D60LIG20	*	159,5	53,9952
D20LIG0 - D20LIG10	*	-212,0	53,9952
D20LIG0 - D20LIG20	*	-622,0	53,9952
D20LIG0 - D60LIG0		29,0	53,9952
D20LIG0 - D60LIG10	*	-228,5	53,9952
D20LIG0 - D60LIG20	*	-458,0	53,9952
D20LIG10 - D20LIG20	*	-410,0	53,9952
D20LIG10 - D60LIG0	*	241,0	53,9952
D20LIG10 - D60LIG10		-16,5	53,9952
D20LIG10 - D60LIG20	*	-246,0	53,9952
D20LIG20 - D60LIG0	*	651,0	53,9952
D20LIG20 - D60LIG10	*	393,5	53,9952
D20LIG20 - D60LIG20	*	164,0	53,9952
D60LIG0 - D60LIG10	*	-257,5	53,9952
D60LIG0 - D60LIG20	*	-487,0	53,9952
D60LIG10 - D60LIG20	*	-229,5	53,9952

* indica una diferencia significativa.

B.3.3. AMONIO

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	27,6603	8	3,45754	32,13	0,0000
Intra grupos	0,9686	9	0,107622		
Total (Corr.)	28,6289	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D10LIG10	2	2,01	X
D20LIG0	2	2,355	X
D10LIG0	2	2,4	XX
D60LIG0	2	2,655	XXX
D20LIG10	2	3,1	XXX
D60LIG10	2	3,195	XX
D60LIG20	2	3,62	XX
D20LIG20	2	4,145	X
D10LIG20	2	6,33	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10LIG0 - D10LIG10		0,39	0,742121
D10LIG0 - D10LIG20	*	-3,93	0,742121
D10LIG0 - D20LIG0		0,045	0,742121
D10LIG0 - D20LIG10		-0,7	0,742121
D10LIG0 - D20LIG20	*	-1,745	0,742121
D10LIG0 - D60LIG0		-0,255	0,742121
D10LIG0 - D60LIG10	*-	-0,795	0,742121
D10LIG0 - D60LIG20	*	-1,22	0,742121
D10LIG10 - D10LIG20	*	-4,32	0,742121
D10LIG10 - D20LIG0		-0,345	0,742121
D10LIG10 - D20LIG10	*	-1,09	0,742121

D10LIG10 - D20LIG20	*	-2,135	0,742121
D10LIG10 - D60LIG0		-0,645	0,742121
D10LIG10 - D60LIG10	*	-1,185	0,742121
D10LIG10 - D60LIG20	*	-1,61	0,742121
D10LIG20 - D20LIG0	*	3,975	0,742121
D10LIG20 - D20LIG10	*	3,23	0,742121
D10LIG20 - D20LIG20	*	2,185	0,742121
D10LIG20 - D60LIG0	*	3,675	0,742121
D10LIG20 - D60LIG10	*	3,135	0,742121
D10LIG20 - D60LIG20	*	2,71	0,742121
D20LIG0 - D20LIG10	*	-0,745	0,742121
D20LIG0 - D20LIG20	*	-1,79	0,742121
D20LIG0 - D60LIG0		-0,3	0,742121
D20LIG0 - D60LIG10	*	-0,84	0,742121
D20LIG0 - D60LIG20	*	-1,265	0,742121
D20LIG10 - D20LIG20	*	-1,045	0,742121
D20LIG10 - D60LIG0		0,445	0,742121
D20LIG10 - D60LIG10		-0,095	0,742121
D20LIG10 - D60LIG20		-0,52	0,742121
D20LIG20 - D60LIG0	*	1,49	0,742121
D20LIG20 - D60LIG10	*	0,95	0,742121
D20LIG20 - D60LIG20		0,525	0,742121
D60LIG0 - D60LIG10		-0,54	0,742121
D60LIG0 - D60LIG20	*-	-0,965	0,742121
D60LIG10 - D60LIG20		-0,425	0,742121

* indica una diferencia significativa.

B.3.4. NITRATO

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3762,21	8	470,276	249,23	0,0000
Intra grupos	16,9824	9	1,88694		
Total (Corr.)	3779,19	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D20LIG0	2	15,6	x
D60LIG0	2	15,85	x
D10LIG0	2	16,015	x
D60LIG20	2	22,545	x
D10LIG20	2	39,32	x
D20LIG20	2	44,385	x
D10LIG10	2	46,955	x
D20LIG10	2	47,075	x
D60LIG10	2	51,01	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10LIG0 - D10LIG10	*	-30,94	3,10744
D10LIG0 - D10LIG20	*	-23,305	3,10744

D10LIG0 - D20LIG0		0,415	3,10744
D10LIG0 - D20LIG10	*	-31,06	3,10744
D10LIG0 - D20LIG20	*	-28,37	3,10744
D10LIG0 - D60LIG0		0,165	3,10744
D10LIG0 - D60LIG10	*	-34,995	3,10744
D10LIG0 - D60LIG20	*	-6,53	3,10744
D10LIG10 - D10LIG20	*	7,635	3,10744
D10LIG10 - D20LIG0	*	31,355	3,10744
D10LIG10 - D20LIG10		-0,12	3,10744
D10LIG10 - D20LIG20		2,57	3,10744
D10LIG10 - D60LIG0	*	31,105	3,10744
D10LIG10 - D60LIG10	*	-4,055	3,10744
D10LIG10 - D60LIG20	*	24,41	3,10744
D10LIG20 - D20LIG0	*	23,72	3,10744
D10LIG20 - D20LIG10	*	-7,755	3,10744
D10LIG20 - D20LIG20	*	-5,065	3,10744
D10LIG20 - D60LIG0	*	23,47	3,10744
D10LIG20 - D60LIG10	*	-11,69	3,10744
D10LIG20 - D60LIG20	*	16,775	3,10744
D20LIG0 - D20LIG10	*	-31,475	3,10744
D20LIG0 - D20LIG20	*	-28,785	3,10744
D20LIG0 - D60LIG0		-0,25	3,10744
D20LIG0 - D60LIG10	*	-35,41	3,10744
D20LIG0 - D60LIG20	*	-6,945	3,10744
D20LIG10 - D20LIG20		2,69	3,10744
D20LIG10 - D60LIG0	*	31,225	3,10744
D20LIG10 - D60LIG10	*	-3,935	3,10744
D20LIG10 - D60LIG20	*	24,53	3,10744
D20LIG20 - D60LIG0	*	28,535	3,10744
D20LIG20 - D60LIG10	*	-6,625	3,10744
D20LIG20 - D60LIG20	*	21,84	3,10744
D60LIG0 - D60LIG10	*	-35,16	3,10744
D60LIG0 - D60LIG20	*	-6,695	3,10744
D60LIG10 - D60LIG20	*	28,465	3,10744

* indica una diferencia significativa.

B.3.5. HUMEDAD

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	743,35	8	92,9187	687,81	0,0000
Intra grupos	1,21585	9	0,135094		
Total (Corr.)	744,566	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D10LIG0	2	1,275	x
D10LIG20	2	5,335	x
D60LIG0	2	15,735	x
D60LIG10	2	16,505	x
D20LIG0	2	17,71	x

D10LIG10	2	17,74	x
D60LIG20	2	17,855	x
D20LIG10	2	19,55	x
D20LIG20	2	21,61	x

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
D10LIG0 - D10LIG10	*	-16,465	0,831462
D10LIG0 - D10LIG20	*	-4,06	0,831462
D10LIG0 - D20LIG0	*	-16,435	0,831462
D10LIG0 - D20LIG10	*	-18,275	0,831462
D10LIG0 - D20LIG20	*	-20,335	0,831462
D10LIG0 - D60LIG0	*	-14,46	0,831462
D10LIG0 - D60LIG10	*	-15,23	0,831462
D10LIG0 - D60LIG20	*	-16,58	0,831462
D10LIG10 - D10LIG20	*	12,405	0,831462
D10LIG10 - D20LIG0		0,03	0,831462
D10LIG10 - D20LIG10	*	-1,81	0,831462
D10LIG10 - D20LIG20	*	-3,87	0,831462
D10LIG10 - D60LIG0	*	2,005	0,831462
D10LIG10 - D60LIG10	*	1,235	0,831462
D10LIG10 - D60LIG20		-0,115	0,831462
D10LIG20 - D20LIG0	*	-12,375	0,831462
D10LIG20 - D20LIG10	*	-14,215	0,831462
D10LIG20 - D20LIG20	*	-16,275	0,831462
D10LIG20 - D60LIG0	*	-10,4	0,831462
D10LIG20 - D60LIG10	*	-11,17	0,831462
D10LIG20 - D60LIG20	*	-12,52	0,831462
D20LIG0 - D20LIG10	*	-1,84	0,831462
D20LIG0 - D20LIG20	*	-3,9	0,831462
D20LIG0 - D60LIG0	*	1,975	0,831462
D20LIG0 - D60LIG10	*	1,205	0,831462
D20LIG0 - D60LIG20		-0,145	0,831462
D20LIG10 - D20LIG20	*	-2,06	0,831462
D20LIG10 - D60LIG0	*	3,815	0,831462
D20LIG10 - D60LIG10	*	3,045	0,831462
D20LIG10 - D60LIG20	*	1,695	0,831462
D20LIG20 - D60LIG0	*	5,875	0,831462
D20LIG20 - D60LIG10	*	5,105	0,831462
D20LIG20 - D60LIG20	*	3,755	0,831462
D60LIG0 - D60LIG10		-0,77	0,831462
D60LIG0 - D60LIG20	*	-2,12	0,831462
D60LIG10 - D60LIG20	*	-1,35	0,831462

* indica una diferencia significativa.

B.3.6. MATERIA ORGÁNICA

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	754,448	8	94,306	150,80	0,0000
Intra grupos	5,62825	9	0,625361		
Total (Corr.)	760,077	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
D60LIG0	2	1,475	X
D10LIG0	2	1,51	X
D20LIG0	2	1,76	X
D60LIG10	2	8,955	X
D10LIG10	2	9,615	XX
D20LIG10	2	10,85	X
D60LIG20	2	16,795	X
D10LIG20	2	16,995	X
D20LIG20	2	18,31	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
D10LIG0 - D10LIG10	*	-8,105	1,78891
D10LIG0 - D10LIG20	*	-15,485	1,78891
D10LIG0 - D20LIG0		-0,25	1,78891
D10LIG0 - D20LIG10	*	-9,34	1,78891
D10LIG0 - D20LIG20	*	-16,8	1,78891
D10LIG0 - D60LIG0		0,035	1,78891
D10LIG0 - D60LIG10	*	-7,445	1,78891
D10LIG0 - D60LIG20	*	-15,285	1,78891
D10LIG10 - D10LIG20	*	-7,38	1,78891
D10LIG10 - D20LIG0	*	7,855	1,78891
D10LIG10 - D20LIG10		-1,235	1,78891
D10LIG10 - D20LIG20	*	-8,695	1,78891
D10LIG10 - D60LIG0	*	8,14	1,78891
D10LIG10 - D60LIG10		0,66	1,78891
D10LIG10 - D60LIG20	*	-7,18	1,78891
D10LIG20 - D20LIG0	*	15,235	1,78891
D10LIG20 - D20LIG10	*	6,145	1,78891
D10LIG20 - D20LIG20		-1,315	1,78891
D10LIG20 - D60LIG0	*	15,52	1,78891
D10LIG20 - D60LIG10	*	8,04	1,78891
D10LIG20 - D60LIG20		0,2	1,78891
D20LIG0 - D20LIG10	*	-9,09	1,78891
D20LIG0 - D20LIG20	*	-16,55	1,78891
D20LIG0 - D60LIG0		0,285	1,78891
D20LIG0 - D60LIG10	*	-7,195	1,78891
D20LIG0 - D60LIG20	*	-15,035	1,78891
D20LIG10 - D20LIG20	*	-7,46	1,78891
D20LIG10 - D60LIG0	*	9,375	1,78891
D20LIG10 - D60LIG10	*-	1,895	1,78891
D20LIG10 - D60LIG20	*	-5,945	1,78891
D20LIG20 - D60LIG0	*	16,835	1,78891
D20LIG20 - D60LIG10	*	9,355	1,78891
D20LIG20 - D60LIG20		1,515	1,78891
D60LIG0 - D60LIG10	*	-7,48	1,78891
D60LIG0 - D60LIG20	*	-15,32	1,78891
D60LIG10 - D60LIG20	*	-7,84	1,78891

* indica una diferencia significativa.

B.3.7. RETENCION DE HUMEDAD

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	511,98	8	63,9975	431,72	0,0000
Intra grupos	1,33415	9	0,148239		
Total (Corr.)	513,314	17			

Pruebas de Múltiple Rangos

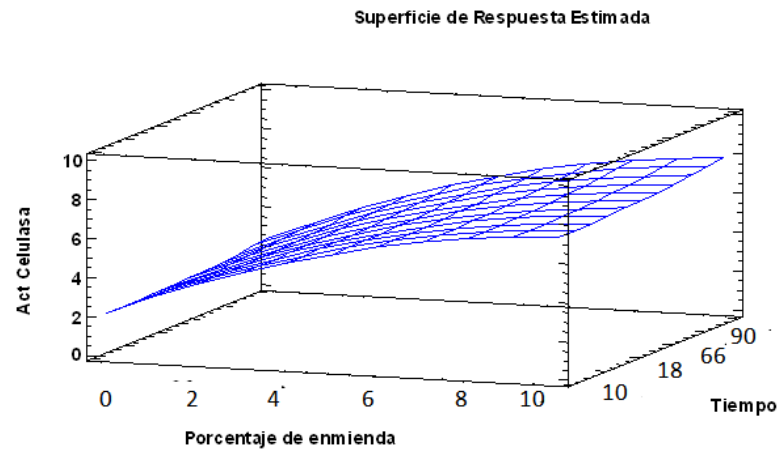
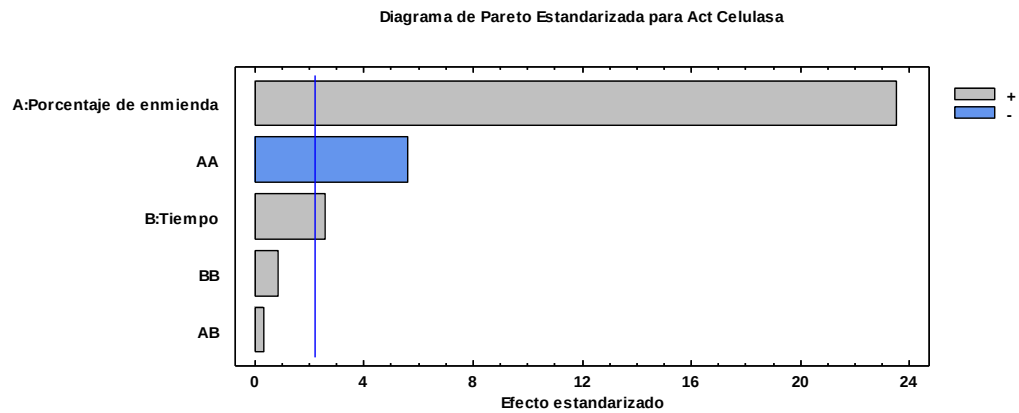
	Casos	Media	Grupos Homogéneos
D60LIG0	2	37,715	X
D20LIG10	2	40,17	X
D10LIG10	2	41,065	X
D20LIG0	2	41,315	X
D10LIG0	2	42,625	X
D10LIG20	2	44,12	X
D60LIG20	2	49,505	X
D60LIG10	2	52,505	X
D20LIG20	2	53,265	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
D10LIG0 - D10LIG10	*	1,56	0,870973
D10LIG0 - D10LIG20	*	-1,495	0,870973
D10LIG0 - D20LIG0	*	1,31	0,870973
D10LIG0 - D20LIG10	*	2,455	0,870973
D10LIG0 - D20LIG20	*	-10,64	0,870973
D10LIG0 - D60LIG0	*	4,91	0,870973
D10LIG0 - D60LIG10	*	-9,88	0,870973
D10LIG0 - D60LIG20	*	-6,88	0,870973
D10LIG10 - D10LIG20	*	-3,055	0,870973
D10LIG10 - D20LIG0		-0,25	0,870973
D10LIG10 - D20LIG10	*	0,895	0,870973
D10LIG10 - D20LIG20	*	-12,2	0,870973
D10LIG10 - D60LIG0	*	3,35	0,870973
D10LIG10 - D60LIG10	*	-11,44	0,870973
D10LIG10 - D60LIG20	*	-8,44	0,870973
D10LIG20 - D20LIG0	*	2,805	0,870973
D10LIG20 - D20LIG10	*	3,95	0,870973
D10LIG20 - D20LIG20	*	-9,145	0,870973
D10LIG20 - D60LIG0	*	6,405	0,870973
D10LIG20 - D60LIG10	*	-8,385	0,870973
D10LIG20 - D60LIG20	*	-5,385	0,870973
D20LIG0 - D20LIG10	*	1,145	0,870973
D20LIG0 - D20LIG20	*	-11,95	0,870973
D20LIG0 - D60LIG0	*	3,6	0,870973
D20LIG0 - D60LIG10	*	-11,19	0,870973
D20LIG0 - D60LIG20	*	-8,19	0,870973
D20LIG10 - D20LIG20	*	-13,095	0,870973
D20LIG10 - D60LIG0	*	2,455	0,870973
D20LIG10 - D60LIG10	*	-12,335	0,870973
D20LIG10 - D60LIG20	*	-9,335	0,870973
D20LIG20 - D60LIG0	*	15,55	0,870973

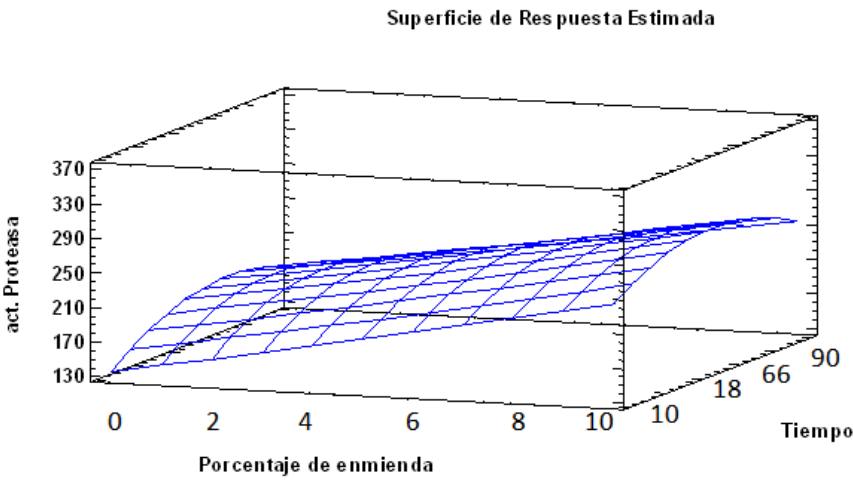
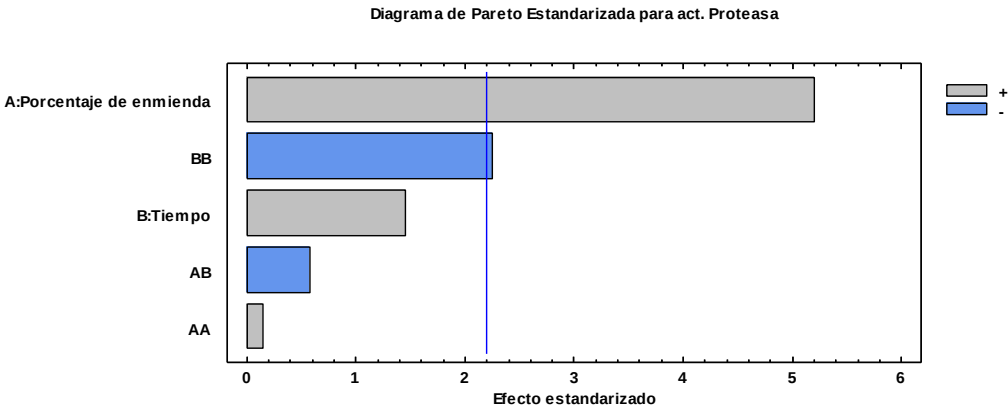
D20LIG20 - D60LIG10		0,76	0,870973
D20LIG20 - D60LIG20	*	3,76	0,870973
D60LIG0 - D60LIG10	*	-14,79	0,870973
D60LIG0 - D60LIG20	*	-11,79	0,870973
D60LIG10 - D60LIG20	*	3,0	0,870973

* indica una diferencia significativa.

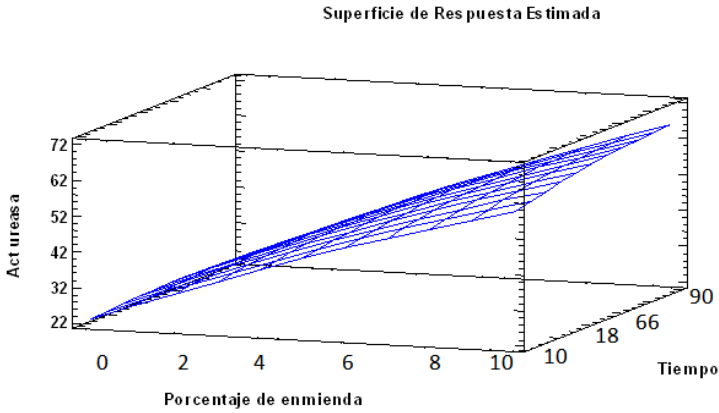
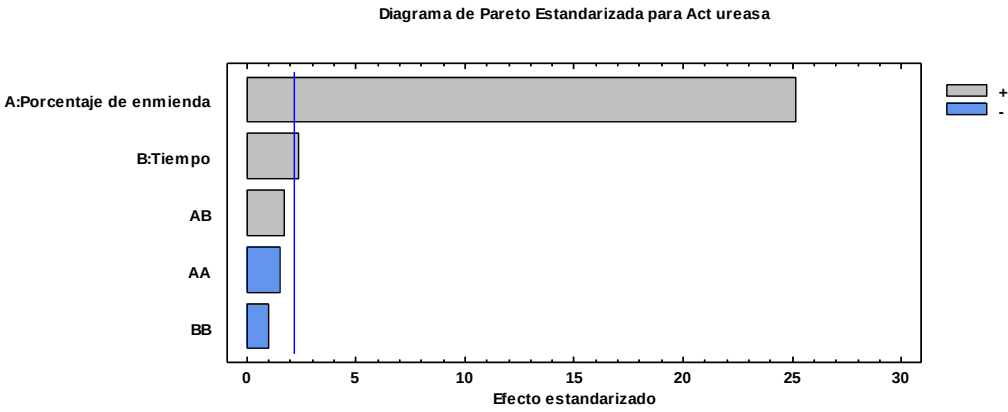
B.3.8. ACTIVIDAD CELULASA



B.3.9. ACTIVIDAD PROTEASA



B.3.10. ACTIVIDAD UREASA



B.3.11. ACTIVIDAD CATALASA

