

NOTA TÉCNICA

EVALUACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN UN CALCÁRICO SKELETIC CAMBISOL BAJO DIFERENTES USOS DE SUELO

EVALUATION OF BIOCHEMICAL PARAMETERS IN A CALCÁRICO SKELETIC CAMBISOL UNDER DIFFERENT GROUND USES

Mariela J. Navas Vásquez*, Marta Benito** y Alberto Masaguer**

*Investigadora. INIA-Anzoátegui. El Tigre. Venezuela. E-mail: mnavas@inia.gob.ve **Profesores. Universidad Politécnica de Madrid (UPM). Departamento de Edafología. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Madrid, España. E-mail: marta.benito@upm.es; alberto.masaguer@upm.es

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue cuantificar la actividad de la deshidrogenasa, β -glucosidasa y la ureasa en un suelo sometido a diferentes usos, con la finalidad de establecer medidas potenciales del estado de degradación del suelo relacionada con su fertilidad. Los usos de suelo estudiados fueron olivar en activo, (O1); olivar en abandono, (O2); bosque de repoblación de pino (P) y bosque natural de quejigo (Q) en un mismo suelo (Calcaric Skeletic Cambisol). Se analizaron además de la actividad de la deshidrogenasa, ureasa y β -glucosidasa, el pH, conductividad eléctrica, materia orgánica oxidable, carbono orgánico total y nitrógeno total (NT). La cuantificación de la actividad de la deshidrogenasa y ureasa mostraron el mismo patrón de comportamiento, la mayor actividad en el Q y la menor en el O1. Existe una alta correlación de la actividad de la ureasa con el NT ($r=0,70$), concentración de fósforo ($r=0,50$), y el carbono fácilmente oxidable ($r=0,70$). De la evaluación de la actividad de la β -glucosidasa se deduce que el estado de descomposición de la materia orgánica del suelo, donde se encuentra el O2 en sus etapas iniciales. En conclusión se puede decir, por un lado, que el olivar activo es el más degradado, seguido por el bosque de repoblación de pinos. Por otro lado, el bosque de quejigo presenta la mayor fertilidad y el olivar en abandono una fertilidad potencial, que se confirma con los valores de la actividad de β -glucosidasa.

Palabras Clave: Deshidrogenasa; ureasa; β -glucosidasa; usos del suelo.

SUMMARY

The objective of this study is to quantify the activity of the dehydrogenase, β -glucosidase and the urease in a soil with different uses, with the purpose of establishing potential measures of the chemical degradation. Four different soil uses of the same soil (Calcaric Skeletic Cambisol) were studied: an active olive grove (O1); an abandoned olive grove (O2); reforested pine grove (P) and natural gall-oak grove (Q). In addition of the dehydrogenase, urease and β -glucosidase activities, the following chemical parameters were analysed: pH, electric conductivity, oxidizable organic matter, total organic carbon, and total nitrogen. The quantification of the dehydrogenase and urease activities showed the same behavior pattern ($r=0.54$, $P<0.01$), the highest activity was found in the gall-oak grove and the minor for the active olive grove. The β -glucosidase activity results showed that the organic matter in the abandoned olive grove had higher cellulose content than the organic matter in the others uses. If the natural fertility of the different uses is studied, we can conclude that the active olive grove was the most degraded, followed by the pine grove. On the other hand, the gall-oak grove presented the highest fertility, and the abandoned olive grove a potential fertility, which are in accordance with the activity of the β -glucosidase.

Key Words: dehydrogenase activity; urease; β -glucosidase; soil uses.

INTRODUCCIÓN

La evaluación de los parámetros bioquímicos tiene mucha importancia, debido a que su cuantificación permite obtener información sobre la actividad metabólica del suelo. Ésta provee información para entender procesos como la mineralización y humificación de la materia orgánica (MO), procesos donde intervienen algunos elementos fundamentales como el fósforo, carbono, nitrógeno y el azufre, así como todas las transformaciones de la biomasa microbiana (García *et al.*, 2003; García y Hernández 2000). La cuantificación de estos parámetros tiene especial utilidad en estudios naturales donde los procesos microbianos claves pueden monitorearse en estudios relativos a sistemas agrícolas, en la evaluación de problemas de contaminación, en seguimientos de la incorporación de residuos agrícolas, entre otros (García *et al.*, 2003).

Generalmente los parámetros que se suelen medir, van a depender del alcance del estudio, por ejemplo algunos de los más usados son: el contenido del carbono, nitrógeno de la biomasa microbiana, la mineralización del N, el ATP, la respiración del suelo, la actividad de enzimas del tipo oxidoreductasa como la deshidrogenasa y catalasa estas últimas consideradas como una medida generalizada de los procesos microbianos del suelo (García *et al.*, 2003). Sin embargo, otros parámetros bioquímicos como la mayoría de las enzimas del tipo hidrolasas, implicadas en los ciclos de los elementos nutritivos como es el caso de las carbohidrasas, quitinasas, β -glucosidasa implicadas en el ciclo del carbono, las fosfatasa en el ciclo del fósforo, ureasa y proteasa ciclo del nitrógeno y la arilsulfatasa en el ciclo del S, son consideradas como parámetros específicos porque corresponde a reacciones concretas y dependen de sustratos específicos (Nannipieri *et al.*, 1990).

La mayoría de los trabajos relacionados con la actividad enzimática del suelo se han centrado, en las oxidoreductasas, por el papel que juegan en la oxidación de la MO y las transferasas e hidrolasas, por su papel en la descomposición de compuestos orgánicos, y su importancia en los ciclos de nutrimentos y la formación de MO (Flieâbach *et al.*, 2006, Melgar *et al.*, 2000). Por tanto, muchos autores consideran que pueden ser usadas como índices de la actividad microbiana total del suelo y como componentes de diferentes índices de fertilidad (Dick y Kandeler, 2005; Lin *et al.*, 2004).

El objetivo de este trabajo fue cuantificar la actividad de la deshidrogenasa, β -glucosidasa y la ureasa en un suelo sometido a diferentes usos, con la finalidad de

establecer medidas potenciales del estado de degradación del suelo, desde un punto de vista de su fertilidad, en un tiempo determinado. Estas enzimas están directamente relacionadas con la actividad biológica del suelo (deshidrogenasa) estado de degradación de la MO (β -glucosidasa) y con el ciclo de nitrógeno (ureasa).

MATERIALES Y MÉTODOS

La zona de estudio se localiza en el municipio de Horche (Guadalajara), situado en el llamado "Páramo de la Alcarria", perteneciente a la "Meseta del Tajo" España. Los suelos analizados se sitúan en las laderas del valle del río Ungría y se han desarrollado sobre depósitos coluviales. Estos suelos se clasifican como Calcaric Skeletic Cambisol y se caracterizan por un alto contenido en fragmentos gruesos de naturaleza calcárea, textura franco-arcillosa y alto contenido en carbonato cálcico.

Zona de muestreo

Se seleccionaron un total de 4 zonas de muestreo, correspondientes a 4 usos distintos de suelos desarrollados sobre el mismo material parental, depósitos coluviales. Los 4 usos fueron: olivar en activo (O1), se refiere a un olivar establecido donde se realizan constantemente las prácticas agrícolas (aplicación de herbicidas, fertilización, cosecha, pase de rotativa), olivar en abandono (O2), se refiere a una siembra de olivos abandonados (tiene cobertura vegetal, y no se le realizan prácticas agrícolas) bosque de repoblación de pino (P), se refiere a un bosque introducido de pinos establecido por más de 15 años, bosque natural de quejigo (Q).

La orientación de la zona de olivar, ya sea cultivado o abandonado, es mayoritariamente SE mientras que las muestras de suelo de bosque de P y Q, se sitúan en una ladera orientada al NW.

El muestreo de suelo se realizó de 0-20 cm 5 puntos distintos por cada una de las 4 zonas de estudio, teniendo en cuenta un diseño de bloques completamente aleatorizados, resultando así, un total de 20 muestras. A las que se les determinó: actividad de la deshidrogenasa por el método de Trevors *et al.* (1982), modificado por García *et al.* (1993), el cual esta basado en la estimación del Iodonitrotetrazolio Formazán (INTF), cuando el suelo es incubado con 2-p-iodofenil-3 paranitrofenol-5-Feniltetrazolium (INT) durante 20h a 20 °C en la oscuridad.

La β -glucosidasa se determinó con el método de Hoffmann y Dedeken (1965), el cual se basa en el uso del Salicin como sustrato incubando por 3h a 37 °C, formándose indofenol el cual es convertido como cantidad equimolar de fenol. La ureasa, se determinó por el método desarrollado por Kandeler y Gerber (1988), donde las muestras son incubadas con una solución de urea como sustrato donde se libera amonio, el cual es determinado colorimétricamente.

Además de la actividad de las enzimas antes mencionadas, se analizó la conductividad eléctrica (CE) y los valores de pH, los contenidos de carbono orgánico total, MO fácilmente oxidable, nitrógeno total y el porcentaje de carbonato cálcico, así como la textura. Los valores de CE y pH se midieron en extracto acuoso (1:2,5). El contenido en carbono orgánico total (COT) se determinó por combustión en seco a 400 °C (Nelson y Sommers, 1996), el nitrógeno total N (NT) por digestión Kjeldahl (Bremmer y Mulvaney, 1982) y la materia fácilmente oxidable por el método Walkley-Black (Nelson y Sommers, 1996).

Los resultados, fueron sometidos a pruebas de comparación de medias (LSD) realizadas con el programa estadístico SPS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores presentados en el Cuadro 1 de la CE, (CE:0,232-0,28.8 dS m⁻¹), carbono oxidable (10,88-32,31 g kg⁻¹), carbono total (29,08-60,46 g kg⁻¹) y NT,

(0,93-1,66 g kg⁻¹), varían de un suelo a otro, observándose el mismo patrón de comportamiento en los usos evaluados (Q>P>O2>O1). Teniendo en cuenta que el cultivo del olivar lleva consigo, entre sus labores, la eliminación de malas hierbas y conservación de suelo desnudo, se puede afirmar que los valores del COT son reflejos de estas prácticas tradicionales de cultivo.

La misma tendencia fue observada para el contenido de C_{oxi}, el valor más alto también se corresponde con las muestras tomadas en el bosque Q. Estos resultados concuerdan con los señalados por García *et al.* (2002) en un estudio sobre el efecto de la cobertura vegetal en distintos parámetros químicos y microbiológico del suelo. Estos autores observaron una disminución en el contenido COT a medida que la cobertura vegetal disminuía. Resultados similares fueron también encontrados por Hajabbasi *et al.* (1997), con disminuciones de hasta el 50% del COT como consecuencia de la deforestación y puesta en cultivo de un suelo forestal. Para la zona de estudio las pérdidas de COT respecto al bosque natural variaron en un 19% y un 52% para el bosque de repoblación y olivar en activo (O1), respectivamente.

El NT, prácticamente sigue la misma tendencia descrita para el COT, con pérdidas del 44% del NT para las muestras tomadas en el O1. En sus trabajos, Caravaca *et al.* (2002) encontraron pérdidas importantes en el valor de NT. Estas pérdidas eran de hasta un 75% cuando el NT de un suelo con cultivo de vid era comparado con el valor correspondiente al mismo suelo bajo condiciones de vegetación natural.

CUADRO 1. Valores promedios de conductividad eléctrica, pH, carbono oxidable, carbono total y nitrógeno total de los suelos evaluados.

USO	COT (g kg ⁻¹)	Coxi (g kg ⁻¹)	NT (g kg ⁻¹)	pH	CE (dS m ⁻¹)
O1	29,08 d ± 1,56	10,88 d ± 1,66	0,93 c ± 0,14	8,41 a ± 0,03	0,232 b ± 0,006
O2	33,58 c ± 3,01	15,25 c ± 1,72	1,25 ab ± 0,13	8,29 b ± 0,03	0,236 b ± 0,010
P	49,14 b ± 2,26	19,89 b ± 2,01	1,61 a ± 0,17	8,31 ab ± 0,04	0,281 a ± 0,012
Q	60,46 a ± 5,28	32,31 a ± 3,66	1,66 a ± 0,33	7,96 c ± 0,05	0,288 a ± 0,018

± error estándar (n = 5), Valores en columnas con diferente letra denotan diferencias significativas, P<0,05

O1 = olivar en activo, O2 = olivar en abandono, P = pinar, Q = bosque natural de quejigo, COT= carbono total, Coxi: carbono fácilmente oxidado, NT: nitrógeno total.

Los valores de pH mostraron una tendencia decreciente según la secuencia $O1 \geq P \geq O2 > Q$, además se observó que existe una relación inversamente proporcional del pH con la mayoría de los parámetros químicos y bioquímicos evaluados (Cuadro 2). Esta disminución es atribuida, por un lado a la mayor actividad microbiana y por otro lado, al menor contenido de carbonatos.

Actividad de la deshidrogenasa

El patrón de comportamiento de esta enzima en los usos de suelo fue: $Q > P > O2 > O1$, observándose diferencias significativas entre el O1 y el Q, no así, entre el olivar en abandono (O2) y el pinar que estadísticamente no presentaron diferencias significativas (Cuadro 3). Al comparar la actividad de esta enzima con el rango 0,034-0,106 μmol de INTF observado por García *et al.* (1993) para suelos agrícolas abandonados, se notó que los valores son muy similares a los obtenidos en el suelo donde está el O1. Los mostrados en el Q (0,273 μmol de INTF) son muy similares a los conseguidos por Camiña *et al.* (1998) para suelos forestales del mediterráneo (0,193-0,947 μmol de INTF).

La actividad de la deshidrogenasa está relacionada principalmente con las etapas iniciales de la oxidación de la MO, considerándose un indicador redox micro-

biano, así como un indicador general de la actividad microbiana (Schutter *et al.* 2001; Bandick, Dick 1999). Por tanto se puede deducir, que el O1 presenta una baja fertilidad biológica, resultado esperable, si se tiene en cuenta que éste suelo, está sometido a un intensivo uso de maquinaria (arado, rotativas y subsolado) y es un típico ejemplo de degradación de suelo (física, biológica y química). Por otro lado, se puede observar en el Q tiende a mejorar la fertilidad del suelo, debido principalmente a su aporte continuo de MO. Este tipo de bosque se caracteriza por perder todas sus hojas en invierno, proporcionando anualmente MO al suelo y en consecuencia una mayor actividad de la deshidrogenasa, por lo que se presume una alta mineralización de nutrientes como N, P, C.

Esto concuerda con los autores Dick y Kandeler (2005); Dick y Tabatabai (2003) quienes aseguran que esta enzima actúa sobre sustratos específicos transformándolos en productos necesarios para los ciclos biológicos, por lo que han considerado que la enzima deshidrogenasa se puede usar como índice de la actividad microbiana total del suelo y como índices de fertilidad (Dick, 1994, Melgar 2000). En el Cuadro 2 se muestra una alta correlación de esta enzima con el COT y el NT, lo que confirma lo mencionado anteriormente por los autores.

CUADRO 2. Coeficientes de correlación (r) entre las variables químicas y bioquímicas evaluadas en los diferentes usos de suelo ($P \leq 0,01$).

	COT	NH ₄	NT	P	pH	Coxi	Deshidrogenasa	ureasa	β -glucosidasa
COT	1								
NH ₄	-0,13	1							
NT	0,67	0,11	1						
P	0,50	0,14	0,35	1					
pH	-0,77	0,98	-0,50	-0,55	1				
Coxi	0,90	-0,62	0,68	0,60	-0,85	1			
deshidrogenasa	0,50	-0,47	0,50	0,22	-0,40	0,50	1		
ureasa	0,60	0,20	0,70	0,50	-0,50	0,70	0,54	1	
β -glucosidasa	0,32	0,13	0,40	0,50	-0,37	0,40	0,60	0,40	1

Actividad de la ureasa

De acuerdo a los resultados señalados en el Cuadro 3, se observa que la actividad de la ureasa vario de 63,4 y 117,85 $\mu\text{gN-NH}_4 \text{ g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$ presentando el mismo patrón de comportamiento que la deshidrogenasa, $\text{Q} > \text{P} > \text{O2} > \text{O1}$. No se observaron diferencias significativas entre O2 y P (Cuadro 3). La menor actividad se observó en el O1, afianzando la teoría de la degradación de este suelo.

La ureasa es de origen microbiano (principalmente de las bacterias del suelo), juega un papel fundamental en la biología del suelo contribuyendo con su fertilidad. La actividad de la ureasa está relacionada con la mineralización del N orgánico, que se refiere a la degradación de proteínas, amino azúcares y ácidos nucleicos a NH_4^+ (España *et al.*, 2001), esta afirmación se corrobora al comparar la actividad de la ureasa (Cuadro 3), con los contenidos de NT en los diferentes usos de suelo (Cuadro 1). Así mismo, al observar los coeficientes de correlación presentados en la Cuadro 2 se ve claramente, que existe un alto grado de asociación entre la ureasa y el NT ($r = 0,70$) del suelo, no así con la concentración de NH_4 ($r = 0,20$).

Paolini (2003) señala que la actividad de esta enzima es afectada por la naturaleza de la cobertura vegetal. Los suelos que soportan densas poblaciones vegetales tienden a presentar altos niveles de actividad enzimática. En este estudio, la mayor actividad de la ureasa se observó en el suelo Q, el cual se caracteriza por aportes anuales de hojarascas.

Al comparar la actividad de la ureasa presentada en otros trabajos se observó que Leirós *et al.* (2000) registraron fluctuaciones de 2 y 26 $\mu\text{gN-NH}_4 \text{ g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$ para suelos bajo bosques de *Quercus* sp. (quejigo). Mientras que Paolini (2003) en bosques semi decíduos de Venezuela indica valores de 5 y 86 $\mu\text{gN-NH}_4 \text{ g}^{-1} 2 \text{ h}^{-1}$ estos últimos muy parecidos a los encontrados en el O2. Por otro lado, Albiach *et al.* (2001) en suelos agrícolas de España registraron una actividad del orden de 25 y 32 $\mu\text{gN-NH}_4 \text{ g}^{-1} 2 \text{ h}^{-1}$.

En general se puede decir que los resultados de este trabajo, permitieron firmar que el suelo Q tiene mayor potencial de proveer nitrógeno inorgánico para las plantas que el suelo donde se encuentran el P, O2, y el O1.

Actividad de la β -Glucosidasa

El patrón de comportamiento de esta enzima fue $\text{O2} > \text{Q} > \text{P} > \text{O1}$, presentando un rango de variación de 86,16 y de 239,24 $\mu\text{gphenol g}^{-1} 3 \text{ h}^{-1}$ observándose diferencias significativas entre los usos de suelo.

Estudios realizados por Kandeler *et al.* (2001) en diferentes usos y tipos de suelos encontraron que la actividad de la β -glucosidasa mostró un amplio rango de variación. Por ejemplo, para suelos cultivados con pastos y fertilizados con estiércol presentaron un rango de 41 a 253 $\mu\text{gphenol g}^{-1} 3 \text{ h}^{-1}$, para bosques de 36 a 160 $\mu\text{gphenol g}^{-1} 3 \text{ h}^{-1}$ y para suelos sometido a rotación de cultivos de 130 a 310 $\mu\text{gphenol g}^{-1} 3 \text{ h}^{-1}$ indicando que la actividad de esta enzima varía dependiendo del manejo y tipo de suelo.

CUADRO 3. Cuantificación de la actividad de la deshidrogenasa, β -glucosidasa y ureasa en diferentes usos de suelo

USO	Deshidrogenasa ($\mu\text{moles INTFg}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	Ureasa ($\mu\text{gNH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ ms}^{-1} 2\text{h}^{-1}$)	β -Glucosidasa ($\mu\text{gphenol g}^{-1} \text{ ms}^{-1} 3\text{h}^{-1}$)
O1	0,140 c \pm 0,025	64,10 d \pm 1,84	86,16 d \pm 0,096
O2	0,219 b \pm 0,027	83,78 b \pm 1,49	239,24 a \pm 0,33
P	0,225 b \pm 0,028	93,28 b \pm 2,56	107,47 c \pm 0,12
Q	0,273 a \pm 0,021	117,85 a \pm 1,88	149,87 b \pm 0,14

\pm error estándar (n = 5), Valores en columnas con diferente letra denotan diferencias significativas, $P < 0,05$
O1 = olivar en activo, O2 = olivar en abandono, P = pinar, Q = bosque de quejigo.

La β -glucosidasa refleja el estado de descomposición de la MO y pertenece al grupo de enzimas que cataliza la conversión hidrolítica de la celulosa a glucosa, fuente de alimento de los microorganismos del suelo (Knight y Dick 2004).

En consecuencia, conociendo el comportamiento de la actividad de la β -glucosidasa en los diferentes usos de suelo, se puede inferir sobre el grado de descomposición de su MO. La β -glucosidasa presentó un alto grado de asociación (Cuadro 2) con la actividad de la deshidrogenasa ($r = 0,60$), y la concentración de P en el suelo ($r = 0,50$). Lo que se considera lógico, debido a que el objetivo de la β -glucosidasa es degradar formas de bajo peso molecular de la MO, lo que vendría a proporcionar al suelo una fuente de energía para la microbiota del suelo, por lo que se asume, que igualmente se impulse la actividad de la deshidrogenasa, debido a que ésta, está relacionada con la actividad metabólica del suelo.

En general y de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo se puede inferir, que la MO del suelo O2 para el momento que se realizó el ensayo estaba en la etapa inicial de su descomposición y la MO del O1 presumiblemente en una etapa más avanzada.

CONCLUSIONES

- Los parámetros bioquímicos y químicos evaluados en este trabajo mostraron ser sensibles al manejo de los suelos, hecho que se confirmó con las diferencias significativas observadas entre los diferentes usos evaluados.
- Se concluye por un lado que el O1 es el más degradado, seguido por el bosque de repoblación de pino. Por otro lado, que el Q presenta la mayor fertilidad y el olivar en abandono una mayor fertilidad potencial, que se confirma con el alto contenido de MO en proceso de degradación y con el grado de asociación de la deshidrogenasa, ureasa y β -glucosidasa con la concentración de fósforo, nitrógeno y COT.
- La alta correlación de las variables bioquímicas con las químicas permitió visualizar la influencia del pH sobre la actividad de las enzimas evaluadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Albiach, R., Canet, F. Pomares and F. Ingelmo. 2001. Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology*. 75:43-48.
- Bandick, A. and R. Dick. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry* 31:147-479.
- Bremner, J. M. and S. Mulvaney, C. 1982. Total nitrogen. **In:** Page A L, Miller R H, Keeney R D. (Eds) *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. 2nd ed. Agronomy No 9. ASA y SSSA, Madison, WI. 595-624.
- Camiña, F., C. Tasar-Cepeda, F. Gil-Sotres and C. Leirós. 1998. Measurement of deshydrogenase activity in acids soil rich in organic matter. *Soil Biology & Biochemistry* 30, 1 005-1 011.
- Caravaca, F., M. Hernández, M. García and A. Roldan. 2002. Improvement of rhizosphere aggregates stability of afforested semi-arid plant species subjected to micorrihizal inoculation and compost addition. *Geoderma* 108:133-144.
- Dick, R. 1994. Soil enzyme activities as indicator of soil quality. **In:** Doran, J, Coleman, D. Bezdicek, D. Stewart, B. (Eds). *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*, Soil Science Society of American Society of Agriculture, Madison, 107-124 p.
- Dick, R. y E. Kandeler. 2005. Enzymes In Soils. **In:** Daniel Hillel (ed.) *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Elsevier Ltd., Oxford, U.K. 448-455 p.
- Dick, W. and M. Tabatabai. 1993. Significance y potential uses of soil enzymes. **In:** Meeting Jr., F.B (Ed). *Soil Microbial Ecology*. Marcel Dekker, New York, 95-127 p.
- España, M., B. Rodríguez, E. Cabrera y B. Cecanti. 2001. Actividades enzimáticas y contribución de residuos de cosecha de maíz al nitrógeno del suelo en sistema de labranza en los llanos centrales, Venezuela. *Terra*.20:81-86.

- Flieâbach, A. H. Oberholze, L. Gunst and P. Mader. 2006. Soil organic matter y biological soil quality indicators after 21 years of organic y conventional farming. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 118:273-284.
- García, C. T. Hernandez, F. Costa, B. Ceccanti and G. Masciandro 1993. The deshydrogenasa activity of soil as an ecological marker in processes of paturbed system regeneration en: Gallardo-Lancho. J. (ed), *Proceedings of the XI International Symposium of Environmental Biogeochemistry*. Salamanca. 89-100 p.
- García, C., F. Gil y T. Hernández. 2003. Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Madrid-España. 371 p.
- García, C. y T. Hernández. 2000. Investigación y perspectivas de la enzimología de suelos en España. CEBAS-CSIC. Murcia, 352 p.
- García, C. Hernandez, T. Roldan and A., Martin., 2000. Effect of plant cover decline on chemical and microbial parameters under Mediterranean climate. *Soil Biol Biochem* 34, 635-642.
- Hajabbasi, M., A., Jalalian and H. Karimzadeh. 1997. Deforestation effects on soil physical and chemical properties, Lordegan Iran. *Plant and soil* 190:301-308.
- Hoffmann G. and M. Dedeken. 1965. Eine methode zur kolorimetschen Bestimmung der β -glucosida-seaktivitat in boden. 2 *Pflanzenernachr Bodenkd* 108:195-201.
- Kandeler E., D. Tschерko, M. Stemmer, S. Schwarz and M. Gerzabek. 2001. Organic matter soil mroorganism-investigations from the micro-to the macro scale. *Die Bodenkultur*, 52(1):117-131.
- Kandeler, E. and H. Gerber. 1988. Short-Term assay of soil urease activity using colorimetric determination ammonium. *Biol Fertil Soil* 6:68-72.
- Knight, T. and R. Dick. 2004. Differentiating microbial and stabilized B-glucosidase activity relative to soil quality. *Soil Biology & Biochemistry* 36:2 089-2 096.
- Leirós, M., C. Trasar-cepeda, S. Seoane and F. Gil-sotres. 2000. Biochemical properties of acid soil under climax vegetation (Atlantic oak wood) in an area of the European temperature-humid zone (Galicia, N.W Spain): General parameters. *Soil Biology & Biochemistry* 32, 747-755p.
- Lin, X. Yin, H. Zhang, J. Hung, R. Chen and Z. Cao. 2004. Changes of soil microbial properties caused by land use chaging from rice-wheat rotation to vegetable cultivation. *Eviromental Geochemistry y Health* 26:119-128.
- Nannipieri, P. S. Grego and B. Ceccanti. 1990. Ecological significance of biological activity in soil en: Bollag, J, Sttzky, G. (eds), *Soil Biochemistry*, vol. 6. Marcel Dekker, New York. 293-355 p.
- Nelson, D. W. y L. E. Sommers. 1996. Total carbon, organic carbon and organic matter. **In:** D.L. Sparks(eds). *Methods of soil analysis, part 3. Chemical methods*. SSSA Book Series N° 5, Madison, Wis, 961-1.010 p.
- Melgar, R., E. Benitez, H. Sainz, A. Polo. M. Gómez y R. Nogales. 2000. Los vermicompost de subproductos del olivar como acolchado del suelo: efecto sobre la rizósfera. *Edafología*. 7(2):125-134.
- Paolini, J. 2003. Las enzimas del suelo y su aplicación en la caracterización bioquímica de sitios. Internet: <http://biblioteca. IVIC.ve/bases/index00s.htm>.
- Schutter, M., J. Sandeno and R. Dick. 2001. Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems. *Biol fertile soil* 34:397-410
- Trevors, J., C. Mayfield and W. Inniss. 1982. Measurement of electron transport system (ETS) activity in Soil. *Microbial Ecology* 8:163-168.