



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

MODALIDAD PASANTÍA

RES. Nº 9.085/15 -C.D.

TÍTULO:

Entrenamiento en prácticas profesionales de campo y laboratorio: muestreo de suelos y determinación de la actividad de la enzima fosfatasa ácida

ALUMNO: Tessaro, Saulo Eduardo

ASESOR: Ing. Agr. Silvia Amanda Arzuaga

CÁTEDRA DE EDAFOLOGÍA

Año 2016

Índice

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
OBJETIVOS GENERALES.....	5
LUGAR DE TRABAJO.....	5
DESCRIPCIÓN DE LAS TAREAS DESARROLLADAS	5
1. MUESTREO DE SUELOS	6
2. ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	8
a. Secado	8
b. Molido y Tamizado	9
3. PREPARACIÓN DE LAS DROGAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA....	10
4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA FOSFATASA ÁCIDA.....	12
a. Procedimiento	12
b. Curva de calibración.....	13
5. RESULTADOS OBTENIDOS.....	15
6. CONCLUSIÓN DE LA PASANTÍA.....	19
7. BIBLIOGRAFÍA	20

INTRODUCCIÓN GENERAL

El suelo es un sistema estructurado, heterogéneo y discontinuo, fundamental e irremplazable; mantiene los ciclos biogeoquímicos, la productividad de los ecosistemas terrestres y sirve de hábitat para diferentes organismos terrestres. (Nannipieri *et al.*, 2003). En él se producen fuertes y complejas interacciones entre las raíces de las plantas, la fauna y los microorganismos que lo habitan, así como de todos ellos con los propios constituyentes abióticos del suelo. Es por lo tanto una entidad viva y dinámica, de cuya condición depende el sustento de la humanidad y la vida en la tierra (Doran *et al.*, 1996).

La fertilidad del suelo es vital para su productividad y poder generar alimentos y fibras que demanda la población mundial, siendo necesario por lo tanto establecer los factores que limitan o favorecen la nutrición de los cultivos y, por ende, las relaciones suelo-planta. Factores físicos, químicos y biológicos controlan el crecimiento de las plantas, estas dependen del suelo, en el que cada uno de estos factores muestra una gran variabilidad a través del tiempo y espacio propio del hábitat suelo (Picone, 2015).

Muestreo de Suelos

Una muestra de suelo es una pequeña cantidad de suelo que representa el volumen que este ocupa en el campo, considerando tanto el área como la profundidad. Debido a la gran variabilidad de los suelos parece imposible establecer un método completamente satisfactorio para la toma de muestras. La operación de muestras incluye, la toma del material que forma el suelo, de modo tal que tenga en cuenta la variabilidad del mismo, el manejo y elaboración de la muestra y por último, la toma de fracciones de dicha muestra para la realización de las determinaciones analíticas concretas. Los principales factores que afectan a los resultados analíticos son: variación espacial, variación estacional o en el tiempo, variación por manejo del cultivo, y variación por acondicionamiento y procesamiento de muestras.

Antes de iniciar la operación de muestreo, debe dividirse el área de estudio en unidades que representen uniformidad, y como auxiliares para separar áreas

homogéneas se pueden utilizar cartas topográficas, fotografías aéreas y en caso de existir, mapas de suelos. Este material debe ser utilizado con la finalidad de establecer, en líneas generales, zonas diferentes que imprescindiblemente se deben corroborar con la observación de campaña. Siempre hay que recordar que la muestra de suelo, debe ser representativa del área de estudio, para ello se divide el lote en diferentes unidades de muestreo teniendo en cuenta:

Relieve: las variaciones de relieve generalmente indican variaciones de suelo. Por ejemplo: en las partes altas los suelos pueden ser lavados y ácidos; en las partes bajas se pueden presentar acumulaciones de sales, drenajes deficientes, acumulación de materia orgánica; y en la media loma registrarse el máximo arrastre del material superficial por el agua de escurrimiento, donde se manifiesta claramente la erosión del suelo.

Vegetación: es un factor importante en la formación de los suelos debido a la clase y cantidad de residuos vegetales que aporta. La densidad y clase del sistema radical también influye. Los suelos bajo monte o con pastos tienen marcadas diferencias a partir de estas consideraciones.

Cultivos: la clase de cultivo y el tiempo de aprovechamiento son factores que deben anotarse para considerarlos en el momento de la interpretación de los datos analíticos. Una explotación continuada de algodón, degrada la estructura del suelo; en cambio una rotación para ese mismo suelo de trigo-soja-algodón, va a redundar en una mejor estructuración del mismo.

Clima: se pueden presentar en pequeñas áreas, diferencias en cantidad y frecuencias de las precipitaciones, que condicionan estados diferentes en el suelo.

Material original: necesariamente se deben separar las unidades de muestreo, teniendo en cuenta el material de origen del suelo. Existen en la región noreste, suelos que están evolucionando a partir de diferente material parental y que su diferenciación se puede realizar principalmente por el color y textura.

Grado de erosión: a medida que un suelo se erosiona, comienza a perder el horizonte superficial incrementándose con ello el estado de pobreza en nutriente para las plantas. Cuando el grado de erosión es muy fuerte, se forman grandes

cárcavas cuyo fondo es el subsuelo o la roca madre. Para separar terrenos por grado de erosión, existen varios términos como los de erosión laminar, en suecos, en cárcavas; o erosión ligera, moderada, severa o muy severa. El encargado de hacer el muestreo, debe distinguir y separar unidades de muestreos de acuerdo con estos conceptos.

Manejo: se deben tener en cuenta el cultivo, el tiempo del mismo, las rotaciones, los fertilizantes, abonos y/o enmiendas aplicadas, las labranzas realizadas, tipos, frecuencias etc. En síntesis realizar todas las averiguaciones necesarias para conocer la historia del potrero o lote a muestrear.

Tipo de muestra de suelos:

Muestra simple: es una única muestra que representa a una unidad, área o lote. De cada una de estas unidades, si la superficie total es reducida menos de cinco hectáreas, se puede obtener una muestra simple que representa a esa área de cinco hectáreas.

Muestra compuesta: es una mezcla de varias muestras simples o submuestras, que se toman al azar, en áreas que presentan uniformidad. Los análisis de suelos realizados sobre muestras compuestas, son equivalentes a las medias de muestras individuales o simples (Prause, 2006).

Determinación de la actividad de la enzima fosfatasa ácida

El fósforo (P) es un elemento esencial para la nutrición de las plantas ya que interviene en la fotosíntesis, respiración, almacenamiento y transferencia de energía, división y crecimiento celular (Black, 1992). El P es un elemento constitutivo de los tejidos vegetales, así como de todos los tejidos vivientes. Es indispensable para la actividad biológica y desempeña un papel esencial como transportador de energía en la síntesis de las proteínas celulares, en el metabolismo de los glúcidos, en la génesis del almidón y de los diversos polisacáridos. Entre los tres elementos principales nitrógeno, fósforo y potasio el (P) es requerido por las plantas generalmente en menores cantidades, sin embargo, su estudio ha adquirido gran importancia a causa de la baja disponibilidad de este elemento en la mayoría de los suelos llevándolo a formas

no asimilables. Al P del suelo se lo encuentra en dos formas: fósforo inorgánico (PI) y fósforo orgánico (Po). El (PI) se lo encuentra en el suelo como: a) (P) soluble siendo aprovechado en forma inmediata por las plantas. b) (P) lábil que se encuentra en equilibrio con los fosfatos de la solución y los compuestos coloidales del suelo, pasando a formas no disponibles por fijación, adsorción, precipitación y oclusión. c) (P) no lábil, constituido por minerales primarios y secundarios que constituyen la gran reserva inorgánica del suelo y son de liberación muy lenta (Fassbender & Bornemisza, 1987; Rooney *et al.*, 2009). El Fósforo orgánico (Po) es abundante en los suelos y puede contribuir a la nutrición de plantas y microbios después de la hidrólisis y la liberación de fosfatos libres (Condron *et al.*, 2005). Es una importante reserva de (P) y puede representar en algunos casos entre el 23 y el 47% del P total de un suelo (Sanyal & De Datta, 1991). En sistemas biológicos, la mayoría de las reacciones están catalizadas por enzimas, que son un tipo especial de proteínas que se combinan con un sustrato específico y actúan para catalizar una reacción bioquímica, sin experimentar cambios en su estructura; en términos generales las enzimas en el suelo son esenciales para la transformación de energía y ciclaje de nutrientes, cumplen un papel vital tales como la mineralización, la inmovilización de nutrientes, y la fijación biológica del nitrógeno entre otros(Dick & Tabatabai 1993). Específicamente en relación con la mineralización, las enzimas participan en la transformación de compuestos orgánicos complejos a sustancias asimilables por las plantas que catalizan las etapas limitantes en la mineralización de nutrientes. La mineralización de (Po) es llevada a cabo por un grupo de enzimas conocidas como fosfatases o fosfohidrolasas, que catalizan la hidrólisis de ésteres y de anhídridos de ácido fosfórico (Nahas, 2002). De las fosfatases presentes en el suelo, las fosfomonooesterasas o fosfatases ácidas y alcalinas han sido extensamente estudiadas debido a que una importante cantidad de los compuestos de (Po) presentes en el suelo se encuentran en forma de monoésteres (Oberson *et al.*, 1996).Las enzimas de suelo son producidas por plantas, animales y microorganismos y pueden estar presentes en células muertas y restos celulares que son absorbidos por arcillas e incorporados en sustancias húmicas. Debido a que las enzimas son difíciles de extraer de los suelos y usualmente pierden su integridad, son caracterizadas midiendo su actividad bajo una estricta serie de condiciones controladas, por ejemplo temperatura, pH buffer

y concentración de sustrato. Por lo tanto una enzima se estudia midiendo su actividad potencial y no su actividad *in situ*. La mayoría de los estudios sobre la actividad enzimática se han efectuado en la capa superficial, donde es de esperar que sea mayor (Sudhahar *et al.*, 2004). Los valores de actividad de las fosfatasas ácidas en los suelos, según la bibliografía, oscilan, en suelos con humedad de campo entre 23 a 2100 µg p-nitrofenol g⁻¹.h⁻¹ y suelos secados al aire entre 80 y 1112 µg p-nitrofenol g⁻¹.h⁻¹. (Dick., *et al*1996). En la región noreste existen numerosos trabajos referidos a la actividad de las fosfatasas en distintos suelos: forestados con quebracho colorado en la provincia del Chaco y en suelos de las provincias de Misiones y Corrientes bajo diferentes cultivos forestales, agrícolas e industriales cuyos autores son (Toledo *et al.*, 2015; Arzuaga *et al.*, 2010; Toledo *et al.*, 2010).

OBJETIVOS GENERALES

Adquirir experiencia en el muestreo de suelos y acondicionamiento de muestras, así como también en la preparación de drogas de laboratorio y el análisis de la actividad de la enzima fosfatasa ácida en suelos de la región Nordeste.

LUGAR DE TRABAJO

Muestreo de Suelos

Se realizó dos muestreos de suelo, uno en la Estación Experimental del INTA - El Sombrerito y otro en la EEA INTA Colonia Benítez.

Determinación de actividad enzimática

La determinación de la actividad enzimática se realizó en Laboratorio de Suelos de la Cátedra de Edafología (Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE).

DESCRIPCIÓN DE LAS TAREAS DESARROLLADAS

El trabajo desarrollado en la Pasantía se dividió en distintas etapas:

- 1) Toma de muestras del suelo.
- 2) Acondicionamiento de las muestras de suelos.

- 3) Preparación de las drogas para la determinación de la actividad de enzima fosfatasa ácida.
- 4) Determinación de la actividad de la fosfatasa ácida.
- 5) Obtención de resultados, confección de planillas.

1. MUESTREO DE SUELOS

Materiales:

Pala
Cuchillo
Bolsa plástica
Etiquetas
Hilo de algodón
Cinta métrica

Experiencia en el muestreo de suelos:

Dentro del proyecto “Aporte y Descomposición de Hojarasca de *Pinus elliotii* y *Eucaliptus grandis* y su influencia en las propiedades del suelo en el parque chaqueño”, llevado a cabo por la Cátedra de Edafología en Colonia Benítez, provincia del Chaco, se realizó un muestreo de suelos localizándose dos parcelas forestadas con más de 30 años de implantadas y un marco de plantación de 4 x 4 metros, una con *Pinus elliotii* y otra con *Eucalyptus grandis*, seleccionándose cinco árboles de cada especie forestal, de similar tamaño y estado sanitario. Además, se ubicaron dos parcelas con vegetación natural de gramíneas y ciperáceas, próximas a cada una de las forestaciones, que se tomaron como testigos. En cada parcela forestada se extrajeron cinco muestras a dos profundidades: de 0 a 7 centímetros y de 7 a 25 centímetros y tres muestras en las parcelas testigo (vegetación natural) a igual profundidad. En cada forestación se tomó un testigo porque los sitios de cada una de ellas pertenecían a diferentes series de suelo y se encontraban ubicadas en situación de relieve diferentes.

El suelo forestado con *Pinus sp* pertenece a las serie Resistencia, con las siguientes características: Es un Argiudol típico que se encuentra entre albardones, lomas medias de relieve normal, tiene un horizonte superficial de textura franco limosa.

Sus problemas principales son pendientes cortas, con riesgo de erosión hídrica y acidez. Su capacidad de uso es Clase II.

El suelo forestado con *Eucalyptus grandis* pertenece a la serie Rio Negro, con las siguientes características: Es un Apiacualf mólico que se encuentra en bajos tendidos, cerrados y playas de esteros de relieve subnormal, tiene un horizonte superficial de textura franco arcillo limosa. Sus problemas principales son acidez y anegabilidad. Su capacidad de uso es Clase V. (Ledesma 1995).

Dentro del proyecto “Cambios edáficos producidos por sistema de labranza y secuencia de cultivos en un Argiudol de Corrientes” llevado a cabo en el INTA El Sombrerito, se estableció un ensayo sobre un suelo Argiudol Argiácuico. El diseño utilizado fue de parcelas (140 m^2) completamente aleatorizadas en un arreglo factorial, los factores fueron: a) Sistemas de labranzas: convencional, reducida y cero, y b) secuencia de cultivos: maíz-avena negra, maíz-descanso, algodón-avena negra y algodón-descanso. En cada parcela se tomaron dos muestras compuestas de suelo a dos profundidades: 0-7 y de 7-20 cm. Dichas muestras de suelo fueron acondicionadas en el laboratorio para realizar análisis físicos, físico-químicos y químicos.

Obtención de las muestras:

Se separó cuidadosamente la cobertura vegetal del suelo, los rastrojos y la hojarasca que estaba sobre la superficie, con una pala se abrió un pozo de tal modo que nos permitió realizar el muestreo a la profundidad deseada, se extrajo una porción de suelo de 10 cm de espesor y manteniéndola sobre la pala se eliminaron los bordes laterales, de manera que la parte seleccionada quedará con 10 cm de ancho y la longitud igual a la profundidad de muestreo, luego se embolsó en bolsas plásticas atándolas con un hilo de algodón y colocándoles una etiqueta que indica el tratamiento, el número de muestra, el número de la parcela, y la profundidad.



Figura 01: muestreo de suelo a la primer profundidad (0-7 cm).

Figura 02: muestreo de suelo a la primer profundidad (7-25 cm).

2. ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS

El manejo de las muestras de suelos en el laboratorio implicó: entrada y registro de la muestra, acondicionamiento, que consistió de los siguientes pasos: secado, molienda, tamizado y conservación de las mismas para luego realizar en ellas los análisis correspondientes.

Materiales:

Libro de registro de muestras

Habitación ventilada

Bandejas plásticas

Papel diario

Tamices de distinto diámetro

Mortero y pistilo

Bolsas plásticas y etiquetas

Estufa de aire forzado

a. Secado:

Una vez llegadas las muestras al laboratorio, se colocaron en bandejas de plástico para su secado al aire y en el caso de necesitar un secado más rápido se colocaron en una estufa de aire forzado a 40°C, hasta que alcanzaron peso constante. Este procedimiento es de fundamental importancia para evitar los cambios que se producen en el estado químico de los iones y la materia orgánica del suelo, si las muestras se almacenaran estando húmedas.



Figura 03: Estufa para el secado de muestras.



Figura 04: Muestras secándose en estufa

b. Molido y Tamizado:

Una vez secas las muestras de suelo se eliminaron con la mano las partículas más gruesas, grava, raíces grandes u otras impurezas. Luego se procedió a la molienda de las mismas con un mortero y pistilo evitando romper las partículas más gruesas como la grava; una vez terminado este procedimiento se realizó el tamizado de las muestras utilizando un tamiz Nº 10 de malla de 2 mm, obteniéndose dos porciones diferentes de suelo: la que quedó retenida en el tamiz que fue descartada (material mayor que 2 mm), y la porción que pasó por el mismo (partículas con diámetro de 2 mm o menor a 2 mm), siendo esta última llamada en el laboratorio “tierra fina”, en la cual se realizan la mayoría de los análisis de laboratorio. Por último se procedió a embolsar y etiquetar las muestras.



Figura 05: proceso de molido del suelo con mortero y pistilo.

Figura 06: tamizado del suelo mediante tamiz nº 10.

3. PREPARACIÓN DE LAS DROGAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.

Reactivos

- **Tolueno:** Grado puro $C_6H_5CH_3$
- **Solución Buffer Modificada (MUB) a pH 6,5**

Se pesó:

12,1 grs. de Tris hydroxymetilaminomethano (THAM)

11,6grs de ácido málico

14,0grs de ácido cítrico

6,30 gr de ácido bórico

Todo esto se disolvió en 488ml de NaOH 1M luego se llevó a volumen de 1000ml con agua destilada. Para llevar la solución buffer (MUB) a pH 6,5 se usó un matraz de 500 ml en el cual se colocó 200 ml de MUB (solución stock) agitando con un agitador magnético se adicionó ClH 0,1 M para llevar el pH hasta 6,5 luego, se llevó a volumen con agua destilada. Esta solución se conservó en heladera.

- **Cloruro de calcio($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)0,5 Molar:**

Se pesó 7,35 gr de ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) se lo introdujo en un vaso de precipitado y con la ayuda de una varilla de vidrio se disolvió completamente con agua destilada caliente, luego se trasvasó a un matraz aforado de 100 ml llevándolo a volumen con agua destilada, por último fue filtrado.



Figura 07: Preparación del CaCl_2 0,5 Molar

- **Hidróxido de sodio (NaOH) 0,5 Molar:**

Se pesó 20 gr de NaOH al estado puro se lo introdujo en un vaso de precipitado y con la ayuda de una varilla de vidrio se lo disolvió completamente con agua destilada, luego se trasvaso a un matraz aforado de 1000 ml llevándolo a volumen con agua destilada.

- **P-Nitrofenol solución estándar:**

Se disolvió 1gr de p-nitrofenol en 700 ml de agua destilada luego se llevó a volumen de 1000 ml. Esta solución se conservó en heladera.

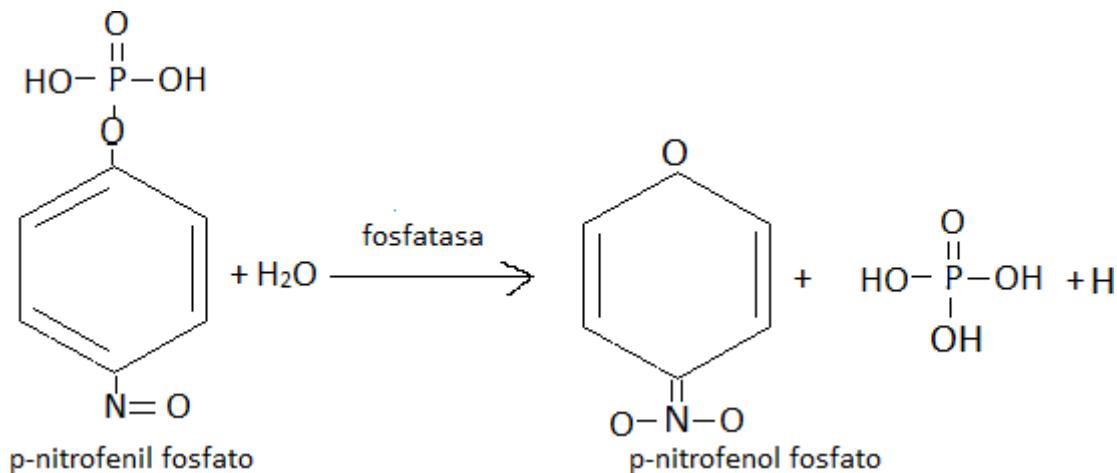
- **P-Nitrofenil fosfato (PNP) 0,05 Molar:**

Se disolvió 0,84 gr de disodium P-Nitrofenil fosfato tetrahidratado en 40 ml de MUB a pH 6,5 luego, se llevó a volumen de 100ml con la solución estándar MUB a pH 6,5. Esta droga se conservó en heladera a 4 °C.

4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA FOSFATASA ÁCIDA

El método utilizado para medir la actividad de las fosfatasas ácidas se basa en la incubación del suelo durante 1 hora, a 37°C, con p-nitrofenil fosfato, como sustrato, en presencia de una solución buffer de pH 6,5. Se extrae el p-nitrofenol liberado con una solución de NaOH 0,5 M previo agregado de CaCl₂ para prevenir la dispersión de los coloides de arcilla y materia orgánica. El p-nitrofenol liberado se lee en un fotocolorímetro a 410 nm. (Dick et al., 1996).

La base teórica de la metodología es la siguiente:



a. Procedimiento

En frascos de 100 ml se pesó 1 g de suelo al cual se le adicionó 0.2 ml de Tolueno, 4 ml de solución buffer a pH 6,5 (MUB) y 1 ml de p-nitrofenil fosfato 0,05 M, se agitó unos segundos y luego se incubó en estufa a 37 °C durante 1 hora. Luego, se sacaron los frascos de la estufa y se los dejó llegar a temperatura ambiente; se añadió 1 ml de CaCl₂ 0,5 M y 4 ml de NaOH 0,5 M, en cada uno agitando unos segundos y filtrando mediante papel Whatman N° 2 (o similar), obteniendo un filtrado en el cual medimos la intensidad del color amarillo generada por el p-nitrofenol.

El fotocolorímetro se calibró a 410 nm para realizar las lecturas. Para calcular el p-nitrofenol contenido en el filtrado se compara con una curva de calibración realizada con patrones estándares conteniendo 0-10-20-30-40-50 microgramos de p-nitrofenol.

b. Curva de calibración

En un matraz aforado de 100 ml se diluyó 1 ml de solución estándar de sal de p-nitrofenol llevándose a volumen con agua destilada. Luego se tomaron alícuotas de 0-1-2-3-4 y 5ml de dicha sal estándar en recipientes de 50 ml a los que se adicionó 1 ml de CaCl_2 0,5 M y 4 ml NaOH 0,5 M, llevando a volumen de 10 ml con agua destilada, se mezcló y filtró para realizar las lecturas de los patrones y así confeccionar la curva de calibración.

Cuando la intensidad del color en el filtrado de la muestra excede la del patrón de 50 μg de p-nitrofenol estándar, se debe tomar una alícuota de la muestra problema y llevarla a un volumen de 10 ml con agua destilada, para hacer nuevamente la lectura, cuidando que la misma se encuentre dentro del rango de la curva de calibración.



Figura 08: Filtrado de muestras post incubación.

Figura 09: Lectura del p-nitrofenol liberado usando un fotocolorímetro calibrado a 410nm.

Para comenzar a realizar las lecturas se calibró el fotocolorímetro llevándolo a 410 nanómetros, luego se llevó a cero de absorbancia, finalizada esta operación comenzamos a leer las muestras, al mismo tiempo se anotan en un cuaderno las lecturas, confeccionándose una planilla con dichos valores, finalizada esta actividad se procedió a cargar los datos en una planilla de cálculo Excel.

Para expresar los valores de la actividad enzimática en microgramos liberados de p-nitrofenol por gramo de suelo por hora se aplicó la siguiente fórmula:

$$AE = \left(\frac{Lx}{P} \right) * C * Fc =$$

Dónde:

AE= Actividad enzimática expresada en microgramo de p-nitrofenol liberado por gramos de suelo por hora.

Lx=Lectura problema

P= peso del suelo incubado.

C= volumen final =10 ml

F_c= C_p/L_p

C_p= concentración patrón

L_p= Lectura patrón

5. RESULTADOS OBTENIDOS

En el laboratorio se realizó el análisis de cada muestra por duplicado confeccionando las tablas con el promedio de los valores obtenidos por tratamiento y profundidad, expresando el valor de la actividad enzimática en microgramos liberados de p-nitrofenol por gramo de suelo por hora.

Tanto la producción vegetal como la calidad del suelo dependen en gran medida de múltiples y diversas reacciones de los microorganismos y de las enzimas, que se encuentran en la zona de mayor actividad radical.

Tabla 1. Actividad de la fosfatasa ácida en suelos bajo forestación de *Eucalyptus grandis* y pastizal natural (testigo).

Tratamiento	Muestras	Profundidad (cm)	Fosfatasa $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
Pastizal	1	0-7	209,55
Pastizal	1	7-25	128,98
Pastizal	2	0-7	248,19
Pastizal	2	7-25	123,72
Pastizal	3	0-7	216,06
Pastizal	3	7-25	130,45
<i>Eucalyptus grandis</i>	1	0-7	279,29
<i>Eucalyptus grandis</i>	1	7-25	113,50
<i>Eucalyptus grandis</i>	2	0-7	152,01
<i>Eucalyptus grandis</i>	2	7-25	102,46
<i>Eucalyptus grandis</i>	3	0-7	253,02
<i>Eucalyptus grandis</i>	3	7-25	111,13
<i>Eucalyptus grandis</i>	4	0-7	212,18
<i>Eucalyptus grandis</i>	4	7-25	107,18
<i>Eucalyptus grandis</i>	5	0-7	239,73
<i>Eucalyptus grandis</i>	5	7-25	113,77

Tabla 2. Actividad de la fosfatasa ácida en suelos bajo forestación de *Pinus sp* y pastizal natural (testigo).

Tratamientos	Muestras	Profundidad (cm)	Fosfatasa $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
Pastizal	1	0-7	231,34
Pastizal	1	7-25	137,57
Pastizal	2	0-7	361,40
Pastizal	2	7-25	159,58
Pastizal	3	0-7	305,88
Pastizal	3	7-25	155,36
<i>Pinus sp</i>	1	0-7	269,95
<i>Pinus sp</i>	1	7-25	138,98
<i>Pinus sp</i>	2	0-7	409,86
<i>Pinus sp</i>	2	7-25	121,85
<i>Pinus sp</i>	3	0-7	294,72
<i>Pinus sp</i>	3	7-25	181,69
<i>Pinus sp</i>	4	0-7	363,05
<i>Pinus sp</i>	4	7-25	88,78
<i>Pinusspp</i>	5	0-7	433,47
<i>Pinusspp</i>	5	7-25	106,75

En todos los tratamientos la actividad de la fosfatasa ácida fue mayor en la capa superficial y disminuyó conforme se avanzaba en la profundidad del perfil, ya que el contenido de materiales orgánicos y la densidad radical de las plantas es menor al aumentar la profundidad, lo mismo sucede con la actividad microbiana, similar a lo hallado por (Toledo *et al.*, 2010).

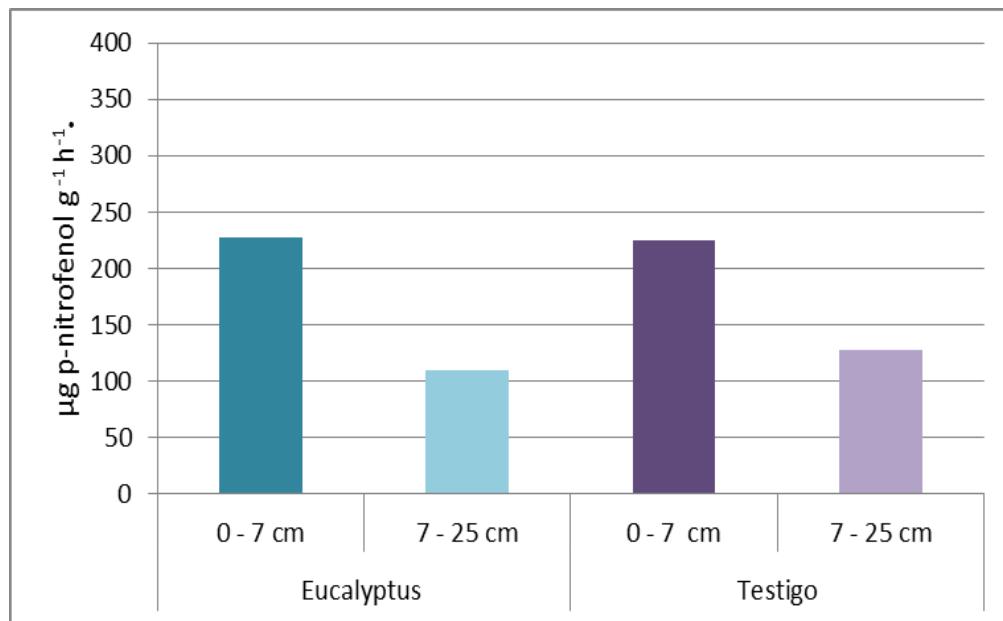


Figura 10: Actividad de la fosfatasa ácida en suelos bajo forestación de *Eucalyptus grandis* y pastizal natural (testigo) a profundidades de 0-7 cm y 7-25cm.

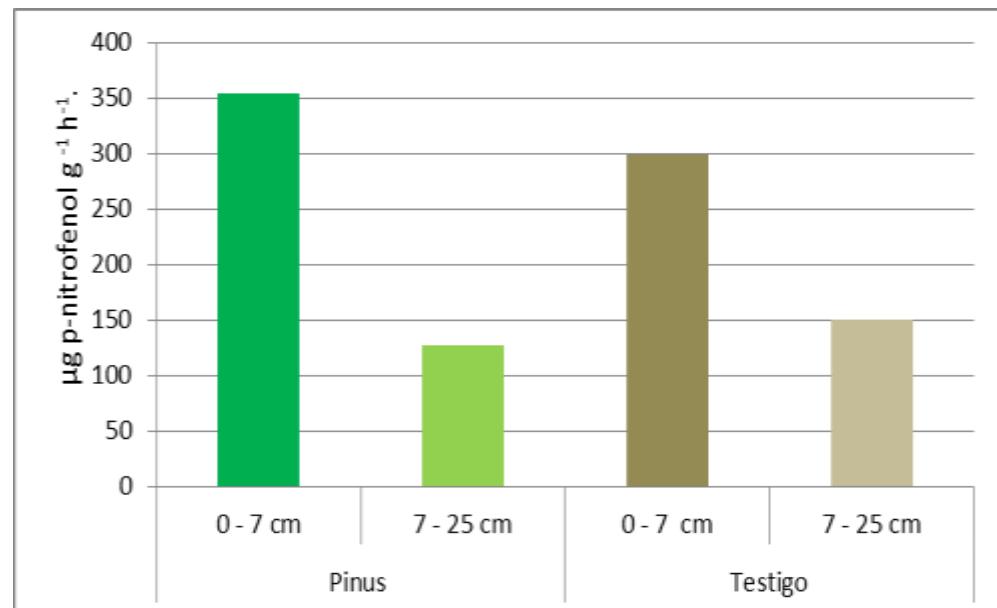


Figura 11: Actividad de la fosfatasa ácida en suelos bajo forestación de *Pinus* sp, y pastizal natural (testigo) a profundidades de 0-7 cm y 0-25cm.

Al comparar los gráficos de la figura 10 y 11, observamos que la actividad enzimática es mayor en la parcela forestada con *Pinus* y su respectivo testigo, en comparación a la parcela forestada con *Eucalyptus*, y su testigo. Esto podría deberse a la diferencia en los tipos de suelo de cada una de ellas, ya que el suelo de la parcela forestada con *Eucalyptus* pertenece al orden Alfisol, son suelos lavados con bajo contenido de materia orgánica y los forestados con *Pinus* pertenecen al orden Molisol, tienen alto contenido de materia orgánica, nitrógeno y poseen una buena relación aire-agua; las fosfatas ácidas aumenta su actividad al aumentar la materia orgánica el nitrógeno y la aireación del suelo, debido a esto es un parámetro biológico para estudiar la calidad del suelo.

6. CONCLUSIÓN DE LA PASANTÍA

En el trabajo se cumplieron todos los objetivos planteados. En el mismo se tomaron muestras de suelos bajo distintas situaciones de uso agrícola y forestal, siguiendo técnicas adecuadas para la correcta obtención de las muestras, que posteriormente fueron acondicionadas en el laboratorio de la cátedra de edafología.

Se obtuvo práctica en el laboratorio, donde se adquirió experiencia en la preparación de drogas que fueron usados para la determinación de la actividad de la fosfatasa ácida, realizando un buen adiestramiento de la metodología empleada. Todo lo realizado sirvió para obtener experiencia profesional, y comprender la importancia que tiene el trabajo en equipo para el intercambio de conocimientos en lo que concierne al tema específico y a los adquiridos durante la formación de la profesión.

7. BIBLIOGRAFÍA:

- Arzuaga, SA; Toledo, MD & Vazquez, S. 2010. Modelos de predicción para la actividad de la fosfatasa ácida en suelos rojos de Misiones. XXII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Rosario, Argentina.
- Black, CA. 1993. Soil Fertility Evaluation and Control. In: TW and S Yamasaki. (eds.). Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA.
- Condron, M; Turner, B & Cade-Menun, BJ. 2005. Chemistry and Dynamics of Soil Organic Phosphorus. In: Sims, T and Anspharpley. (eds.). Phosphorus: Agriculture and the Environment, Madison (Wisconsin, USA) 7 American Society of Agronomy.
- Dick, RP; Break well, DP & Turco, RF. 1996. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: JW Doran & AJ Jones (Eds.). Methods for assessing Soil Quality. Soil Science Society of America, Spec. Publ. 49.Madison. WI. Pp247-271.
- Doran, JW; Sarrantonio, M & Liegbig, MA. 1996. Soil health and sustainability. Advances in Agronomy 56: 1-54.
- Fassbender, HW & Bornemisza, E. 1987. Química de Suelos, con énfasis en suelos de América Latina. Instituto interamericano de cooperación para la Agricultura. Editorial IICA. San José, Costa Rica. Pp420.
- Nannipieri, P; Ascher J; Ceccherini, MT; Landi, L; Pietramellara, G & Renella, G. 2003. Microbial diversity and soil functions. European Journal of Soil Science 54: 655-670.
- Nahas, E; Centurion, JF & Assis, LC. 1994. Efeito das características químicas dos solos sobre os microrganismos solubilizadores de fosfatos e produtores de fosfatases. Revista Brasileira de Ciência do Solo 18: 43-48.
- Ledesma, L. 1995. Los suelos de la EEA Colonia Benítez (Chaco). INTA- EEA Sáenz Peña. Pp. 23.

-Oberson, A; Besson, JM; Maire, N & Sticher, H. 1996. Microbiological processes in soil organic transformations in conventional and biological cropping systems. BiolFertilSoils 21: 138-148.

-Picone, LI. 2015. El ambiente físico químico del suelo relacionado con la fertilidad. En: H. E Echeverría y F. O. García (eds.). Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos. Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina. Pp31-51.

-Prause, J. 2006. Muestreo de Suelos Análisis de suelos. Técnicas de muestreo de suelos, aguas y plantas: Bases prácticas para la fertilización. Librería de la Paz. Pp. 11-23.

-Quiquampoix, H & Mousain, D. 2005. Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus. In: Turner, BL; Frossard, E & Baldwin, DS. (eds.). Organic Phosphorus in the Environment. CABI Publishing, Wallingford, Pp. 89-112.

-Rooney, D & Clipson, N. 2009. Phosphate addition and plant species alters microbial community structure in acidic upland grassland soil. Microb. Ecol. 57: 4-13.

-Sanyal, SK & De Datta, SK. 1991. Chemistry of phosphorus transformations in Soil Adv. Soil Sci., 16: 1-120.

- Sudhahar, V & Venkatesan, S. 2004. Influence of temperature and moisture on urea hydrolysis of tea soils. J. Plant Crops 32: 253-256.

-Toledo, M; Dalurzo, HC; Vazquez, S. 2010. Fosfatasa ácida en Oxisoles bajo cultivo de tabaco. Revista de la Ciencia del Suelo de la Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo. Vol. 28. Nº 1: 33-38. Julio de 2010. ISSN 0326-3169.

-Toledo, DM; Arzuaga, SA; Contreras Leiva, SM & Vazquez, S. 2015. Biological indicators of soil quality in natural and cultivated subtropical systems. Journal of Advances in Agriculture. Vol. 4. Nº 2. ISSN 2349-0837.