



Universidad Autónoma del
Estado de México

Facultad de Ciencias



ACTIVIDAD RESPIRATORIA Y ENZIMÁTICA EN
SUELO DE CULTIVO DE ALBAHACA (*Ocimum
basilicum*) ENMENDADO CON LOMBRICOMPOSTA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

Presenta:

VICTOR HENOK COLÍN VELÁZQUEZ

Asesores de tesis:

DR. PEDRO DEL AGUILA JUÁREZ

DR. JORGE ALBERTO LUGO DE LA FUENTE

DICIEMBRE DE 2018

AGRADECIMIENTOS

Tras estos años de extenso trabajo quiero agradecer a todas y cada una de las personas que han aportado en mayor o menor medida para la elaboración de esta tesis:

- Agradezco a mis directores de tesis, el Dr. Pedro del Águila Juárez y el Dr. Jorge Alberto Lugo de la Fuente, por brindarme su apoyo incondicional desde que entre a la carrera de Biotecnología, por compartir desinteresadamente sus conocimientos, consejos, paciencia y comprensión.
- Agradezco a la Dra. Andrea Yazmin Guadarrama Lezama, por el apoyo brindado para poder realizar parte de mi proyecto en su laboratorio.
- A cada uno de los profesores de la licenciatura por haber hecho un cambio positivo en mí y cada uno de sus consejos.
- A cada uno de los compañeros tesistas del laboratorio de Edafología y ambiente de la Facultad de Ciencias, por sus consejos, enseñanzas, compañía y hacer que el tiempo de trabajo fuera agradable.

DEDICATORIAS

- A mis padres Victor Colín Cordoba y Beatriz Velázquez Jiménez. He llegado a esta etapa gracias a ustedes, gracias por su paciencia y comprensión, porque a pesar de las dificultades siempre estuvieron a mi lado dando su máximo esfuerzo. Esta tesis también es de ustedes.
- A mis hermanas Lisset y Paola, ustedes son una parte importante en mi vida, me han enseñado lecciones que nunca olvidare, gracias por su apoyo.
- A mi mejor amiga Samanta, por acompañarme en esta aventura de la licenciatura, por regarme grandes momentos y recuerdos que perduraran por siempre.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	1
Capítulo 1: MARCO TEÓRICO	3
1.1: El suelo y su importancia agrícola	3
1.1.1: El suelo	3
1.1.2: Propiedades del suelo	3
1.1.3: Importancia agrícola	4
1.2: Propiedades biológicas del suelo	6
1.2.1: Actividad respiratoria	6
1.2.2: Actividad enzimática	7
1.2.2.1: Catalasa	9
1.2.2.2: Ureasa	9
1.3: El uso de enmiendas orgánicas	10
1.4: El lombricomposteo de residuos orgánicos	13
1.4.1: Definición de lombricomposta	13
1.4.2: Propiedades de la lombricomposta	16
1.4.3: Fases del proceso de lombricomposteo	16
1.4.4: Uso de la lombricomposta: Biorremediación	17
1.5: Cultivo de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i>)	18
1.6: Antecedentes de estudios realizados	19
Capítulo 2: JUSTIFICACIÓN, OBJETIVOS E HIPÓTESIS	22
2.1: Justificación	22
2.2: Objetivo general	22

2.2.1: Objetivos particulares	22
2.3: Hipótesis	22
Capítulo 3: METODOLOGÍA	23
3.1: Obtención de la muestra	23
3.2: Sitio de trabajo y montaje del experimento	24
3.3: Análisis fisicoquímico del suelo de cultivo de albahaca enmendado con lombricomposta de acuerdo a la norma NMX-FF-109-SCFI-2007	25
3.3.1: pH	25
3.3.2: Conductividad eléctrica	26
3.3.3: Materia orgánica	26
3.4: Análisis biológico del suelo de cultivo de albahaca enmendado con lombricomposta	26
3.4.1: Actividad respiratoria	26
3.4.1.1: Determinación de humedad	27
3.4.2: Actividad enzimática	27
3.4.2.1: Determinación de catalasa por el método Johnson-Temple (1994) y medición de H ₂ O ₂ residual mediante permanganometría	27
3.4.2.2: Determinación de ureasa por el método propuesto por Tabatai y Bremen (1964)	28
3.5: Análisis estadístico	29
Capítulo 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1: Análisis fisicoquímico de los tratamientos de cultivo enmendados con lombricomposta	30
4.1.1: pH de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en los dos tiempos de muestreo	30
4.1.2: Conductividad eléctrica de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en los dos tiempos de muestreo	32
4.1.3: Materia orgánica de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en los dos tiempos de muestreo	34

4.2: Actividad respiratoria	36
4.3: Actividad enzimática	40
4.3.1: Catalasa	40
4.3.2: Ureasa	44
CONCLUSIONES	48
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	49
ANEXOS	54

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<i>TABLAS</i>	Pág.
Tabla 1: Contenido de metales pesados en el lodo residual para uso en lombricomposta (Del Aguila, 2011).	12
Tabla 2: Efecto de la aplicación de abonos orgánicos sobre las propiedades físicas del suelo (Cadahia, 2005)	13
Tabla 3: Composición de los tratamientos de suelo de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta.	25
<i>FIGURAS</i>	
Figura 1: Transformación de los residuos orgánicos bajo acción microbiana (Mineralización y humificación).	15
Figura 2: pH de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo inicial de muestreo (trasplante de la albahaca a la maceta).	31
Figura 3: pH de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo final de muestreo (80 Días, primer corte de la albahaca).	32
Figura 4: CE de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo inicial de muestreo (trasplante de la albahaca a la maceta).	33
Figura 5: CE de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo final de muestreo (80 Días, primer corte de la albahaca).	34
Figura 6: (%) MO de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo inicial de muestreo (trasplante de la albahaca a la maceta).	35
Figura 7: (%) MO de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo final de muestreo (80 Días, primer corte de la albahaca)	36
Figura 8: Actividad respiratoria de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo inicial (trasplante de la albahaca a la maceta).	37

Figura 9: Actividad respiratoria de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo final (80 Días, primer corte de la albahaca).	38
Figura 10: Comparación de la actividad respiratoria entre los dos tiempos de muestreo.	39
Figura 11: Actividad enzimática de catalasa de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo inicial (trasplante de la albahaca a la maceta).	41
Figura 12: Actividad enzimática de catalasa de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo final (80 Días, primer corte de la albahaca).	42
Figura 13: Comparación de la actividad enzimática de catalasa entre los dos tiempos de muestreo.	43
Figura 14: Actividad enzimática de ureasa de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo inicial (trasplante de la albahaca a la maceta).	45
Figura 15: Actividad enzimática de ureasa de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo final (80 días, primer corte de la albahaca).	46
Figura 16: Comparación de la actividad enzimática de ureasa entre los dos tiempos de muestreo.	47

RESUMEN

El uso de enmiendas orgánicas como son la lombricomposta hechas de residuos orgánicos convencionales (estiércol equino) y no convencionales (lodo residual municipal) ayudan a sustituir el uso de fertilizantes químicos en los cultivos y estos benefician las características físicas y químicas del suelo.

El propósito de este trabajo fue determinar el efecto que presenta la adición de dosis de lombricomposta hecha con estiércol equino y lodo residual en la actividad respiratoria y enzimática en un suelo cultivado con albahaca en invernadero.

Para esto se trabajó con cinco tratamientos de suelo de cultivo de albahaca (*Ocimum basilicum*): dos controles, uno positivo que consistió en suelo agrícola, uno negativo que se compuso de sustrato agrícola (peatmus) y tres dosis de lombricomposta (20, 40 y 60 T/ha) con seis repeticiones cada tratamiento a nivel invernadero.

Las muestras de suelo se tomaron a los primeros 15 cm de profundidad en cada maceta a dos distintos tiempos: tiempo inicial (a los cero días, antes del trasplante de la planta de albahaca) y tiempo final (a los 80 días del crecimiento de la planta, periodo del primer corte). El muestreo fue de tipo preferencial para los análisis de los parámetros fisicoquímicos y biológicos.

Los resultados del suelo con diferentes dosis de lombricomposta muestran que los parámetros de pH (7.11 ± 0.52), conductividad eléctrica (1.68 ± 0.43) y materia orgánica (23.6 ± 1.38) están dentro del rango de la norma NMX-FF109-SCFI-2007.

Respecto a los parámetros biológicos se encontró que la actividad respiratoria, en el tiempo inicial, los tratamientos (T40= 208.277 ± 23.15 mgCO₂/100gss y T60= 205.708 ± 22.42 mgCO₂/100gss) fue la mayor actividad respiratoria, en el tiempo final el tratamiento T40 (228 mg de CO₂ / 100gss) tuvo una tendencia mayor con respecto a T60 (216.917 ± 18.05 mgCO₂/100gss).

La actividad enzimática de la catalasa en el tiempo inicial ($F_{(4,25)} = 2.31$, $P > 0.05$), no se encontraron diferencias, pero se observó una tendencia de que el control positivo (0.033 ± 0.011 moles de H_2O_2/g h) era mayor seguida por los demás tratamientos. Para el tiempo final ($F_{(4,25)} = 6.46$, $P < 0.05$), el tratamiento T60 (0.0492 ± 0.013 moles de H_2O_2/g h) mostró el mayor incremento de la actividad de la enzima debido a la dosis de lombricomposta. Por consiguiente, el T60 cambió de 0.023 moles de H_2O_2/g h y se incrementó hasta 0.049 moles de H_2O_2/g h.

Por otra parte la actividad enzimática de la ureasa al inicio ($F_{(4,20)} = 3.04$, $P < 0.05$), los controles C⁻ (11.8403 ± 2.357 μg NH_4^+/g h) y C⁺ (11.2771 ± 1.994 μg NH_4^+/g h) presentaron la mayor actividad y después en el tiempo final la actividad de la ureasa ($F_{(4,20)} = 9.17$, $P < 0.05$), el T60 (14.6594 ± 1.2609 μg NH_4^+/g h) presentó la mayor actividad enzimática con respecto a los demás tratamientos.

Se estableció que T60 es una opción a sugerir para el cultivo de la albahaca al ser el tratamiento óptimo considerando sus resultados biológicos y bioquímicos estudiados.

Este estudio beneficia al suelo con una mayor biomasa microbiana, mejor disponibilidad de los nutrientes tanto para los microorganismos como para la planta y un mayor porcentaje de materia orgánica, logrando así que el suelo cuente con una mayor productividad.

INTRODUCCIÓN

La materia orgánica (MO) del suelo juega un papel importante en la fertilidad de este, por lo cual se ha estudiado en el mejoramiento de la productividad y de los suelos agrícolas, también, el empleo de la biotecnología durante el proceso de lombricomposteo hace que la MO tenga una estabilización que se considera una opción atractiva (Aspray, 2015).

El lombricomposteo consiste en un proceso biooxidativo que tiene como finalidad llevar a cabo el reciclaje de una gran variedad de residuos orgánicos (estiércol, purinas, residuos domésticos, entre otros), a través de la acción dinámica de la lombriz y de microorganismos con la finalidad de reducir la contaminación del ambiente (Kumar *et al.*, 2015).

La obtención de la lombricomposta puede ayudar al suelo ya que este es un ecosistema en donde habitan una gran cantidad de microorganismos que liberan una amplia gama de enzimas como son la celulasa, fosfatasa, proteasa, β -glucosidasa, catalasa, ureasa, entre otras, que cumplen la función de polimerizar diversos compuestos de origen orgánico y además pueden jugar el papel de indicadores de calidad ya que están presentes en el ciclo del carbono (C), en la descomposición debido a la gran la dinámica microbiana presente en el suelo que puede ayudar como indicadores de fertilidad del mismo (Valente, 2015).

Con base a lo anterior el suelo se considera el mayor almacén terrestre de C y forma un repositorio de reservas adicionales para la productividad primaria. La adición de materiales orgánicos a los suelos permite recuperar el C perdido por lo que se ve favorecido la dinámica de C de este.

Por otro lado, la presencia de los lodos residuales (LR) estabilizados como aporte de MO en suelos agrícolas beneficiará con nutrimentos al suelo y planta, sin dejar de lado la presencia de agentes patógenos, así como con contenidos de metales pesados que se encuentran en un LR estabilizado, estos deberán estar por debajo

de la permisibilidad normativa. Debido a que estos LR son de origen municipal los hace una opción de uso como mejoradores de suelo (Aspray, 2015).

Cabe mencionar que una mejora en el ambiente consiste en hacer uso de los biosólidos provenientes de los LR que son procesados mediante el lombricomposteo junto con los residuos orgánicos de tipo animal (equino) que permiten incrementar la productividad agrícola, aumentando también los contenidos de C orgánico disuelto (DOC) lábil y favoreciendo la estructura física del suelo, así como la parte química y biológica que conduce a la restauración de este y a un ambiente más sustentable.

1. MARCO TEORICO

1.1 EL SUELO Y SU IMPORTANCIA AGRÍCOLA

1.1.1 EL SUELO

El suelo es el producto del proceso de erosión de las rocas bajo condiciones muy diversas, tanto climáticas como de los materiales de origen. En esta zona se sustenta la vida vegetal y provee a estos de soporte mecánico y de nutrientes, es uno de los sitios más dinámicos y complejos en interacciones biológicas en la naturaleza y es el espacio donde se realizan la mayor parte de las reacciones bioquímicas implicadas en la descomposición de la MO y la nutrición de los cultivos agrícolas (Bandick, 1999).

El suelo se compone de materia mineral, agua, aire, materia orgánica y organismos vivos, clasificados en dos tipos:

1) **porción inorgánica:** aquellos elementos fijos y carentes de cualquier forma de vida, como son la materia orgánica y mineral, aire y agua.

2) **porción orgánica:** agrupa aquellos elementos dinámicos que poseen funciones biológicas y que son esenciales para la producción de cultivos y fertilidad del suelo, tales como microorganismos e invertebrados y vertebrados (Bandick, 1999).

1.1.2 PROPIEDADES DEL SUELO

Las propiedades del suelo se clasifican en físicas, químicas y biológicas, las cuales son influenciadas por procesos biogeoquímicos y sus variaciones determinan la calidad del suelo. Por lo que medir y relacionar algunas de estas propiedades nos permite crear un índice de calidad, el cual es una herramienta que nos brinda mayor información sobre las condiciones del suelo (Ramírez, 2007).

a) Propiedades físicas

Son las propiedades que determinan el movimiento del agua y aire dentro del suelo, así como la fuerza de sostén y facilidad para la penetración de las raíces de las plantas. La textura, estructura, densidad aparente y la estabilidad de agregados son ejemplos de dichas propiedades; estas determinan el comportamiento del agua y aire en el suelo, favoreciendo la fijación radicular y la presencia de microorganismos (Ramírez, 2007).

b) Propiedades químicas

Son las características que establecen las relaciones suelo-planta, la calidad del agua, la capacidad amortiguadora del suelo, así como la disponibilidad de agua y nutrimentos tanto para las plantas como para los microorganismos. Como ejemplo de estas tenemos al pH, la capacidad de intercambio catiónico, conductividad eléctrica y materia orgánica (Ramírez, 2007).

c) Propiedades biológicas

La actividad biológica del suelo está dominada por la actividad de los microorganismos, debido a los diferentes procesos que se llevan a cabo en el suelo, tales como la descomposición, traslado de nutrientes y agregación de partículas; por lo que la diversidad microbiana es elemental para el funcionamiento del suelo. La respiración microbiana y la actividad enzimática son ejemplos de estas propiedades (Ramírez, 2007).

1.1.3 IMPORTANCIA AGRÍCOLA

El suelo agrícola es aquel que tiene las características adecuadas para el desarrollo de la agricultura, es decir, que es propicio para el desarrollo de las plantas.

El suelo es un medio vivo y cambiante en el que interactúan dos procesos básicos para el ecosistema:

- Generación de biomasa
- Descomposición de los restos de biomasa (vegetales y animales) que se van incorporando al suelo.

Los suelos y la vegetación mantienen relaciones recíprocas, el contenido en nutrientes de una planta se relaciona directamente con el contenido en nutrientes en el suelo y su capacidad de intercambiar nutrientes y agua con las raíces de la planta, el crecimiento de la planta se ve afectado por las propiedades físicas del suelo, como la textura, la estructura y la permeabilidad (Valero *et al.*, 2010).

La degradación de los suelos agrícolas se relaciona directamente con la utilización excesiva de fertilizantes y plaguicidas, la eliminación de los residuos de las cosechas de la superficie del suelo y el empleo de maquinaria pesada.

Las acciones aplicables para la conservación de los suelos agrícolas contemplan la rotación de cultivos como eje central, y diversos enfoques intentan reducir o eliminar la aplicación de fertilizantes y/o plaguicidas, así como la perturbación mecánica de los suelos (agricultura orgánica, agricultura de conservación, no laboreo) (Valero *et al.*, 2010).

Cuando el suelo se encuentra provisto de numerosos nutrientes, entonces puede considerarse que es apto para el desarrollo de la agricultura. La materia orgánica es el valor que se debe tener en cuenta en los suelos agrícolas, ya que es el que determina la fertilidad de los suelos (Valero *et al.*, 2010).

El C orgánico del suelo presenta una gran diversidad de microorganismos y en él se realizan funciones metabólicas adecuadamente. La disminución de la MO hace que se presenten también una disminución de la fertilidad del suelo. Una manera para revertir este decremento es adicionar residuos orgánicos urbanos compostados a suelos agrícolas luego así se verá beneficiado la mejora del suelo y su fertilidad (Beesley, 2014).

Por ejemplo, los suelos arcillosos tienen mayor capacidad de combinarse con la MO que los suelos arenosos, lo que permite la formación de complejos de arcilla-humus y arcilla-enzima. Por el contrario, los suelos arenosos tienden a presentar

tasas más bajas de actividad enzimática debido a su baja formación de complejos con la MO, actividad microbiana y a una menor capacidad de retención de agua (Gispert, 2013).

1.2 PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL SUELO

1.2.1 ACTIVIDAD RESPIRATORIA

Se define como la producción de dióxido de carbono (CO_2) o consumo de oxígeno (O_2) como resultado de la actividad biológica en el suelo, esta es realizada por microorganismos, raíces vivas, y macroorganismos tales como lombrices, nematodos o insectos (Carpa, 2009).

La respiración es uno de los parámetros más frecuentemente usados para cuantificar la actividad microbiana en el suelo, ya que está directamente relacionada con la descomposición de residuos orgánicos provenientes de distintas fuentes. La actividad metabólica que realizan los microorganismos en cualquier proceso de descomposición puede ser cuantificada por medición de la producción de CO_2 o por el consumo de oxígeno (O_2) (Ciurli, 1999).

Esta actividad fisiológica promovida por microorganismos constituye un componente sustancial del flujo de CO_2 de la tierra a la atmósfera y se considera como uno de los mayores flujos en el ciclo global del carbono.

Los organismos que viven en el suelo son factores determinantes para la circulación de nutrientes y del carbono en el suelo. Una gran parte de la materia orgánica originada por la descomposición anual de los residuos vegetales se acumula en la superficie del suelo o en la zona radicular y se consume casi por completo por los organismos del suelo creando así una reserva de carbono con una rápida tasa de renovación, en muchos casos, entre 1 a 3 años.

Los subproductos de este consumo microbiano resultan en emisiones de CO_2 y agua (H_2O) y una variedad de compuestos orgánicos designados como humus. Los microorganismos del suelo (considerando en términos de sus emisiones de

respiración) muestran una alta sensibilidad al contenido de C orgánico en el suelo tal como a la temperatura y contenido de agua por lo que aumentan la respiración en suelos con contenidos elevados de C, temperaturas elevadas y condiciones más húmedas en el suelo (Valero, 2009).

1.2.2 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

La actividad enzimática es la medida de la cantidad de enzima activa presente y del nivel de actividad de esta, expresa la cantidad de sustrato convertido por unidad de tiempo, teniendo en cuenta el volumen de reacción. La unidad de actividad enzimática (U) es la cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1 μmol de sustrato en un minuto (Singh, 2012).

Las enzimas 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 nutrientes.

Debido a su naturaleza proteica pueden ser afectadas por factores ambientales como son la temperatura y el pH (Clark, 2007). 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 (Klimas, 2009).

Las enzimas intervienen en la mayoría de los procesos que tienen lugar en el suelo y las funciones que realizan son de gran importancia. Son responsables de la formación de moléculas orgánicas y particularmente tienen una participación vital en el ciclo nitrógeno, fósforo y carbono.

Estas cumplen un papel vital en procesos tales como la mineralización, inmovilización de nutrientes y fijación biológica de nitrógeno, entre otros (Carpa, 2009). 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, por la cual se relaciona su actividad con la liberación de nutrientes inorgánicos procedentes de la materia orgánica (Coyne, 2000).

Una parte de las enzimas de suelo son extracelulares, y liberadas durante el metabolismo y muerte celular, otras son intracelulares y que forman parte de la biomasa microbiana o bien están adsorbidas en la materia orgánica y en el sistema coloidal, lo cual sugiere que el suelo puede actuar como un reservorio temporal (Clark, 2007).

Las principales enzimas se pueden clasificar en oxidorreductasas como por ejemplo la catalasa, glucosa oxidasa, deshidrogenasa y peroxidasa, las transferasas como la transaminasa y las hidrolasas como la celulasa, lipasa, β -glucosidasa, fosfatasa y ureasa (Clark 2007).

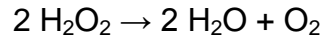
Las enzimas Deshidrogenasa, β -glucosidasa, Fosfatasa y Ureasa se han utilizado como indicadores para evaluar el efecto del manejo agronómico sobre características de calidad o estado de sanidad del suelo (Klimas, 2009); estas enzimas son responsables de la liberación de C, N, y P, elementos importantes en la nutrición de las plantas.

La actividad enzimática puede ayudar a describir los cambios de manera inmediata en las propiedades del suelo debido al uso de este y a la modificación de la cobertura y a factores tanto de tipo físicos como químico, así los de tipo biológico que participan en el funcionamiento del ecosistema edáfico (Acosta-Martínez *et al.*, 2007).

Debido a su relación con procesos de gran importancia en el suelo, la determinación de la actividad enzimática ha sido estudiada como un biomarcador, esto es un indicador de diferentes condiciones de calidad de suelo, estos parámetros también se utilizan para caracterizar la actividad microbiana de los suelos, ya que son relativamente fáciles de medir por medio de métodos analíticos y además porque representan procesos fisiológicos importantes de los microorganismos del suelo (Gajda y Martyniuk, 2005).

1.2.2.1 CATALASA

La catalasa es una enzima perteneciente a la categoría de las oxidoreductasas que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en oxígeno y agua. Esta enzima utiliza como cofactor al manganeso.



El peróxido de hidrógeno es un residuo del metabolismo celular de muchos organismos vivos y tiene, entre otras, una función protectora contra microorganismos patógenos, principalmente anaerobios, pero dada su toxicidad debe transformarse rápidamente en compuestos menos peligrosos. Esta función la efectúa esta enzima que cataliza su descomposición en agua y oxígeno.

El pH óptimo para la catalasa es de aproximadamente 7, sin embargo, la velocidad de reacción no cambia significativamente a valores del índice de hidrógeno a partir de 6.8 a 7.5. La temperatura óptima también es diferente, aproximadamente 37 °C (Li, 2016)

1.2.2.2 UREASA

La ureasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de urea a dióxido de carbono y amoníaco. La reacción ocurre de la siguiente manera:



Específicamente, la ureasa cataliza la hidrólisis de la urea para producir amoníaco y carbamato, el carbamato producido es subsecuentemente degradado por medio de una hidrólisis espontánea para producir otra molécula de amoníaco y ácido carbónico. (Holm, 1997)

La actividad de la ureasa tiende a incrementar el pH del medio en el que se encuentra debido a la producción de amoníaco. Es producida por bacteria, hongos

y varias plantas superiores. La ureasa, funcionalmente, pertenece a la súper familia de las amidohidrolasas y fosfotriesterasas (Holm, 1997).

La ureasa es producida por bacterias, hongos, levaduras y plantas donde cataliza la degradación de la urea para suministrar a estos organismos una fuente de nitrógeno para su crecimiento (Balasubramanian, 2010).

El amoníaco, producto de la reacción, puede ser absorbido y utilizado por los microbios y plantas del suelo, lo que explica el amplio uso de la urea como fertilizante nitrogenado, además de su bajo costo y alto contenido de nitrógeno.

En las plantas, la ureasa probablemente participa en vías sistémicas de transporte de nitrógeno y posiblemente actúa como una proteína de defensa tóxica (Qin, 2002).

En las plantas, la ureasa está ampliamente distribuida en semillas de leguminosas y se piensa que desempeña un papel importante en la germinación y en la defensa química de semillas.

La ureasa es altamente sensible a las cantidades de trazas de iones de metales pesados. Se demostró que la inhibición de la ureasa por estos iones resulta de la reacción con grupos sulfhidrilo en el sitio activo de la enzima.

La reacción es análoga a la formación de sulfuros metálicos. Por lo tanto, los metales que forman los sulfuros más insolubles son los inhibidores más fuertes de la ureasa. La inhibición por Ag^+ y Hg^{2+} es tan fuerte que las concentraciones en el rango de 10^{-6} M pueden inactivar a la ureasa totalmente (Qin, 2002).

1.3 EL USO DE ENMIENDAS ORGÁNICAS

La aplicación de enmiendas orgánicas al suelo es una práctica agrícola habitual. Antiguamente la fertilización se realizaba aportando los residuos del ganado. Esta práctica se fue abandonando a medida que fue apareciendo la maquinaria agrícola y generalizando el uso exclusivo de fertilizantes químicos.

Esto llevo a un deterioro de los suelos agrícolas por ir perdiendo sucesivamente la materia orgánica y con ello innumerables propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, por ello se empezó a recuperar la práctica de la aplicación de enmiendas orgánicas (Guerrero *et al.*, 2007).

La enmienda o acondicionamiento es el aporte de un producto fertilizante o de materiales destinados a mejorar la calidad de los suelos (en términos de estructura y composición, ajustando sus nutrientes, su pH ya sea para su acidez o basicidad) (Guerrero *et al.*, 2007).

Las enmiendas suelen ser:

- Productos orgánicos que aportan humus ejerciendo una influencia positiva sobre el suelo, favoreciendo retención de agua, mejoramiento de estructura, capacidad tampón, capacidad de intercambio catiónico (CIC), capacidad de quelación e incremento de disponibilidad de nutrientes (Guerrero *et al.*, 2007).
- Calizas, calizas dolomíticas o azufre, para variar la reacción del suelo modificando acidez o alcalinidad. Para incrementar el pH se utilizan normalmente carbonatos cálcicos, magnésicos, cálcico magnésicos (dolomita) para turbas ácidas (Guerrero *et al.*, 2007).
- Aplicación de yeso para disminución de Na (sodio) en suelos sódicos.
- Productos comerciales no orgánicos que faciliten la translocación mineral en el suelo (haciendo una CIC más eficiente) (Cadahía, 2005).}
- Lodos de aguas residuales formados por sustancias contaminantes y peligrosos para la salud, que deben ser tratados. Los lodos extraídos de los procesos de tratamientos de las aguas residuales domesticas e industriales de las plantas de tratamiento de Toluca tienen un contenido de metales pesados bajo:

Tabla 1: Contenido de metales pesados en el lodo residual para uso en lombricomposta (Del Aguila, 2011)

Parámetro	Lodo residual
Ca (mg kg ⁻¹)	10.4±2.7
Mg (mg kg ⁻¹)	1.0±0.2
Cu (mg kg ⁻¹)	490.0±9.9
Zn (mg kg ⁻¹)	115.0±1.5
Cd (mg kg ⁻¹)	2.0±0.76
Ni (mg kg ⁻¹)	82.0±1.1
Cr (mg kg ⁻¹)	124.0±0.6
Pb (mg kg ⁻¹)	99.0±0.5

Las enmiendas orgánicas son las que se realizan con materiales orgánicos, como el mantillo, la tierra de brezo o de castaño, el estiércol, etc. Suelen realizarse para mejorar las características físicas del suelo aportando materia orgánica y disminuyen la compactación del suelo y aportan también nutrientes (Cadahía, 2005).

La incorporación de fertilizantes y abonos orgánicos (estiércoles, desechos agrícolas verdes y secos, lombricomposta, etc.) con fines de biorremediación de suelos agrícolas, es una práctica que ha tenido una gran importancia en los últimos años a nivel mundial donde el papel importante de las enmiendas es evitar y restaurar suelos agrícolas por la pérdida progresiva de la MO, principal factor de disminución de la productividad (Cadahía, 2005).

Tabla 2: Efecto de la aplicación de abonos orgánicos sobre las propiedades físicas del suelo (Cadañia, 2005)

Característica	Sin residuos	Con residuos
Humedad aprovechable (%)	22.12	24.10
Densidad aparente (g/cm ³)	1.32	1.27
Agregados estables al agua (%)	9.04	10.16
Infiltración (mm/hr)	1.45	2.42
Materia orgánica (%)	0.96	1.16

Por consiguiente, el uso de enmiendas puede constituir un factor clave para la producción eficiente de un sistema de cultivo (Sasal, 2009). Existe diferencias entre un LR fresco y uno estabilizado (lombricomposteo) el primero favorece a un aumento de la macroporosidad y el segundo el aumento se da en la microporosidad en un suelo agrícola (Cuevas, 2006).

1.4 El lombricomposteo de residuos orgánicos

1.4.1 Definición de lombricomposta

La lombricomposta es el producto de la aceleración en la biodegradación de la materia orgánica por lombrices, acompañado por un estado hemofílico. Ésta presenta un alto contenido de nutrientes disponibles para las plantas, además de una abundante y diversa población microbiana (Hernández, 2010).

La lombricomposta es el producto del proceso de biooxidación y estabilización del material orgánico bajo condiciones controladas a través de la acción conjunta de especies específicas de lombriz y microorganismos bajo temperaturas mesofílicas, es una herramienta para el aprovechamiento de residuos orgánicos y abonos animales, ya que estos pueden reciclarse en el suelo y en menor tiempo. De esta manera se generan los abonos llamados “lombricomposta” que son capaces de sustituir en gran medida a los fertilizantes químicos, por lo que se han convertido

en una técnica que auxilia en la conservación y mejoramiento del recurso suelo (Fundación Produce Nayarit, s.f.).

El lombricomposteo es un proceso que consiste en la transformación de la MO a través de la acción descomponedora de las lombrices. Éstas, ingieren la MO donde primeramente la trituran y posteriormente se traslada en el interior del tubo digestivo que la convierte en un producto estable, el cual se le denomina lombricomposta, que es idóneo para el abonado de las plantas (Fundación Produce Nayarit, s.f.).

Durante el proceso la lombriz roja de California (*Eisenia foetida*), es la principal protagonista de la estabilización de la MO. Esta lombriz tiene la característica ecológica de ser una lombriz con habito epigeos, es decir, tiene una afinidad por alimentarse de MO (Hernández, 2010).

El lombricomposteo es una actividad que involucra dos procesos: la bioxidación y la estabilización de la materia orgánica, por la acción conjunta del ambiente y los microorganismos. Los microorganismos degradan bioquímicamente la materia orgánica, mientras que las lombrices condicionan distintos procesos tales como la aireación y el tamaño de las partículas (Hernández, 2010).

Esto permite que el proceso de mineralización se lleve a cabo con mayor rapidez, lo cual mejora la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Hernández, 2010).

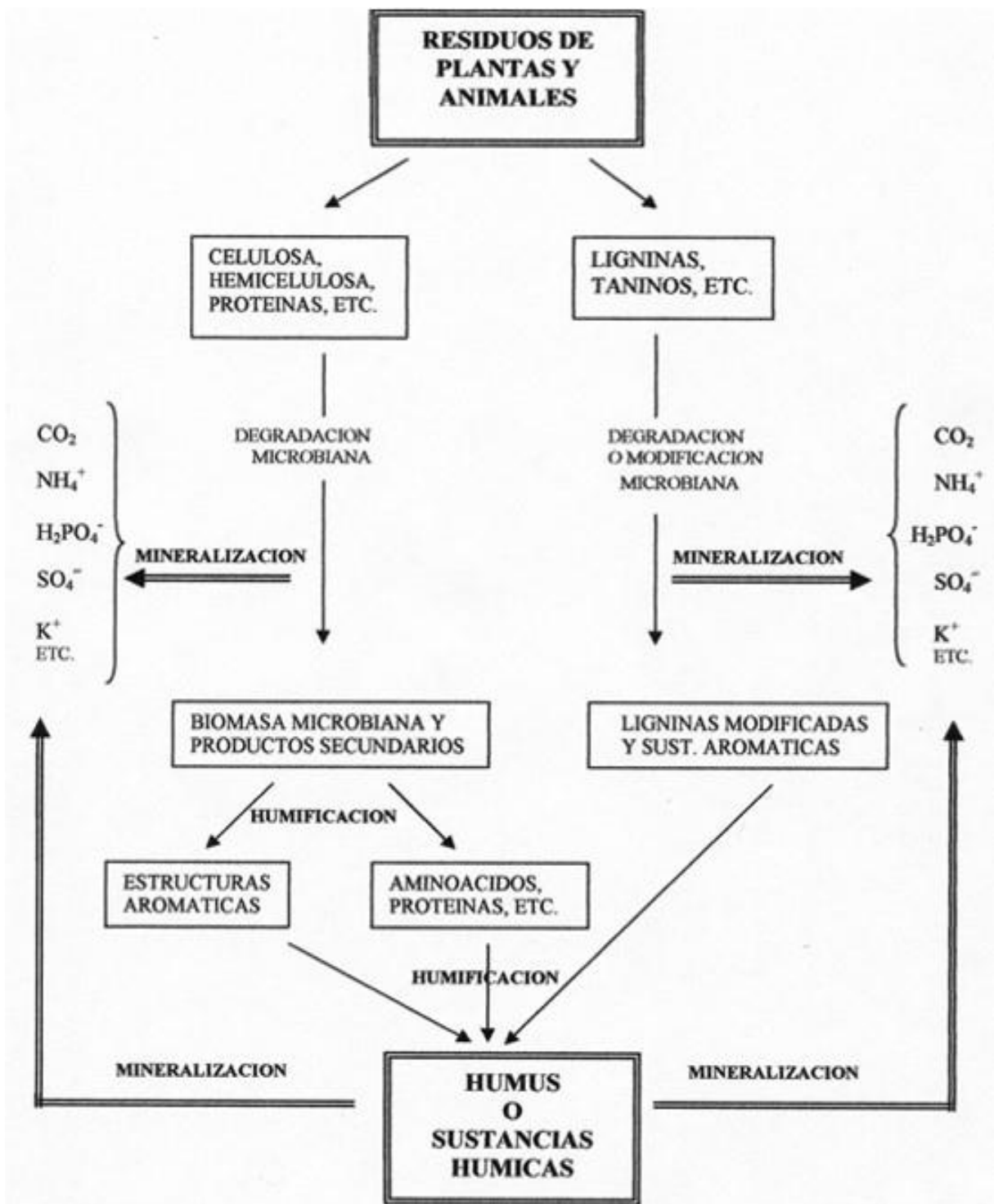


Figura 1: Transformación de los residuos orgánicos bajo acción microbiana (Mineralización y humificación).

1.4.2 PROPIEDADES DE LA LOMBRICOMPOSTA

La lombricomposta está enriquecida tanto química como biológicamente por la actividad de las lombrices y por la dinámica microbiana, además de la actividad bioquímica que se establece durante el proceso (Paz-Ferreira *et al.*, 2007). Por ello, provee al suelo de partículas que presentan una estructura uniforme y estable; también proporciona material orgánico humificado con excelente porosidad, aireación y humedad, mejorando la estructura, humedad y fertilidad del suelo (Carpa, 2009)

La lombricomposta brinda abundantes nutrientes, tales como nitratos, calcio intercambiable, fósforo y potasio soluble, los cuales están disponibles para las plantas; además, proporciona hormonas como las auxinas, giberelinas y citoquininas, las cuales son importantes para el crecimiento de las plantas. Del mismo modo funge como un importante supresor de enfermedades vegetales y es una fuente rica en microorganismos y un reservorio de antagonistas de enfermedades fúngicas (Rodríguez, 2007).

1.4.3 FASES DEL PROCESO DE LOMBRICOMPOSTEO

Durante el proceso de lombricomposteo, la comunidad microbiana debe adaptarse a diversos cambios, como la disminución de nutrientes, cambios de temperatura, contenido de agua, así como cambios en la concentración de dióxido de carbono, oxígeno y amonio (Gracia-Gil, 2000).

El proceso de lombricomposteo se lleva a cabo en tres fases, las cuales son:

- **Pretratamiento:** depende del tipo de residuo a procesar antes de ser suministrado a las lombrices de tierra.
- **Fase de digestión:** comprende dos subfases, la primera es una subfase hidrolítica, caracterizada por la biodegradación de las sustancias orgánicas más lábiles por los microorganismos presentes en el residuo o por los que

se encuentran en el tracto intestinal de las lombrices, y la segunda es una subfase de maduración, aquí la actividad hidrolítica desaparece.

- **Fase de estabilización:** comprende el final del proceso, y es la fase donde se observan cambios en las características de los residuos orgánicos, tales como la disminución de sólidos volátiles, disminución de la relación C/N, reducción de la actividad enzimática, disminución de pH, supresión de organismos patógenos, incremento del contenido de sustancias húmicas, aumentos en la cantidad de fósforo, nitrógeno y potasio disponibles, así como la disminución de metales pesados (Komilis, 2011).

1.4.4 USO DE LA LOMBRICOMPOSTA: BIORREMEDIACIÓN

La biorremediación es el proceso capaz de aminorar los componentes tóxicos que existen en el ambiente, transformándolos a un estado inofensivo para este; la eliminación de contaminantes peligrosos en el suelo puede llevarse a cabo mediante plantas y microorganismos, por lo que se considera como un proceso seguro y de bajo costo (Coyne, 2000).

Es un proceso donde los microorganismos tienen la función de degradar o mineralizar los contaminantes, convirtiéndolos en subproductos no tóxicos. Para que el proceso de biorremediación se realice adecuadamente, las condiciones ambientales deben ser las apropiadas; ya que esto asegura que las actividades fisiológicas y bioquímicas estén dirigidas a degradar los contaminantes. Algunos procesos de remediación utilizados para limpiar sitios contaminados son: debilitamiento natural, compostaje, lombricomposteo, hipoventilación, extracción de vapores del suelo, desorción térmica, incineración, lavado de suelo y rellenos (Klimas., 2009).

1.5 CULTIVO DE ALBAHACA (*Ocimum basilicum*)

La albahaca (*Ocimum basilicum*) es una planta rica en follaje de la familia Lamiaceae nativa de Irán, India, Pakistán y otras regiones tropicales de Asia, que lleva siendo cultivada varios milenios, cultivada en todo el mundo, es una hierba anual, cultivada como perenne en climas tropicales, de crecimiento bajo (entre 30 y 130 cm), con hojas opuestas de un verde lustroso, ovales u ovadas, dentadas y de textura sedosa, que miden de 3 a 11 cm de longitud por 1 a 6 cm de anchura (Briseño-Ruiz *et al.*, 2013).

Emite espigas florales terminales, con flores tubulares de color blanco o violáceo las cuales, a diferencia de las del resto de la familia, tienen los cuatro estambres y el pistilo apoyados sobre el labio inferior de la corola. Tras la polinización entomófila, la corola se desprende y se desarrollan cuatro aquenios redondos en el interior del cáliz bilabiado (Briseño-Ruiz *et al.*, 2013).

Esta planta es muy sensible a las heladas. Se cultiva por semillas y por esquejes, que se pueden sembrar en semilleros o macetas en un invernadero a principios o mediados de la primavera. Requiere una posición soleada, aunque en climas de veranos muy calurosos necesita algo de sombra y suelos fértiles, permeables y húmedos (Briseño-Ruiz *et al.*, 2013).

Es de alto valor económico y duración corta (75-90 días). Actualmente la India ocupa aproximadamente el 60% (3000 ha) del área del mundo para el cultivo de esta planta. Dentro de sus beneficios al ser humano su aceite esencial se usa en varias preparaciones medicinales y también tiene varias propiedades insecticidas, nematocidas y antimicrobianas (Singh, 2012).

Existen 40 tipos de albahaca aproximadamente, para su cultivo la textura de los suelos debe ser liviana, franca, franca-arenosa o franca-arcillosa, ya que en estas se presenta un mejor crecimiento y desarrollo del sistema radical; también deben ser suelos bien drenados. Para suelos suficientemente provistos de elementos minerales, la fertilización es: 100 a 150 unidades de nitrógeno, tres veces, en forma de sulfato amonio; 100 a 140 kg de fósforo, en forma de superfosfato de

calcio; 100 a 140 kg de potasio, en forma de sulfato de potasio. Las cantidades mayores son para suelos ligeros y secos de zonas cálidas, debido al lavado producido por los riegos precisos más abundantes y frecuentes en estos suelos y zonas. También puede emplearse un abono complejo 12-12-12 en dosis de 1,000 kg/ha (Briseño-Ruiz et al., 2013).

La albahaca es capaz de producir un rendimiento de masa verde del orden de las 20 t/ha año en dos cortes (12 t/ha y 8 t/ha, respectivamente) y de 40 kg/ha de aceite esencial (Briseño-Ruiz et al., 2013). En estudios de Cabanillas et al. (2013), ellos trabajaron con la especie aromática *Rosmarinus officinalis L.* y mejoró su rendimiento utilizando 10 t/ha lombricomposta y fertilizante químico (Briseño-Ruiz et al., 2013).

1.6 ANTECEDENTES DE ESTUDIOS REALIZADOS

Beesley (2014) determinó que la aplicación de composta a partir de residuos verdes en suelos urbanos aumenta significativamente la actividad respiratoria del suelo tanto en el campo como en laboratorio (≤ 1.5 y ≤ 3.5 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2$ s respectivamente) debido a la mayor disponibilidad de sustrato a través de la composta. La humedad del suelo se correlaciona con la tasa de respiración, esto confirma su efecto como un regulador de la actividad respiratoria.

García-Gil en el 2000 estudio la mineralización del carbono en el suelo con la adición de lombricomposta y abono de lipinus fresco, los resultados obtenidos indicaron que el lipinus fresco incrementa el desprendimiento de CO_2 , mientras que la lombricomposta presento menor acción de la biomasa microbiana, esto debido a que presentaron distintas etapas de descomposición y la transformación bioquímica de las moléculas de los complejos orgánicos de los materiales muertos se convirtieron en moléculas simples e inorgánicas, sin embargo, también fueron mayor al control (sin abono orgánico).

Carpa en 2009 evaluó el efecto de un lombricomposta sobre las propiedades de un suelo salino-sódico del Cebolla de Coro, se implementaron cuatro tratamientos: un tratamiento sin lombricomposta (T1); T2: 1% lombricomposta; T3: 5% lombricomposta y T4: 10% lombricomposta y fueron evaluadas las variables pH del suelo, conductividad eléctrica (CE), porcentaje de sodio intercambiable (PSI), carbono orgánico del suelo (COS), carbono de biomasa microbiana (CBM) y actividad de ureasa (AU).

La aplicación de los diferentes tratamientos logró reducir los valores iniciales del pH del suelo (8,30); el tratamiento más efectivo fue T4 (10% de lombricomposta), ya que los suelos pasaron de la condición de alcalinos a suelos neutros ($\text{pH} \leq 7,5$). Con la aplicación de 10% de lombricomposta se logró reducir el PSI en un 50%.

El COS aumento en todos los tratamientos evaluados, siendo los valores más altos para T4 el cual fue de 6,7 g/kg en comparación al valor inicial de 2,5 g/kg. Así mismo, el C-BM resultó con incrementos significativo en todos los tratamientos, encontrándose los valores más altos en T4 ($612,5 \mu\text{g g}^{-1}$) con respecto a los valores iniciales ($36,4 \mu\text{g g}^{-1}$). La AU aumentó significativamente con la adición del lombricomposta. Al cabo de 28 días de incubación se encontraron valores de $67,8 \mu\text{g NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ para T4, lo cual representa un incremento de seis veces con respecto al tratamiento control (T1).

Benítez *et al*, 2005 extrajeron las sustancias húmicas y tres enzimas hidrolíticas (b-glucosidasa, fosfatasa y ureasa) con pirofosfato de sodio neutro de un residuo de oliva, solo y mezclado con biosólidos municipales, durante un proceso de lombricompostaje de nueve meses. Los compuestos fácilmente degradables disminuyeron durante el proceso de lombricompostaje debido al consumo de los microorganismos.

Cuando se agregaron biosólidos municipales al residuo de oliva, la actividad microbiana aumentó y las cantidades de compuestos extraídos por pirofosfato fueron tres veces más bajas que el residuo de oliva solo.

En ambos casos, las actividades de b-glucosidasa, fosfatasa y ureasa de los extractos orgánicos aumentaron o permanecieron iguales después de un período de nueve meses de lombricompostaje, lo que sugiere que los complejos de enzimas humus resisten el ataque microbiano y de lombrices de tierra.

Se sabe que las enzimas inmovilizadas de humus también permanecen activas en los ambientes del suelo, reactivando los ciclos de nutrientes en el suelo lo que sugiere que podría ser una buena alternativa para reactivar los ciclos C, P y N en suelos degradados con fines de regeneración.

En un estudio realizado (Reyes, 2018) para el uso de lombricomposta como enmienda orgánica se determinaron algunos parámetros fisicoquímicos de la lombricomposta para uso en un cultivo de albahaca y papa, donde el pH del suelo fue 5.6 ± 0.07 , para el lodo residual fue 7.1 ± 0.4 y para el estiércol equino fue 7.4 ± 0.6 , la CE del suelo se registró de 1.8 ± 0.5 dS/m, del LR 3 ± 0.2 dS/m y del estiércol equino 7 ± 0.01 dS/m.

Por último, se determinó el porcentaje de materia orgánica, el suelo tuvo $27 \pm 0.2\%$, para el LR fue $30.4 \pm 0.4\%$ y el estiércol equino $8.62 \pm 0.4\%$. Una vez realizada la lombricomposta también se realizaron los análisis fisicoquímicos, el pH fue de 7.1 ± 0.02 , la CE se registró un valor de 1.1 dS/m y la MO fue de $45.02 \pm 1.2\%$. Todos los parámetros se encontraron dentro de lo establecido por la norma NMX-FF-109-SCFI-2007 para que el producto pueda ser usado.

2. JUSTIFICACIÓN, OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 JUSTIFICACIÓN

El uso de fertilizantes químicos a lo largo de los años ha alterado las propiedades químicas y biológicas del suelo (Actividad respiratoria y enzimática) evitando la simbiosis que existe entre los microorganismos edáficos y la planta, logrando así que el cultivo sea menos productivo, por lo que el empleo de enmiendas orgánicas como la lombricomposta ha sido una alternativa para poder recuperar estas propiedades del suelo logrando una mayor productividad.

2.2 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto que presenta la adición de diferentes dosis de lombricomposta hecha con estiércol equino y lodo residual en la actividad respiratoria y enzimática en un suelo cultivado con albahaca en invernadero para saber si la lombricomposta mejora las propiedades biológicas del suelo.

2.2.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la diferencia en la actividad respiratoria al adicionar diferentes dosis de lombricomposta en un suelo cultivado con albahaca para conocer si la lombricomposta adicionada incrementa esta propiedad biológica.
- Determinar cuál dosis de lombricomposta presenta una mayor actividad enzimática (catalasa y ureasa) en el suelo de cultivo de albahaca para poder conocer la calidad del suelo.

2.3 HIPÓTESIS

La aplicación de lombricomposta hecha con residuos sólidos orgánicos de estiércol equino y lodo residual en un suelo que contiene al cultivo de albahaca en invernadero favorecerá la actividad respiratoria y enzimática del suelo en comparación con un suelo que no contenga la lombricomposta.

3. METODOLOGÍA

3.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

➤ Lodos residuales

El lodo residual fue proporcionado por la planta tratadora de aguas residuales municipales Toluca Norte, perteneciente a Operadora Ecosistemas S.A de C.V los cuales se obtuvieron del filtro prensa de la planta de tratamiento de aguas residuales perteneciente a la empresa Operadora de Ecosistemas S.A. de C.V. La muestra se secó al aire, se homogenizó, dispersó y finalmente se tamizó con una malla de 2 mm. Una parte del lodo se utilizó para el análisis químico y el resto para el desarrollo del experimento.

➤ Estiércol

El estiércol de caballo se obtuvo del Hípico de la facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

➤ Suelo

Las muestras de suelo se obtuvieron de una zona productora de papa cultivada durante seis años sin descanso perteneciente a Santa Cruz Pueblo Nuevo, Tenango del Valle con coordenadas geográficas de 19°.10'00" latitud norte y a los 99°65'80" de longitud oeste, a una altura de 2880 msnm.

• Lombricompostaje

➤ Reproducción de *Eisenia foetida*

La reproducción de *Eisenia foetida* se inició con un pie de cría de 20 organismos, que fueron colocados en un contenedor de unicel de una capacidad de 10 litros para mantener una temperatura y humedad constante. El contenedor fue previamente preparado con agrolita hidratada y desechos orgánicos frescos como alimento. Durante este proceso, se realizó riego ligero y aireación manual cada tercer día para mantener la humedad, favorecer la estructura y facilitar la difusión pasiva del aire en el sustrato.

- Precomposteo

Se realizó una mezcla de lodo residual y estiércol de caballo (proporción 30:70); con un peso seco final de 5 kilogramos colocados en contenedores plásticos de 20 litros; la mezcla fue sometida a un precomposteo previo a la adición de las lombrices.

El precomposteo consistió en la fermentación de los sustratos en condiciones de oscuridad, colocando una cubierta negra plástica con perforaciones; la humedad y aireación se mantuvieron hidratando y mezclando el sustrato cada tercer día; la temperatura fue monitoreada una vez por semana con un termómetro estándar de mercurio; y el pH se evaluó cada tercer día en el lixiviado de la mezcla con un pH metro THERMO Orion Star A215. Finalmente, en esta etapa de precomposteo (20 días) tuvo también como finalidad prevenir la mortalidad de las lombrices.

- Lombricomposteo

Al alcanzar un pH cercano a la neutralidad durante el proceso de precomposteo, se adicionaron a la mezcla 25 lombrices jóvenes en edad reproductiva (clitelio desarrollado localizado en la segunda sección del cuerpo, con una longitud de entre 3 a 5 cm y un peso de 0.5 g por individuo.

Para determinar la estabilidad de la lombricomposta se realizó la evaluación de parámetros como pH, conductividad eléctrica (CE) y materia orgánica (MO) cada 15 días a partir de la adición de las lombrices y hasta su maduración.

3.2 SITIO DE TRABAJO Y MONTAJE DEL EXPERIMENTO

El invernadero donde se realizó el trabajo de campo se encuentra en la Unidad Académica de Tenancingo, UAEMex. En este invernadero se colocaron 30 macetas con aproximadamente 5 Kg de suelo y las diferentes dosis de lombricomposta.

Se trabajó con 5 tratamientos de enmienda con lombricomposta con 6 repeticiones cada uno. Las macetas se distribuyeron en un diseño en bloques completamente al azar, etiquetados de la siguiente manera:

Tabla 3: Composición de los tratamientos de suelo de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta

TRATAMIENTO	COMPONENTES		
	SUELO	AGROLITA	LOMBRICOMPOSTA
C ⁺ (Suelo agrícola)	4 Kg	1 Kg	-----
C ⁻ (Peat moss)	4 Kg	1 Kg	-----
T20 (20 T/Ha)	3.708 Kg	1 Kg	292 g
T40 (40 T/Ha)	3.416 Kg	1 Kg	584 g
T60 (60 T/Ha)	3.124 Kg	1 Kg	876 g

El muestreo que se realizó fue de tipo preferencial en cada maceta durante dos tiempos (inicial: cero días, antes del trasplante de la albahaca y final: después de 80 días, primer corte de la albahaca), por lo que al final se obtuvieron 60 muestras.

Se tomó aproximadamente 120 g por muestra de cada tratamiento, en el tiempo inicial se tomó la muestra de la parte central de la maceta a una profundidad de 0-15 cm y en tiempo final la muestra se tomó de los espacios entre las plantas que estaban en la maceta se colocó en bolsas de plástico y se etiquetó para ser trasladado al laboratorio y se congelaron para su conservación.

3.3 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL SUELO DE CULTIVO DE ALBAHACA ENMENDADO CON LOMBRICOMPOSTA DE ACUERDO A LA NORMA NMX-FF-109-SCFI-2007

3.3.1 pH

Se pesaron 10gr de la muestra de cada tratamiento en frascos de gerber, se le adicionaron 50mL de agua destilada hervida y fría. Se pusieron en agitación

mecánica durante 30 minutos. La calibración del potenciómetro se realizó con soluciones reguladoras de pH 4.0 y 7.0 enjuagando con agua destilada el electrodo antes de iniciar las lecturas de las muestras. Una vez terminado el tiempo de agitación se introdujo el electrodo en la suspensión de cada muestra y se registró la lectura una vez que el potenciómetro se estabiliza.

3.3.2 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

A la misma mezcla de muestra utilizada para la determinación de pH se dejó reposar toda una noche, al día siguiente se introdujo el electrodo del conductímetro en la suspensión y se registró la lectura una vez que se estabilizó.

3.3.3 MATERIA ORGÁNICA POR CENIZAS

Para la determinación de este parámetro, se pusieron crisoles de porcelana en la incubadora a 105°C durante 24 horas para que se llegaran a peso constante, al día siguiente se dejaron enfriar en el desecador y se registró su peso, se le agregaron 5gr de muestra y se registró el peso exacto. Se colocaron en la mufla elevando la temperatura poco a poco hasta llevarla a 550°C por 2 horas. Una vez pasado el tiempo se dejaron los crisoles en el desecador para enfriar y se pesaron nuevamente.

3.4 ANÁLISIS BIOLÓGICO DEL SUELO DE CULTIVO DE ALBAHACA ENMENDADO CON LOMBRICOMPOSTA

3.4.1 ACTIVIDAD RESPIRATORIA (ALEF Y NANNIOIERI, 1995)

La respiración microbiana es la absorción de oxígeno o la liberación de dióxido de carbono por bacterias, hongos y protozoos la cual da como resultado la degradación de la materia orgánica. La formación de CO₂ es el último paso de la mineralización del C, la evolución de CO₂ de un suelo es la medida de la actividad biológica total del suelo.

Se pesaron 25g de suelo húmedo en frascos de plástico boca ancha. El proceso de incubación se realizó en frascos de vidrio con cierre hermético, en el fondo de este se introdujo 25mL de agua destilada para mantener la atmósfera húmeda, se

colocaron el frasco con la muestra con humedad correspondiente a la capacidad de campo y otro con 10mL de hidróxido de sodio 0.1N o 0.2N, a continuación, se llevaron a la incubadora a 25°C durante 24 horas. Cada muestra se analizó por duplicado y se monitoreo por 15 días.

Se prepararon 3 blancos de la siguiente manera, en frascos de vidrio con cierre hermético que contiene en el fondo 25mL de agua destilada y un frasco de plástico con 10mL de hidróxido de sodio de concentración conocida sin muestra de suelo.

Para la determinación de CO₂ desprendido, se valoró el HCl de normalidad conocida y similar a la del hidróxido de sodio. Se tomaron 2mL de los frascos que contienen el hidróxido de sodio procedente de la incubación de cada una de las muestras y de los blancos, se le agregaron 1mL de cloruro de bario al 20%, el cual facilitará la precipitación de carbonatos y un poco de agua destilada. La solución se valoró con HCl el cual se agregó lentamente para evitar posible precipitación de carbonato de bario.

3.4.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Se colocaron en la estufa a 105°C un crisol por muestra toda la noche, se dejaron enfriar en el desecador por 30 min, se pesaron en la balanza analítica para saber el peso contante. Se pesaron 5g de muestra y se anotó el peso del crisol más la muestra húmeda, se dejó en la estufa toda la noche, al día siguiente se sacaron de la estufa y se dejaron enfriar en el desecador y se pesaron en la balanza analítica para conocer el peso del crisol más la muestra seca.

3.4.2 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

3.4.2.1 DETERMINACIÓN DE CATALASA POR EL MÉTODO JOHNSON-TEMPLE (1994) Y MEDICIÓN DEL H₂O₂ RESIDUAL MEDIANTE PERMANGANOMETRIA.

Este método se basa en la adición de H₂O₂ a la muestra y su incubación a 20°C en el cual actúa la enzima, provocando la descomposición del H₂O₂ en H₂O y O₂.

Se pesaron 0.5g de suelo húmedo en un bote de polipropileno y se añadieron 10mL de agua destilada y se taparon. Se agitaron en agitador a 20°C por 30 min. También se preparó un control sustituyendo los 5 ml de H₂O₂ por igual volumen de agua destilada y un blanco con 40mL de agua destilada, 5mL de peróxido y 5 ml de ácido sulfúrico 1.5M.

Se sacaron las muestras, controles y blanco del agitador y se les añadieron 5mL de peróxido 1:100, se taparon y agitaron de nuevo por 10 minutos (a los controles se les adicionaron 5 ml de agua destilada). Posteriormente se les adicionaron 5 mL de ácido sulfúrico 1.5M a todas las muestras y se filtraron. Se tomó una alícuota de 25mL del extracto filtrado y se valoró lentamente con permanganato 0.01M hasta que la solución se ponga incolora antes de colocar la siguiente gota de permanganato.

Se valoraron tanto las muestras como los controles. La concentración inicial de H₂O₂ añadido al suelo se determinó por la valoración con permanganato del blanco sin suelo y con peróxido de hidrogeno.

3.4.2.2 DETERMINACIÓN DE UREASA POR EL MÉTODO PROPUESTO POR TABATAI Y BREMEN (1964).

Para esta técnica se realizaron muestras compuestas de las seis repeticiones de cada tratamiento y de cada muestra compuesta se analizaron 5 repeticiones.

La técnica se basa en la determinación del amonio liberado después de la incubación de las muestras de suelo con solución de urea por 2 horas a 37° (parámetros óptimos para la actividad de la enzima).

Se colocaron 2.5g de suelo tamizado en una malla menor a 2mm en tubos de ensayo de 25mL (se corrió por cada muestra, un blanco bajo el mismo procedimiento, sustituyendo por agua el volumen de la solución de urea). Se agregaron 0.1mL de tolueno y 4.5mL de buffer THAM, se agitaron unos segundos para homogeneizar. Se añadieron 0.5ml de urea 0.2M y se agitaron para su mezcla. Se taparon e incubaron a 37°C por 2 horas, se colocaron aprox. 15mL de KCl-AgSO₄, se dejaron enfriar y se aforaron a 25mL de volumen con esta solución

y se mezclaron nuevamente. Para la determinación de amonio (N-NH_4) se adicionaron 0.1g de Oxido de magnesio (MgO) en el tubo de destilación y se añadió 10 ml de la suspensión de las muestras de suelo. El proceso de destilación se realizó aproximadamente por 4 minutos, el destilado se recibió en un matraz Erlenmeyer con 10 ml de ácido bórico con mezcla de indicadores. Por último, se tituló con H_2SO_4 0.0025N.

3.5 ANALISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de estadística descriptiva (media, desviación estándar y graficas) de los parámetros fisicoquímicos y actividad respiratoria. También se realizó un análisis de estadística inferencial, con una prueba de LSD para conocer las diferencias entre los tratamientos evaluando las variables fisicoquímicas y enzimáticas. Para la actividad respiratoria y la actividad enzimática se compararon los dos tiempos de muestreo (inicial y final) con una “t dependiente”. Todas las pruebas se realizaron con un intervalo de confianza del 95% ($p < 0.05$) en el paquete de datos Statgraphics Centurion XVI.I.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS DE LOS TRATAMIENTOS DE CULTIVO ENMENDADOS CON LOMBRICOMPOSTA

El estudio del análisis fisicoquímico del suelo más la mezcla de diferentes dosis de lombricomposta que se adicionaron al suelo donde se cultivó la albahaca resulto en 5 tratamientos y se determinaron los parámetros fisicoquímicos pH, conductividad eléctrica y materia orgánica al inicio del experimento y al final de la cosecha.

4.1.1 PH DE LOS TRATAMIENTOS DE CULTIVO DE ALBAHACA ENMENDADOS CON LOMBRICOMPOSTA EN LOS DOS TIEMPOS DE MUESTREO

En la **Figura 2** se muestra que el pH del suelo al inicio del cultivo de la albahaca no presentó diferencias significativas ($F_{(4,55)}=0.73$, $P>0.05$) encontrando los siguientes valores: T20 ($\text{pH}=7.698\pm 0.949$), seguido de T40 ($\text{pH}=7.187\pm 0.119$), y C^+ ($\text{pH}=7.07\pm 0.211$), C^- ($\text{pH}=6.95\pm 0.296$), y T60 ($\text{pH}=6.68\pm 0.088$) su pH fue similar.

Estos valores de pH al inicio tuvieron un comportamiento neutro que está de acuerdo con la norma mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007 y a la NOM-021-SEMARNAT-2000. Cabe mencionar que el suelo por si solo desempeña el papel de una sustancia amortiguadora por lo que no presentó problemas a la planta.

La presencia de iones Ca^{+2} y de sales en la lombricomposta, les confiere un marcado carácter tampón. Por tal motivo, pueden ser utilizados como enmienda cálcica de suelos ácidos, con una efectividad menor que la caliza (Ramírez, 2007).

Pasando al segundo tiempo del proceso (**Figura 3**), el pH presentó diferencias significativas ($F_{(4,55)}=21.05$, $p<0.05$) en donde T60 ($\text{pH}=7.17\pm 0.121$) y T40 ($\text{pH}=7.14\pm 0.051$) tuvieron el pH más alto y decreció el pH en los otros tratamientos T20 ($\text{pH}=7.002\pm 0.057$), C^- ($\text{pH}=7.02\pm 0.201$) y C^+ ($\text{pH}=6.78\pm 0.077$), conservando un comportamiento neutro.

La aplicación de lombricomposta con carácter básico a suelos ácidos produce un aumento del pH y de esta manera se evita riesgos de toxicidad que pueden ser generados por un pH con valores inferiores a 5 (Ramírez, 2007).

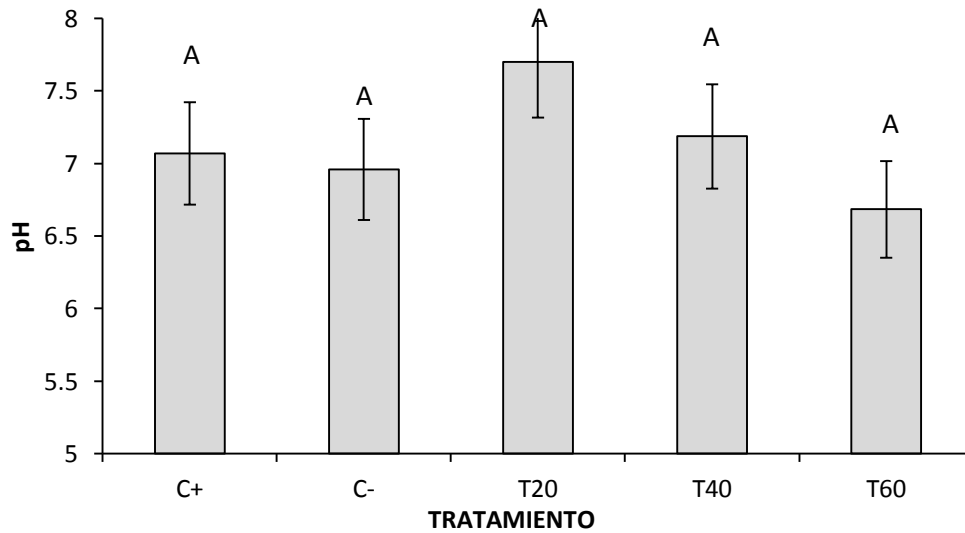


Figura 2: pH de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo inicial de muestreo (trasplante de la albahaca a la maceta).

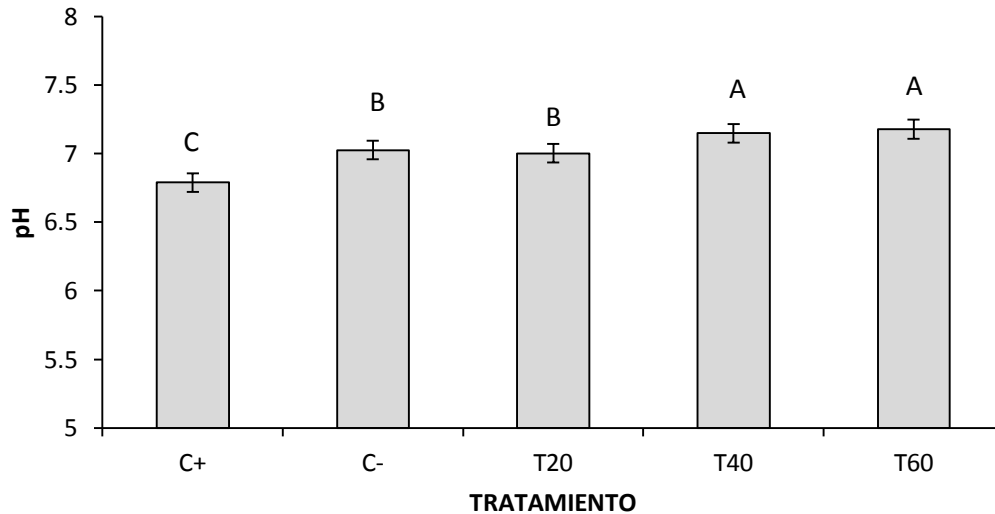


Figura 3: pH de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo final de muestreo (80 Días, primer corte de la albahaca).

4.1.2 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA DE LOS TRATAMIENTOS DE CULTIVO DE ALBAHACA ENMENDADOS CON LOMBRICOMPOSTA EN LOS DOS TIEMPOS DE MUESTREO

Con respecto a la conductividad eléctrica en el suelo de cultivo de albahaca en el tiempo inicial (**Figura 4**) se encontraron diferencias significativas ($F_{(4,55)} = 20.92$, $P < 0.05$), siendo los tratamientos T60 ($CE = 1.511 \pm 0.0173$ dS/m) y T40 ($CE = 1.441 \pm 0.0049$ dS/m) los que presentaron el valor más alto seguidos de los tratamientos T20 ($CE = 1.306 \pm 0.0073$ dS/m), C⁺ ($CE = 1.26 \pm 0.088$ dS/m) mientras que el tratamiento C⁻ ($CE = 1.059 \pm 0.0293$ dS/m) fue el más bajo.

La CE que se presenta en el suelo de cultivo al inicio del experimento muestra un protagonismo de la lombricomposta en donde el contenido de sales proviene del LR y del estiércol equino.

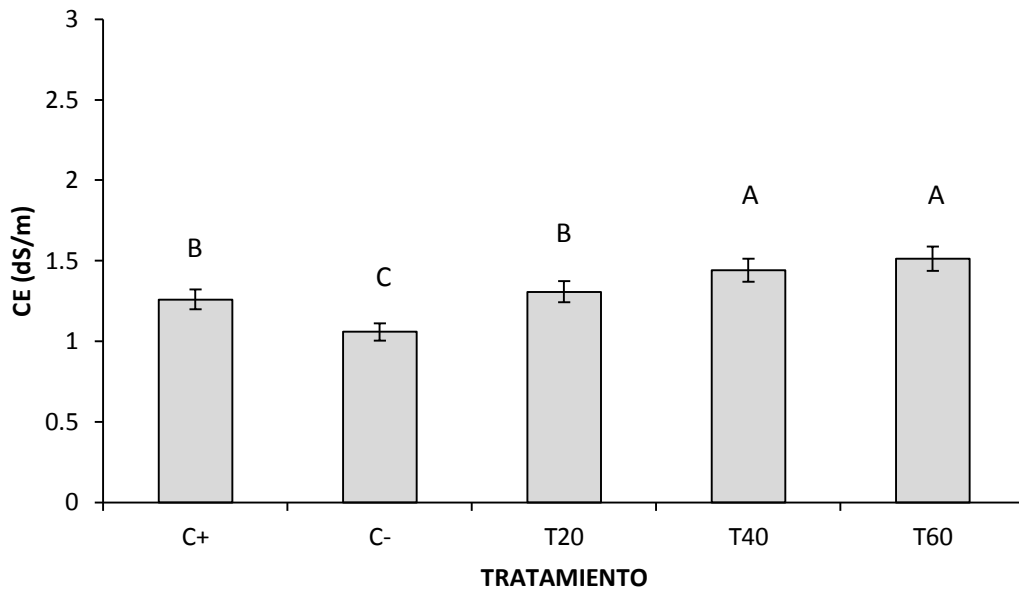


Figura 4: CE de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo inicial de muestreo (trasplante de la albahaca a la maceta).

Para el tiempo final de la cosecha del cultivo de albahaca (**Figura 5**) también se encontraron diferencias significativas ($F_{(4,55)} = 5.0$, $P < 0.05$) en el parámetro de conductividad eléctrica. El valor más alto lo obtuvo el tratamiento T60 ($CE = 2.561 \pm 0.0563$ dS/m), para los tratamientos T40 ($CE = 1.829 \pm 0.0307$ dS/m), T20 ($CE = 1.807 \pm 0.0306$ dS/m), C⁻ ($CE = 2.1008 \pm 0.0642$ dS/m) y C⁺ ($CE = 2.031 \pm 0.01750$ dS/m).

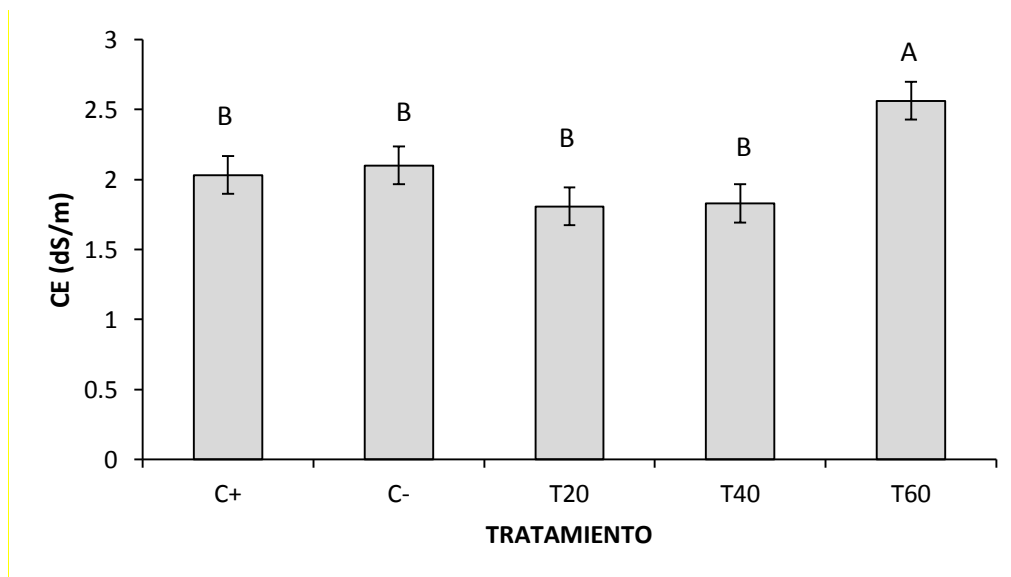


Figura 5: CE de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo final de muestreo (80 Días, primer corte de la albahaca).

4.1.3 MATERIA ORGÁNICA DE LOS TRATAMIENTOS DE CULTIVO DE ALBAHACA ENMENDADOS CON LOMBRICOMPOSTA EN LOS DOS TIEMPOS DE MUESTREO

En el parámetro de materia orgánica también se encontraron diferencias significativas dentro de los tratamientos de cultivo de albahaca en el tiempo inicial ($F_{(4.55)} = 5.36$, $P < 0.05$).

En la **Figura 6** se observó que el tratamiento con el mayor porcentaje de MO es T40 (%MO= 25.18 ± 3.276) y existe una similitud con T20 (%MO= 24.39 ± 1.285) y T60 (%MO= 24.05 ± 1.311) continuando con C⁻ (%MO= 22.60 ± 1.526) y con el porcentaje de MO más bajo el C⁺ (%MO= 20.31 ± 0.859).

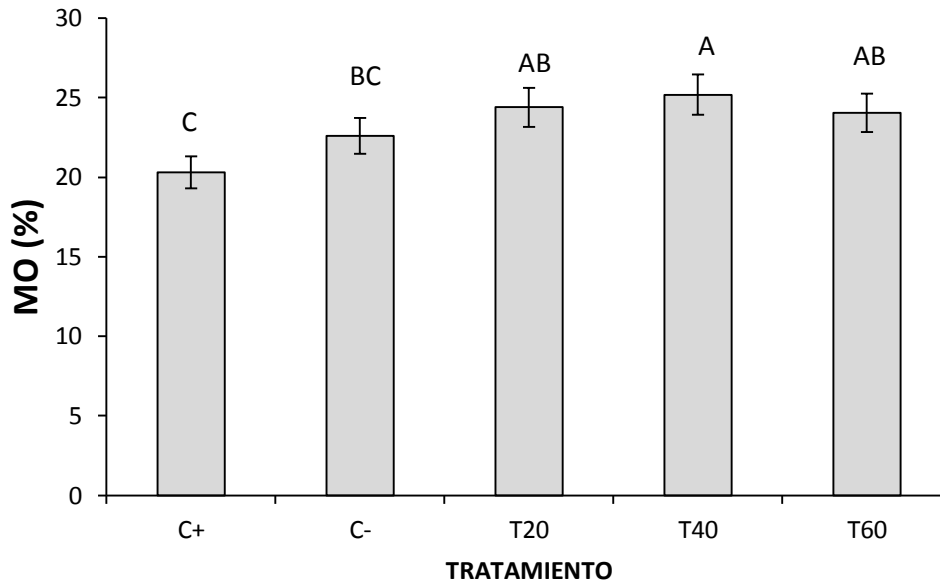


Figura 6: MO (%) de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo inicial de muestreo (trasplante de la albahaca a la maceta).

En el tiempo final (**Figura 7**) los tratamientos de cultivo de albahaca presentaron diferencias significativas ($F_{(4,55)} = 4.05$, $P < 0.05$), en este caso los tratamientos que presentaron el mayor porcentaje de MO fueron T20 (%MO = 26.43 ± 1.428), T40 (%MO = 25.18 ± 2.296) y T60 (%MO = 26.33 ± 3.244), el tratamiento C⁻ tuvo un %MO = 23.88 ± 1.692 , mientras que el más bajo fue C⁺ (%MO = 21.88 ± 0.879).

El aporte de la MO favoreció al suelo del cultivo de albahaca en la restauración, estabilización y mejoramiento de la productividad del mismo, logrando que los microorganismos tuvieran una fuente de carbono más fácil de obtener y poder realizar su metabolismo de manera adecuada (Yen, 2016).

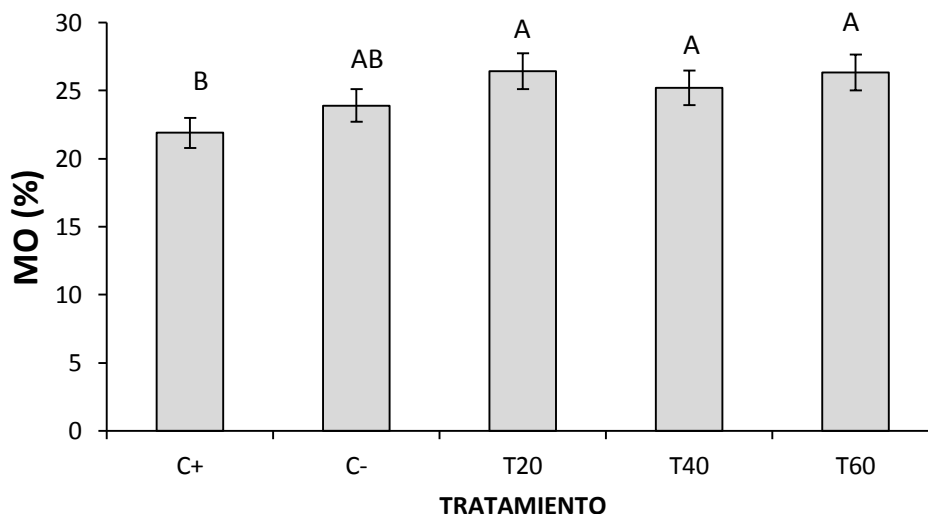


Figura 7: MO (%) de los tratamientos de cultivo de albahaca enmendados con lombricomposta en el tiempo final de muestreo (80 Días, primer corte de la albahaca).

4.2 ACTIVIDAD RESPIRATORIA

En la **Figura 8** se observa que la actividad respiratoria fue mayor en los tratamientos que contenían la mayor dosis de lombricomposta que le corresponde a T60 (205.708 ± 22.42 mgCO₂/100gss) y T40 (208.277 ± 23.15 mgCO₂/100gss), de ahí que la actividad respiratoria se observa un incremento de manera exponencial a los 8 días de incubación.

Por el contrario, la actividad respiratoria para C⁻ (194.614 ± 24.49 mgCO₂/100gss) fue menor que las anteriores y esta fue mayor que T20 (190.073 ± 30.85 mgCO₂/100gss) y C⁺ (156.97 ± 27.31 mgCO₂/100gss). Esto probablemente se debe a la adición de las diferentes dosis de lombricomposta que se agregó en el cultivo de la albahaca.

Paul y Clark (1996), comentan que la descomposición de la MO se mide mediante la producción de CO₂, donde los microorganismos utilizan compuestos de C para la biosíntesis y formación de células nuevas o material extracelular y además producen residuos que favorecen la descomposición de la MO.

Iannotti *et al.* (1994) señalaron que las tasas de emisión de CO₂ son altas en materia prima, ya que los microbios crecen rápidamente a partir de la asimilación de MO lábil.

Se observa que casi todos los tratamientos están produciendo concentraciones de CO₂ ya que el abono orgánico apenas empieza a realizar su acción biorremediadora, solo el control positivo (suelo agrícola) presenta una concentración de CO₂ menor que todos los demás, esto puede estar relacionado con el consumo microbiano de C fácilmente biodegradable durante el período de aclimatación al ambiente (Komilis *et al.*, 2011).

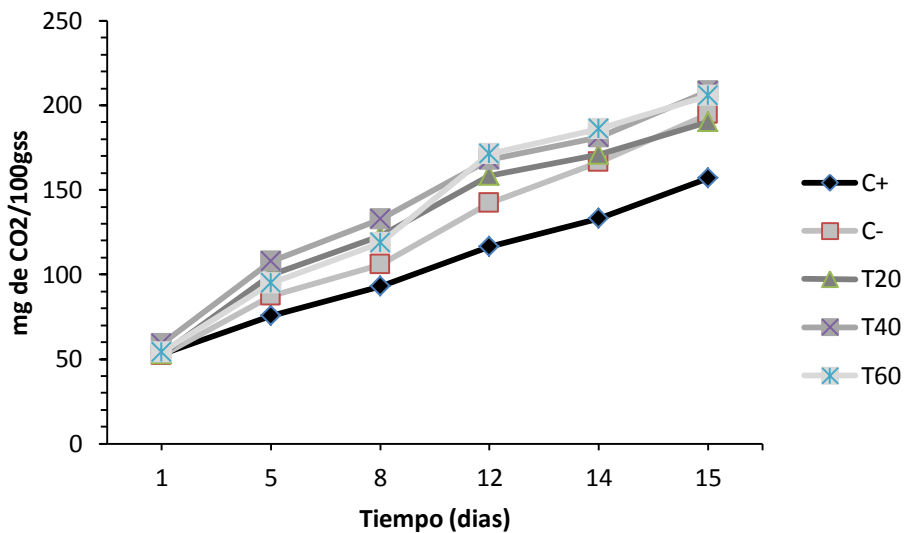


Figura 8: Actividad respiratoria de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo inicial (trasplante de la albahaca a la maceta).

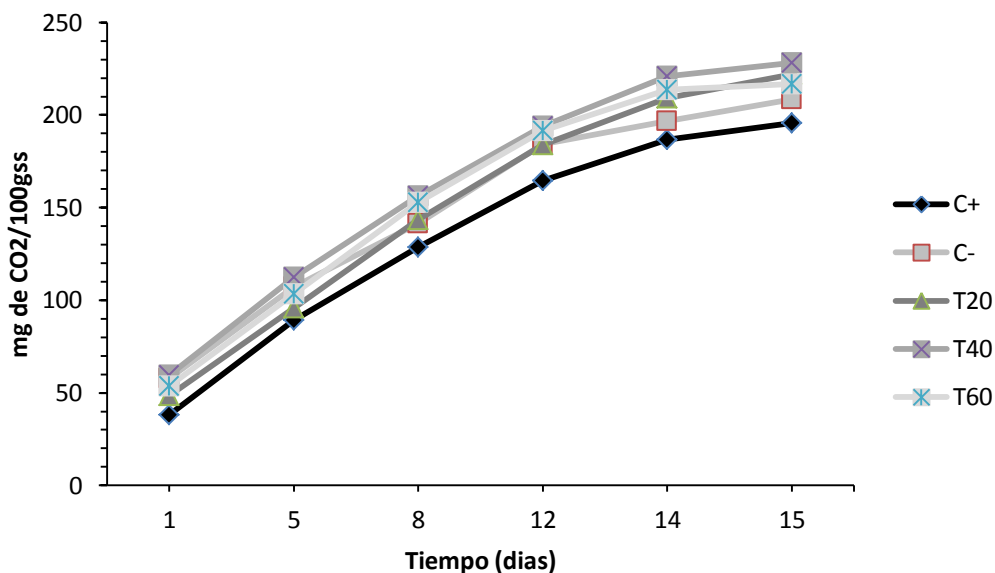


Figura 9: Actividad respiratoria de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo final (80 Días, primer corte de la albahaca).

Por otro lado en la **Figura 9** se muestra la actividad respiratoria de los tratamientos en el tiempo final (después del proceso de biorremediación por la lombricomposta), el C^+ (195.617 ± 22.51 $\text{mgCO}_2/100\text{gss}$) es el que presenta la concentración más baja de CO_2 , seguido de los tratamiento C^- (208.482 ± 17.35 $\text{mgCO}_2/100\text{gss}$), T60 (216.917 ± 18.05 $\text{mgCO}_2/100\text{gss}$) y T20 (222.017 ± 27.53 $\text{mgCO}_2/100\text{gss}$) mientras que el tratamiento T40 (228.19 ± 26.55 $\text{mgCO}_2/100\text{gss}$) es el que presenta la mayor actividad respiratoria, cabe mencionar que las tres dosis de lombricomposta presenta una mayor actividad respiratoria que los tratamientos controles.

El aumento en la actividad respiratoria podría atribuirse a la existencia de MO lábil que estimula a las comunidades microbianas de mezclas de lombricomposta (Ponsá *et al.*, 2009). La adición de materiales orgánicos a los suelos puede estimular la mineralización del C existente en el suelo, lo que induce una mayor respiración del suelo (Beesley, 2014).

En la **Figura 10** se muestra la comparación de los dos tiempos de muestreo, en esta grafica muestra que la actividad respiratoria fue mayor al tiempo final que al tiempo inicial, lo que sugiere que está presente una tendencia constante en el aumento y disminución en el proceso de la actividad respiratoria y este entrando en un proceso de estabilización.

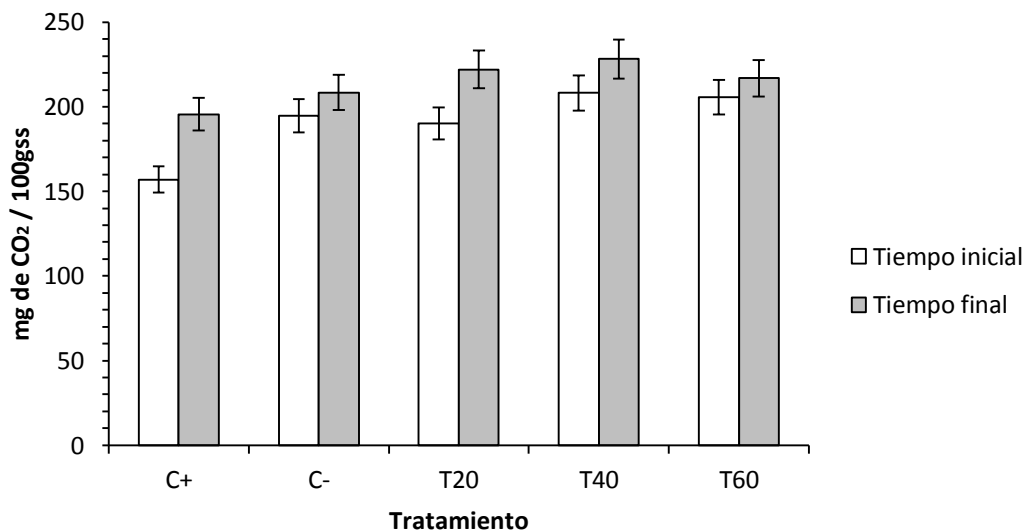


Figura 10: Comparación de la actividad respiratoria entre los dos tiempos de muestreo.

El tratamiento T20 es el que tuvo el mayor aumento de la actividad respiratoria (y una diferencia significativa entre los dos tiempos) de las tres dosis de lombricomposteo, sin embargo, el tratamiento T40 es el que presento la mayor actividad respiratoria de todos los tratamientos. Ngo (2012) comenta que la actividad biológica del suelo fertilizado con lombricomposta es mayor que el suelo al que se agregan abonos minerales regulares.

Los tratamientos del cultivo de albahaca que fueron enmendados con lombricomposta presentaron un aumento en la producción de CO₂, esto significa que la actividad microbiana incremento en mayor proporción que los tratamientos

a los que no se le adiciono el abono orgánico favoreciendo el desarrollo adecuado de la planta de albahaca.

4.3 ACTIVIDAD ENZIMATICA

4.3.1 CATALASA

La actividad enzimática se considera un parámetro para determinar la calidad del suelo, en este caso la catalasa y la ureasa son parámetros que tienen una gran relevancia en el estudio de la calidad del suelo.

Para la actividad enzimática de catalasa al inicio del cultivo de la albahaca se compararon los tratamientos (**Figura 11**) y estos no presentaron diferencias significativa ($F_{(4,55)} = 2.31$, $P > 0.05$), pero se observa una tendencia de mayor actividad al C⁺ (AE= 0.033 ± 0.011 moles de H₂O₂/g h), y muy similares para todos los demás tratamientos incluyendo el control negativo (C⁻ AE= 0.0235 ± 0.015 moles de H₂O₂/g h, T20 AE= 0.0262 ± 0.008 moles de H₂O₂/g h, T40 AE= 0.0201 ± 0.009 moles de H₂O₂/g h y T60 AE= 0.0235 ± 0.01 moles de H₂O₂/g h).

El C⁺ mostro que la actividad de la catalasa es mayor debido a que solo contenía suelo sin ninguna adición de dosis de lombricomposta, y supone que los microorganismos endémicos del suelo realizaran una gran labor enzimática. También a la catalasa se le considera un componente clave en la defensa celular contra el estrés oxidativo resultante del oxígeno reactivo nocivo producido durante el metabolismo aeróbico (Miyatake y Iwabuchi, 2006).

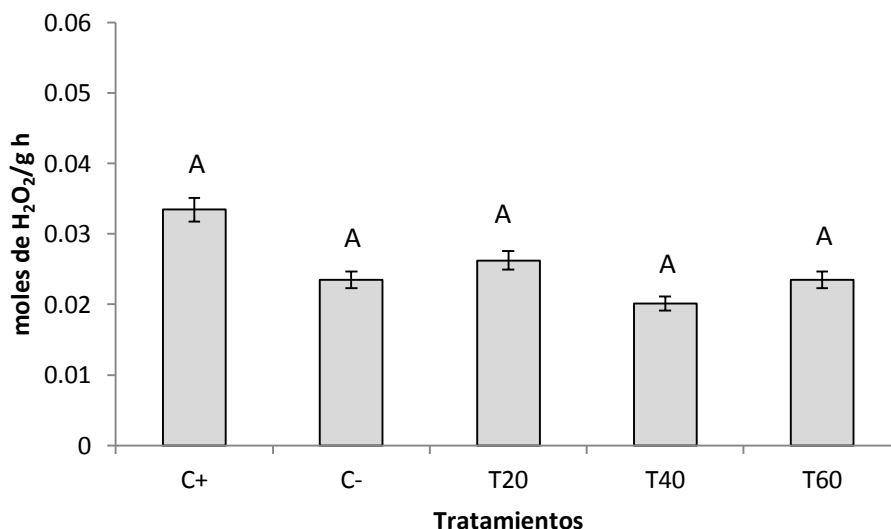


Figura 11: Actividad enzimática de catalasa de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo inicial (trasplante de la albahaca a la maceta).

Con respecto al tiempo final (**Figura 12**) del cultivo (corte de la planta de albahaca) la actividad de la catalasa en el sustrato de la mezcla suelo y dosis de lombricomposta presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{(4,55)} = 6.46$, $P < 0.05$) siendo mayor en T60 ($AE = 0.0492 \pm 0.013$ moles de H_2O_2/g h), T20 ($AE = 0.0403 \pm 0.009$ moles de H_2O_2/g h), C⁻ ($AE = 0.0433 \pm 0.011$ moles de H_2O_2/g h) y C⁺ ($AE = 0.0428 \pm 0.134$ moles de H_2O_2/g h) y con menor actividad de la catalasa en T40 ($AE = 0.0256 \pm 0.012$ moles de H_2O_2/g h).

En donde la actividad mayor se debió probablemente a un incremento de la población microbiana y la adición de MO en T20 Y T60, mientras que en T40 probablemente se saturó de microorganismos e incluso pudo ser una ausencia de C lábil y por consiguiente un exceso de la presencia de C recalcitrante (Vargas-García *et al.*, 2010).

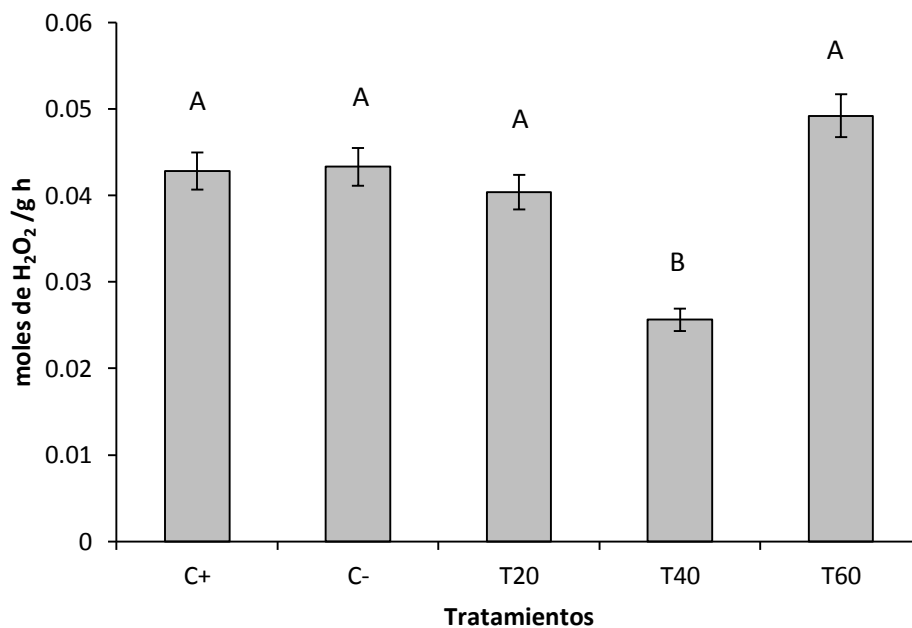


Figura 12: Actividad enzimática de catalasa de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo final (80 Días, primer corte de la albahaca)

Comparando los dos tiempos de muestreo del experimento para todos los casos se pudo observar que existe un incremento de la actividad enzimática de la catalasa (**Figura 13**).

Al comparar cada tratamiento en tiempo inicial contra final se encontró que para C+ no se encontraron diferencias ($t=-1.805$, $P>0.05$), la media \pm desviación estándar del tiempo inicial es de 0.033 ± 0.011 y el final la med= 0.042 ± 0.013 y para T40 los valores del análisis estadístico fueron ($t=-1.213$, $P>0.05$), tampoco hubo diferencias significativas ($med_1=0.0201\pm 0.009$, $med_2=0.025\pm 0.012$).

Para C- ($t=-3.65$, $P<0.05$) si se dieron cambios en su actividad enzimática [$med_1=0.023\pm 0.015$, $med_2=0.043\pm 0.011$. En el T20 se obtuvieron los valores de ($t=-3.814$, $P<0.05$) con una $med_1=0.0262\pm 0.008$ y $med_2=0.04\pm 0.009$. Por último, siendo evidente que en donde hubo un incremento mayor fue en el tratamiento de

lombricomposteo T60 ($t=-5.28$, $P<0.05$) con $med_1=0.023\pm 0.0106$ y $med_2=0.049\pm 0.013$.

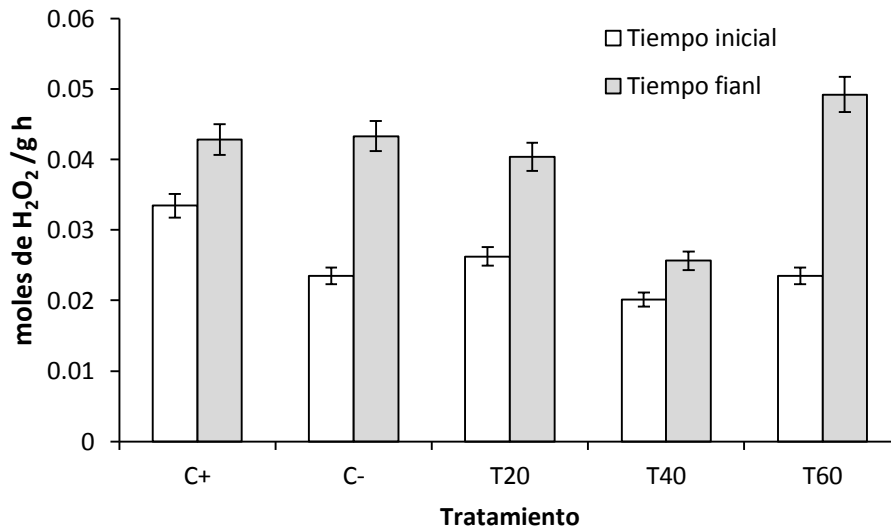


Figura 13: Comparación de la actividad enzimática de catalasa entre los dos tiempos de muestreo

Las actividades enzimáticas del suelo han sido empleadas debido a su gran sensibilidad a los diferentes cambios ambientales que puedan llegar a presentarse (Xue y Huang, 2013). También son utilizadas para comprender el metabolismo microbiano durante el proceso de lombricompostaje y de biorremediación (Miyatake y Iwabuchi, 2006).

La actividad de la enzima catalasa se ha utilizado para regular la contaminación de diversos compuestos inorgánicos y orgánicos en el suelo (Tejada *et al.*, 2015). Estudios similares de Xue y Huang (2013) sobre el efecto de la lombricomposta en las actividades enzimáticas del suelo mostraron un aumento de la actividad de la catalasa.

4.3.2 UREASA

Para la actividad enzimática de ureasa en el tiempo inicial de muestreo (trasplante de la planta de albahaca a los tratamientos de enmienda con lombricomposta) se encontraron diferencias significativas ($F_{(4,20)} = 3.04$, $P < 0.05$) entre los tratamientos de enmienda con lombricomposta (**Figura 14**).

El tratamiento C- es el que presentó la actividad enzimática de la ureasa más alta ($11.84 \pm 2.35 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$), los tratamientos C+ ($11.27 \pm 1.99 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$) y T40 ($10.7129 \pm 3.087 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$) tuvieron un comportamiento similar, mientras que los tratamientos T20 ($9.02122 \pm 1.260 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$) y T60 ($7.89403 \pm 1.2609 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$) fueron los que presentaron la actividad enzimática más baja. En este caso los tratamientos control presentaron una mayor actividad enzimática debido a que los tratamientos contenían las dosis de lombricomposta y se vio favorecido la presencia de microorganismos.

Por otra parte, los controles están adaptados al ambiente en el que se encuentran, de manera que la presencia de microorganismos que son añadidos al suelo provenientes de la lombricomposta tardan tiempo en adaptarse en consecuencia en ese nuevo ambiente se ve modificada la actividad enzimática siendo menor y esto va de acuerdo con Li *et al.* (2007). Autores como Kandeler *et al.* (1999) reportan niveles de $8.6-13.7 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$ en suelos bajo diferentes cultivos, similares a los valores que se obtuvieron en este estudio.

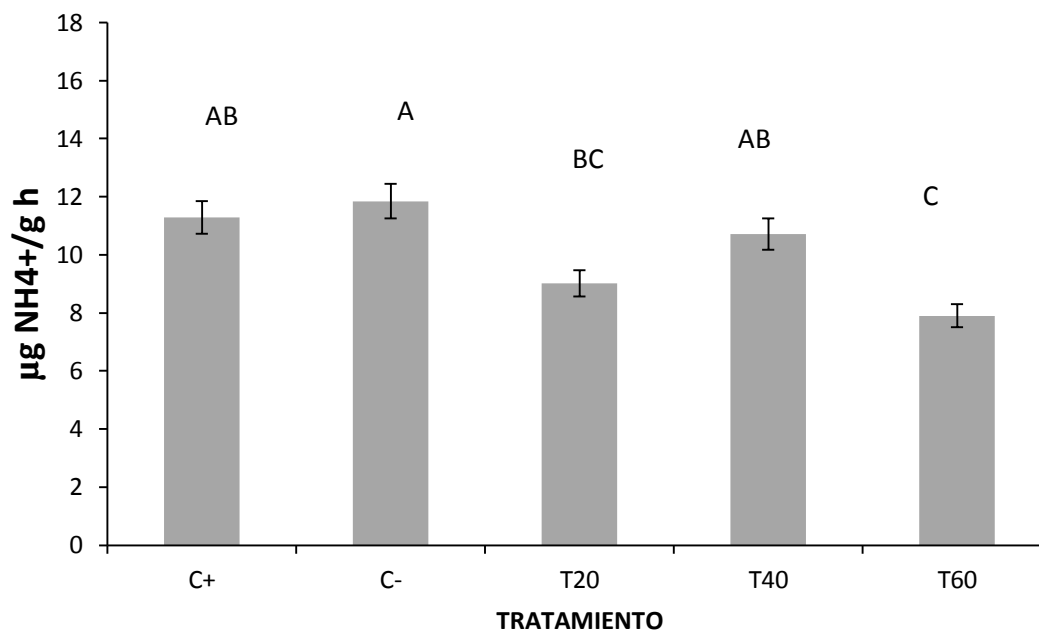


Figura 14: Actividad enzimática de ureasa de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo inicial (trasplante de la albahaca a la maceta).

Para los tratamientos del tiempo final de muestreo (80 días, primer corte del cultivo de albahaca) también se encontraron diferencias significativas ($F_{(4,20)} = 9.17$, $P < 0.05$) entre los tratamientos de enmienda con lombricomposta (**Figura 15**).

De ahí que T60 fue el que presentó la mayor actividad enzimática ($14.6594 \pm 1.2609 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$) con respecto a todos los demás tratamientos T20 ($8.45803 \pm 1.993 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$), C+ ($7.89444 \pm 2.359 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$), T40 ($7.89408 \pm 3.088 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$) y C- ($6.76635 \pm 1.544 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$) esto indica que probablemente contienen cantidades similares de amonio desprendido. El amoníaco puede actuar como inhibidor de la actividad hidrolítica catalizada por la ureasa, por lo que su eliminación junto con la presencia de sustratos nitrogenados pudo motivar la disminución de la actividad de la ureasa en algunos tratamientos (Jurado, 2014). Inclusive autores como Paul y Clark (2009) reportan valores de 1.96 a $20.2 \mu\text{g NH}_4^+/\text{g h}$, los cuales son muy similares los encontrados en este estudio.

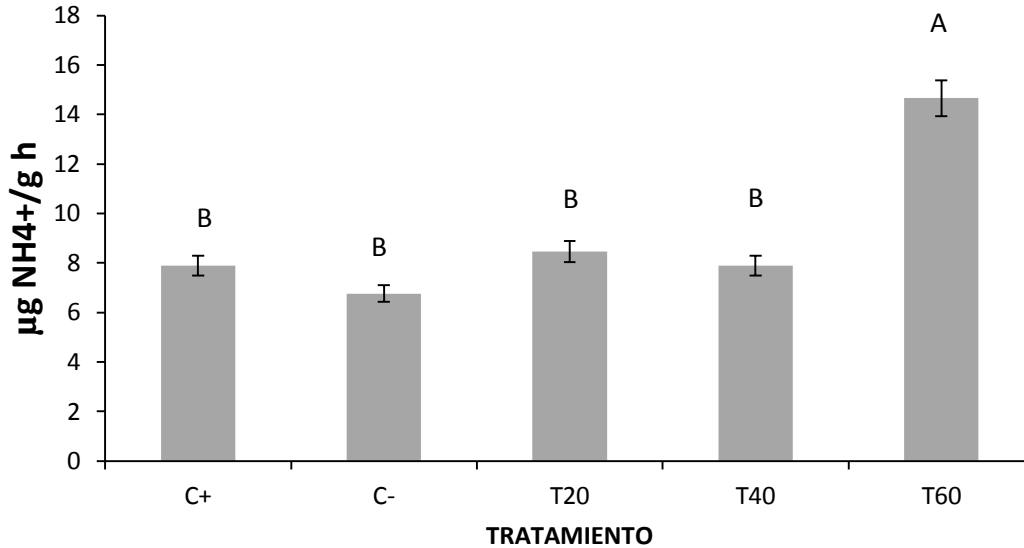


Figura 15: Actividad enzimática de ureasa de los tratamientos de lombricomposteo en el tiempo final (80 Días, primer corte de la albahaca).

Comparando los dos tiempos de muestreo (**Figura 16**) se pudo observar que los tratamientos controles: C+ ($t=2.448$, $P<0.05$) y C- ($t=4.025$, $P<0.05$) tuvieron una disminución en la actividad enzimática de ureasa después de los 80 días del cultivo probablemente porque la materia orgánica era poca que para esos días ya que no había más componentes orgánicos por degradar.

Los tratamientos T20 (0.533 , $P>0.05$) y T40 ($t=1.443$, $P>00.05$) no presentaron diferencias en la actividad enzimática de ureasa entre los dos tiempos de muestreo.

Cabe aclarar que el tratamiento T60 fue el único tratamiento que presentó un aumento en la actividad enzimática, como se observa en la figura 15 el aumento es del doble de la actividad. Benítez en 2005, comenta que la actividad extracelular de ureasa disminuye considerablemente debido a que los sustratos de nitrógeno se consumen durante los primeros meses del proceso de degradación de la materia orgánica.

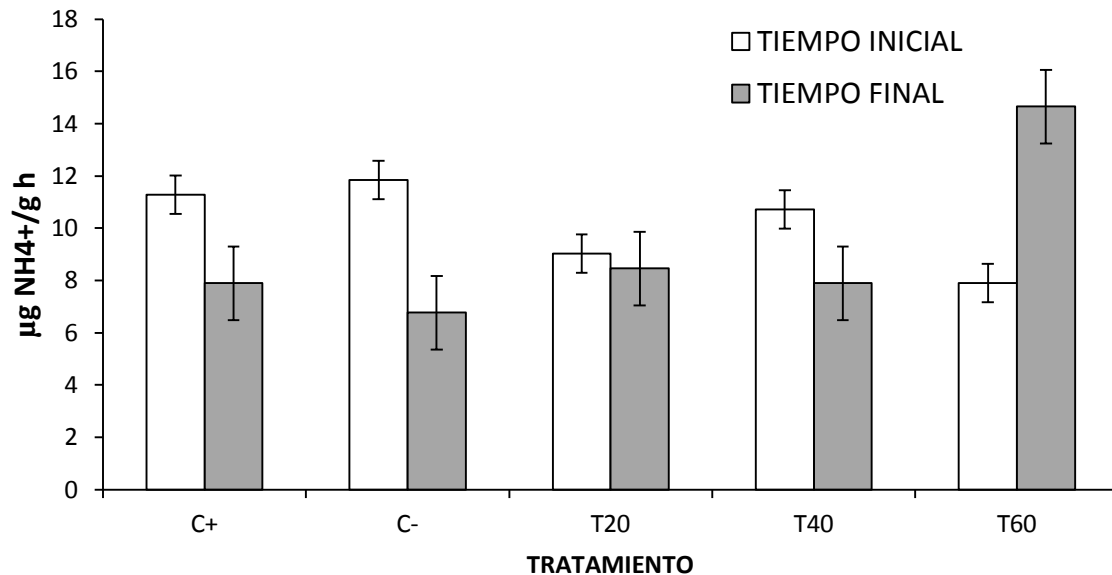


Figura 16: Comparación de la actividad enzimática de ureasa entre los dos tiempos de muestreo

Las enzimas que están presentes en el suelo son un indicador de la fertilidad del mismo y se originan principalmente de las secreciones los microorganismos del suelo y las raíces vivas (Tadano *et al.*, 1993). En el estudio realizado por Zuo en 2018, comenta que el aumento de la actividad enzimática de ureasa es de forma gradual según el aumento de la dosis de lombricomposta que se adiciona. Investigaciones relacionadas indican que la aplicación de abono orgánico mejoró la actividad de enzimática debido a la estimulación de la actividad microbiana por parte de la adición de materia orgánica.

CONCLUSIONES

En este estudio la aplicación de la lombricomposta modificó los parámetros biológicos y bioquímicos del suelo dando como resultado una respuesta positiva en el suelo.

Los parámetros fisicoquímicos que se evaluaron, pudieron estabilizar el suelo de cultivo de albahaca de acuerdo a la norma mexicana (NMX-FF-109-SCFI-2007).

La actividad respiratoria mostro una diferencia entre los tratamientos y se vio incrementado en el suelo con el tratamiento T40, logrando una degradación de la MO por parte de la lombriz y microorganismos en el cultivo de la albahaca.

Para la actividad enzimática de catalasa mostró un aumento en T20 y T60 con respecto a los demás tratamientos lo que favoreció a la fertilidad del suelo,

Así también la actividad enzimática de la ureasa en T60 fue el doble con respecto a los demás tratamientos

Una mayor dosis de lombricomposta favorece la madurez del suelo agrícola por lo que T60 es una opción a sugerir para el cultivo de la albahaca considerando los parámetros biológicos y bioquímicos estudiados.

REFERENCIAS BIBIOGRAFICAS

- Acosta-Martinez A.I., Yousefi Z., and Khosrav T. (2007). Comparison of vermicompost characteristics produced from sewage sludge of wood and paper industry and household solid wastes. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. 15, 5.
- Alef, K., Nannipieri, P. (1995) *Methods in applied soil microbiology and Biochemistry*. Academic Press. London. 450.
- Aspray, J., Dimambro M., Wallace P., Howell G., Frederickson J. (2015). Static, dynamic and inoculum augmented respiration-based test assessment for determining in-vessel compost stability. *Waste Management*. 42, 3-9.
- Balasubramanian, Anuradha; Ponnuraj, Karthe (2010). Crystal Structure of the First Plant Urease from Jack Bean: 83 Years of Journey from Its First Crystal to Molecular Structure. *Journal of Molecular Biology*. 274-283.
- Bandick, A.K., Dick, R.P., (1999). Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biol. Biochem*. 31, 1471–1479.
- Beesley, L. (2014). Respiration (CO₂ flux) from urban and peri-urban soils amended with green waste compost. *GEODERMA*. 68-72.
- Benitez, E., Sainz, H., Nogales, R. (2005). Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste. *Bioresource Technology*. 96, 785-790.
- Briseño-Ruiz, S.E., Aguilar-García, M, Villegas-Espinoza, J.A. (2013). El cultivo de la albahaca. Edit. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur, México. 33.
- Cabanillas C., Stobbia D., Ledesma A. (2013) Production and income of basil in and out of season with vermicompost from rabbit manure and bovine ruminal content alternative to urea. *Journal of Cleaner Production*. 47, 77-84.
- Cadahía López, C. (2005). *Materiales Fertilizantes Utilizados en Fertirrigación, Cultivos Hortícolas, Frutales y Ornamentales*. España: Mundi-Prensa. 93.
- Carpa, R. (2009). Enzymological research on soils from different environments. *Annals of RSCB*. 16(1), 44-48.

- Ciurli, S., Benini, S., Rypniewski, W. R., Wilson, S.; Miletti, S.; Mangani, S. (1999). Structural properties of the nickel ions in urease: novel insights into the catalytic and inhibition mechanisms. *Coordination Chemistry Reviews*. 331.
- Clark, F.E. (2007). *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press. 275.
- Coyne, M. (2000). *Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio*. Editorial Paraninfo, España. 416.
- Cuevas, J., O. S. (2006). Efectos de las enmiendas orgánicas sobre las propiedades físicas del suelo con especiales referencias a la adición de lodos urbanos. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 1-12.
- Del Aguila, P. (2011). Modelación del proceso de vermicomposteo de lodos residuales y abonos orgánicos. Universidad autónoma del estado de Hidalgo. 90
- Fundación Produce Nayarit, A.C. (s.f.) Lombricomposta. Recuperado el 28 de febrero de 2013 de <http://fupronay.org.mx/>
- Gajda, A., Martyniuk, S. (2005). Microbial Biomass C and N and Activity of Enzymes in Soil under Winter Wheat Grown in different Crop Management Systems. *Polish Journal of Environmental Studies* 14,159-163.
- García-Gil, J.C. C. P.-R. (2000). Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. *PERGAMON*, 1907-1913.
- Gispert, M., M. E. (2013). The impact of land management and abandonment on soil enzymatic activity, glomalin content and aggregate stability. *GEODERMA*. 202-203,51-61.
- Guerrero, C., Gómez, I., Mataix-Solera, J. (2007). El uso de enmiendas en la restauración de suelos quemados. *ResearchGate*.124.
- Hernandez, O. A., D. L. (2010). Abonos organicos y su efecto en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. *Tecnociencia*, 1-6.
- Holm, L.; Sander, C. (1997). An evolutionary treasure: unification of a broad set of amidohydrolases related to urease. *Proteins*. 28 (1), 72-82.

- Iannotti, D.A., Grebus, M., Toth, B., Madden, L., Hoitink, H., (2004). Oxygen respirometry to assess stability and maturity of composted municipal solid waste. *J. Environ. Qual.* 23, 1177–1183.
- Jurado, M.M., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M.C., López, M.J., López-González, J.A., Moreno, J. (2014). Evolution of enzymatic activities and carbon fractions throughout composting of plant waste. *Journal of Environmental Management.* p. 355-364.
- Kandeler E., Stemmer M., Klimanek E.M. (1999). Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fractions to long-term soil management. *Soil Biology and Biochemistry.* 31, 261-273.
- Klimas, E. (2009). Effect of organic and mineral fertilizers and land management on soil enzyme activities. *Effect of organic and mineral fertilizers and land management on soil enzyme activities (Special issue I).* 9, 191-197.
- Komolis, D., Kontou, I., Ntougias, S., (2011). A modified static respiration assay and its relationship with an enzymatic test to assess compost stability and maturity. *Bioresour. Technol.* 102, 5863–5872.
- Li, M.L., Gu, J., Gao, H., Qin, Q.J., Liu, M.J., (2007). Effects of different organic fertilizer on plant character, quality and yield of soybean. *J. Northwest Sci-Tech. Univ. Agric. Forb (Nat. Sci. Ed.)* 35, 67–72.
- Liu, X., W. Z. (2016). Diurnal variation in soil respiration under different land uses on Taihang Mountain, North China. *Atmospheric Environment.* 126, 283.
- Miyatake F. and Iwabuchi K. (2006). Effect of compost temperature on oxygen uptake rate, specific growth rate and enzymatic activity of microorganisms in dairy cattle manure. *Bioresource Technology.* 97, 961-965.
- Ngo Phuong-Thi, Cornelia Rumpel, Thu-Thuy Doan, Pascal Jouquet. (2012). The effect of earthworms on carbon storage and soil organic matter composition in tropical soil amended with compost and vermicompost. *Soil Biology & Biochemistry.* 50, 214-220.
- Qin, Yingjie; Cabral, Joaquim M. S. (2002). Review Properties and Applications of Urease. *Biocatalysis and Biotransformation.* 1-14.

- Paul E.A., Clark F.E. (2009). Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press. 234 p.
- Paz-Ferreiro J., Trasar-Cepeda C., Leirós M.C., Seoane S., Gil-Sotres F. (2007). Biochemical properties of acid soils under native grassland in a temperate humid zone. New Zealand Journal of Agricultural Research. 50(4), 537-548.
- Ponsá, S., Pagans, E., Sánchez, A., (2009). Composting of dewatered wastewater sludge with various ratios of pruning waste used as a bulking agent and monitored by respirometer. Biosyst. Eng. 102, 433–443.
- Ramirez, R. (2007). Propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos. Convenio FENALCE-SENA-SAC. 9-18
- Ruiz-Morales, M. (2011) Taller de elaboración de lombricomposta: porque tener lombrices nos beneficia a todos. México: Universidad Iberoamericana, A.C. Recuperado el 24 de agosto de 2018 de www.uia.mx/web/files/publicaciones/
- SAGARPA. 2007. Norma Mexicana de humus y lombriz, especificaciones y métodos de prueba. Página en red: www.ordenjuridico.gob.mx/FEDERAL/PE/ADF/SAGARPA/Normas/Oficiales/nmx-ff-109-scfi.2007.pdf (Consultada el 12 de agosto de 2018).
- Sasal, C. A. (2009). Efecto de diferentes enmiendas sobre algunas propiedades edáficas en sistemas de producción hortícola del centro norte de la región pampeana. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 79-83.
- SEMARNAT. 2000. Norma Oficial Mexicana NOM-021 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial, martes 31 de diciembre, 2002. Página en red: www.semarnat.gob.mx/.../NOM.021-REC NAT-2000.pdf (Consultada el 22 de agosto de 2018).
- Singh, K., B. S. (2012). Changes in physico-chemical, microbial and enzymatic activities during restoration of degraded sodic land: Ecological suitability of mixed forest over monoculture plantation. CATENA. 96, 57-67.

- Tadano, T., Ozawa, K., Sakai, H., et al., (1993). Secretion of acid phosphatase by the roots of crop plants under phosphorus-deficient conditions and some properties of the enzyme secreted by lupin roots. *Plant Soil*. 155/156 (1), 95–98.
- Tejada M., Gómez I., Franco-Andreu L., Benitez C., (2015). Role of different earthworms in a soil polluted with oxyfluorenherbicide. Short-time response on soil biochemical properties. *Ecological Engineering*. 86, 39-44.
- Valente de Medeiros, E. (2015). Absolute and specific enzymatic activities of sandy entisol from tropical dry forest, monoculture and intercropping areas. *Soil & Tillage Research*. 145, 208-215.
- Valente. R. Comese, M. G. (2009). Cambios en las propiedades de suelo de huerta y rendimiento de Beta Vulgaris var. Cicla (I) por el uso de enmiendas orgánicas. *Ciencia del suelo*. 56-65.
- Valero Ubierna C., Garrido Izard M., Barreiro Elorza P., Alcino Conceição L. (2010). Ahorro y eficiencia energética derivados de nuevas tecnologías de siembra. *Vida Rural*. 56-58.
- Vargas-García, M., Suarez-Estrella, F., Lopez, M., Moreno, J., (2010). Microbial population dynamics and enzyme activities in composting processes with different starting materials. *Waste Manage*. 30, 771–778.
- Xue D., X. Huang. 2013. The impact of sewage sludge compost on tree peony growth and soil microbiological, and biochemical properties. *Chemosphere*. 93. 583-589.
- Yen, M. (2016). Molecular Mechanics Evaluation of the Proposed Mechanisms for the Degradation of Urea by Urease. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 787-797.
- Zuo, Y., Zhan, J., Zhao, R., Dai, H., Zhang, Z. (2018). Application of vermicompost improves strawberry growth and quality through increased photosynthesis rate, free radical scavenging and soil enzymatic activity. *Scientia Horticulturae*. 132-140.

ANEXOS

ANEXO 1. De acuerdo a la norma oficial mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007 humus de lombriz (lombricomposta) - especificaciones y métodos de prueba.

Característica	Valor
Nitrógeno total	De 1 a 4% (base seca)
Materia orgánica	De 20% a 50%(base seca)
Relación C/N	≤20
Humedad	De 20 a 40% (sobre materia húmeda)
pH	de 5.5 a 8.54
Conductividad eléctrica	≤ 4 dS m ⁻¹
Capacidad de intercambio catiónico	> 40 cmol kg ⁻¹
Densidad aparente sobre materia seca	0.40 a 0.90 g mL ⁻¹
Materiales adicionados	Ausente

Fuente: NMX-FF-109-SCFI-2007 humus de lombriz (lombricomposta) - especificaciones y métodos de prueba

ANEXO 2. Clasificación del suelo en cuanto a su valor de pH acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000

Clasificación	pH
Fuertemente ácido	<5.0
Moderadamente ácido	5.1-6.5
Neutro	6.6-7.3
Medianamente alcalino	7.4-8.5
Fuertemente alcalino	>8.5

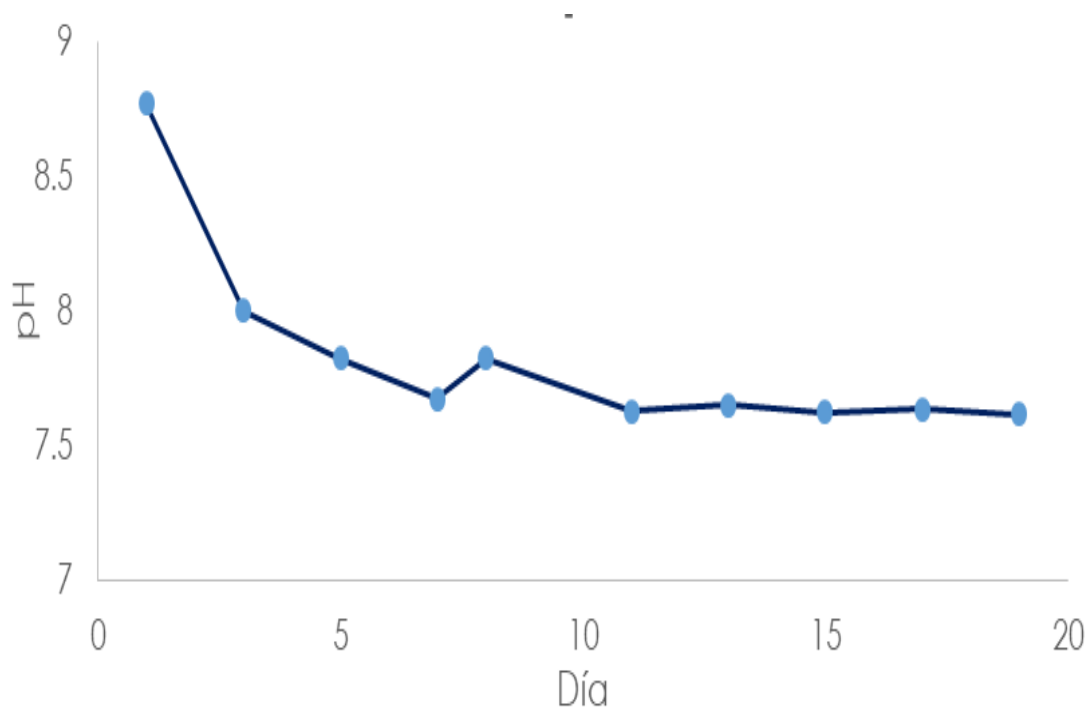
ANEXO 3. Valores de referencia de la materia orgánica en suelos minerales y volcánicos de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000

Clase	Materia orgánica (%)	
	Suelos volcánicos	Suelos no volcánicos
Muy baja	<4.0	<0.5
Baja	4.1-6.0	0.6-1.5
Medio	6.1-10.9	1.6-3.5
Alto	11.0-16.0	3.6-6.0
Muy alto	>16	>6

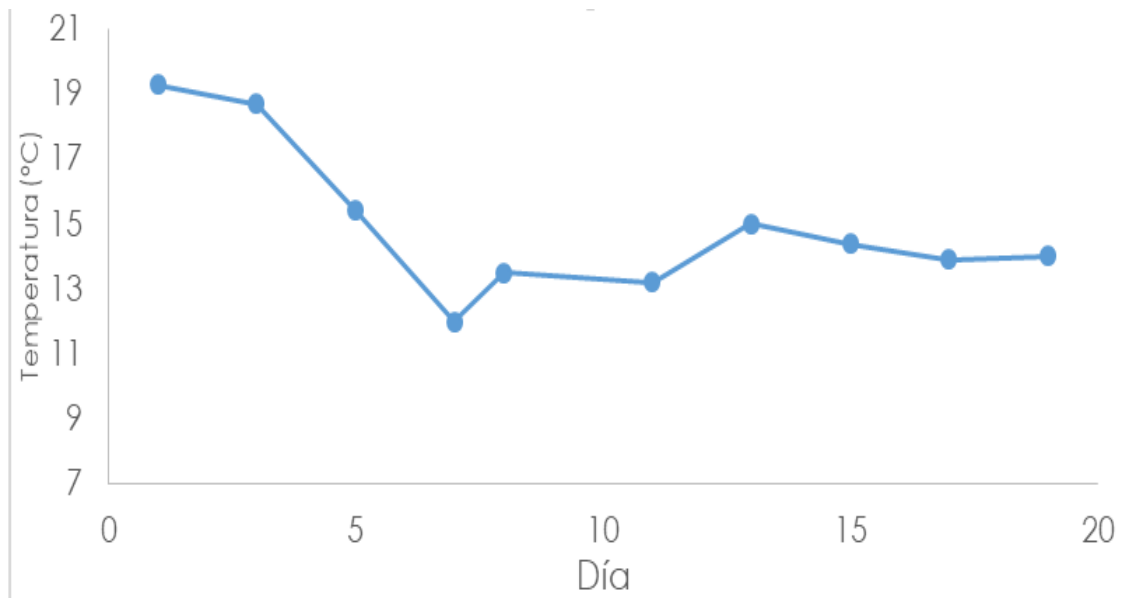
ANEXO 4. Intervalos de metales permisibles (mg kg^{-1} , en peso seco) en lodos residuales para su uso agrícola de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002.

Metal	Excelente*	Bueno*	Excelente**	Bueno**
Cd	39	85	20	140
Cr	1200	3000	-	-
Cu	1500	4300	1000	1750
Pb	300	840	750	1200
Ni	420	420	300	400
Zn	2800	7500	2500	4000

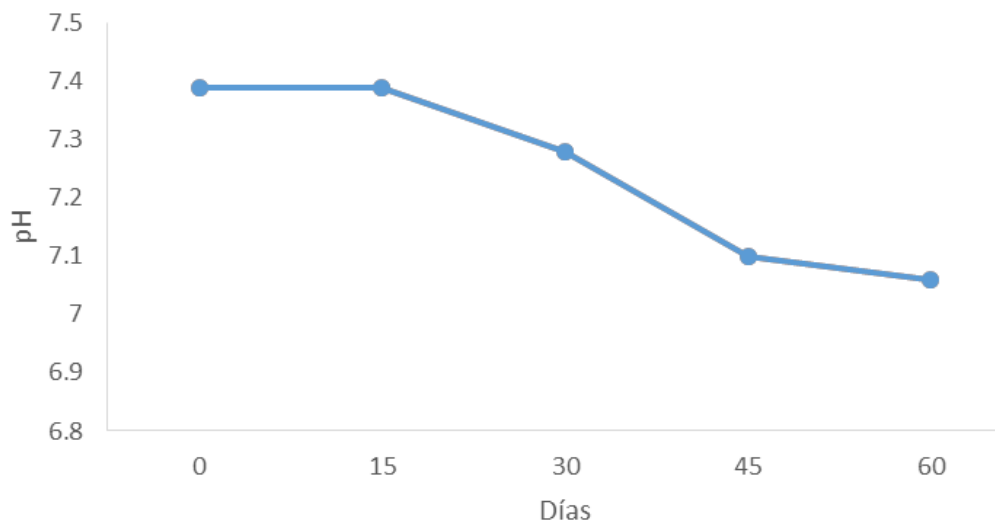
ANEXO 5. pH del precomposteo de lodo residual y estiércol equino monitoreado durante 20 días (Reyes, 2018).



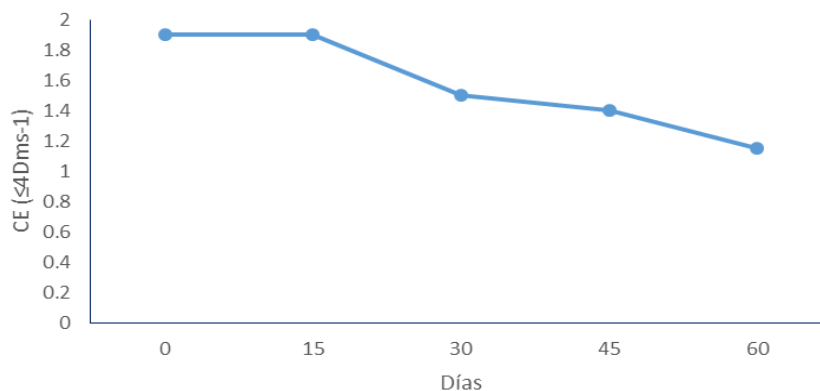
ANEXO 6. Temperatura del precomposteo de lodo residual y estiércol equino monitoreado durante 20 días (Reyes, 2018).



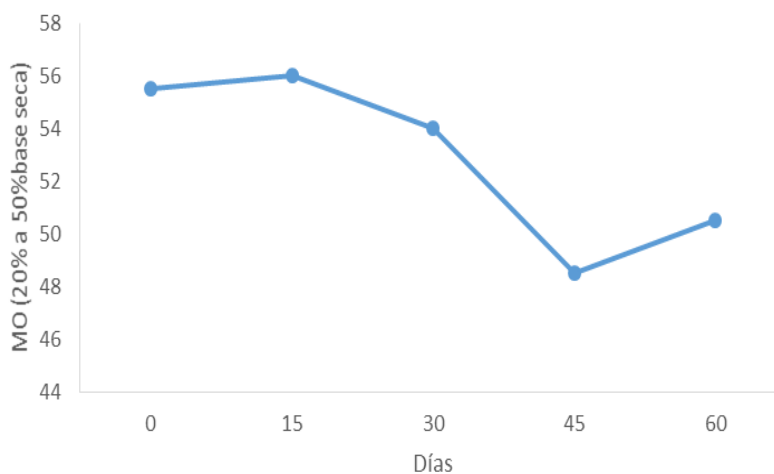
ANEXO 7. pH del lombricomposteo de lodo residual y estiércol equino monitoreado durante 60 días (Reyes, 2018).



ANEXO 8. CE del lombricomposteo de lodo residual y estiércol equino monitoreado durante 60 días (Reyes, 2018).



ANEXO 9. Materia orgánica del lombricomposteo de lodo residual y estiércol equino monitoreado durante 60 días (Reyes, 2018).



ANEXO 10. Tabla de abreviaturas

Abreviatura	Significado
dS/m	Decisiems por metro
mgCO ₂ /100gss	Miligramos de dióxido de carbono por 100 gramos de suelo seco
moles H ₂ O ₂ /g h	Moles de peróxido de hidrogeno sobre gramos por hora
µg NH ₄ ⁺ /g h	Microgramos de amonio sobre gramo por hora