

ACTIVIDAD FOSFATASA Y pH DEL SUELO ADYACENTE A LA RIZOSFERA DE MAÍZ, TRIGO Y TRITICALE EN SUELOS ÁCIDOS

Soil Phosphatase Activity and Adjacent pH Rhizosphere of Corn, Wheat and Triticale in Acid Soils

Gerardo Cruz-Flores^{1†}, David Flores Román², Gabriel Alcántar González³, Antonio Trinidad Santos³, Ma. Edna Alvarez Sánchez⁴ y Araceli Bautista Acevedo⁵

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar la relación entre el desarrollo de algunos genotipos de maíz (*Zea mays* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.) y triticale (*X Triticosecale* Witmack), con mayor y menor eficiencia (+E y -E) de uso de N y P, y su actividad radical, medida a través de las variaciones de la actividad fosfatasa ácida y el pH del suelo adyacente a la rizosfera (AFASAR y pHSAR, respectivamente). En condiciones de invernadero, se trabajó con dos Andosoles (húmico y mólico) y un Nitosol éutrico en los cuales se desarrollaron cuatro plantas, en macetas con capacidad para 2 kg de suelo, con cuatro tratamientos de suministro de N y P. La medición, tanto de la AFASAR como del pHSAR, se realizó al inicio del experimento y a 30 y 90 días posteriores al trasplante, con el método de Tabatabai (1994) y en forma potenciométrica, respectivamente. Los resultados mostraron que, en comparación con los testigos, la AFASAR aumentó entre 100 y 500% en ambos grupos de suelos y se incrementó en los tratamientos sin suministro de P, principalmente en el Nitosol, en cuyo testigo se encontró la mayor AFASAR. Con respecto a las variaciones de pHSAR, las tres especies mostraron, 30 días después del trasplante, mayor tendencia acidificante en el suelo con mayor contenido de materia orgánica del suelo. El cambio del valor del pHSAR, inducido por la actividad radical del maíz, tuvo una variación entre una y dos unidades de pH; para el trigo el cambio fue de aproximadamente una unidad y en triticale fue de casi tres unidades. A 90 días,

los valores de pHSAR mostraron disminución en la acidez (tendencia a la neutralidad) alcanzada en el primer periodo. Este comportamiento fue más marcado en genotipos +E respecto a los -E, los cuales mostraron una tendencia lenta a la neutralidad.

Palabras clave: fosfatasa ácida del suelo, pH, eficiencia nutricional.

SUMMARY

The present study was conducted to determine the relationship between the development of some genotypes of maize (*Zea mays* L.), wheat (*Triticum aestivum* L.) and triticale (*X Triticosecale* Witmack) with high and low N and P use efficiency (+E and -E) and root activity measured as variations in soil phosphatase activity adjacent rhizosphere (SPAAR) and soil pH adjacent rhizosphere (ASRpH). These genotypes were grown in a greenhouse in humic and mollic Andosols and eutric Nitosol with four dosages of nitrophosphated (N+P) fertilizers and four plants in 2 kg pots. SPAAR and ASRpH were measured at the beginning of the experiment and 30 and 90 days after transplant with the Tabatabai method (1994) and a potentiometer, respectively. It was found that, relative to the control, SPAAR increased between 100 and 500% in both groups of soils in treatments without P supplement, mainly in the Nitosol, whose control showed the highest SPAAR. With respect to variations in ASRpH, all three species showed a tendency toward greater soil acidification 30 days after the transplant in the soil with the highest soil organic matter content. The variation of ASRpH induced by maize root activity, showed a range from one to two pH units; for wheat, the change was approximately one unit while for triticale it was three units. After 90 days, the values of ASRpH showed a decrease in acidity tending toward neutral, which was reached at 30 days. This behavior was more marked in genotypes +E than -E, which showed a slow tendency toward neutrality.

¹ FES Zaragoza, UNAM. Batalla 5 de mayo, 66. Col. Ejército de Oriente, 09230 México, D. F.

[†] Autor responsable (edaynuve@gmail.com)

² Dpto. de Suelos, Instituto de Geología, UNAM.

³ Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. 56230 Montecillo, Estado de México.

⁴ Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México.

⁵ FES Iztacala, UNAM.

Index words: acid soil phosphatase, pH, nutrient efficiency.

INTRODUCCIÓN

Del pH del complejo suelo-rizosfera depende la solubilidad y la disponibilidad de P, tanto en los suelos alcalinos como en los ácidos, donde se presentan problemas de fijación de fosfatos vía adsorción química en sólidos insolubles de Ca, Fe y Al (Cruz-Flores *et al.*, 2001). Aunado a lo anterior, entre 30 y 70% del P del suelo se encuentra como éster-fosfato en la materia orgánica del suelo (MOS), en complejos cuya principal fracción aparece en derivados del ácido fítico, el cual, para ser utilizado, debe hidrolizarse por acción de enzimas fosfatasas que liberan H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} , poniéndolos así a disposición de las plantas (Kang y Freeman, 1999). Schneider *et al.* (2000) señalan que las fosfatasas se producen cuando el P es el elemento que limita el crecimiento. Por su parte, Seeling y Jungk (1996) encontraron, en correspondencia con los incrementos en la actividad de la fosfatasa en la vecindad de las raíces, una disminución del P-orgánico y un incremento en la concentración de H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} . Las fosfatasas del suelo pueden originarse como una respuesta adaptativa al estrés por deficiencia de P de las raíces de plantas superiores, microorganismos de vida libre (como *Aspergillus* sp.) y algunas bacterias y hongos ectomicorrícicos (Naseby *et al.*, 1998). Las fosfatasas ácidas son liberadas por las raíces en su zona apical (Marschner, 1995). La actividad de las fosfatasas en el suelo se mantiene, sin que se pierda su capacidad hidrolítica sobre enlaces éster-fosfato de los compuestos orgánicos, gracias a su estabilización con coloides minerales y complejos húmicos (Rao *et al.*, 1996). Una sola enzima fosfatasa puede catalizar la hidrólisis de fosfatos de etilo, fenilo y glicerofosfato, mientras que las moléculas con dos grupos R-O-P (diésteres) pueden requerir de diferentes isoenzimas para su hidrólisis, por lo que la determinación de la actividad de las fosfatasas en los suelos con alto contenido de materia orgánica (MO) es importante por la contribución de ésta a la mineralización bioquímica del P presente en la MOS (Schneider *et al.*, 2000). La mayor actividad de las fosfatasas ácidas se encuentra en la rizosfera, en contraste con la matriz del suelo, y en la proximidad del sistema suelo-planta, en las zonas cercanas a la raíz en varios tipos de suelo. También se incrementa en la capa

superior del suelo y disminuye con la profundidad. Dentro de la planta, la actividad de la fosfatasa incide en el transporte del P-inorgánico o participa en la conversión de las formas orgánicas a inorgánicas. En las raíces, las fosfatasas juegan un papel importante para la adquisición de P desde la rizosfera. Sin embargo, en maíz, el incremento de la actividad de esas enzimas sólo ocurre en condiciones de severa deficiencia (Marschner, 1995). Por lo anterior, se plantea la hipótesis de que en el suelo adyacente a la rizosfera de plantas con alta eficiencia en uso de N y P, expresada como una mayor producción de biomasa por unidad de suministro de nutrimento, la actividad de la fosfatasa ácida es mayor.

Con referencia a la disponibilidad de los nutrimentos que se relacionan con el pH del suelo, se reconoce a la acidez del suelo como un factor que puede limitar la productividad de los cultivos (Marschner, 1995; Rao *et al.*, 2000). El cambio de pH en la rizosfera, durante el crecimiento de las plantas, afecta la solubilidad y la absorción de nutrimentos (Hinsinger, 1998). El pH de la rizosfera puede diferir del pH del suelo hasta en más de dos unidades, diferencia que, entre otras cosas, está en función del suministro y la fuente de nitrógeno (NH_4^+ , NO_3^- o fijación simbiótica de N_2), el estado nutricional de la planta y la capacidad amortiguadora del suelo. Las variaciones de pH en la zona de la rizosfera se han estudiado, tanto por métodos colorimétricos en medio nutritivo de agar con indicadores de pH (púrpura de bromocresol), los cuales comparan el color de los estándares de pH preparados con los mismos reactivos e indicador (Rao *et al.*, 2000), como por métodos electrométricos de microelectrodos (Gollany y Schumacher, 1993). Las mediciones de pH en la zona de la rizosfera *in situ* difícilmente se aplican, por la complejidad práctica que representan, además de que las propiedades del suelo, por sí mismas, influyen en la capacidad amortiguadora del mismo. Como segunda hipótesis de trabajo se plantea que los genotipos de maíz, trigo y triticale eficientes en uso de N y P (+E), por medio de su actividad radical, incidirán con mayor rapidez en la capacidad amortiguadora del suelo que los genotipos no eficientes en el uso de N y P (-E). Con base en las hipótesis planteadas, se propuso como objetivo evaluar: a) la actividad de la fosfatasa ácida y, b) el pH de suelo adyacente a la rizosfera y sus relaciones con el crecimiento de genotipos de maíz, trigo y triticale, con diferente eficiencia de uso de N y P.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en macetas de plástico con capacidad para contener 2 kg de suelo, el cual se regó con agua destilada para mantener la humedad necesaria durante el curso del experimento. Se utilizaron tres suelos ácidos provenientes de Villa Victoria, Estado de México; Pátzcuaro, Michoacán; y Reforma, Chiapas. Con los tres suelos, tres especies y dos genotipos de cada una, además de cuatro dosis de fertilización (Cuadro 1), se generaron 72 tratamientos, los cuales se distribuyeron en un arreglo de bloques completos al azar con tres repeticiones. Se sembraron 10 semillas de dos genotipos de trigo, dos de triticale y dos de maíz, +E y -E en uso de N y P. De éstos, los genotipos +E han mostrado mayor producción de biomasa a igual suministro de N y P, respecto a los genotipos -E (Cruz-Flores *et al.*, 2002). Se suministraron cuatro dosis de N y P (Cuadro 1). Una vez que emergieron las plántulas (entre los nueve y 16 días), en consideración de la alta densidad de raíces deseada, se hizo un aclareo para dejar cuatro plantas por maceta. Los suelos utilizados presentaron acidez de ligera a moderada, baja disponibilidad de P [se utilizó el método Olsen porque éste ha presentado buena correlación con el P en tejido vegetal de cereales desarrollados en suelos con valores de pH semejantes a los aquí empleados (Venegas *et al.*, 1999; Vázquez *et al.*, 2004)], alto contenido de MO y N-total, con excepción del Nitosol, de Reforma, Chiapas (Cuadro 2). Para determinar el efecto del cultivo y con el fin de evaluar y comparar la actividad fisiológica de las raíces de

las plantas, respecto a las variaciones de pH y de la actividad de la fosfatasa del suelo adyacente a la rizosfera, se colocaron dos macetas de cada suelo como testigos absolutos y se manejaron como los demás tratamientos. Las determinaciones de pH *in situ* se realizaron 30 y 90 días después del trasplante. Para medir el pH del suelo adyacente a la rizosfera *in situ*, se siguió el siguiente método: (1) antes de la siembra se introdujo un tubo de vidrio, de mayor diámetro que el del electrodo de medición de pH, en torno al cual, por estar bajo las semillas, se tendría un íntimo contacto con una alta densidad de raíces (Figura 1); (2) para reblandecer el suelo, se agregaron 50 mL de agua destilada en torno del tubo de vidrio y, mediante giros lentos, éste se retiró cuidadosamente; (3) en el espacio dejado por el tubo, se introdujo el electrodo de medición de pH, de un potenciómetro previamente calibrado; (4) se adicionaron 50 mL de agua destilada, para tener un medio acuoso y eliminar cualquier interferencia por gases durante la medición; (5) se esperó un tiempo de 60 s y se registró el pH, así como la temperatura del sistema durante la medición.

La actividad de la fosfatasa ácida del suelo se determinó 0, 30 y 90 días después de la emergencia de las plantas. Al inicio del experimento (tiempo cero) y a 30 días, se eliminó, con una espátula, el suelo de la superficie del centro de la maceta y se colectó una fracción de éste, suficiente para analizar la actividad de la enzima. A 90 días de la emergencia y, posteriormente, en la cosecha de la parte aérea (tallos más hojas), se extrajeron con gran cuidado las raíces de cada planta y

Cuadro 1. Factores y niveles para el diseño de los tratamientos.

Factor	Niveles					
Suelo	Andosol mólico, Pátzcuaro, Mich.		Andosol húmico, Villa Victoria, Méx.		Nitosol éutrico, Reforma, Chis.	
Especie	Maíz (Negro)	Maíz (V-23)	Trigo (Berros)	Trigo (San Cayetano)	Triticale (Secano)	Triticale (Lamb-2)
	(+E)	(-E)	(+E)	(-E)	(+E)	(-E)
N y P (mg kg ⁻¹)	400 - 0 [†] (+N)	0 - 200 (+P)	400 - 200 (+N+P)	0 - 0 (-N-P)		

-E, +E = menos y más eficientes, respectivamente, en uso de N y P.

[†] mg kg⁻¹ = miligramos de N y P por kilogramo de suelo, suministrados, como urea y superfosfato triple.

Cuadro 2. Principales propiedades físicas y químicas[†] de los suelos utilizados.

Suelo	¹ pH	² CE	³ MOS	⁴ N-total	⁵ P
		dS m ⁻¹	- - - - % - - - -		mg kg ⁻¹
Andosol mólico, Pátzcuaro, Michoacán	5.16	0.23	4.46	0.23	4.23
Andosol húmico, Villa Victoria, México	4.65	0.12	6.69	0.26	4.59
Nitosol éutrico, Reforma, Chiapas	4.35	0.06	1.93	0.08	1.93

[†] Valores promedio de tres repeticiones para cada propiedad.

¹ En H₂O, 1:2; ²conductividad eléctrica en H₂O 1:5; ³MOS, materia orgánica del suelo, Walkley y Black; ⁴semimikrokjeldahl; ⁵P-Olsen.

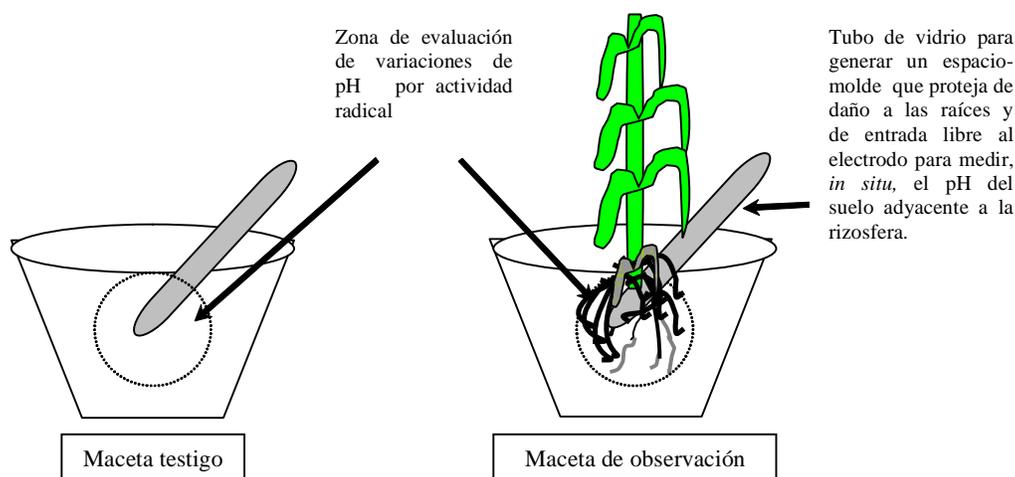


Figura 1. Esquema de medición de variaciones de pH de suelo adyacente a la rizosfera por actividad radical.

se colectó el suelo adherido a ellas, también se colectó suelo de las macetas testigo absoluto (sin desarrollo de plantas) y se determinó la actividad fosfatasa ácida, por el método de p-nitrofenil fosfato (Tabatabai, 1994). El material vegetal cosechado se secó en la estufa, a 80 °C hasta llegar a peso constante. Se cuantificó la biomasa, así como el N y el P acumulados en la raíz y la parte aérea (tallos y hojas). A los datos obtenidos se les efectuó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actividad Fosfatasa en Suelo Adyacente a la Rizosfera (AFASAR)

Con la suma de los valores de la AFASAR, determinada a los 30 y los 90 días, y con la comparación entre especies, los resultados mostraron, sin considerar la condición de eficiencia (+E y -E), que el trigo promovió una mayor actividad de la enzima en el suelo

adyacente a la rizosfera que el maíz y el triticale aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa entre especies (Cuadro 3).

Con respecto al inicio del experimento (0 días) y en los suelos sin cultivar, la AFASAR, en la condición de suelo cultivado, tanto en los Andosoles como en el Nitosol estudiados, aumentó en más de 100% (Cuadro 3). En los tres suelos, la AFASAR del maíz presentó valores entre cuatro y seis veces mayores que los testigos. En la condición de cultivo, el suelo adyacente a la raíz de trigo y triticale presentó mayor actividad de la fosfatasa que en los suelos testigo, con diferencias significativas entre grupos de suelos. La contribución del trigo y el triticale a la AFASAR, en los tres suelos, fue similar (sin diferencia significativa), aunque el efecto del cultivo de triticale fue mayor en el Andosol húmico de Villa Victoria y en el Nitosol éutrico de Reforma. En los suelos testigo, la actividad de la fosfatasa fue mucho menor que la presentada en los tres suelos cultivados y presentó significancia estadística. Bergstrom y Monreal (1998), en resultados semejantes a éstos, reportaron que

Cuadro 3. Actividad fosfatasa ácida total[†] del suelo adyacente a la rizosfera por grupo de suelo.

Suelos					
Andosol mólico Pátzcuaro		Andosol húmico Villa Victoria		Nitosol éutrico Reforma	
Testigo	Cultivado	Testigo	Cultivado	Testigo	Cultivado
----- $\mu\text{g p-NP g}^{-1} \text{ suelo h}^{-1}$ -----					
0.020 b	0.05 a	0.015 b	0.067 a	0.013 b	0.032 a

Misma letra indica que no hay diferencias significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

[†] Suma de la actividad de la enzima determinada a treinta y noventa días de desarrollo de las especies en dos Andosoles y un Nitosol. Cada valor representa el promedio de 144 unidades experimentales.

el desarrollo de plantas de cultivos aumentó en el suelo la actividad de las fosfatasas y de otras exoenzimas. El incremento observado por estos autores se atribuyó al abundante crecimiento radical que presentaron los cereales y a la gran cantidad de MOS. En el Andosol húmico, de Villa Victoria, y en el Nitosol éutrico, de Reforma [con el mayor y el menor porcentaje de MOS, respectivamente (Cuadro 2)] también se encontró la mayor y menor AFASAR, respectivamente (Cuadro 4), lo cual es una evidencia de que la MOS promovió la actividad de las exoenzimas en el suelo, como lo reportan Bergstrom y Monreal (1998). En maíz, el genotipo V-23 (+E), respecto al Negro (-E), promovió una mayor actividad de la fosfatasa ácida en el Andosol húmico, de Villa Victoria, y en el Nitosol éutrico, de Reforma, pero una menor actividad en el Andosol mólico, de Pátzcuaro (Cuadro 4).

En el caso del trigo y del triticale, de manera semejante al maíz, en el Andosol húmico, de Villa Victoria, y el Nitosol éutrico, de Reforma, los genotipos +E (San Cayetano y Lamb-2) promovieron, respecto a los genotipos -E, una mayor AFASAR; en el Andosol mólico, de Pátzcuaro, los genotipos -E (Berros y Secano) promovieron una mayor actividad de la enzima en el suelo adyacente a la rizosfera.

La actividad fosfatasa fue más alta en el suelo adyacente a la rizosfera en los tres suelos, en comparación con la matriz del suelo, como lo reporta Marschner (1995), quien señala que el incremento en la actividad de la fosfatasa se debe al incremento en la actividad de las raíces de las plantas y a la microflora del suelo. Otra influencia indirecta que tienen las plantas sobre la actividad enzimática del suelo es su capacidad para incrementar el número de microorganismos presentes en el humus (efecto rizosfera), lo cual, a su vez, aumenta la actividad de las enzimas del suelo, a través del desarrollo de sus procesos metabólicos (Rao *et al.*, 1999). En el Andosol húmico, de Villa Victoria,

con alto porcentaje de MOS (6.69%), se encontró baja actividad fosfatasa en la condición testigo, pero el cultivo de los tres cereales indujo la mayor AFASAR, por lo que la mayor inducción de la enzima se debió a la actividad radical de las plantas, en respuesta al alto contenido de MOS, fuente de P orgánico. Yun y Kaeppler (2001) encontraron que las fosfatasas las secretan varias especies de plantas cultivadas cuando se desarrollan bajo estrés por deficiencia de P. En los suelos aquí utilizados, el P disponible (por su baja disponibilidad) pudo limitar el crecimiento de las plantas, por lo que tanto el maíz como el trigo y el triticale promovieron una mayor actividad de la fosfatasa en el suelo adyacente a la rizosfera, pero esta tendencia fue más marcada en los genotipos +E, en comparación con los genotipos -E (Figura 2), y con ello se tuvo una mayor absorción y acumulación de P, lo que se observó para estos genotipos en comparación con los genotipos -E (Cruz-Flores *et al.*, 2002).

Los resultados indican que dentro de cada especie la condición de mayor eficiencia de uso de N y P promovió en el suelo una mayor actividad de la fosfatasa en el suelo adyacente a la rizosfera, pero las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo influyen sobre el comportamiento indicado, lo cual quedó de manifiesto con los resultados encontrados para el Andosol mólico (Pátzcuaro) (Figura 2). En el Andosol de Pátzcuaro, contrario a lo planteado en la hipótesis de trabajo, todos los genotipos -E promovieron una mayor AFASAR. Salam *et al.* (2001) reportaron que las enzimas del suelo pueden estar presentes en forma soluble o adsorbida a los coloides; las solubles pueden percolarse con el agua de lluvia o riego y las adsorbidas permanecen firmemente ligadas al suelo y sólo pueden migrar con las partículas de suelo, mediante procesos erosivos. Los suelos de la región de Pátzcuaro, los de mayor erosión observada en campo, presentaron un mayor contenido de sales, pH menos ácido y la menor actividad fosfatasa en su suelo

Cuadro 4. Actividad fosfatasa ácida del suelo adyacente a la rizosfera promovida por la condición de eficiencia de los genotipos de maíz, trigo y triticale.

	Maíz		Trigo		Triticale	
	V-23 +E	Negro -E	San Cayetano +E	Berros -E	Lamb-2 +E	Secano -E
	----- μg p-NP g ⁻¹ suelo h ⁻¹ -----					
Andosol húmico, Villa Victoria, México	0.071 a	0.060 ab	0.080 a	0.066 a	0.060 ab	0.057 ab
Andosol mólico, Pátzcuaro, Michoacán	0.021 b	0.082 a	0.038 b	0.081 a	0.053 ab	0.084 a
Nitosol éutrico, Reforma, Chiapas	0.051 ab	0.040 b	0.030 b	0.012 c	0.043 b	0.038 b

Letras iguales entre un mismo tipo de suelo, representan que no hay diferencias significativas (Tukey, P ≤ 0.05).

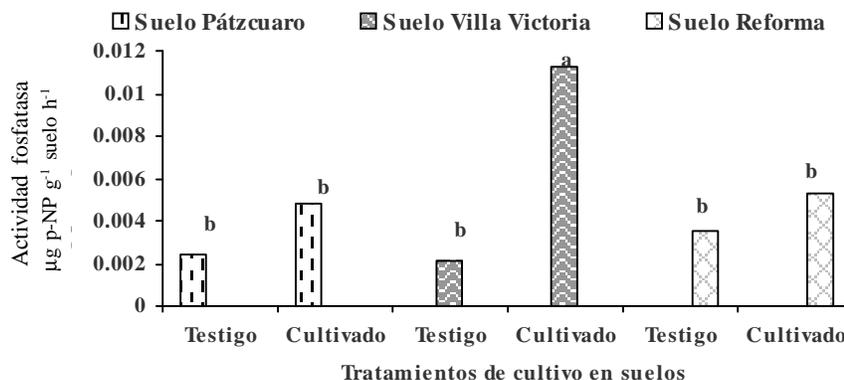


Figura 2. Actividad fosfatasa ácida ($\mu\text{g p-NP}$; paranitrofenol g^{-1} de suelo h^{-1}) en Andosoles y en un Nitosol, después del crecimiento en ellos de maíz, trigo y triticale. En el gráfico, cada dato de suelo cultivado representa el promedio de 72 unidades experimentales que incluyen: dos genotipos, tres especies, cuatro dosis de N y P suministradas y tres repeticiones. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

testigo, por lo que el desarrollo de las plantas en este suelo promovió una mayor AFASAR, en comparación con los otros suelos. Esto explica el comportamiento de los genotipos en este suelo. En el suelo testigo del Andosol de Pátzcuaro, la actividad fosfatasa, medida como μg de paranitrofenol (p-NP), fue de $2.43 \times 10^{-3} \mu\text{g}$ de p-NP g^{-1} suelo h^{-1} , mientras que con el cultivo, en el suelo adyacente a la rizosfera, el valor más alto de la actividad de esta enzima fue cercano a 100% de su testigo. En el Andosol cultivado, de Villa Victoria, la actividad fosfatasa, en el suelo adyacente a la rizosfera, presentó diferencias significativas con relación al testigo mayor en 500%. En el Nitosol, la mayor actividad de la fosfatasa del suelo adyacente a la rizosfera se tuvo en el tratamiento con cultivo. La diferencia de actividad fosfatasa del suelo, en comparación con el testigo, fue poco menor de 100%, pero sin mostrar diferencias

significativas. Como lo reportaron Rao *et al.* (1996) y Yun y Kaeppler (2001), la actividad de la fosfatasa del suelo aumentó en la rizosfera cuando se presentaron deficiencias de P disponible. Con el presente estudio se confirmó lo anterior, el suelo con menor P disponible (Nitosol, 1.93 mg kg^{-1}) presentó la mayor actividad de la enzima ($3.5 \mu\text{g p-NP g}^{-1}$ suelo h^{-1}) en suelo no cultivado.

La Figura 3 muestra (en los suelos cultivados con maíz, trigo y triticale) que, al comparar el efecto de tratamientos con y sin suministro de fertilización (+N+P, 400-200 y -N-P, 0-0, mg kg^{-1} de suelo, respectivamente), la actividad de la fosfatasa ácida del suelo adyacente a la rizosfera disminuyó en los suelos de Pátzcuaro y de Reforma, pero no en el de Villa Victoria. También se observó el efecto significativo por suministro de la fertilización nitrofosfatada en la AFASAR, debido a que, aunque

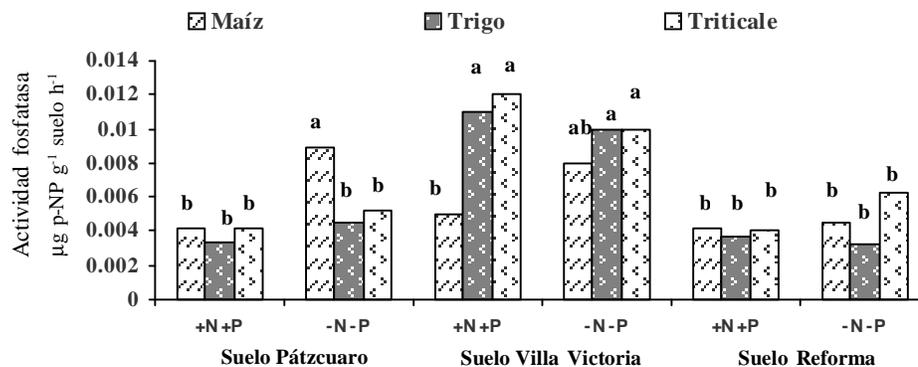


Figura 3. Efecto de suministro de N y P (+N+P = $400-200 \text{ mg kg}^{-1}$; -N-P = $0-0 \text{ mg kg}^{-1}$) sobre la actividad fosfatasa ácida adyacente al suelo de la rizosfera de maíz, trigo y triticale en Andosoles (suelos Pátzcuaro y Villa Victoria) y un Nitosol (suelo Reforma).

Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). p-NP = paranitrofenol.

la actividad de la enzima respondió a la presencia de P orgánico y no a la de P inorgánico, el suministro de N y P retiró el estrés por carencia de P y no se promovió la actividad de enzima.

El maíz y el triticale fueron más consistentes respecto de la AFASAR mostrada, pues en los tres suelos (Pátzcuaro, Villa Victoria y Reforma) el maíz, y en dos de ellos (Pátzcuaro y Reforma), el triticale, presentaron una tendencia a disminuir la actividad de la fosfatasa en el suelo adyacente a la rizosfera cuando se suministró N y P. Con los resultados de este trabajo se encontró que el aporte de N y P en el trigo no influyó en la AFASAR; por ello, la contribución de esta especie a la actividad de la fosfatasa ácida, en estos suelos, fue independiente de la dosis de N y P suministrada. Se encontró que el trigo presentó una menor AFASAR, con respecto a la de triticale y maíz; como en esta investigación, estudiando también tres especies, Marschner (1995) encontró que el trigo contribuyó ligeramente a la actividad de la fosfatasa del suelo, la cual fue menor que la de la colza (*Brassica oleracea*), pero mayor que la del trébol rojo (*Trifolium pratense*). Entonces, por su constante mejoramiento genético, ¿es el trigo una especie cuyos mecanismos de adaptación se han visto limitados?

En la determinación de la biomasa seca producida por el maíz, el trigo y el triticale, en los tres suelos ácidos con aporte de fertilizantes, el maíz V-23 (variedad mejorada de INIFAP-Toluca) presentó una mayor producción de biomasa que la del maíz Negro (Criollo de San Cayetano, municipio de Villa de Allende, México) pero sin que se observen diferencias significativas entre ellos (Figura 4). Con esto se comprobó que el maíz V-23 fue más eficiente que el maíz Negro, en cuanto a uso de N y P, ya que en este estudio, como en el de Cruz-

Flores *et al.* (2002), quienes evaluaron la eficiencia nutricional, el V-23 superó al maíz Negro y a otros materiales a los cuales también se les evaluó su eficiencia en uso de N y P.

Tanto en trigo como en maíz, el genotipo más eficiente (+E, San Cayetano) produjo una mayor cantidad de biomasa que el menos eficiente (-E, Berros); entre los triticales, el genotipo Secano (-E) superó ligeramente al genotipo Lamb-2, que en condiciones de hidroponía fue más productivo (Cruz-Flores *et al.*, 2002). Tanto entre los genotipos de trigo, como entre los de triticale, no se presentaron diferencias significativas en la producción de biomasa, sin embargo, entre especies sí hubo diferencia estadística significativa en la producción de biomasa: el mayor valor se encontró en maíz. Con estos resultados se comprobó que entre triticales, por su amplia base genética, la clasificación de genotipos +E y -E no es muy clara (Cruz-Flores *et al.*, 2002), mientras que, por lo observado, en trigo y maíz fue más fácil realizar la separación de genotipos +E de los -E.

Variaciones de pH en Suelo Adyacente a la Rizosfera

Para el análisis de las variaciones (ΔpH), *in situ*, de pH en el suelo adyacente a la rizosfera (pHSAR), se consideró la diferencia entre los valores de pH final e inicial ($\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{final}} - \text{pH}_{\text{inicial}}$) a 30 y 90 días de la fecha de trasplante. Así, cuando la variación de pH ocurrió hacia valores de mayor acidificación, respecto a los valores iniciales (6.68, 6.47 y 6.04 de los Andosoles mólico y húmico, y Nitosol éutrico, respectivamente), el ΔpH tuvo valor negativo y cuando hubo menor acidificación (tendencia a la neutralidad), el ΔpH adquirió un valor positivo. La Figura 5 muestra que el maíz (A),

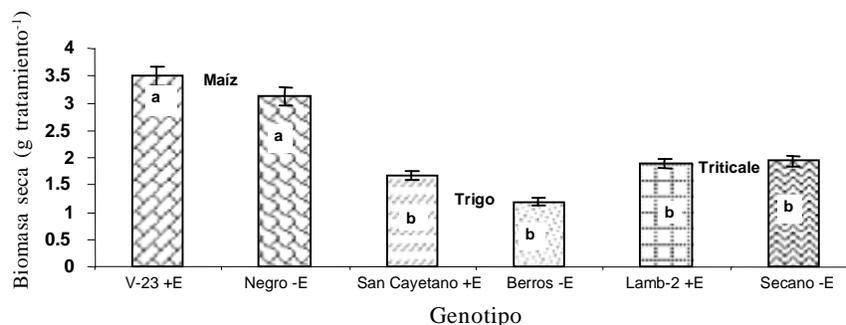


Figura 4. Producción de biomasa de genotipos de maíz, trigo y triticale preclasificados como +Eficientes y -Eficientes a 90 días a trasplante. En el gráfico, cada dato representa el promedio de 36 unidades experimentales que incluyen: tres suelos, cuatro dosis de nitrógeno-fósforo suministradas y tres repeticiones; $r^2 = 0.77$). Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

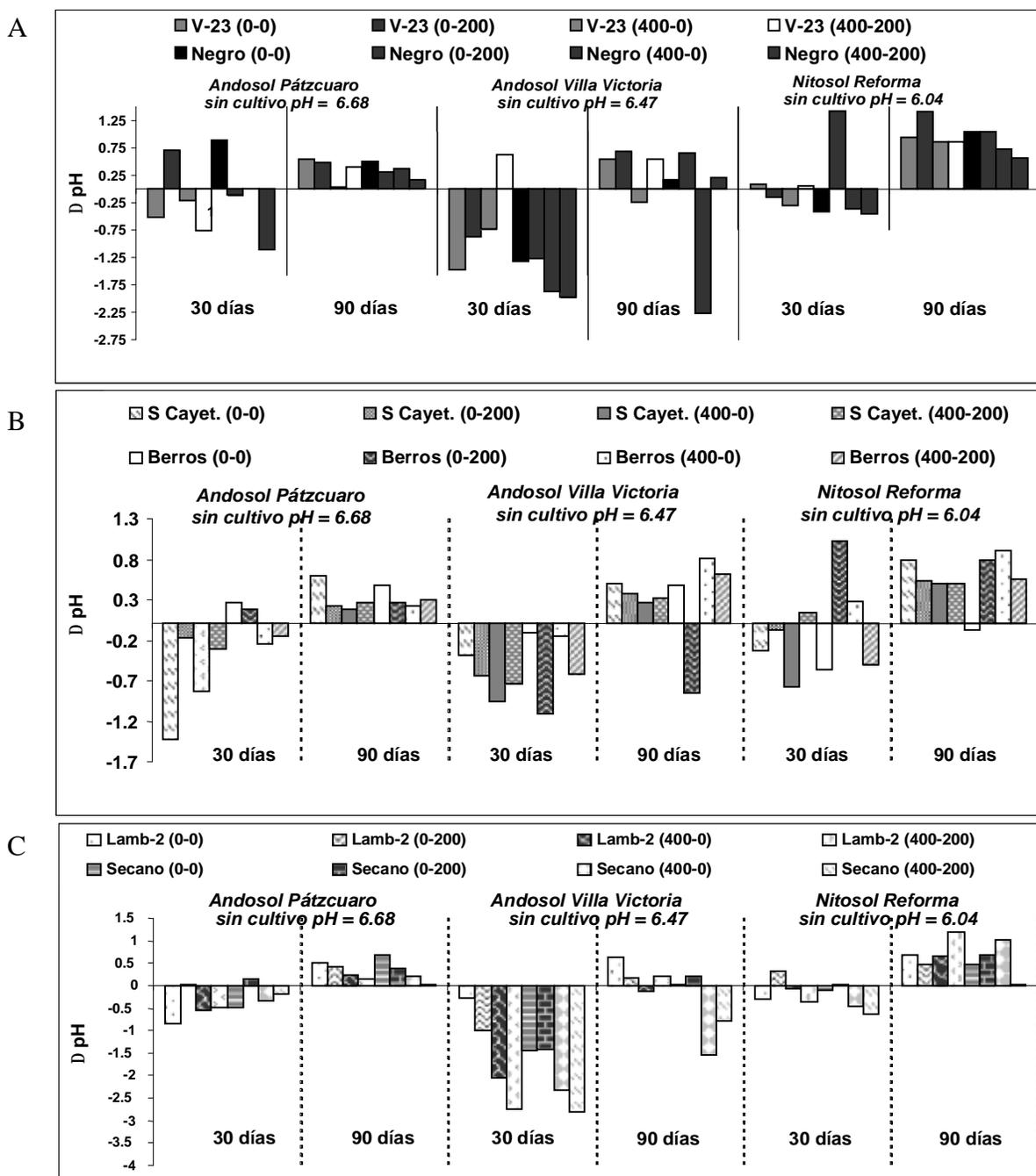


Figura 5. Variación del pH de suelo adyacente a la rizosfera[†] inducida, a 30 y 90 días de edad, por actividad radical de maíz (A), trigo (B) y triticale (C).

[†] Evaluada *in situ* en tres suelo ácidos (Andosoles de Pátzcuaro, Mich., y Villa Victoria, Méx. y un Nitosol de Reforma, Chiapas).

El ΔpH mostrado representa la diferencia del pH final y el pH inicial ($\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{final}} - \text{pH}_{\text{inicial}}$) en 30 y 90 días a trasplante. Cada valor es promedio de cuatro repeticiones por tratamiento.

el trigo (B) y el triticale (C) manifestaron una actividad de la raíz que modificó la condición del pHSAR.

Las tres especies, a 30 días del trasplante, mostraron mayor tendencia acidificante en el Andosol húmico de Villa Victoria, suelo con mayores cantidades de MO.

Mientras que el maíz indujo cambios de pH con una magnitud de una a dos unidades en el pHSAR; en el trigo, el cambio fue aproximadamente de una unidad, al tiempo que el triticale indujo cambios en el pH que alcanzaron hasta tres unidades, con una tendencia a la acidificación.

El triticale fue la especie que acidificó con mayor intensidad el pHSAR en el Andosol de Villa Victoria. Hinsinger (2001) señaló que las raíces de las plantas son responsables de los cambios en el pH de la rizosfera, principalmente, por la liberación de iones H^+ o OH^-/HCO_3^- , con la tendencia a conservar un balance iónico entre cationes y aniones.

No se debe excluir la posibilidad de que en los casos en los que se presentó tendencia a la acidez (ΔpH negativo), éstos pudieron deberse adicionalmente a efectos del fertilizante, aunque también se debe considerar que, en general, se incluyó una combinación de dosis de suministro nitrofosfatado que permitió hacer la separación de los efectos de la fertilización. En el suelo con menor cantidad de MO (Nitosol), los cambios de pHSAR fueron menores que en los otros suelos, con valores de 0.75, 0.7 y 1 unidades en el maíz, trigo y triticale, respectivamente. Marschner (1995) y Rao *et al.* (2000), en datos obtenidos con microelectrodos, encontraron variaciones de pH que cambiaron de 0.5 a 2 unidades de pH en la rizosfera.

Con el método propuesto en esta investigación, se observaron variaciones del pHSAR mayores de 2.5 unidades, respecto a la matriz de suelo, que deben atribuirse a la actividad radical del maíz, el trigo y el triticale inducida por la diferente eficiencia en uso de N y P. Por ello, los datos presentados por Marschner (1995) y Rao *et al.* (2000) dan respaldo a los resultados de estas variaciones de pHSAR, con la reserva de que con este método no es factible controlar algunas variables, como la temperatura y la aireación, por la misma naturaleza de la determinación *in situ* (Figura 1). A 90 días del trasplante, los valores del pHSAR aumentaron, con una tendencia hacia la neutralidad, ya que en las tres especies y en los tres suelos predominaron, con pocas excepciones, los valores positivos. Esta tendencia fue más marcada en la variedad V-23, en el criollo San Cayetano y en el genotipo Lamb-2 (maíz, trigo y triticale, +E, respectivamente). En un estudio realizado con soluciones nutritivas (Cruz-Flores *et al.*, 2002), estos genotipos presentaron un sistema amortiguador más apropiado que el maíz Negro, el trigo Berros y el triticale Secano (-E), mostrando una tendencia más lenta hacia la neutralidad del pH que los genotipos +E. El testigo del Andosol de Pátzcuaro tuvo un pH *in situ* de 6.68. En el maíz se observó, a 30 días, que el V-23 (+E), en tres de las cuatro combinaciones de suministro del NP (0-0, 400-0 y 400-200 mg kg^{-1}) presentó acidificación (valores negativos) en el pHSAR

con valores entre 0.25 y 0.75, a diferencia del maíz Negro (-E), en el que sólo en dos tratamientos se acidificó el pHSAR, lo que es muestra de una menor actividad radical. Esto explica la menor eficiencia en uso de N y P de este genotipo, respecto al V-23 (Figura 5 A). En el trigo, el genotipo San Cayetano (+E) acidificó el pHSAR más que el genotipo Berros (-E) después de 30 días del trasplante y su sistema de amortiguamiento fue más eficaz, ya que a los 90 días del trasplante su tendencia a la neutralidad fue mayor, también respecto a Berros (Figura 5 B). En el triticale se observó un comportamiento semejante al descrito para el trigo (Figura 5 C). El genotipo +E (Lamb-2) tuvo mayor actividad radical, en términos de la modificación de los valores del pHSAR, por lo que los genotipos +E mostraron un sistema amortiguador más eficaz que adecúa el pHSAR a las necesidades de la planta. En el Andisol de Villa Victoria, los maíces -E y +E mostraron una tendencia similar a la acidificación del pHSAR a los 30 días, pero el sistema de amortiguamiento del V-23+E fue más rápido, pues a 90 días del trasplante, en el tratamiento 400-0, no hubo respuesta del genotipo de maíz Negro (-E) (Figura 5 A). Para el trigo, el genotipo (-E) tuvo un sistema amortiguador poco adecuado, ya que a 90 días del trasplante, en el tratamiento 0-200, el pHSAR fue más ácido, al pasar de un pH de 6.47 a 5.27, que el presentado por el trigo San Cayetano (+E) en esta dosis de aporte nutrimental (Figura 5 B). En el triticale, el genotipo Secano (-E), en los tratamientos 400-0 y 400-200, mostró una respuesta lenta en cuanto a las variaciones del pHSAR, respecto a Lamb-2 (+E), el cual presentó un sistema amortiguador de pH más eficaz, pues a pesar de su mayor acidificación a 30 días del trasplante, le correspondió una neutralización más rápida a los 90 días, lo cual es una causa directa de su mayor eficiencia nutrimental (Figura 5 C).

En el Nitosol de Reforma, las variaciones del pHSAR de maíz en los dos genotipos fueron semejantes, independientemente de su condición de eficiencia; sin embargo, en el trigo y el triticale, los genotipos +E mostraron una mayor actividad radical. En este suelo, en el que los efectos de acidificación y neutralización del pHSAR inducidos por las tres especies fueron menos marcados que los que se presentaron en los Andosoles, quizá por su menor aporte nutrimental, pues aunque el suministro de urea y SFT fue el mismo en los tres suelos, de manera natural, se presentó una menor concentración de MO, N total y P disponible (Cuadro 2).

Hinsinger (2001) señala que en la inducción de cambios de pH de la rizosfera contribuyen diversas fuentes, como exudados de ácidos orgánicos, mantenimiento del balance cationes/aniones, liberación de iones H^+ , variaciones del potencial redox, liberación de CO_2 por respiración de raíces y microorganismos rizosféricos, además de la absorción preferencial de NH_4^+ o NO_3^- , relacionada con las especies y con su edad. Las variaciones en el pHSAR encontradas mostraron alguna de estas causas; independientemente de ellas, la capacidad amortiguadora observada en los genotipos +E fue más adecuada que la de los -E en los tres suelos.

Estos resultados aportan elementos que confirman la hipótesis de que las variaciones del pHSAR son consecuencia de una diferente actividad radical entre especies y entre genotipos, y que el sistema amortiguador de los genotipos +E debe ser más eficaz respecto a otros. Aunque con el método de medición del pHSAR aquí propuesto no se satisface la incertidumbre de ¿qué tan cercano a la rizosfera se encuentra el suelo al que se le midió el pH?, con los resultados de la determinación de pH en las zonas de alta densidad de las raíces, se tienen elementos para aceptar la hipótesis de que los genotipos +E, respecto a los genotipos -E, inciden con mayor rapidez en su actividad radical para tener una mejor capacidad amortiguadora del pHSAR en cuanto al uso de N y P.

CONCLUSIONES

En suelos testigo, la actividad de la fosfatasa ácida fue entre 100 y 500% veces menor que la de los suelos adyacentes a la rizosfera, de los tratamientos con cultivo, mostrando diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$). La actividad fosfatasa ácida del suelo adyacente a la rizosfera (AFASAR), en las tres especies, fue mayor en los genotipos +E (eficiente) que en los -E (ineficiente) en el Andosol de Villa Victoria y el Nitosol de Reforma, no así en el Andosol de Pátzcuaro. El suministro de ambos nutrimentos (tratamiento +N+P = 400-200 mg kg^{-1}) indujo una actividad de la AFASAR menor en el Andosol de Pátzcuaro y en el Nitosol de Reforma, pero no en el de Villa Victoria, el cual presentó mayor contenido de materia orgánica del suelo (MOS). Los cambios del pH del suelo adyacente a la rizosfera (pHSAR), respecto al pH de la matriz del suelo, variaron entre una y dos unidades, en maíz; en trigo, en una unidad, y en triticale, hasta en tres unidades, con una tendencia

severa hacia la acidificación. Se encontró mayor tendencia a la neutralidad en los genotipos V-23, San Cayetano y Lamb-2 (maíz, trigo y triticale, +E), lo que indica que éstos poseen un sistema amortiguador más eficiente que el del maíz Negro, el trigo Berros y el triticale Secano (-E), los cuales presentaron una tendencia más lenta para que el valor del pHSAR se amortiguara.

AGRADECIMIENTOS

A la Carrera de Biología de la FES Zaragoza, por las facilidades para la utilización del invernadero; a la Biól. Selene Frago Iñiguez, por su cooperación para el desarrollo del trabajo; y a la Biól. María del Rosario Granados Damián, por la traducción al inglés del resumen.

LITERATURA CITADA

- Bergstrom, D. W. and C. M. Monreal. 1998. Increased soil enzyme activities under two row crops. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62: 1295-1301.
- Cruz-Flores, G., J. L. Tirado T., G. Alcántar G. y J. A. Santizo R. 2001. Eficiencia de uso de fósforo en triticale y trigo en dos suelos con diferente capacidad de fijación de fósforo. *Terra* 19: 47-54.
- Cruz-Flores, G., D. Flores R., G. Alcántar G., A. Trinidad S. y R.A. Vivanco E. 2002. Eficiencia de uso de nitrógeno y fósforo en genotipos de trigo, triticale y maíz. *Terra* 20: 47-54.
- Gollany, H. T. and T. E. Schumacher. 1993. Combined use of colorimetric and microelectrode methods for evaluating rhizosphere pH. *Plant Soil* 154: 151-159.
- Hinsinger, P. 1998. How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Adv. Agron.* 64: 225-265.
- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant Soil* 237: 173-195.
- Kang, H. and Ch. Freeman. 1999. Phosphatase and arilsulphatase activities in wetland soil: annual variation and controlling factors. *Soil Biol. Biochem.* 22: 449-454.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. Academic Press. London, England.
- Naseby, D. C., Y. Moënne-Loccoz, and J. Powell. 1998. Soil enzyme activities in the rhizosphere of field-grown sugarbeet inoculated with the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* F113. *Biol. Fertil. Soils* 27: 39-43.
- Rao, I. M., V. Borrero, J. Ricaurte, and R. Garcia. 1999. Adaptive attributes of tropical forage species to acid soils. V. Differences in phosphorus acquisition from less available inorganic and organic sources of phosphate. *J. Plant Nutr.* 22: 1175-1196.
- Rao, M. A., L. Gianfreda, F. Palmiero, and A. Violante. 1996. Interactions of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-minerals complexes. *Soil Sci.* 161: 751-760.

- Rao, T. P., K. Yano, A. Yamauchi, and J. Tatsumi. 2000. Rhizosphere pH changes induced by exposure of shoot to light. *Plant Prod. Sci.* 3: 101-107.
- Salam, A. K., A. Sriyani N., and M. Kimura. 2001. Soil enzymatic activities in a Hilly coffee plantation in Lampung province, South Sumatra, Indonesia, under plant cover management. *Soil Sci. Plant Nutr.* 45: 695-702.
- Schneider, K., M. B. Turrion, and J. F. Gallardo. 2000. Modified method for measuring acid phosphatase activities in forest soils with high organic matter content. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31: 3077-3088.
- Seeling, B. and A. Jungk. 1996. Utilization of organic phosphorus in calcium chloride extracts of soil by barley plants and hydrolysis by acid and alkaline phosphatases. *Plant Soil* 178: 179-184.
- Tabatabai, M. A. 1994. Soil enzymes. pp. 775-833. *In*: R. W. Weaver, A. Scott, P. Bottomley, D. Bezdicek, S. Smith, A. Tabatabai, and A. Wollum (eds.). *Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties. Book Series 5.* Soil Science Society of America. Madison, WI, USA.
- Vázquez, S., L. A. Morales y H. C. Dalurzo. 2004. Disponibilidad del fósforo en suelos ácidos de Misiones, Argentina. *Agric. Téc. (Chile)* 64: 50-57.
- Venegas G., J., L. Cajuste J., A. Trinidad S. y F. Gavi R. 1999. Correlación y calibración de soluciones extractantes del fósforo aprovechable en Andisoles de la Sierra Tarasca. *Terra* 17: 287-291.
- Yun, S. J. and S. M. Kaeppler 2001. Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorus starvation. *Plant Soil* 237: 109-115.