

# ESTUDIO DE LA FOSFATASA ÁCIDA Y ALCALINA EN SUELOS DE LA REGIÓN PAMPEANA NORTE DEL ÁREA SOJERA ARGENTINA

LETICIA ANDREA FERNÁNDEZ\*; MARCELO ANTONIO SAGARDOY & MARISA ANAHÍ GÓMEZ

Laboratorio de Microbiología Agrícola, Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Altos del Palihue s/n, (8000) Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina. \*E-mail: lafernan@uns.edu.ar

Recibido: 10/10/07

Aceptado: 07/04/08

## RESUMEN

La transformación de los compuestos de fósforo orgánico (Po) a fósforo inorgánico (Pi) soluble, es denominada mineralización y es llevada a cabo por un grupo de enzimas conocidas como fosfatasa. En este trabajo, se estudió la actividad fosfatasa de cinco lotes de la región pampeana norte del área sojera argentina, mediante: la evaluación de la actividad fosfatasa del suelo, y el recuento de las comunidades bacterianas y fúngicas con esa actividad, y de esta manera se obtuvo información sobre el potencial de los mismos para movilizar el Po. Se determinó el número de bacterias aeróbicas heterotróficas cultivables (BAHC) así como el de hongos cultivables (HC), además del número de productores de fosfatasa ácida y alcalinas. El número de bacterias con actividad fosfatasa fue en promedio  $6,85 \cdot 10^5$  UFC  $g^{-1}$  de suelo para la fosfatasa ácida; mientras que para la fosfatasa alcalina fue en promedio  $5,80 \cdot 10^5$  UFC  $g^{-1}$  de suelo. En cambio, el valor medio de hongos con actividad fosfatasa ácida fue  $1,78 \cdot 10^3$  UFC  $g^{-1}$  de suelo y para la enzima alcalina  $1,77 \cdot 10^3$  UFC  $g^{-1}$  de suelo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el número de bacterias y el de hongos con fosfatasa ácida o alcalina entre los distintos suelos. Por otro lado, el nivel de actividad de la fosfatasa alcalina osciló entre 5,72 y 15,5 mg *p*-nitrofenol  $kg^{-1}$  suelo  $h^{-1}$ , mientras la ácida varió entre 27,4 y 105 mg *p*-nitrofenol  $kg^{-1}$  suelo  $h^{-1}$ . Se encontraron diferencias significativas en la actividad enzimática entre los cinco suelos, siendo mayor la actividad ácida que la alcalina. Los resultados de este trabajo demostraron que los suelos estudiados presentan una actividad mineralizadora de fuentes de Po que coincide con otros trabajos de suelos cultivados y que el recuento de los organismos productores de fosfatasa complementa la información obtenida a partir de la determinación de la actividad fosfatasa del suelo. Mediante la utilización de ambos métodos, es posible estudiar la fosfatasa ácida y alcalina de un suelo y obtener información sobre el potencial del mismo para movilizar Po.

**Palabras clave.** Recuento microbiano, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina.

## STUDY OF ACID AND ALKALINE PHOSPHATASE IN SOILS OF THE PAMPEAN NORTH REGION FROM ARGENTINE SOYBEAN AREA

### ABSTRACT

Transformation of organic phosphorus (Po) into soluble inorganic phosphorus (Pi) is called mineralization and is carried out by phosphatase enzymes. The present research focuses on the study of the phosphatase activity of five soils from the soybean area of the Northern Pampean region, by evaluating the phosphatase activity in soil samples and the number of bacteria and fungi with that activity. Soil samples were collected and the total number and phosphatase activity of cultivated heterotrophic aerobic bacteria (CHAB) and cultivated fungi (CF) was assessed. No significant differences were observed in the numbers of CHAB and CH between the studied soils. The number of bacteria with acid phosphatase activity was  $6.85 \cdot 10^5$  CFU  $g^{-1}$  soil, while alkaline activity was  $5.80 \cdot 10^5$  CFU  $g^{-1}$  soil. In contrast, the number of fungi with acid phosphatase activity was  $1.78 \cdot 10^3$  CFU  $g^{-1}$  soil and with alkaline activity was  $1.77 \cdot 10^3$  CFU  $g^{-1}$  soil. No significant differences were observed in the number of bacteria and fungi with both enzymes. However, acid activity was higher than alkaline activity in soil samples. Alkaline phosphatase activity ranged from 5.72 to 15.5 mg *p*-nitrophenol  $kg^{-1}$  soil  $h^{-1}$  while acid activity varied from 27.4 to 105 mg *p*-nitrophenol  $kg^{-1}$  soil  $h^{-1}$ . There were significant differences in phosphatase activity between the soybean soils. Our results show that the mineralization activities of Po sources are in agreement with other cultivated soils. On the other hand, the number of bacteria and fungi complements the information on soil phosphatase activity. Clearly, both methods allow the study of alkaline and acid phosphatase activity in soil and give information about the soil potential to mobilize Po.

**Key words.** Microbial counts, acid phosphatase, alkaline phosphatase.

## INTRODUCCIÓN

Las bacterias y los hongos del suelo participan de una manera fundamental en procesos que aumentan la dis-

ponibilidad de fósforo (P) para las plantas. Una de las transformaciones que producen es la mineralización de fósforo orgánico (Po) a fósforo inorgánico (Pi) soluble (Richardson, 2001). El Po es una importante reserva de

P y puede representar en algunos casos entre el 23 y el 47% del P total de un suelo (Sanyal & De Datta, 1991). La mineralización de Po es llevada a cabo por un grupo de enzimas conocidas como fosfatasa o fosfohidrolasas, que catalizan la hidrólisis de ésteres y de anhídridos de ácido fosfórico (Nahas, 2002). Las fosfomonoesterasas o fosfatasa ácidas y alcalinas han sido extensamente estudiadas debido a que una importante cantidad de los compuestos de Po presentes en el suelo se encuentran en forma de monoésteres (Oberson *et al.*, 1996). Las fosfatasa ácidas se encuentran principalmente en suelos ácidos, mientras que las alcalinas predominan en suelos con pH básico (Tabatabai, 1994).

Las fosfatasa extracelulares son liberadas no sólo por los microorganismos del suelo, sino también por las raíces de las plantas; y a su vez existen enzimas libres que conservan sus propiedades una vez muerto el organismo del cual proceden. Invertebrados como las lombrices de tierra también liberan P. Sin embargo, se asume que las enzimas en el suelo provienen principalmente de los microorganismos (Santruckova *et al.*, 2004). Según Ladd (1978) y Dick y Tabatabai (1993), la microbiota del suelo parece ser la opción más lógica para suministrar la mayor parte de estas enzimas al suelo. El motivo reside en la importante cantidad de biomasa y en la elevada actividad metabólica que desarrollan en corto tiempo, lo que les permite producir y liberar relativamente grandes cantidades de enzimas extracelulares con respecto a lo que propondría de plantas y animales (Tabatabai, 1994).

El cultivo de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) es uno de los componentes más importantes de los sistemas agrícolas de la Argentina; tal es así, que se distinguen tres grandes Regiones de producción del cultivo: Norte, Pampeana Norte y Pampeana Sur (Damen *et al.*, 2005). La superficie ocupada por el cultivo totaliza 14,04 millones de hectáreas y la producción anual alcanza los 38,3 millones de toneladas (FAO, 2007). El P como factor limitante para la soja, generalmente restringe la nodulación así como la fijación de nitrógeno y consecuentemente, éstos afectan el crecimiento y el rendimiento del cultivo (Aveline *et al.*, 2003).

El objeto del presente trabajo fue estudiar la actividad de la fosfatasa ácida y alcalina en cinco suelos de la Región Pampeana Norte del área sojera, mediante el recuento de las colonias bacterianas y fúngicas con esa actividad y de la evaluación de la actividad fosfatasa en el suelo, y de esta manera obtener información sobre el potencial de los mismos para movilizar Po.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Suelos.** Se trabajó con suelos correspondientes a 5 establecimientos agrícolas de la Argentina (Tabla 1). Tres de ellos se ubican en la provincia de Buenos Aires en Pergamino (Per 1, Per 2 y Per 3) y dos en la provincia de Córdoba en Manfredi (Man 1 y Man 2). Las muestras se tomaron en los meses de Mayo y Junio de 2003 y en cada establecimiento se analizó el suelo de un lote que en los últimos 5 años se sembró con soja y en algunos casos se rotó con maíz. Todos los suelos son franco limosos; sin embargo, las cantidades de las partículas de arena, arcilla y limo son diferentes. Los suelos de Pergamino tienen más porcentaje de arcilla, entre 19,64 y 21,04%, que los de Manfredi, que poseen 15,07 y 15,68%. También se determinó el P extraíble y el carbono orgánico. Los dos suelos de Manfredi tienen un alto contenido de P, 40,76 y 52,86 mg kg<sup>-1</sup> y baja cantidad de carbono orgánico, 9,8 y 16,6 g kg<sup>-1</sup>. Por su parte; en los suelos de Pergamino, las cantidades de P son más bajas, oscilan solamente entre 14,09 y 23,13 mg kg<sup>-1</sup> y el contenido en carbono orgánico es mayor, variando entre 19,4 y 22,5 g kg<sup>-1</sup>.

**Determinación del número de bacterias aeróbicas heterotróficas cultivables (BAHC), de hongos cultivables (HC) y de bacterias y hongos con actividad fosfatasa.** Se agitaron 10 g de suelo en 90 mL de NaCl 0,85%. Posteriormente, se realizaron los recuentos de las colonias bacterianas y fúngicas mediante la técnica de diluciones decimales y siembra en placa de Petri (Zuberer, 1994), utilizando 4 placas por dilución sembrada: i) BAHC en el medio agar nutritivo (Laboratorios Britania S.A.) con cicloheximida (100 mg L<sup>-1</sup>) y HC con el medio de cultivo desarrollado por Martin (1950) a pH 5 con rifampicina (40 mg L<sup>-1</sup>); y ii) productores de fosfatasa ácidas y alcalinas de los suelos con medio salino descripto por Nahas (2002). Todas las cajas de los distintos recuentos se incubaron a 30 °C durante 3 días.

Para determinar la producción de fosfatasa ácida, se inundaron las placas con una solución de *p*-nitrofenilfosfato (*p*-nitrofenilfosfato ortodisodio sal hexahidratado, Fluka) 6 mM y agregado de ácido acético 0,1 M hasta pH 5,4. Para la fosfatasa alcalina, las placas se cubrieron con una solución de *p*-nitrofenilfosfato 6 mM tamponada con Tris 100 mM (pH 9). Todas las cajas se incubaron en estufa a 37 °C durante 90 minutos. Posteriormente, las cajas se invirtieron bajo campana durante 2-3 minutos en un desecador que contenía vapores de amoníaco. Las colonias con actividad fosfatasa positiva se distinguieron por la formación de un halo amarillo alrededor que indicaba la transformación del *p*-nitrofenilfosfato (incolore) en *p*-nitrofenol (amarillo).

**Determinación de la actividad fosfatasa ácida y alcalina en muestras de suelo.** Se determinó la actividad enzimática de la fosfatasa ácida y alcalina siguiendo el método descripto por Tabatabai (1994), pero sin la incorporación de tolueno. Se colocó 1 g de cada suelo en erlenmeyers y se les agregaron 4 mL de solución de buffer ácida (solución de buffer llevada a pH 6,5 con HCl) y 1 mL de solución de *p*-nitrofenilfosfato 0,05 M, mezclándose el contenido durante unos segundos. Luego se incubaron los erlenmeyers tapados durante 1 hora a 37 °C. Posteriormente, se agregaron 4 mL de NaOH 0,5 M y 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,5 M para detener la reacción. Finalmente, la suspensión de suelo se filtró y se midió en espectrofotómetro a 410 nm, utilizando como blanco 5 mL de agua,

1 mL de 0,5 M de  $\text{CaCl}_2$  y 4 mL de 0,5 M NaOH. Se realizaron 3 réplicas y un control para cada suelo. Para los controles se incubaron 1 g de suelo con 4 mL de buffer. Se continuó igual que para la determinación de la actividad de la enzima fosfatasa incorporando 1 mL de sustrato antes del agregado de  $\text{CaCl}_2$  y de NaOH.

Para la cuantificación de fosfatasa alcalina, se colocó 1 g de cada suelo en erlenmeyers y se les incorporaron 4 mL de una solución buffer alcalina (solución de buffer llevada a pH 11 con NaOH) y 1 mL de *p*-nitrofenilfosfato 0,05 M, mezclándose el contenido durante unos segundos. Luego, se siguió el mismo protocolo que para la fosfatasa ácida.

Se calculó la cantidad de *p*-nitrofenol contenido en los filtrados utilizando una curva patrón de calibración construida con cantidades conocidas de *p*-nitrofenol.

*Análisis estadístico de los datos.* Se realizó el análisis DMS o LSD para comparar número de bacterias y de hongos con actividad fosfatasa y para establecer si existen diferencias en las actividades enzimáticas entre los distintos suelos (Steel & Torrie, 1997).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Bacterias aeróbicas heterotróficas cultivables (BAHC) y hongos cultivables (HC)

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el número de BAHC y tampoco en el número de HC, entre los distintos suelos (Tabla 1). La cuantificación de estas bacterias varió entre  $3,23 \cdot 10^6$  y  $7,25 \cdot 10^6$  UFC (unidades formadoras de colonia)  $\text{g}^{-1}$  de suelo en los lotes estudiados. Para el caso de los HC, los resultados obtenidos oscilaron entre  $3,1 \cdot 10^4$  y  $3,87 \cdot 10^4$  UFC  $\text{g}^{-1}$  de suelo.

### Bacterias y hongos con actividad fosfatasa ácida y alcalina

Los resultados de la determinación del número de bacterias y de hongos con actividad fosfatasa se muestran en la Tabla 1 y en las Figuras 1 y 2, respectivamente. El número de bacterias con actividad fosfatasa varió entre  $5,25 \cdot 10^5$  y  $8,25 \cdot 10^5$  UFC  $\text{g}^{-1}$  de suelo para la enzima ácida, con un valor medio de  $6,85 \cdot 10^5$  (13% del número total de BAHC); mientras que para la fosfatasa alcalina osciló entre  $2,75 \cdot 10^5$  y  $7,75 \cdot 10^5$  UFC  $\text{g}^{-1}$  de suelo, con un valor medio de  $5,80 \cdot 10^5$  (12% del número total de BAHC) teniendo en cuenta el total de los suelos. En cambio, los hongos con capacidad fosfatasa variaron entre  $0,83 \cdot 10^3$  y  $2,66 \cdot 10^3$  UFC  $\text{g}^{-1}$  de suelo en ambos casos, con un valor medio de  $1,78 \cdot 10^3$  de hongos productores de fosfatasa ácida (5,37% del número total de HC) y  $1,77 \cdot 10^3$  (5,34%) con enzima alcalina. Estos resultados coincidieron con los de Nahas *et al.* (1994a) y Nahas (2002) obtenidos a partir de 13 suelos con textura arcillosa de la región de Jaboticabal (Brasil).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el número de bacterias y el de hongos con fosfatasa ácida o alcalina entre los distintos suelos ( $p=0,05$ ). Es para destacar que se observó mayor tamaño del halo amarillo en las placas de Petri con los hongos que presentaban actividad fosfatasa. Esto indicaría mayor habilidad en estos microorganismos con respecto a las bacterias para mineralizar Po. La actividad de las fosfatasas de los hongos ha sido ampliamente estudiada en *Aspergillus* (Casida, 1959) así como en distintas micorrizas (Dighton, 1983; Jayachandran *et al.*, 1992). La actividad de estas enzimas, así como de otras que hidrolizan compuestos de Po, tales como las fitasas (Richardson *et al.*, 2001), demuestran que estos organismos son capaces de utilizar y movilizar formas de Po que de otra manera serían inaccesibles para los cultivos.

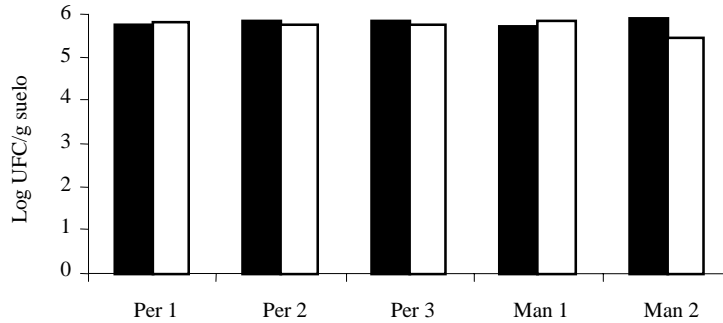
Tabla 1. Características físicas y químicas de los suelos estudiados.

Table 1. Physicals and chemicals characteristics of the studied soils.

Suelos	Textura	CO (g C $\text{kg}^{-1}$ )	Nt (g N $\text{kg}^{-1}$ )	Pe (mg P $\text{kg}^{-1}$ )	pH
Per 1	Franco arcilloso a arcillo limoso	19,4	1,71	14,61	6,14
Per 2	Franco arcillo limoso	20,5	1,66	23,13	6,04
Per 3	Franco limoso	22,5	1,72	14,09	6,15
Man 1	Franco limoso	9,8	1,01	40,76	6,85
Man 2	Franco limoso	16,6	1,38	52,86	7,40

Per 1, 2 y 3: suelos de Pergamino (Buenos Aires), Man 1 y 2: suelos de Manfredi (Córdoba), CO: Carbono orgánico, Nt: Nitrógeno total, Pe: fósforo extractable, pH (suelo/agua= 1:2,5 p/v).

CO (g C  $\text{kg}^{-1}$ ), Nt (g N  $\text{kg}^{-1}$ ), Pe (mg P  $\text{kg}^{-1}$ ) determinaciones efectuadas por el LANAIS N-15, CONICET-UNS (Agronomía).

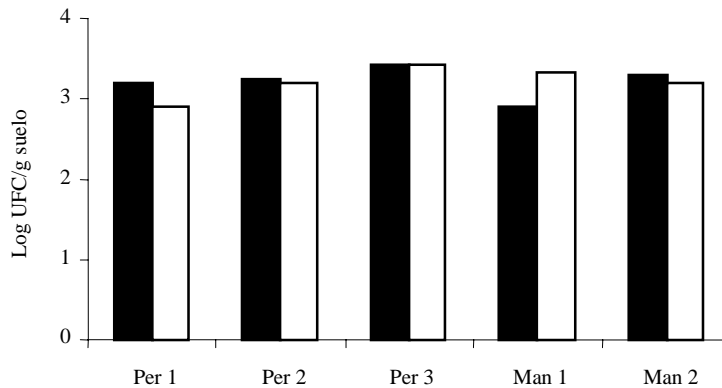


Per 1, 2 y 3: suelos de Pergamino (Buenos Aires), Man 1 y 2: suelos de Manfredi (Córdoba).

Per 1, 2 y 3. Suelos de Pergamino (Buenos Aires), Man 1 y 2: suelos de Manfredi (Córdoba). Actividad fosfatasa ácida (barra negra) y alcalina (barra blanca).

Figura 1. Número de bacterias con actividad fosfatasa ácida y alcalina en cinco suelos de la Región Pampeana Norte del área sojera argentina, utilizando el medio de cultivo de Nahas (2002).

Figure 1. Number of bacteria with acid and alkaline phosphatase activity in five soils of the Northern Pampean Region of the Argentine soybean-cultivated area. Nahas' medium (2002) was used.



Per 1, 2 y 3. Suelos de Pergamino (Buenos Aires), Man 1 y 2: suelos de Manfredi (Córdoba).

Actividad fosfatasa ácida (barra negra) y alcalina (barra blanca).

Figura 2. Número de hongos con actividad fosfatasa ácida y alcalina en cinco suelos de la Región Pampeana Norte del área sojera argentina, utilizando el medio de cultivo de Nahas (2002).

Figure 2. Number of fungi with acid and alkaline phosphatase activity in five soils of the Northern Pampean Region of the Argentina soybean-cultivated area. Nahas' medium (2002) was used.

### Actividad fosfatasa ácida y alcalina en el suelo

El nivel de actividad de la enzima fosfatasa alcalina osciló entre 5,72 y 15,5 mg *p*-nitrofenol kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>, mientras que el nivel de actividad ácida varió entre 27,4 y 105 mg *p*-nitrofenol kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup> (Tabla 2); siendo en todos los suelos mayor la actividad de la fosfatasa ácida que la alcalina.

Se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas en la actividad enzimática entre los cinco suelos estudiados. Los mayores valores de ambas actividades fosfatasa se registraron en uno de los suelos de Pergamino, Per 3 y los menores en otro suelo de la misma región, Per 1. También uno de los suelos de Manfredi, Man 2, se destacó por la mayor actividad alcalina. Este lote

Tabla 2. Número de bacterias aeróbicas heterotróficas cultivables (BAHC), de hongos cultivables (HC) y con actividad fosfatasa en cinco lotes de la Región Pampeana Norte del área sojera argentina.

Table 2. Number of cultivated heterotrophic aerobic bacteria (BAHC), cultivated fungi (HC), and their phosphatase activity in five soils of the Northern Pampean Region of the Argentina soybean-cultivated area.

Suelos	BAHC (10 <sup>6</sup> g <sup>-1</sup> )	Bacterias Po (10 <sup>5</sup> g <sup>-1</sup> )		HC (10 <sup>4</sup> g <sup>-1</sup> )	Hongos Po (10 <sup>3</sup> g <sup>-1</sup> )	
		Ácida	Alcalina		Ácida	Alcalina
Per 1	4,10	5,75	6,50	3,10	1,65	0,83
Per 2	4,62	7,50	6,25	3,85	1,80	1,60
Per 3	3,23	7,50	5,75	3,30	2,65	2,66
Man 1	7,25	5,25	7,75	3,52	0,83	2,13
Man 2	6,50	8,25	2,75	3,87	2,00	1,65
Promedio	5,14	6,85	5,8	3,31	1,78	1,77

Per 1, 2 y 3: suelos de Pergamino (Buenos Aires), Man 1 y 2: suelos de Manfredi (Córdoba).

presentaba un pH ligeramente alcalino de 7,4, con respecto al pH levemente ácido, entre 6,04 y 6,85 del resto. Este resultado coincide con los de otros autores y podría explicarse dado que el pH como se sabe ejerce una importante influencia en la actividad de las fosfatasas (Nahas *et al.*, 1994b; Oberson *et al.*, 1996). Es sabido, que la distinción entre ambas enzimas se basa en la marcada diferencia en los rangos de pH en los cuales éstas son activas (Carpenter-Boggs *et al.*, 2003). Sin embargo, es para destacar que no se observaron diferencias significativas en la actividad alcalina entre el lote Per 3 y el Man 2, a pesar de las diferencias en el pH. Es posible que otros factores tales como tipo de labranza e incorporación de fertilizantes en los cultivos impacten sobre las fracciones de Po. Zibilske & Bradford (2003) demostraron que por efectos del manejo del suelo cambia significativa-

mente la mineralización de Po con respecto a los suelos no cultivados.

Existen numerosos trabajos que cuantifican la actividad de la enzima fosfatasa en distintos suelos. Algunos de ellos, como el de López-Gutiérrez *et al.* (2004) midieron 1,43  $\mu$ moles *p*-nitrofenol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> de fosfomonoesterasa ácida en suelos vertisoles de un ecosistema de sabana en Venezuela. Oberson *et al.* (1996) determinaron una actividad de la enzima fosfatasa ácida en suelos agrícolas cultivados con arroz de 145,5 mg *p*-nitrofenol kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>. Los resultados de actividad de la fosfatasa ácida obtenidos para los suelos cultivados de este trabajo coincidieron con los valores previamente descritos. Sin embargo, fueron menores a los valores obtenidos por Dick *et al.* (1996) luego de compilar numerosos trabajos sobre estas enzimas en distintos suelos del mundo.

Tabla 3. Actividad de las enzimas fosfatasa ácida y alcalina en cinco suelos de la Región Pampeana Norte del área sojera argentina.

Table 3. Alkaline and acid phosphatase activity in five soils of the Pampean North Region from Argentine soybean area.

Suelos	Fosfatasa ácida	Fosfatasa alcalina
	mg <i>p</i> -nitrofenol kg <sup>-1</sup> suelo h <sup>-1</sup>	mg <i>p</i> -nitrofenol kg <sup>-1</sup> suelo h <sup>-1</sup>
Per1	38,5 ± 0,27 <sup>1</sup> ab <sup>2</sup>	5,72 ± 0,19a
Per2	48,6 ± 0,93b	9,11 ± 0,15b
Per3	105 ± 3,42c	13,80 ± 0,44c
Man1	41,2 ± 1,64b	8,26 ± 0,40b
Man2	27,4 ± 0,47a	15,50 ± 0,38c

Per 1, 2 y 3: suelos de Pergamino (Buenos Aires), Man 1 y 2: suelos de Manfredi (Córdoba). <sup>1</sup>Media ± ES. <sup>2</sup>Valores medios con letras iguales no son estadísticamente diferentes ( $p=0,05$ ).

Values followed by the same letter do not differ significantly according to LSD test ( $p=0.05$ ).

## CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo demuestran que: i) los suelos estudiados presentan una actividad mineralizadora de fuentes de Po que coincide con otros trabajos de suelos cultivados, y ii) el recuento de los organismos productores de fosfatasa complementa la información obtenida a partir de la determinación de la actividad fosfatasa del suelo.

Es importante destacar, que mediante la utilización de ambos métodos, es posible estudiar la fosfatasa ácida y alcalina de un suelo y obtener información sobre el potencial del mismo para movilizar Po.

Finalmente, sería importante realizar estudios que determinen si existe o no, una relación y/o regresión entre el número de microorganismos con actividad fosfatasa y la actividad de esta enzima medida en el suelo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aveline, A ; M Crozat ; CE Cleyet-Marel & X Pinochet. 2003. Bacterial growth rate and growth pouch nodulation profile differences as possible ways of *B. japonicum* strain screening for low P soils. *Plant soil* 251: 199-209.
- Carpenter-Boggs, L; PD Stahl; MJ Lindstrom & TE Schumacher. 2003. Soil microbial properties under permanent grass, conventional tillage, and no till management in south dakota. *Soil Till Res* 71: 15-23.
- Casida, LE. 1959. Phosphatase activity of some common soil fungi. *Soil Sci* 87: 305-310.
- Damen, DA; A Malmantiole; J Rossi & M Spinollo. 2005. Herramienta de extensión agropecuaria. Maíz 2005 para mejorar la producción 29-campaña 2004/2005. Asociación cooperadora de INTA Oliveros, Santa Fe. Pp. 106-109.
- Dick, WA & MA Tabatabai. 1993. Significance and potential uses of soil enzymes. *Soil Microbial Ecology*. Metting FB (ed). Marrel Dekker, New York, Pp. 95-127.
- Dick, RP; DP Breakwell & RF Turco. 1996. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. *Methods for assessing soil quality*. SSSA Madison, Pp. 247-271.
- Dighton, J. 1983. Phosphatase production by mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 71: 455-462.
- FAO 2007. [www.fao.org/ststatistics/census/default.asp](http://www.fao.org/ststatistics/census/default.asp). Annuaire FAO.
- Jayachandran, K, AP Schwab & BA Hetrick. 1992. Mineralization of organic phosphorus by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol Biochem* 24: 897-903.
- Ladd, JN. 1978. Origin and range of enzymes in soils. *Soil enzymes*. Burns RG (ed) Academic Press London, Pp. 51-96.
- López-Gutiérrez, JC; M Toro & López-Hernández. 2004. Seasonality of organic phosphorus mineralization in the rhizosphere of the native savanna grass, *Trachypogon plumosus*. *Soil Biol Biochem* 36: 1675-1684.
- Martin, JP. 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci*. 69: 215-232.
- Nahas, E; JF Centurion & LC Assis. 1994a. Microorganismos solubilizadores de fosfato e productores de fosfatases de vários solos. *R Bras Ci Solo, Campinas* 18: 43-48.
- Nahas, E; JF Centurion & LC Assis. 1994b. Efeito das características químicas dos solos sobre os microorganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases. *R Bras Ci Solo, Campinas* 18: 49-53.
- Nahas, E. 2002. Microorganismos do solo produtores de fosfatases em diferentes sistemas agrícolas. *Bragantia, Campinas* 61: 267-275.
- Oberson, A; JM Bessonm; N Maire & H Sticher. 1996. Microbiological processes in soil organic phosphorus transformations in conventional and biological cropping systems. *Biol Fertil Soils* 21: 138-148.
- Richardson, AE. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust J Plant Physiology* 28: 897-907.
- Richardson, AE; PA Hadobas & JE Hayes. 2001. Extracellular secretion of *Aspergillus* phytase from *Arabidopsis* roots enables plants to obtain phosphorus from phytate. *The Plant J* 25: 641-649.
- Santruckova, H; J Vrba; T Picek & J Kopacek. 2004. Soil biochemical activity and phosphorus transformations and losses from acidified forest soils. *Soil Biol Biochem* 36: 1569-1576.
- Sanyal, SK & SK De Datta. 1991. Soil organic phosphorus. *Adv Soil Sci* 16: 72-89.
- Steel, R & J Torrie. 1997. Análisis de la Varianza I. Bioestadística: principios y procedimientos. Segunda Edición. Ed. McGraw Hill, México, Pp. 622.
- Tabatabai, MA. 1994. Soil enzymes. *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*. Ed. A. Klute. Second Edition. SSSA, Madison, Pp. 788-826.
- Zibilske, LM & JM Bradford. 2003. Tillage effects on phosphorus mineralization and microbial activity. *Soil Sci* 168: 677-685.
- Zuberer, DA. 1994. Recovery and enumeration of viable bacteria. *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*. Ed. A. Klute. Second Edition. SSSA, Madison, Pp. 119-142.