

Efecto de la aplicación de lodo papelerero sobre la actividad enzimática de dos suelos de la Cuenca del Lago de Valencia, Venezuela

Audry García* y Carmen Rivero*

RESUMEN

Mediante un ensayo de incubación se evaluó el efecto del uso de lodos papeleros sobre la actividad enzimática en dos suelos: uno franco, moderadamente alcalino (Finca Los Flores, Santa Cruz de Aragua) y otro franco arenoso, moderadamente ácido (Campo Experimental del CENIAP, Maracay), ambos ubicados en el estado Aragua, Venezuela y clasificados como Fluventic Haplustolls. Ambos suelos recibieron dosis equivalentes a 10 y 15 Mg ha⁻¹ de lodo papelerero primario y fueron incubados durante 100 días, con una humedad de 60% de su capacidad de campo. Se muestreó a los 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 40, 60, 80 y 100 días y se determinó la actividad de deshidrogenasa, ureasa y fosfatasa ácida. La incorporación de lodo papelerero modificó significativamente las variables estudiadas y su efecto se concentró en los primeros 20 días. Los mayores niveles de actividad se lograron con el uso de 10 Mg ha⁻¹. La dosis de 15 Mg ha⁻¹ indujo efectos negativos sobre las variables evaluadas. En general, la magnitud de las variables biológicas fue influenciada por las características del suelo (el pH y la textura) y del material utilizado (características y dosis). El efecto negativo de la mayor dosis se vinculó a su

Aceptado: 2008

Instituto de Edafología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela.
Apdo. 4579. Maracay 2101, Aragua, Venezuela. e-mail: garciaaudry@gmail.com y criver@ewinet.com

elevada concentración de Zn y Fe, sin descartar compuestos orgánicos tóxicos no determinados.

Palabras clave: suelo, lodo papelerero, enzima, deshidrogenasa, ureasa, fosfatasa ácida

ABSTRACT

The effect of the use of paper sludge on the enzyme activity was evaluated through a test of incubation, on two soils: one loam, moderately alkaline (Los Flores Farm, Santa Cruz de Aragua) and another loam sandy, moderately acid (Experimental Field of CENIAP, Maracay), both located in Aragua State, Venezuela and classified as Fluventic Haplustolls. Both soils received doses equivalent to 10 and 15 Mg ha⁻¹ of primary paper sludge and were incubated for 100 days, with a humidity of 60% of its capacity field. It was sampled at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 40, 60, 80 and 100 days and the activity of dehydrogenase, urease and acid phosphatase was determined. The incorporation of paper sludge modified significantly the variables studied. The effect was concentrated in the first 20 days. The highest activity levels were obtained with the use of 10 Mg ha⁻¹. The dose of 15 Mg ha⁻¹ had negative effects on variables. In general, the magnitude of biological variables was influenced by the characteristics of the soil (pH and texture) and the material used (characteristics and doses). The negative effect of higher doses was linked to the high concentration of Zn and Fe in the sludge, or to toxic organic compounds no determined.

Key words: Soil, paper sludge, enzyme, dehydrogenase, urease, acid phosphatase

INTRODUCCIÓN

El gran desarrollo industrial de los últimos años, ha traído consigo un elevado crecimiento urbanístico con fuerte demanda de insumos, ello se ha traducido en la producción de desechos sólidos y líquidos, que por la dificultad que representa su disposición agravan problemas ambientales, tales como contaminación de ríos, lagos, suelos y aire, entre otros.

Es decir, existe un excedente de desechos, de diversos orígenes, sin ubicación definida dado el colapso de los vertederos de basuras. Paralelamente, la producción agrícola intensiva ha producido una acelerada degradación de suelos, que requiere activar prácticas agronómicas que incluyan nuevos enfoques, como el uso de materiales residuales orgánicos,

para incrementar la materia orgánica en el suelo (MOS), a fin de mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas de los mismos.

El uso agrícola de desechos orgánicos de diversos orígenes, constituye una esperanza para la disposición ecológica de materiales contaminantes, cuyo reciclaje disminuiría los impactos negativos al ambiente y caminaría en el sentido de asegurar la sostenibilidad de los agro sistemas. Sin embargo, esto crea la necesidad de información detallada con respecto a la disponibilidad de nutrientes, cambios físicos, químicos y biológicos que puedan ocasionar al sistema.

En tal sentido, las prácticas de manejo que incluyen la incorporación de residuos promueven la actividad enzimática y microbiana, al servir como fuente de carbono y contener enzimas extracelulares, que estimulan la actividad microbiana en el suelo (Goyal *et al.*, 1993, Tejada *et al.*, 2006). En general, los niveles de actividad enzimática se incrementan con el contenido de materia orgánica (Madejón *et al.*, 2001), como consecuencia de la dinámica de la población microbiana del suelo. Esta razón justifica las altas correlaciones encontradas entre los aportes de materia orgánica y los incrementos de las poblaciones de organismos (Pascual *et al.*, 2002).

Las actividades de las enzimas del suelo han sido señaladas como indicadores de alta sensibilidad a los cambios inducidos por manejo, además de ser fáciles de medir (Dick, 1994; García *et al.*, 1994; Bandick y Dick, 1999). El principal objetivo de esta experiencia fue evaluar el efecto de la incorporación de lodo papelerero sobre la actividad de algunas enzimas del suelo (ureasa fosfatasa ácida y deshidrogenada) en dos suelos venezolanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron dos suelos agrícolas con pH y textura contrastante, ubicados en la Cuenca del Lago de Valencia, Venezuela. Uno proveniente de la Finca “Los Flores” situada en Santa Cruz de Aragua y otro procedente del Campo Experimental del CENIAP Maracay, ambos suelos clasificados como Fluventic Haplustolls. Como residuo se usó un lodo papelerero primario proveniente de la industria papelera. La caracterización inicial de suelos y lodo se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características de los suelos bajo estudio y el lodo utilizado

Características	Suelos		
	Santa Cruz de Aragua	CENIAP	Lodo
pH	7,67*	5,68*	7,98**
CE (dSm ⁻¹)	0,660	0,090	0,36
CIC (cmol _c .kg ⁻¹)	11,90	9,15	7,87
CO (g.kg ⁻¹)	14,80	15,60	45,70
N (g.kg ⁻¹)	1,10	1,05	1,50
% C/N	13,45	14,86	30,47
MO (g.kg ⁻¹)	25,50	26,80	78,80
P (mg.kg ⁻¹)	127	20	22
K (mg.kg ⁻¹)	22	22	0,0
Ca (mg.kg ⁻¹)	4055	1127	502
Mg (mg.kg ⁻¹)	258	201	6
Fe (mg.kg ⁻¹)	0,6	34	976
Zn (mg.kg ⁻¹)	0,4	2	150
Textura	F	Fa	

*pH: 1:1 suelos **pH: 1:8 lodo

Fuente: Laboratorio General del Suelo. Instituto de Edafología, UCV

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con dos suelos, tres tratamientos, cuatro repeticiones y catorce mediciones en el tiempo. Los tratamientos fueron: Testigo (T); Suelo + 10 Mg ha⁻¹ lodo (L10); Suelo + 15 Mg ha⁻¹ lodo (L15).

La actividad microbiana de los suelos se estabilizó, antes de la adición de la enmienda, mediante una incubación aeróbica a 25°C durante 7 días (Cheng-Sheng *et al.*, 1997). Transcurrido este período, se colocaron 250 g de cada suelo en envases plásticos de 300 ml de capacidad y se añadieron las dosis de lodo equivalentes a 10 y 15 Mg ha⁻¹ según el tratamiento. Se agregó agua hasta 60 % de la capacidad de campo y se procedió a la incubación durante 100 días en condiciones controladas de laboratorio. La humedad se repuso cada 48 horas con base a la pérdida de peso.

Se determinó la actividad de las enzimas, a los 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 40, 60, 80 y 100 días, deshidrogenasa (Casida *et al.*, 1964), ureasa (Kandeler y Gerber, 1988) y fosfatasa ácida (Tabatabai y Bremner

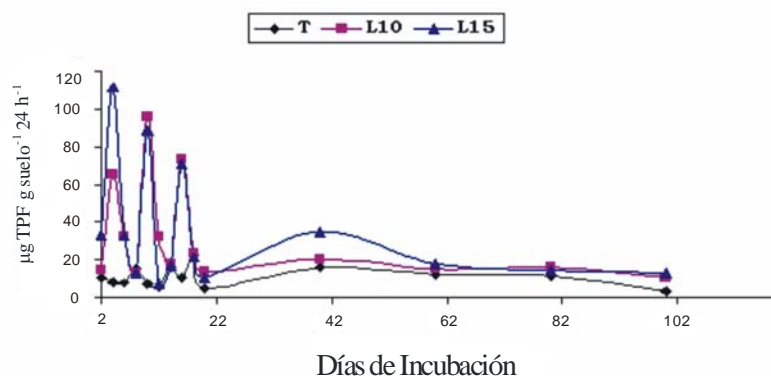
1969). La presencia de metales pesados, dado su efecto sobre la actividad de los microorganismos, se determinó antes de iniciar el ensayo, en el caso de zinc y cobre se empleó el método de absorción atómica, mientras que para níquel, plomo y cadmio el método de acoplamiento de plasma inducido (ICP).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La caracterización general del lodo indicó que estos son aptos para uso agrícola de acuerdo a los criterios establecidos por la Comunidad Económica Europea (CEE, 1986) con buen contenido de materia orgánica así como moderada disponibilidad de nutrientes en particular de nitrógeno (N) y fósforo (P).

Actividad de la enzima deshidrogenasa

La actividad de la enzima deshidrogenasa obtenida en los suelos (Figuras 1 y 2), evidenció incrementos inmediatos a la aplicación del lodo papelerero, similares a los alcanzados por Martens *et al.* (1992). Esto se atribuye a un aumento de biomasa microbiana total en los tratamientos, con el consecuente incremento en la actividad de la deshidrogenasa (Kannan y Oblisami, 1990).



Días	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	40	60	80	100
LDS*	5,09	21,84	6,05	0,59	20,80	6,36	0,30	15,14	0,55	1,78	4,23	1,13	1,04	2,17

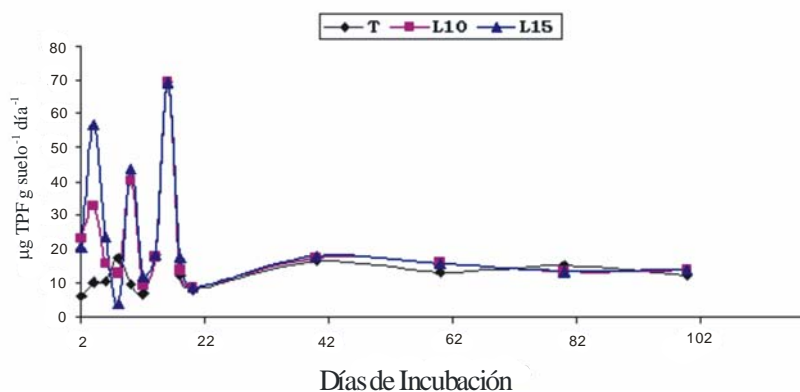
*LDS: mínima diferencia significativa entre tratamiento por cada punto de muestreo ($P < 0,05$)

Figura 1. Dinámica de la actividad de la enzima deshidrogenasa del suelo Santa Cruz de Aragón en un período de incubación de 100 días.

En ambos suelos el incremento inicial de la actividad de la enzima se mantuvo hasta los 16 días. Los máximos valores de actividad registrados se produjeron al inicio del período de incubación y se detectaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos L10 y L15, y T para los días 4, 10 y 16. Esto fue atribuido a la presencia de sustratos fácilmente biodegradables en el lodo papelerero, con la mayor actividad de la deshidrogenasa en el suelo Santa Cruz de Aragua. Cabe destacar no se detectó efecto significativo del uso de una mayor dosis en ninguno de los suelos.

La explicación global de este efecto se vincula a la intervención de factores tales como el pH de suelo y lodo y presencia de metales pesados, en este caso llama particularmente la atención, los contenidos de Zn y Fe en el lodo (Cuadro 1) que pudieran inhibir la actividad de las enzimas (Rost *et al.*, 2001).

Después de 20 días, la actividad de la deshidrogenasa en los suelos con o sin enmiendas, decrece gradualmente, sin embargo al final del ensayo, la actividad de los suelos tratados fue superior a T. Resultados similares fueron alcanzados por Pascual *et al.*, (1998a) al incorporar residuos urbanos.



Días	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	40	60	80	100
LDS*	3,86	9,82	2,75	2,86	7,87	1,03	0,14	0,04	1,14	0,19	0,33	0,62	0,40	0,39

* LDS: mínima diferencia significativa entre tratamiento por cada punto de muestreo ($P < 0,05$)

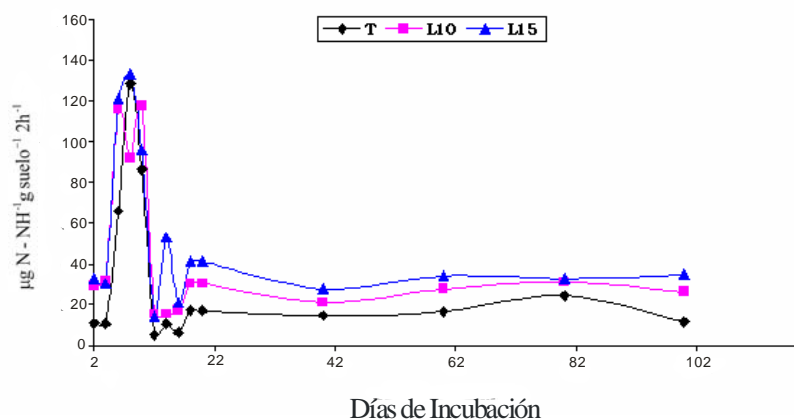
Figura 2. Dinámica de la actividad de la enzima deshidrogenasa del suelo CENIAP en un período de incubación de 100 días.

Se evidenció la estimulación de la actividad de esta enzima intracelular por la adición del residuo orgánico, lodo papelerero, y en consecuencia de sustrato carbonado. La respuesta obtenida, no obstante, se vinculó a las características del suelo y a la dosis de lodo aplicada.

Actividad de la enzima ureasa

La actividad de la ureasa se incrementó inicialmente pero comenzó a disminuir después de los 14 días, tanto para el suelo Santa Cruz de Aragua (Figura 3) como para el suelo CENIAP (Figura 4). Lo cual coincide con lo indicado por Frankenberger y Dick (1983) para los efectos de lodos residuales sobre la actividad de esta enzima en cinco suelos.

En términos absolutos, el tratamiento donde se aplicó la dosis más elevada (L15) produjo los mayores valores de actividad, pero éstos no resultaron ser significativos en ningún momento de la evaluación.

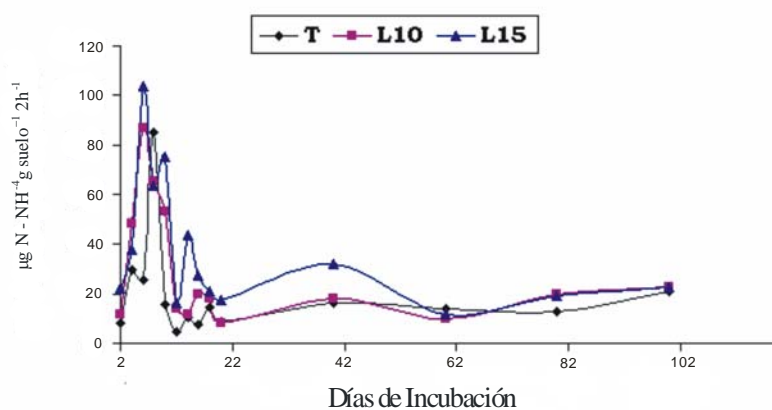


Días	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	40	60	80	100
LDS*	5,00	4,98	12,91	9,47	6,71	2,39	9,84	3,18	5,05	5,16	2,78	3,72	1,89	5,01

*LDS: mínima diferencia significativa entre tratamiento por cada punto de muestreo ($P < 0,05$)

Figura 3. Dinámica de la actividad ureásica del suelo Santa Cruz de Aragua en un período de incubación de 100 días.

Tal como fue indicado anteriormente, los residuos de lodos tienen una alta proporción de biomasa microbiana propia, además de elevadas cantidades de sustratos capaces de activar la síntesis de la enzima (Pascual *et al.*, 1997). Cabe recordar que el origen de la actividad de la ureasa es básicamente microbiano aun cuando ésta puede ser estabilizada por formación de complejos (ureasa-humus) en el suelo, lo que permite su actuación como enzima extracelular (Nannipieri *et al.*, 1996).



Días	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	40	60	80	100
LDS*	3,05	4,3	17,40	4,90	12,76	2,54	7,93	4,24	1,31	2,21	3,68	0,94	1,65	0,42

*LDS: mínima diferencia significativa entre tratamiento por cada punto de muestreo ($P < 0,05$)

Figura 4. Dinámica de la actividad ureásica del suelo CENIAP en un período de incubación de 100 días.

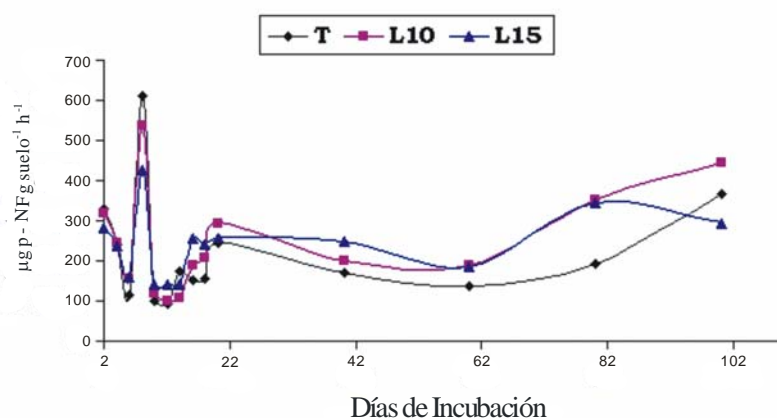
Los máximos valores para la actividad de ureasa, se obtuvieron en L15 a los 8 días $133,41 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g suelo}^{-1} 2\text{h}^{-1}$ en el suelo Santa Cruz de Aragua. En el suelo CENIAP los máximos se alcanzaron a los 6 días ($103,90 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g suelo}^{-1} 2\text{h}^{-1}$). Los resultados han sido atribuidos al estímulo de la actividad biológica del suelo como reflejo de la adición del sustrato carbonado. Sin embargo, destaca que el uso de la menor dosis (10 Mg ha^{-1}) provocó sobre la actividad ureásica un efecto similar a la mayor dosis, con valores máximos en el suelo Santa Cruz de Aragua a los 6 y 8 días ($116,22 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g suelo}^{-1} 2\text{h}^{-1}$ y $117,33 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g suelo}^{-1} 2\text{h}^{-1}$; respectivamente) y en el suelo CENIAP a los 6 días ($86,61 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g suelo}^{-1} 2\text{h}^{-1}$); valores que resultaron bastante cercanos al tratamiento T.

En la medida en que progresó la incubación, la actividad ureásica, disminuyó en ambos suelos en forma sostenida, más rápidamente en el caso del suelo Santa Cruz de Aragua que en el suelo CENIAP, lo cual sugiere que el sustrato "tipo-urea" contenido en el lodo fue más fácilmente degradado en este suelo después de su incorporación. En el suelo CENIAP la actividad ureásica mostró un leve incremento a los 40 días, atribuido esto a la producción de una resíntesis cuando la actividad de ureasa empieza a disminuir (Nannipieri *et al.*, 1978). De acuerdo Mobley y Hausinger (1989), la resíntesis ocurre gracias a la presencia de algunas especies de bacterias que responden directamente a la existencia de urea como sustrato o de la misma enzima ureasa, los cuales parecen ser esenciales y no es afectado por la presencia de compuestos nitrogenados. Al respecto, García *et al.* (1993) y Pascual *et al.* (1998b) sugirieron que el sustrato nitrogenado, capaz de activar la síntesis de la enzima, es en gran parte degradado durante el proceso de descomposición. Por otra parte, la cercanía de los valores para el tratamiento T, en los períodos de mayor actividad, sugiere la posible actividad extracelular sujeta a las características intrínsecas del suelo, especialmente contenido de materia orgánica y de arcilla (Perucci, 1990 y Roscoe *et al.*, 2000).

Para la enzima ureasa, y para ambos suelos, la mayor dosis indujo valores significativamente superiores al tratamiento T. En el suelo Santa Cruz de Aragua la actividad ureásica fue similar para ambas dosis, mientras que en el suelo CENIAP los valores resultaron similares a los de T.

Actividad de la enzima fosfatasa ácida

En el caso de la actividad de la fosfatasa ácida (Figuras 5 y 6) todos los tratamientos indujeron a un incremento significativo ($P < 0,05$) con respecto a T. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Gagnon *et al.* (2000) y Simard *et al.* (1998), quienes observaron un incremento de la actividad de esta enzima al incorporar una mezcla de residuo de lodo papelerero primario y secundario, aún después de 3 y 5 años de su aplicación respectivamente. Se infiere, al igual que en el caso de la ureasa, que los residuos papeleros estimulan la producción y actividad de la enzima gracias a la disponibilidad de sustrato carbonado y de nutrientes (Gagnon *et al.*, 2000). Destaca nuevamente el menor efecto de la mayor dosis detectado para el resto de las variables evaluadas.



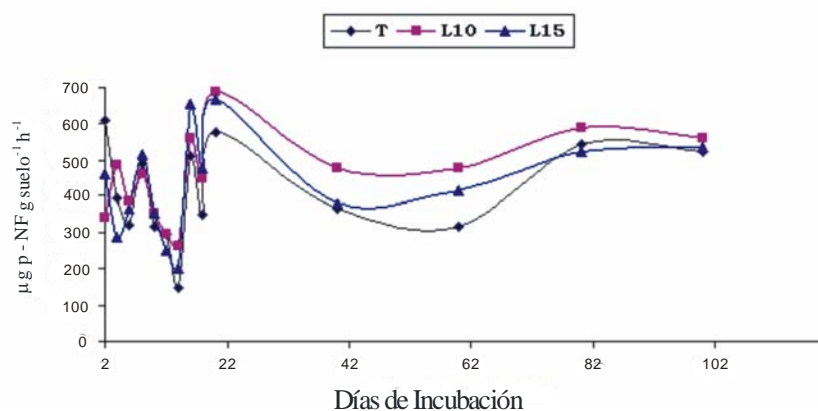
Días	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	40	60	80	100
LDS	10,10	1,51	9,92	39,35	8,37	10,59	14,03	22,9	17,09	11,61	16,51	12,38	38,51	32,38

*LDS: mínima diferencia significativa entre tratamiento por cada punto de muestreo ($P < 0,05$)

Figura 5. Dinámica de la actividad de la fosfatasa ácida del suelo Santa Cruz de Aragua en un período de incubación de 100 días.

La mayor actividad de la fosfatasa se registró, para ambos tratamientos, en el suelo CENIAP (Figura 6) en comparación al suelo Santa Cruz de Aragua (Figura 5). Este efecto fue más notable para la dosis de 10 Mg ha⁻¹. Esto se explicaría con base al contenido de P de los suelos antes de la enmienda (Cuadro 1), el cual es menor en el suelo CENIAP. Este comportamiento ha sido indicado como causa de una mayor actividad y producción de esta enzima. En tal sentido estos resultados coinciden con los obtenidos por Chantigny *et al.* (2000a) al incorporar 50 Mg ha⁻¹ y 100 Mg ha⁻¹ de lodo papelerero en dos suelos con diferente contenido de P mineral.

Los valores registrados para el suelo Santa Cruz de Aragua variaron entre 93,7 y 611,5 µg p-NF g suelo⁻¹ h⁻¹ y entre 148,1 y 686,8 µg p-NF g suelo⁻¹ h⁻¹ para el suelo CENIAP. Incrementos similares fueron obtenidos al utilizar efluentes papeleros por Kannan y Oblisami (1990).



Días	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	40	60	80	100
LDS	56,58	42,62	14,45	11,05	8,37	11,55	23,98	30,99	29,10	24,61	26,68	34,87	14,54	8,47

*LDS: mínima diferencia significativa entre tratamiento por cada punto de muestreo ($P < 0,05$)

Figura 6. Dinámica de la actividad de la fosfatasa ácida del suelo CENIAP en un período de incubación de 100 días

En ambos suelos la mayor actividad de la enzima se mantuvo hasta los 20 días. En el suelo Santa Cruz de Aragua los máximos valores de actividad se obtuvieron a los 8 días para la menor dosis, ($611,5 \mu\text{g p-NF}$). En el suelo CENIAP se produjeron a los 20 días, $686,8 \mu\text{g p-NF g suelo}^{-1} 24\text{h}^{-1}$ y $666,4 \mu\text{g p-NF g suelo}^{-1} 24\text{h}^{-1}$ para la menor y mayor dosis; respectivamente. La dinámica de respuesta de la actividad de la fosfatasa ácida sugiere una posible inmovilización de P durante la fase inicial de la descomposición del lodo, con el consecuente incremento en la biomasa y en la actividad microbiana. Comportamientos similares fueron obtenidos por Chantigny *et al.* (2000b) y Fierro *et al.* (1997) al utilizar lodos papeleros reciclados como enmiendas. Se ha indicado que ello deriva de la modificación de las poblaciones de microorganismos (Crecchio *et al.*, 2004).

Luego de la máxima actividad la tendencia, en ambos suelos, es a un descenso sostenido en el tiempo hasta los 60 días de incubación. No obstante a los 80 días se registró un ligero aumento atribuible a las dinámicas de descomposición de este material y de la población microbiana

(Pascual *et al.*, 1998 a). En ambos suelos la dosis de 10 Mg ha⁻¹ produjo valores significativamente diferentes al tratamiento T.

En el suelo Santa Cruz de Aragua, la menor dosis de 10 Mg ha⁻¹ (L10) mostró diferencias significativas con respecto al L15 y T, la dosis 15 Mg ha⁻¹ generó un descenso en los niveles de actividad. En el suelo CENIAP, se observó un efecto de la mayor dosis (L15) durante los primeros 20 días, pero luego siguió la misma tendencia del suelo Santa Cruz de Aragua inclusive hacia el final de la incubación.

Para el caso de las tres enzimas consideradas el efecto del sustrato carbonado fue determinado mediante la evaluación del carbono unido a la biomasa microbiana (García y Rivero, 2008)

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos mostraron que el residuo de lodo papelerero primario indujo modificaciones positivas significativas en la actividad de las enzimas evaluadas (deshidrogenasa, ureasa y fosfatasa ácida) como consecuencia de su descomposición. El efecto se concentró en los primeros 20 días del periodo de incubación, como consecuencia de variaciones en la dinámica de las poblaciones microbianas y con ello, de la actividad de las enzimas estudiadas. En general, se lograron respuestas satisfactorias con el uso de 10 Mg ha⁻¹. La dosis mayor, por el contrario, pareciera haber inducido efectos que pudieran ser considerados detrimentales. La magnitud de las variables biológicas evaluadas fue influenciada por las características de cada suelo y del material utilizado. El efecto observado para la mayor dosis podría deberse a una influencia negativa de los aportes de Zn y Fe sobre la actividad microbiana, sin descartar compuestos orgánicos tóxicos no determinados.

AGRADECIMIENTO

Las autoras desean expresar su agradecimiento a Fundacite-Aragua y al CDCH-UCV por el soporte financiero para esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bandick A.K. and R. P. Dick. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.* 31:1471-1479.
- Casida L.E. Jr., D. A. Klein and T. Santoro. 1964. Soil deshydrogenase activity. *Soil Sci.* 98:371-376.
- Chantigny M.; D. A. Angers and J. Beauchamp. 2000a. Active carbon pools and enzyme activities in soils amended with deinking paper sludge. *Can. J. Sc. Soil Sc.* 80: 99-105.
- Chantigny M.; D. A. Angers and J. Beauchamp. 2000b. Descomposicion of deinking paper sludge in agricultural soils as characterized by carbohydrate analysis. *Soil. Biol. Biochem.* 32: 1561-1570.
- Cheng-Sheng T.; K. Killham and M. Cressert. 1997. Dynamic response of microbial biomass, respiration rate and ATP to glucose additions. *Soil Biol. Biochem.* 29: 8:1240-1259.
- Commission of the European Communities (CEE). 1986. Council directive on the protection of environment and in particular of the soil when sewage sludge is used in agriculture. *Oficial Journal of the European Communities* 1.181. Annex 1 A. p 10.
- Crecchio, C.; M. Curci; M. D. R. Pizzigallo; P. Ricciuti and P. Ruggiero. 2004. Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. *Soil Biol. Biochem.* 36:1595-1605.
- Dick R. P. 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. In: *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment.* (J.W. Doran *et al.* Eds.) Special Publ. N° 35. Soil Science Society of America, Madison, WI. pp. 107-124.
- Fierro A.; J. Norrie; A. Gosselin and C. J. Beauchamp 1997. Deinking sludge influences biomass, nitrogen and phosphorus status of several grass and legume species. *Can J. Soil Sci.* 77: 693-702.

- Frankenberger, W.T. Jr and W. A. Dick. 1983. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 47:945-951.
- Gagnon B. R. Lalande; R. R. Simard and M. Roy. 2000. Soil enzyme activities following paper sludge addition in a winter cabbage-sweet corn rotation. *Can. J. Soil Sc.* 80: 91-97.
- García, A. y C. Rivero. 2008. Evaluación del carbono microbiano y la respiración basal en respuesta a la aplicación de lodo papelerero en dos suelos de la Cuenca del Lago de Valencia.
- García C. T. Hernández; F. Costa; B. Ceccanti; G. Masciandaro and C. Ciardi. 1993. A study of biochemical parameters of composted and fresh municipal wastes. *Bioresour. Technol.* 45:17-23.
- García C.; T. Hernández; F. Costa and B. Ceccanti. 1994. Biochemical parameters in soils regenerated by addition of organic wastes. *Waste Manage Res.* 12:457-466.
- Goyal S.; M. M. Mishra; S. S. Dhankar; K. K. Kapoor and B. Batra. 1993. Microbial biomass turnover and enzyme activities following the application of farmyard manure to field soils with and without previous long-term applications. *Biol. Fertil. Soils.* 15: 60-64.
- Kandeler E. and H. Gerber. 1988. Short-term assay of urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils.* 6:68-72.
- Kannan K. and G. Oblisami. 1990. Influence of paper mills irrigation on soil enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.* 22 : 923-926.
- Madejón, E.; P. Burgos; R. López and F. Cabrera. 2001. Soil enzymatic response to addition of heavy metals with organic residues. *Biol. Fertil. Soils.* 34: 144-150.
- Martens, D.; D. Johanson and D. Frankenberg Jr. 1992. Production and persistence of soil enzymes with repeated addition of organic residues. *Soil. Sci. Vol.* 153: 53-61.

- Mobley H. L. T. and R. P. Hausinger. 1989. Microbial ureases: Significance, regulation and characterization. *Microbiology review*. American Society of Microbiology. Washington D.C. pp. 85-108.
- Nannipieri P.; P. Sequi P. and P. Fusi. 1996. Humus and enzyme activity. In: Piccolo A (ed) *Humus Substances in Terrestrial Ecosystems*. Elsevier, Ámsterdam. pp. 293-328.
- Nannipieri P.; R. I Johnson and E. A Paul. 1978. Criteria for measurement of microbial growth and activity in soil. *Soil Biol. Biochem.* 10: 239-229.
- Pascual J. A.; T. Hernández, C. García and M. Ayuso. 1997. Changes in the microbial of arid soils amended with urban organic waste. *Biol. Fertil. Soils* 24: 429-434.
- Pascual J. A; T. Hernández; C. García and M. Ayuso. 1998a. Enzymatic activities in an arid soil amended with urban organic waste: Laboratory Experiment. *Bioresour Technol.* 64: 131-138.
- Pascual J. A.; T. Hernández; C. García and M. Ayuso. 1998b. Carbon mineralization in an arid soil amended with organic waste of varying degrees of stability. *Comun. Soil Sci. Plant Anal.* 29: 835-840.
- Pascual, J. A.; J. L. Moreno; T. Hernández and C. García. 2002. Persistence of immobilised and total urease and phosphatase activities in a soil amended with organic wastes. *Biores. Tech.* 82: 73-78
- Perucci P. 1990. Effect of adition of municipal solid-waste compost on microbial biomass and enzyme activities in soil. *Biol. Fertil. Soils.* 10: 211-226.
- Roscoe R.; C. A Vasconcelos; A. E. Fertuni; G. A. Guedes and L. A. Fernández. 2000. Urease activity and its relation to soil organic matter, microbial biomass nitrogen and urea-nitrogen assimilation by maize in a Brazilian Oxisol under no tillage and tillage systems. *Biol. Fertil. Soils.* 32: 52-59.

- Rost, U.; R. G. Joergensen and K. Chander. 2001. Effects of Zn enriched sewage sludge on microbial activities and biomass in soil. *Soil Biol. Biochem.* 33: 633-638.
- Simard R. R.; R. Baziramakeng; S. Yelle and J. Coulombe. 1998. Effects of deinking paper sludges on soil properties and crop yields. *Can. J. Soil Sci.* 78: 689-697.
- Tabatabai, M. A. and J. M. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1: 301-307.
- Tejada, M.; C. García; J. L. González and M. T. Hernández. 2006. Organic amendment based on fresh and composted beet vinasse. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70:900-908.