

ACTIVIDAD DE LA UREASA EN SUELOS DE LA ZONA CENTRAL DE CHILE¹

Urease activity in soils of central Chile

Manuel Casanova P.² y Carlos Benavides Z.²

S U M M A R Y

The levels of urease activity in 14 soil samples from the central zone of Chile were determined through a non-buffer measurement of residual urea, in presence of urease inhibitor (phenyl mercuric acetate), after sample incubation of 5 hours at 37 °C. Activity measurements varied from 56.1 to 160.4 µg of urea/g soil hour, at 37 °C. According to stepwise analysis, cation exchange capacity (CEC) and organic matter content (OM) are the most important edaphic variables of urease activity (UA):

$$UA = -1.4714 + 6.7659 [OM] + 1.8394 [CEC] \quad R^2 = 0.80$$

This equation shows the level of soil colloidal (organic and inorganic) protection against enzyme biodegradation and other processes leading to urease inactivation; so that each soil has a stable level of urease activity, depending on the soil constituents.

Key words: urease, urea, enzymatic activity, surface soil.

INTRODUCCIÓN

La hidrólisis de la carbodiamida ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), es el primer proceso químico de transformación que experimenta el N-urea en el suelo. Consiste en la ruptura de los enlaces C-N de la molécula, permitiendo la formación de amonio. Este proceso corresponde a un mecanismo de mineralización que requiere, bajo condiciones naturales de presión y temperatura, la presencia de agua y de la enzima ureasa.

La ureasa, es una amidohidrolasa que actúa sobre los enlaces no peptídicos de amidas lineales tales como la urea y sus derivados. Si bien su origen y estado en los suelos es aún poco claro, se le describe como una metaloenzima libre acumulada en los suelos, que ha sido liberada desde células vivas y desintegradas, correspondiendo a una enzima microbiana extracelular (Bremner y Mulvaney, 1978), cuyos componentes esenciales son los grupos sulfhidrilos y el níquel (Ladd y Jackson, 1982; Tabatabai, 1982).

Las técnicas actualmente disponibles para obtener una medición cuantitativa de ureasa en mues-

tras de suelo, siguen los principios de los ensayos de actividad enzimática (Thach y Newburger, 1972). Estos se basan en que la tasa inicial de la reacción catalítica es proporcional al número de moles de enzima presente, el cual se podría calcular a partir del número de moles de sustrato que reacciona por minuto y mol de enzima, bajo condiciones estándares ("turnover number").

No se conoce el "turnover number" de la ureasa dada la complejidad de su interacción con el suelo. Luego, los valores de actividad ureásica, obtenidos por cualquiera de las metodologías, propuestas hasta ahora, incluyendo la utilizada en este trabajo, sólo permiten efectuar comparaciones relativas del contenido enzimático entre muestras.

Los objetivos de este trabajo fueron determinar los valores de actividad de la ureasa y sus factores de estabilización en suelos de la zona central de Chile, considerando su importancia en el manejo de la urea y que sólo existe información nacional para suelos derivados de ceniza volcánica (Borie y Fuentealba, 1982).

MATERIALES Y MÉTODOS

El área geográfica utilizada en este estudio se extiende aproximadamente entre los paralelos 33° - 34° (LS) y los meridianos 70° 30' - 71° 30' (LW), que corresponde al área cubierta por el Proyecto

¹Recepción de originales: 9 de septiembre de 1994.

Trabajo presentado parcialmente por la Sociedad Química y Mineral de Chile, dentro del Convenio SOQUIMICH-Universidad de Chile.

²Departamento de Ingeniería y Suelos, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile.

Maipo (Comisión Nacional de Riego, 1981), en la zona central de Chile. Se tomaron 14 muestras de los horizontes superficiales (0 - 20 cm) de distintas series de suelos, es decir, muestras compuestas en una superficie aproximada a una hectárea y en torno al sitio donde fue descrito el pedón característico de la serie de suelo respectiva. Los suelos muestreados, principalmente pertenecen a los órdenes, de la Taxonomía de Suelos, Inceptisol (Alhué, Linderos, Las Perdices, Las Rosas) y Mollisol (Agua del Gato, Casablanca, La Higuera, Maipo, Mapocho, Peumo de Lo Chacón, Puangue, Puntilla, Santiago), sólo la serie Rungue es clasificada como Vertisol.

Determinaciones

Las propiedades físicas y químicas de los suelos, en su mayoría, fueron determinadas a través de los métodos indicados por Black (1965):

- Distribución del tamaño de partículas: método del hidrómetro.
- Nivel de humedad de equilibrio a 33 kPa: método de olla a presión.
- Contenido de materia orgánica: método de Walkley y Black.
- Capacidad de intercambio catiónico: método del acetato de sodio 1 N a pH 8,2.
- pH: potenciométricamente en agua (relación 1:1).

- Conductividad eléctrica en el extracto de saturación.

- Contenido de carbonato de calcio: método de neutralización ácida (Dewis y Freitas, 1970).

El análisis de la actividad de la enzima ureasa en los suelos de cada muestra, se realizó en triplicado mediante el método no "tamponado" de Mulvaney y Bremner (1979), el cual a través de un procedimiento colorimétrico (Douglas y Bremner, 1970), mide urea remanente.

Se identificaron propiedades que explican los niveles de actividad de la enzima ureasa de los suelos mediante análisis de regresión simple y múltiple paso a paso ("stepwise"). Este último se efectuó para un nivel de selección de 15%, empleándose la transformación angular ($\arcsin \sqrt{x/100}$), para las variables expresadas en términos porcentuales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los suelos seleccionados, en general muestran un rango relativamente amplio en cada una de las propiedades físicas y químicas medidas (cuadros 1 y 2). Esto es especialmente válido en el caso del contenido de arcilla, limo, materia orgánica y carbonatos equivalentes. Por otra parte, tanto el pH y la CE mantienen en un rango más estrecho de variación, exceptuándose el suelo Mapocho cuya muestra exhibe un tenor salino muy elevado.

CUADRO 1. Características físicas de los suelos (%)

TABLE 1. Soils physical characteristics (%)

Suelo	Arcilla	Limo	Arena	Retención agua 33 KPa
Alhué	15,6	28,0	56,4	19,2
Linderos	22,0	29,2	48,8	13,9
Santiago	17,2	26,0	56,8	13,1
Maipo	30,4	34,0	35,6	21,0
Peumo de Lo Chacón	17,6	6,0	76,4	20,1
Mapocho	3,6	48,0	48,4	33,0
Rungue	45,6	22,0	32,4	31,0
Casablanca	15,2	21,2	63,6	12,3
Agua del Gato	45,6	26,0	28,4	31,5
La Higuera	36,0	33,2	30,8	35,7
Las Perdices	8,8	14,0	77,2	10,4
Las Rosas	11,2	14,0	74,8	10,9
Puangue	17,2	31,2	51,6	12,2
Puntilla	34,4	32,8	32,8	24,0

CUADRO 2. Características químicas de los suelos

TABLE 2. Soils chemical characteristics

Suelo	MO ¹ %	CaCO ₃	pH	CE ² dS/m	CIC ³ cmol(+)/kg
Alhué	4,06	1,18	7,8	1,0	15,8
Linderos	2,03	6,30	8,1	1,1	10,8
Santiago	1,96	5,34	8,2	1,5	7,5
Maipo	2,28	3,82	8,0	1,2	11,8
Peumo de Lo Chacón	2,57	0,96	6,4	0,5	12,0
Mapocho	10,16	4,40	7,7	13,0	9,5
Rungue	1,76	2,02	7,5	1,1	13,5
Casablanca	2,22	0,70	8,3	1,5	12,0
Agua del Gato	5,55	1,97	7,6	2,8	30,3
La Higuera	5,10	19,18	7,9	1,6	24,8
Las Perdices	1,91	0,61	7,5	1,8	6,0
Las Rosas	1,87	0,15	6,5	0,6	6,5
Puangue	2,72	1,71	6,9	2,0	9,8
Puntilla	4,43	1,00	6,3	1,6	16,3

¹Materia orgánica.

²Conductividad eléctrica.

³Capacidad de intercambio catiónico.

La actividad enzimática en los 14 suelos estudiados fluctuó entre 56,1 y 160,4 µg de urea/g suelo hora, a 37 °C, destacándose las series La Higuera, Agua del Gato y Mapocho por sus altos valores (143,8 a 160,4 µg de urea/g suelo hora, a 37 °C). El resto de los suelos analizados mostró niveles de actividad menores (56,1 a 93,9 µg de urea/g suelo hora, a 37 °C) (Cuadro 3).

Los suelos pueden presentar diferencias notables de actividad de la ureasa, dependiendo de algunas de sus propiedades. Los análisis de regresión simple indican (Cuadro 4) una escasa correlación lineal entre la actividad de la ureasa y la mayor parte de las propiedades físicas y químicas medidas, excepto en el caso de la capacidad de intercambio catiónico y los tenores de materia orgánica.

Reforzando lo anterior, el análisis de regresión múltiple ("stepwise"), dio origen a la ecuación siguiente:

$$AU = -1,4714 + 6,7659 [MO] + 1,8394 [CIC] \quad R^2 = 0,80$$

donde:

AU : actividad de la enzima ureasa, µg de urea/g suelo hora, a 37 °C.

MO : materia orgánica, $\arcsen \sqrt{x/100}$, siendo x un valor porcentual.

CIC : capacidad de intercambio catiónico, cmol(+)/kg.

Las dos propiedades seleccionadas por la regresión múltiple han sido abundantemente documentadas como factores asociados al nivel de actividad de la ureasa en los suelos. Así, la estabilidad de la ureasa del suelo en el tiempo se atribuye a una protección por parte de los constituyentes coloidales del suelo (orgánicos e inorgánicos) contra la biodegradación y otros procesos de inactivación de la enzima ureasa (Zantua, Dumenil y Bremner, 1977; Terman, 1979; Burns, 1986).

En la actualidad faltan criterios para definir cuantitativamente "clases de actividad de la ureasa"; debido a que no se ha hecho ningún intento de relacionar contenidos enzimáticos, medidos en las condiciones de las pruebas usuales (concentración de sustrato, tiempo y temperatura de incubación), con las tasas de hidrólisis, observables bajo condiciones reales. Un trabajo de esta naturaleza implica necesariamente integrar, por vía empírica o analítica, la variación espacio-temporal de la concentración de urea, en las condiciones del micrositio generado por las partículas del fertilizante y, asociarla con las variaciones de la tasa hidrolítica en función de la concentración de sustrato.

La concentración de urea a nivel de micrositio (Hauck, 1982) es extraordinariamente variable en distancias cortas y dentro del intervalo de tiempo considerado importante para el proceso hidrolítico (unas 72 horas). Por otra parte, Rachhpal-Singh

CUADRO 3. Niveles de actividad de la enzima ureasa en los suelos

TABLE 3. Urease activity levels in soils

Suelo	AU ¹ (µg urea g/suelo hora, a 37 °C)
Alhué	88,8
Linderos	56,1
Santiago	64,6
Maipo	71,4
Peumo de Lo Chacón	90,6
Mapocho	143,8
Rungue	78,1
Casablanca	67,9
Agua del Gato	144,2
La Higuera	160,4
Las Perdices	81,2
Las Rosas	84,1
Puangue	76,4
Puntilla	93,9

¹Actividad de la enzima ureasa.

CUADRO 4. Coeficientes de regresión simple entre la actividad de la ureasa y algunas propiedades edáficas

TABLE 4. Simple regression coefficients between urease activity and some edaphic properties

Propiedad	a	b	r
pH	95,54	-0,22	-0,015
CE, dS/m	94,17	-0,57	-0,056
Arena, %	88,88	0,08	0,056
Limo, %	109,09	-0,68	-0,257
Arcilla, %	83,31	0,47	0,206
Agua (33 KPa), %	87,87	0,27	0,089
CaCO ₃ , %	98,15	-1,50	-0,220
CIC, cmol(+)/kg	64,53	2,42	0,563*
MO, %	54,04	11,21	0,798**

*Nivel de significancia con $P \leq 0,05$.

**Nivel de significancia con $P \leq 0,001$.

y Nye (1984) demostraron que la actividad de la enzima ureasa aumenta directa y parabólicamente con la concentración de sustrato, lo cual indica que dentro de los límites del micrositio se verifican regiones con capacidad hidrolítica variable, pero definida para el nivel de enzima existente en cada suelo. Bajo estas condiciones, se debería concluir, acorde con la teoría enzimática que la tasa de hidrólisis es proporcional a la cantidad de enzima presente en cada suelo. Los resultados obtenidos (Cuadro 3) permiten deducir que, dentro de la zona de suelos analizada, existe una amplia gama de capacidades hidrolíticas, mostrando los valores más bajos los suelos Linderos y Santiago.

Varios autores (Beri, Goswani y Brar, 1978; Hargrove, 1988) indican que una actividad enzimática alta provoca una tasa de hidrólisis de urea rápida, determinando un potencial mayor de pérdida de amoníaco por volatilización. Ello debido, por una parte, a un incremento de la concentración de amonio en la superficie del suelo y, por otra al alza de pH autogenerada por el proceso de hidrólisis. Esta alcalinización transitoria, está sujeta a las características "tamponantes" de los suelos, aspecto analizado por Benavides, Casanova y Rustom (1992). Por el contrario, como resultado de ureasa o una hidrólisis inhibidas, se advierte una reducción de la pérdida gaseosa amoniacal (Fenn y Hossner, 1985; Gould, Hagedorn y Mc Cready, 1986) y un aumento de las posibilidades de lixiviación de urea como tal (Moe, Mannering y Johnson, 1967; Vlek y Carter, 1983).

CONCLUSIONES

Se identificaron, en la zona estudiada, valores de actividad enzimática bastante variables, de manera que es posible esperar una dinámica también diversa del fertilizante urea aplicado a la superficie del suelo. Al respecto, dada la compleja variación espacio-temporal de la urea a nivel de micrositio y considerando que el objetivo de las pruebas de actividad de la enzima es conocer en forma relativa el contenido de ureasa del suelo, una interpretación de los valores en términos de tasas hidrolíticas, no tiene fundamento. En consecuencia, la necesidad de una calibración en este sentido es fundamental.

RESUMEN

Se determinaron los niveles de actividad de la enzima ureasa, en 14 muestras pertenecientes a distintas series de suelo de la zona central de Chile. La metodología empleada se basa en la

medición no "tamponada" de urea remanente, en presencia de un inhibidor de la enzima, luego de incubar las muestras por 5 horas a 37 °C.

Los valores de actividad variaron entre 56,1 y 160,4 µg de urea/g suelo hora, a 37 °C. El análisis de regresión múltiple ("stepwise") indicó que las variables de suelo más relevantes de la actividad de la enzima ureasa (AU) son la capacidad de intercambio catiónico y el contenido de materia orgánica de los suelos:

$$AU = -1,4714 + 6,7659 [MO] + 1,8394 [CIC] \quad R^2 = 0,80$$

Este resultado refleja el grado de protección coloidal (orgánico e inorgánico) del suelo contra la biodegradación y otros procesos de inactivación de la enzima ureasa; lo cual indica que cada suelo posee un nivel estable de ureasa, dependiente de sus constituyentes.

Palabras claves: ureasa, urea, actividad enzimática, suelo superficial.

LITERATURA CITADA

- BENAVIDES Z., C., CASANOVA P., M. y RUSTOM J., A. 1992. Capacidad de tamponamiento contra la alcalinidad en suelos de las regiones V y Metropolitana de Chile. *Agricultura Técnica (Chile)* 52: 426 - 430.
- BERI, V., GOSWANI, K.P. and BRAR, S.S. 1978. Urease activity and its Michaelis constant for soil systems. *Plant and Soil* 49: 105-115.
- BLACK, C.A. 1965. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological properties. American Society of Agronomy. *Agronomy* 9. 1.572 p.
- BORIE, F. y FUENTEALBA, R. 1982. Bioquímica de los suelos derivados de cenizas volcánicas. II Actividad ureásica. *Agricultura Técnica (Chile)* 42: 135-142.
- BREMNER, J.M. and MULVANEY, R.L. 1978. Urease activity in soils. In: Burns, R.G. (ed.). *Soil Enzymes*. Academic Press, London. p.: 149-196.
- BURNS, R.G. 1986. Interaction of enzymes with soil mineral and organic colloids. In: Huang, P.M. y Schnitzer, M. (ed.). *Interactions of soil mineral with natural organics and microbes*. Soil Science Society of America, Inc. Publication Nº 17. p.: 429-451.
- COMISIÓN NACIONAL DE RIEGO, CHILE. 1981. Estudio de Suelos del Proyecto Maipo (4 volúmenes y 1 mapa). Agrológ-Chile Ltda. Santiago. 802 p.
- DEWIS, J. y FREITAS, F. 1970. Métodos físicos y químicos de suelos y aguas. FAO. Boletín de Suelos Nº 10. 252 p.
- DOUGLAS, L.A. and BREMNER J.M. 1970. Extraction and colorimetric determination of urea in soil. *Soil Science Society of American Proceeding* 34: 859-862.
- FENN, L.B. and HOSSNER, L.R. 1985. Ammonia volatilization from ammonium-forming nitrogen fertilizers. *Advances in Soil Science* 1: 123-169.
- GOULD, W.D., HAGEDORN, C. and McCREADY, G.L. 1986. Urea transformations and fertilizers efficiency in soil. *Advances in Agronomy* 40: 209-237.
- HARGROVE, W.L. 1988. Evaluation of ammonia volatilization in the field. *Journal Productivity Agriculture* 1: 104-111.
- HAUCK, R.D. 1984. Significance of nitrogen fertilizer microsite reaction in soil. In: Hauck, R.D. (ed.). *Nitrogen in crop production*. p.: 507-519.
- LADD, R. and JACKSON, S. 1982. Biochemistry of ammonification. In: Stevenson, F.J. *et al.* (ed.). *Nitrogen in Agricultural Soils*. Soil Science Society of America. *Agronomy* 22. p.: 173-222.
- MOE P.G., MANNERING, J.V. and JOHNSON, C.B. 1967. Further studies of nitrogen losses in surface runoff water on fragipan soils. Purdue University, Agricultural Experiment Station. Lafayette, Indiana. Project 1.207. Research Progress Report 287. 4 p.
- MULVANEY, R.L. and BREMNER J.M. 1979. A modified diacetyl monoxime method for colorimetric determination of urea in soil extract. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 10: 1.163-1.170.
- RACHHPAL-SINGH and NYE, P.H. 1984. The effect of soil pH and high urea concentration on urease activity in soil. *Journal of Soil Science* 35: 519-527.
- RACHHPAL-SINGH and NYE, P.H. 1986. A model of ammonia volatilization from applied urea. I. Development of the model. *Journal of Soil Science* 37: 9-20.
- TABATABAI M. 1982. Soil enzymes. In: Page, A.L., Miller, R.H. y Keeney, D.R. (ed.). *Methods of soil analysis*. Agronomy Monograph Nº 9. Soil Science Society of America. p.: 903-947.
- TACH, R.E. and NEWBURGER, M.R. 1972. Research techniques in biochemistry and molecular biology. 181 p.
- TERMAN, G.L. 1979. Volatilization losses of nitrogen as ammonia from surface-applied fertilizers, organic amendments, and crop residues. *Advances in Agronomy* 31: 189-223.
- VLEK P.L.G. and CARTER M.F. 1983. The effect of soil environment and fertilizers modifications on the rate of urea hydrolysis. *Soil Science* 136: 56-63.
- ZANTUA, M.I.; DUMENIL, L.C. and BREMNER J.M. 1977. Relationships between soil urease activity and other soil properties. *Soil Science Society of American Journal* 41: 350-352.