



Soil enzyme activity as a bioindicator of soil quality and carbon capture under conservation agriculture

Actividad enzimática del suelo como bioindicador de la calidad y captura de carbono del suelo en agricultura de conservación

Kassandra Santellanez-Arreola¹; Miguel Ángel Martínez-Gamiño²;
Ignacio Sánchez-Cohen³; Esteban Salvador Osuna-Ceja⁴;
Ricardo Trejo-Calzada¹; Erika Nava-Reyna^{3*}

¹Universidad Autónoma de Chapingo, Unidad Regional Zonas Áridas. Carretera Gómez Palacio-Cd. Juárez km 40, Bermejillo, Durango, C. P. 35230, México.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Carretera San Luis Potosí-Matehuala km 14.5, Soledad de Graciano, San Luis Potosí, C. P. 78431, México.

³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relación Agua Suelo Planta Atmósfera. Canal Sacramento km 6.5, Zona Industrial, Gómez Palacio, Durango, C. P. 35079, México.

⁴Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Carretera Aguascalientes-Zacatecas, Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, C. P. 82501, México.

*Corresponding author: nava.erika@inifap.gob.mx, tel. (553) 8718700, ext. 80519.

Abstract

Introduction: Soil organic carbon (SOC) stocks are used as indicators of soil degradation and recovery. However, changes in SOC occur slowly, limiting their short-term use. Therefore, more sensitive biological indicators, such as enzymatic activity, are needed.

Objective: To evaluate carbon storage dynamics and soil quality under different conservation agriculture (CA) practices based on soil enzyme activity (β -galactosidase [β -gal] and polyphenol oxidase [PPO]).

Methodology: Soil samples were collected from seven tillage and residue management systems of forage crops in a semiarid region: 1) plow + harrow (P+H), 2) harrow (H), 3) no tillage + 33 % residue cover (short term) (NT+33S), 4) no tillage (NT), 5) no tillage + 33 % residue cover (long term) (NT+33L), 6) no tillage + 66 % residue cover (NT+66), and 7) no tillage + 100% residue cover (NT+100).

Results: CA improved β -gal activity (by 36-72 %) and reduced PPO activity (by 10-28 %) compared with conventional agriculture (P+H). Management duration and residue cover proportion were key factors in the enzymatic responses. CA also increased SOC storage by 1 Mg C·ha⁻¹, even in the short term (NT+33S).

Limitation of the study: These indicators must be validated under minimum tillage and rainfed conditions in different regions.

Keywords: β -galactosidase, polyphenol oxidase, maize-oat-triticale system, semiarid agroecosystem.

Originality: This study demonstrates the potential of β -gal and PPO as biochemical indicators of soil quality and carbon sequestration in irrigated semiarid agroecosystems.

Conclusions: β -gal and PPO activities are rapid indicators of soil quality and carbon capture in semiarid systems under CA. PPO/ β -gal ratio could be used for agroecosystem restoration monitoring.

Resumen

Introducción: Las reservas de carbono orgánico del suelo (COS) se utilizan como indicadores de degradación y recuperación del suelo. Sin embargo, los cambios en el COS se producen lentamente, lo que limita su uso a corto plazo. Por ello, se necesitan indicadores biológicos más sensibles, como la actividad enzimática.

Objetivo: Evaluar la dinámica del almacenamiento de carbono y la calidad de suelos sometidos a diferentes prácticas de agricultura de conservación (AC) a partir de la actividad enzimática del suelo (β -galactosidasa [β -gal] y polifenol oxidasa [PFO]).

Metodología: Se recolectaron muestras de suelo de siete sistemas de labranza y manejo de residuos de cultivos forrajeros en una región semiárida: 1) arado + rastra (A+R), 2) rastra (R), 3) labranza cero + 33 % de cobertura residuos (a corto plazo) (LC+33C), 4) labranza cero (LC), 5) labranza cero + 33 % de cobertura de residuos (a largo plazo) (LC+33L), 6) labranza cero + 66 % de cobertura de residuos (LC+66) y 7) labranza cero + 100 % de cobertura de residuos (LC+100).

Resultados: La AC mejoró la actividad de la β -gal (de 36-72 %) y redujo la actividad de la PFO (de 10-28 %) en comparación con la agricultura convencional (A+R). La duración del manejo y la proporción de cobertura de residuos fueron clave en las respuestas enzimáticas. La AC también aumentó las reservas de COS en 1 Mg C·ha⁻¹, incluso a corto plazo (LC+33C).

Limitaciones del estudio: Se deben validar estos indicadores en condiciones de labranza mínima y de secano en diferentes regiones.

Palabras clave: β -galactosidasa, polifenol oxidasa, sistema maíz-avena-triticale, agroecosistema semiárido.

Originalidad: Este estudio demuestra el potencial de la β -gal y la PFO como indicadores bioquímicos de la calidad del suelo y la captura de carbono en agroecosistemas semiáridos irrigados.

Conclusiones: Las actividades de la β -gal y PFO son indicadores rápidos de la calidad del suelo y la captura de carbono en sistemas semiáridos bajo AC. La relación PFO/ β -gal se podría utilizar para monitorear la restauración de los agroecosistemas.

Please cite this article as follows (APA 7): Santellanez-Arreola, K., Martínez-Gamiño, M. A., Sánchez-Cohen, I., Osuna-Ceja, E. S., Trejo-Calzada, R., & Nava-Reyna, E., (2025). Soil enzyme activity as a bioindicator of soil quality and carbon capture under conservation agriculture. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 17, e24055. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2024.11.055>



Ingeniería Agrícola
y Biosistemas

Introduction

Soil quality is defined by its functional capacity (Muñoz-Rojas, 2018), and it can be assessed using a wide variety of biological, physical, and chemical indicators (Drobnik et al., 2018); however, quantifying soil health is a challenging and complex process (Rao et al., 2019). Therefore, numerous indicators have been integrated into multivariate approaches, such as regression models and principal component analyses. Despite this, defining a minimum dataset, establishing reference ranges, or selecting biological benchmarks remains difficult. Furthermore, this challenge is compounded by the lack of universally accepted threshold values for key indicators, including soil organic matter (SOM) (Rao et al., 2019).

Among soil quality indicators, soil organic carbon (SOC) and its close association with soil biological processes are regarded as indicators of soil health (Lorenz & Lal, 2016), since SOC underpins essential ecosystem services, including nutrient cycling, water regulation, erosion control, heavy metal detoxification, and climate change mitigation (Rao et al., 2019). Consequently, SOC stock has been proposed as an indicator for monitoring soil degradation and restoration within the framework of the Sustainable Development Goals of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (Lorenz & Lal, 2016). However, SOC responds slowly to changes in management, particularly in arid and semiarid regions, where sandy soil texture and water deficit could decrease SOM accumulation, reduce cation exchange, enhance SOM decomposition, and limit natural biomass production as carbon sources (Baraket et al., 2021; Ben-Mbarek et al., 2020).

On the other hand, microorganisms are key to maintaining soil health due to their role in the organic matter decomposition, the biogeochemical cycle, soil structure formation, greenhouse gas regulation, and plant growth promotion (Rao et al., 2019). Consequently, soil health can be monitored through changes in microbial community composition, biomass, functional genes, metabolites, and enzyme activity (Djemiel et al., 2022; Lee et al., 2020). Enzymatic activities reflect microbial metabolic potential and have been proposed as early indicators of soil quality changes in agroecosystems (Zhao et al., 2018a). Indeed, integrative analyses have shown strong interrelationships among SOC, labile carbon fractions, soil respiration, diazotroph abundance, glomalin content, and enzyme activities (such as dehydrogenase, glycosidases, and acid phosphatase), providing a comprehensive overview of soil health status (Bhaduri et al., 2022).

Microbial communities are highly sensitive to soil disturbances and agronomic management (especialmente

Introducción

La calidad del suelo se define por su capacidad de funcionamiento (Muñoz-Rojas, 2018) y se puede evaluar mediante diversos indicadores biológicos, físicos y químicos (Drobnik et al., 2018); sin embargo, cuantificar la salud del suelo es un proceso complejo y difícil (Rao et al., 2019). Por ello, se han integrado numerosos indicadores en enfoques multivariados, como modelos de regresión y análisis de componentes principales. A pesar de esto, sigue siendo difícil definir un conjunto de datos mínimo, establecer rangos de partida o seleccionar puntos de referencia biológicos. Asimismo, este desafío se ve agravado por la falta de valores universalmente aceptados de indicadores clave, incluida la materia orgánica del suelo (MOS) (Rao et al., 2019).

Entre los indicadores de calidad, el carbono orgánico del suelo (COS) y su estrecha relación con los procesos biológicos se consideran indicadores de la salud del suelo (Lorenz & Lal, 2016), ya que el COS sustenta procesos ecosistémicos esenciales, como el ciclo de los nutrientes, la regulación del agua, el control de la erosión, la desintoxicación de metales pesados y la mitigación del cambio climático (Rao et al., 2019). En consecuencia, las reservas de COS se han propuesto como un indicador para monitorear la degradación y la restauración del suelo en el marco de los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Lorenz & Lal, 2016). Sin embargo, el COS responde lentamente a los cambios en el manejo, especialmente en las regiones áridas y semiáridas, donde la textura arenosa del suelo y el déficit hídrico tienden a disminuir la acumulación de MOS, reducir el intercambio catiónico, aumentar la descomposición de la MOS y limitar la producción natural de biomasa como fuente de carbono (Baraket et al., 2021; Ben-Mbarek et al., 2020).

Por otro lado, los microorganismos son fundamentales para mantener la salud del suelo debido a su papel en la descomposición de la materia orgánica, el ciclo biogeoquímico, la formación de la estructura del suelo, la regulación de los gases de efecto invernadero y la promoción del crecimiento de las plantas (Rao et al., 2019). En consecuencia, la salud del suelo se puede controlar mediante cambios en la composición de la comunidad microbiana, la biomasa, los genes funcionales, los metabolitos y la actividad enzimática (Djemiel et al., 2022; Lee et al., 2020). Esta última refleja el potencial metabólico microbiano y se ha propuesto como indicador temprano de cambios en la calidad del suelo en agroecosistemas (Zhao et al., 2018a). De hecho, los análisis integrativos han demostrado interrelaciones fuertes entre el COS, las fracciones de carbono lábil, la respiración del suelo, la abundancia de diazotófos, el

tillage intensity), which strongly influence soil quality and degradation processes (Bogunovic et al., 2018). For example, conventional tillage disrupts soil structure and accelerates SOM oxidation (Sekaran & Kumar, 2021). In contrast, the transition from conventional to conservation agriculture (CA) practices has been associated with improved SOM distribution within the soil profile, enhanced soil structure and moisture retention, and increased *in situ* carbon sequestration (Jat et al., 2018; Nyakudya & Stroosnijder, 2015). These changes alter soil aggregation and, consequently, the size, diversity, and biochemical activity of microbial communities (Wang et al., 2021).

In arid agroecosystems, CA practices can increase water productivity, regulate soil nutrient and moisture dynamics, and reduce wind erosion (Alsamin et al., 2022; Boudiar et al., 2022; Dong et al., 2021; Thapa et al., 2023). Moreover, given the typically low SOC levels in arid soils, these systems may also represent substantial potential carbon sinks. No-tillage combined with surface residue retention can improve soil moisture distribution, enhance aeration, and promote microbial diversity, including plant growth-promoting microorganisms (Li et al., 2020). Consequently, biological indicators have been increasingly applied to assess soil quality under different management strategies, such as organic amendments (Unagwu, 2019), biofertilization (Latkovic et al., 2020), and cover cropping (Haruna, 2024). For instance, long-term zero tillage has been shown to increase SOM levels and stimulate enzyme activities involved in C, N, P, and S cycling (Kabiri et al., 2016; Onet et al., 2018).

Among soil enzymes, β -galactosidase (β -gal) plays a key role in the hydrolysis of lactose and other low-molecular-weight carbohydrates, releasing simple sugars that support microbial growth and reflect the soil's capacity to decompose complex carbohydrates and form stable organic matter (Eivazi & Tabatabai, 1988). Polyphenol oxidase (PPO) catalyzes the oxidation of phenolic compounds, such as lignin and tannins, into quinones, which are intermediates in humus formation (Kuncheva et al., 2024). However, PPO activity has also been associated with the degradation of protein-polyphenol complexes, potentially accelerating carbon mineralization under certain conditions (Zhao et al., 2018b).

Therefore, this study aimed to evaluate carbon storage dynamics and soil quality under different CA practices based on soil enzyme activity (β -gal and PPO) as a rapid-response bioindicator in irrigated agroecosystems under contrasting tillage and residue management in a semiarid region.

contenido de glomalina y las actividades enzimáticas (como la deshidrogenasa, las glicosidasas y la fosfatasa ácida), lo que proporciona una visión global del estado de salud del suelo (Bhaduri et al., 2022).

Las comunidades microbianas son muy sensibles a las perturbaciones del suelo y al manejo agronómico (especialmente a la intensidad del laboreo), el cual influye considerablemente en la calidad del suelo y en los procesos de degradación (Bogunovic et al., 2018). Por ejemplo, la labranza convencional altera la estructura del suelo y acelera la oxidación de la MOS (Sekaran & Kumar, 2021). En cambio, la transición de la agricultura convencional a la agricultura de conservación (AC) se ha asociado con una mejor distribución de la MOS en el perfil del suelo, una mejor estructura y retención de humedad, y un aumento del secuestro de carbono *in situ* (Jat et al., 2018; Nyakudya & Stroosnijder, 2015). Estos cambios alteran la agregación del suelo y, en consecuencia, el tamaño, la diversidad y la actividad bioquímica de las comunidades microbianas (Wang et al., 2021).

En agroecosistemas áridos, las prácticas de AC pueden aumentar la productividad del agua, regular la dinámica de los nutrientes y la humedad del suelo, y reducir la erosión eólica (Alsamin et al., 2022; Boudiar et al., 2022; Dong et al., 2021; Thapa et al., 2023). Además, considerando los niveles típicamente bajos de COS en suelos áridos, estos sistemas también representan potenciales sumideros de carbono. La labranza cero, combinada con la retención de residuos en la superficie, puede mejorar la distribución de la humedad del suelo, aumentar la aireación y promover la diversidad microbiana, incluidos los microorganismos promotores del crecimiento vegetal (Li et al., 2020). Por ello, cada vez más se han utilizado indicadores biológicos para evaluar la calidad del suelo bajo diferentes estrategias de manejo, como enmiendas orgánicas (Unagwu, 2019), biofertilización (Latkovic et al., 2020) y cultivos de cobertura (Haruna, 2024). Por ejemplo, se ha demostrado que la labranza cero a largo plazo aumenta los niveles de MOS y estimula las actividades enzimáticas implicadas en el ciclo del C, N, P y S (Kabiri et al., 2016; Onet et al., 2018).

Entre las enzimas del suelo, la β -galactosidasa (β -gal) desempeña un papel clave en la hidrólisis de la lactosa y otros carbohidratos de bajo peso molecular, al liberar azúcares simples que favorecen el crecimiento microbiano y reflejan la capacidad del suelo para descomponer carbohidratos complejos y formar materia orgánica estable (Eivazi & Tabatabai, 1988). Por su parte, la polifenol oxidasa (PFO) cataliza la oxidación de compuestos fenólicos, como la lignina y los taninos,

Materials and methods

The study was conducted at the experimental field “San Luis” of the *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias* (INIFAP), located in Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, Mexico (22° 13' 34.33" N and 100° 50' 56.34" W) (Figure 1). This region is characterized by a semiarid climate with summer rains, with a mean annual precipitation of 367.4 mm (Julio-Miranda et al., 2012).

Seven treatments were distributed in a randomized block design with two replicates per treatment. The limited replication was due to constraints in the experimental area and available resources. Nevertheless, the block design minimized spatial variability and improved statistical precision. Previous studies have shown that two replicates can be sufficient in field experiments when treatments are expected to produce large and consistent effects, allowing reductions in resource use (by 33-50 %) without compromising result reliability (Tanner et al., 2023; Yan, 2021). However, limited replication may restrict statistical power and the extrapolation of results beyond the experimental site.

Treatments were established in plots consisting of 10 rows spaced 0.80 m apart or five beds 1.60 m wide and 30.00 m long (Table 1), under different management since 1995. Treatments were applied before sowing maize (Ceres XR-45, 69 000 plants·ha⁻¹)

en quinonas, que son intermediarios en la formación del humus (Kuncheva et al., 2024). Sin embargo, la actividad de la PFO también se ha asociado con la degradación de complejos proteína-polifenol, lo cual podría acelerar la mineralización del carbono en ciertas condiciones (Zhao et al., 2018b).

Considerando lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la dinámica del almacenamiento de carbono y la calidad del suelo bajo diferentes prácticas de AC a partir de la actividad enzimática del suelo (β -gal y PFO) como bioindicador de respuesta rápida en agroecosistemas de riego bajo labranza y manejo de residuos contrastantes en una región semiárida.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en el campo experimental “San Luis” del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, México (22° 13' 34.33" N y 100° 50' 56.34" O) (Figura 1). Esta región se caracteriza por un clima semiárido con lluvias estivales, con una precipitación media anual de 367.4 mm (Julio-Miranda et al., 2012).

Se distribuyeron siete tratamientos en un diseño de bloques al azar con dos réplicas por tratamiento. El limitado número de réplicas se debió a las restricciones del área experimental y a los recursos disponibles. No obstante, el diseño de bloques minimizó la variabilidad

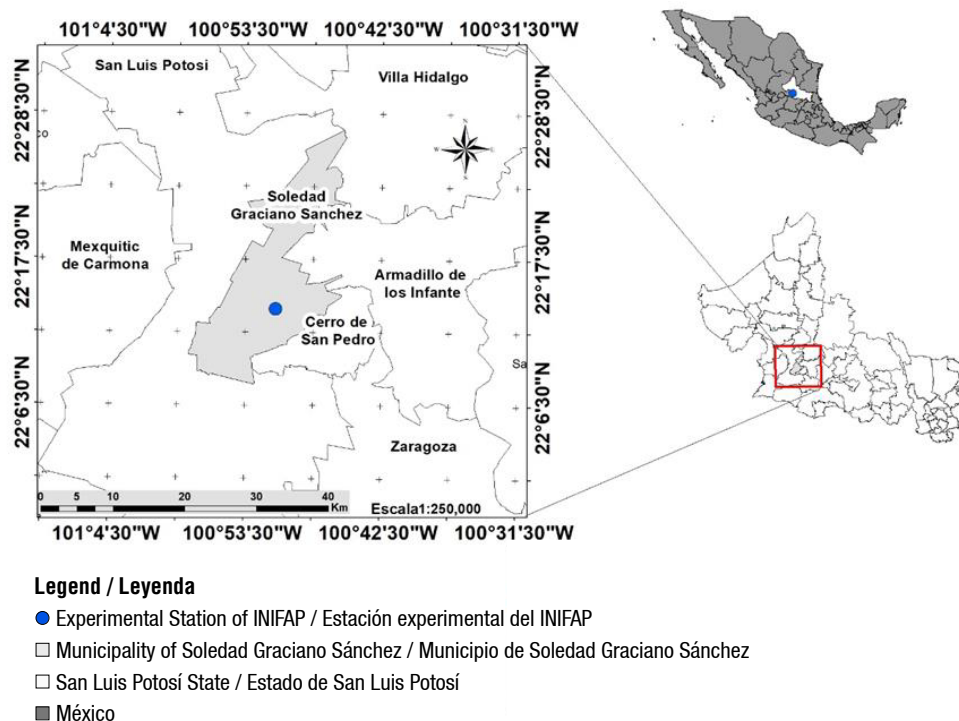


Figure 1. Geographical location of the study area.

Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio.

Table 1. Treatment description.**Cuadro 1. Descripción de los tratamientos.**

Treatment/Tratamiento	Description/Descripción
Plow + harrow (P+H)/ Arado + rastra (A+R)	Conventional tillage to prepare soils (soil is scrambled at a depth of 25-30 cm)/ Labranza convencional para preparar los suelos (el suelo se remueve a una profundidad de 25-30 cm)
Harrow (H)/Rastra (R)	Land is penetrated by a harrow 12 cm deep/ La tierra se penetra con una grada a 12 cm de profundidad
No-tillage + 33 % residue surface cover (short-term) (NT+33S)/ Labranza cero + 33 % de cobertura residuos (a corto plazo) (LC+33C)	This land had been managed as P+H since 1995, but it was changed to zero-till farming and 33% of the surface was covered with residues for 3 years/ Esta tierra se manejaba como A+R desde 1995, pero cambió a labranza cero y se cubrió el 33 % de la superficie con residuos durante 3 años
No-tillage (NT)/Labranza cero (LC)	Zero-tillage without stubble cover, direct sow/ Labranza cero sin cobertura de rastrojo, siembra directa
No-tillage + 33 % residue surface cover (long-term) (NT+33L)/ Labranza cero + 33 % de cobertura de residuos (a largo plazo) (LC+33L)	Zero-tillage with 33 % of residue surface cover (1.3 t·ha ⁻¹ of annual stubble) since 1995/ Labranza cero con 33 % de cobertura de residuos (1.3 t·ha ⁻¹ de rastrojo anual) desde 1995
No-tillage + 66 % residue surface cover (NT+66)/ Labranza cero + 66 % de cobertura de residuos (LC+66)	Zero-tillage with 66 % of residue surface cover (2.6 t·ha ⁻¹ of annual stubble)/ Labranza cero con 66 % de cobertura de residuos (2.6 t·ha ⁻¹ de rastrojo anual)
No-tillage + 100 % residue surface cover (NT+100)/ Labranza cero + 100 % de cobertura de residuos (LC+100)	Zero-tillage with 100 % of residue surface cover (4 t·ha ⁻¹ of annual stubble)/ Labranza cero con 100 % de cobertura de residuos (4 t·ha ⁻¹ de rastrojo anual)

during the spring-summer cycle and oats (Cauhtémoc, 60 kg·ha⁻¹) and triticale (Arne, 60 kg·ha⁻¹) intercropped with pea (20 kg·ha⁻¹) during the fall-winter cycle. Maize was fertilized with an N-P-K formulation of 200-100-00, while oats and triticale received 90-40-00. In all crops, 50 % of N and 100 % of P were applied at sowing, and the remaining N was applied at the first weeding. Forage crops were irrigated.

Soil sampling

At the end of the spring-summer cropping cycle, four random soil samples (0-10 cm depth; approximately 500 g each) were collected per treatment and composited. This layer is considered the most biologically active zone of the soil and is highly sensitive to management-induced changes in biogeochemical processes, including carbon storage and enzyme activity (Babujia et al., 2010). Each composite sample was divided into two subsamples: one was air-dried, plant residues were removed, and the soil was sieved to 2.0 and 0.5 mm for physicochemical analyses; the other one was stored at 4 °C until enzymatic analyses.

Determination of soil enzymatic activities

All enzyme assays were performed in quadruplicate per treatment and expressed as dry weight. β -Galactosidase (β -gal) activity was determined using

espacial y mejoró la precisión estadística. Algunos estudios han demostrado que dos réplicas pueden ser suficientes en experimentos de campo cuando se espera que los tratamientos produzcan efectos grandes y consistentes, lo cual permite reducir el uso de recursos (entre 33 y 50 %) sin comprometer la fiabilidad de los resultados (Tanner et al., 2023; Yan, 2021). Sin embargo, la replicación limitada puede restringir la capacidad estadística y la extrapolación de los resultados más allá del sitio experimental.

Los tratamientos se establecieron en parcelas de 10 hileras separadas 0.80 m o cinco camas de 1.60 m de ancho y 30.00 m de largo (Cuadro 1), bajo diferentes sistemas de manejo desde 1995. Los tratamientos se aplicaron antes de la siembra de maíz (Ceres XR-45, 69 000 plantas·ha⁻¹) durante el ciclo primavera-verano, y avena (Cauhtémoc, 60 kg·ha⁻¹) y triticale (Arne, 60 kg·ha⁻¹) intercalados con chícharo (20 kg·ha⁻¹) durante el ciclo otoño-invierno. El maíz se fertilizó con una formulación N-P-K de 200-100-00, mientras que la avena y el triticale recibieron 90-40-00. En todos los cultivos, se aplicó el 50 % de N y el 100 % de P en la siembra, y el N restante se aplicó al primer deshierbe. Todos los cultivos forrajeros se regaron.

Muestreo del suelo

Al final del ciclo de cultivo primavera-verano, se recolectaron cuatro muestras aleatorias de suelo por tratamiento y se mezclaron: de 0-10 cm de profundidad y

β -galactopyranoside as substrate in modified universal buffer and incubated at 37 °C. The reaction was stopped with CaCl_2 and Tris-NaOH solution following Eivazi and Tabatabai (1988). Absorbance was measured in a spectrophotometer at 410 nm, and activity was expressed in milligrams of p-nitrophenol per gram of soil per hour ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). A standard curve was prepared with p-nitrophenol concentrations from 0 to 50 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($R^2 = 0.9995$).

The polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POX) activities were determined according to Saiy-Cork et al. (2002) protocol, using L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) as substrate. Absorbance was read at 460 nm, and enzyme activities were expressed as micromoles of L-DOPA per gram of soil per hour ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$).

Soil organic carbon and carbon stocks

Total organic carbon (TOC) was determined in quadruplicate by dry combustion using an elemental analyzer (TOC-LCSH/CSN, Shimadzu, Japan). Soil carbon stocks were calculated according to Fan et al. (2014) using the following equation:

$$TOC\ stock\ (Mg\cdot ha^{-1}) = TOC \times AD \times SD \times 10$$

where *TOC* is soil total carbon ($\text{g C}\cdot\text{kg}^{-1}$ soil), *AD* is apparent density determined by nuclear method ($\text{Mg}\cdot\text{m}^{-3}$), *SD* is sampling depth (m), and *10* is a unit conversion factor.

Statistical analysis

Data normality and homogeneity of variance were assessed using the Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively, at a 95 % confidence level. Treatment effects were evaluated using one-way analysis of variance and Tukey's test for mean comparisons ($\alpha = 0.05$). Additionally, Pearson correlation and multiple regression analyses were performed to examine linear relationships between enzyme activities and soil carbon stocks. Statistical analyses were performed using IBM SPSS® Statistics 25 software (SPSS Inc., USA).

Results and discussion

Soil enzymatic activities

Soil quality reflects the functional capacity of soil to sustain plant growth and ecosystem processes, and is strongly supported by its biological components. Among these, soil enzyme activities play a key role in regulating nutrient cycling and maintaining soil fertility. Enzymes involved in C, N, P, and S cycling are particularly relevant, as they reflect microbial metabolic activity and substrate availability. Although enzymes associated with C cycling are not directly

aproximadamente 500 g cada una. Esta capa se considera la zona biológica del suelo más activa y es muy sensible a los cambios inducidos por el manejo en los procesos biogeoquímicos, incluidos el almacenamiento de carbono y la actividad enzimática (Babujia et al., 2010). Cada muestra compuesta se dividió en dos submuestras: una se secó al aire, se eliminaron los residuos vegetales y se pasó por un tamiz de 2.0 y 0.5 mm para realizar análisis físicoquímicos; la otra se almacenó a 4 °C hasta realizar los análisis enzimáticos.

Determinación de las actividades enzimáticas del suelo

Todos los ensayos enzimáticos se realizaron por cuadruplicado por tratamiento y se expresaron como peso seco. La actividad de la β -gal se determinó utilizando β -galactopiranosida como sustrato en un tampón universal modificado y se incubó a 37 °C. La reacción se detuvo con CaCl_2 y una solución de Tris-NaOH de acuerdo con Eivazi y Tabatabai (1988). La absorbancia se midió en un espectrofotómetro a 410 nm y la actividad se expresó en miligramos de p-nitrofenol por gramo de suelo por hora ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). Se preparó una curva estándar con concentraciones de p-nitrofenol de 0 a 50 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($R^2 = 0.9995$).

Las actividades de la PFO y la peroxidasa (POX) se determinaron según el protocolo de Saiy-Cork et al. (2002), utilizando L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) como sustrato. La absorbancia se leyó a 460 nm y las actividades enzimáticas se expresaron como micromoles de L-DOPA por gramo de suelo por hora ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$).

Carbono orgánico del suelo y reservas de carbono

El carbono orgánico total (COT) se determinó por cuadruplicado mediante combustión seca en un analizador elemental (TOC-LCSH/CSN, Shimadzu, Japón). Las reservas de carbono del suelo se calcularon según Fan et al. (2014) a partir de la siguiente ecuación:

$$Reserva\ de\ COT\ (Mg\cdot ha^{-1}) = COT \times DA \times PM \times 10$$

donde *COT* es el carbono total del suelo ($\text{g C}\cdot\text{kg}^{-1}$ soil), *DA* es la densidad aparente determinada por el método nuclear ($\text{Mg}\cdot\text{m}^{-3}$), *PM* es la profundidad de muestreo (m) y *10* es un factor de conversión de unidades.

Análisis estadístico

La normalidad de los datos y la homogeneidad de la varianza se evaluaron utilizando las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente, con un nivel de confianza de 95 %. Los efectos de los tratamientos se evaluaron mediante un análisis de varianza unidireccional y comparaciones de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$). Adicionalmente, se realizaron análisis de

involved in nutrient supply, they are closely linked to microbial proliferation and soil biological functioning (Dotaniya et al., 2019). Enzyme composition and activity are influenced by soil physicochemical properties (such as pH, texture, electrical conductivity, and SOM content), and they are closely associated with microbial diversity and respiration (Dotaniya et al., 2019).

β -Galactosidase activity differed significantly among tillage and residue management treatments ($F = 61.402$, $p < 0.001$; Figure 2). The H treatment exhibited the lowest β -gal activity, followed by P+H treatment, which showed only a marginal increase (1.6 %). In contrast, no-tillage treatments with residue retention showed markedly higher enzymatic activity. Treatments NT, NT+33L, and NT+66 did not differ significantly from one another, despite increases of 45.33, 49.06, and 36.26 %, respectively, relative to H. The highest β -gal activity was observed under NT+100, which increased by 72.26 % compared with the lowest value.

β -Galactosidase is a key enzyme in the C cycle, catalyzing the hydrolysis of lactose and other low-molecular-weight carbohydrates. Beyond carbohydrate degradation, its transgalactosylation activity contributes to the formation of galactooligosaccharides (Rico et al., 2017). The products of β -gal activity serve as readily available energy sources for soil microorganisms (Das et al., 2015), suggesting a close relationship between enzyme activity and organic

correlación de Pearson y de regresión múltiple para examinar las relaciones lineales entre las actividades enzimáticas y las reservas de carbono del suelo. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa IBM SPSS® Statistics 25 (SPSS Inc., EUA).

Resultados y discusión

Actividades enzimáticas del suelo

La calidad del suelo refleja su capacidad funcional para sustentar el crecimiento vegetal y los procesos del ecosistema, y está fuertemente respaldada por sus componentes biológicos. Entre estos, las actividades enzimáticas del suelo desempeñan un papel clave en la regulación del ciclo de los nutrientes y el mantenimiento de la fertilidad del suelo. Las enzimas que intervienen en los ciclos del C, N, P y S son particularmente relevantes, ya que reflejan la actividad metabólica microbiana y la disponibilidad de los sustratos. Aunque las enzimas asociadas al ciclo del carbono no participan directamente en el suministro de nutrientes, están estrechamente relacionadas con la proliferación microbiana y el funcionamiento biológico del suelo (Dotaniya et al., 2019). La composición y la actividad de las enzimas están influenciadas por las propiedades fisicoquímicas del suelo (como el pH, la textura, la conductividad eléctrica y el contenido de MOS), y están estrechamente vinculadas con la diversidad microbiana y la respiración (Dotaniya et al., 2019).

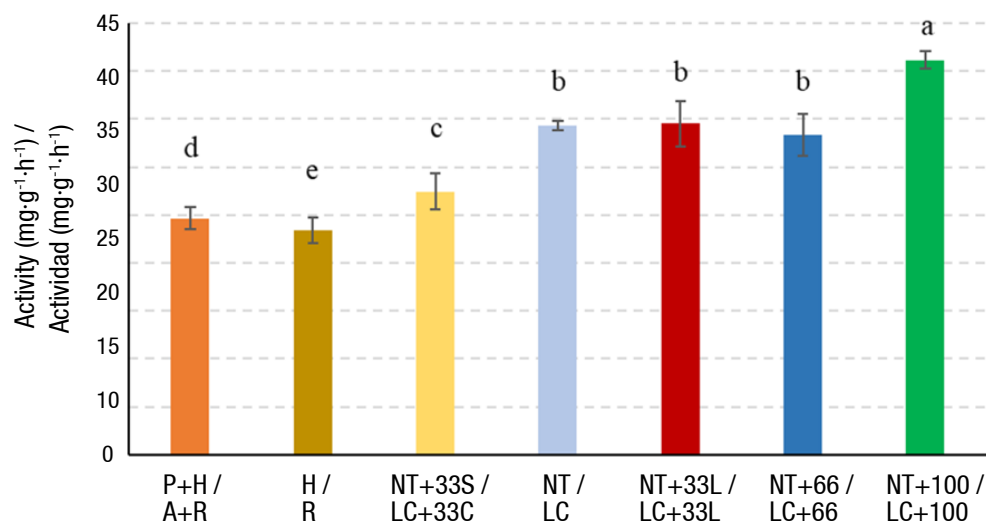


Figure 2. β -galactosidase activity in soils under different tillage and residue management. Bars with different letters indicate significant differences between treatments (Tukey, $p \leq 0.05$). P+H: plow + harrow; H: harrow; NT+33S: no-tillage + 33 % residue surface cover (short-term); NT: no-tillage; NT+33L: no-tillage + 33 % residue surface cover (long-term); NT+66: no-tillage + 66 % residue surface cover; NT+100: no-tillage + 100 % residue surface cover.

Figura 2. Actividad de la β -galactosidasa en suelos sometidos a diferentes tipos de labranza y manejo de residuos. Barras con letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$). A+R: arado + rastra; R: rastra; LC+33C: labranza cero + 33 % de cobertura superficial de residuos (corto plazo); LC: labranza cero; LC+33L: labranza cero + 33 % de cobertura superficial de residuos (largo plazo); LC+66: labranza cero + 66 % de cobertura superficial de residuos; LC+100: labranza cero + 100 % de cobertura superficial de residuos.

carbon availability. In CA systems, the gradual decomposition of surface-retained crop residues likely increases substrate availability, stimulating β -gal activity and enhancing carbon turnover (Zhang et al., 2015a). Conversely, conventional tillage systems (P+H and H) showed lower enzymatic activity, probably due to limited organic inputs and frequent soil disturbance, which reduces substrate continuity and microbial habitat stability. Similar responses have been reported in soils amended with organic residues and managed under no-tillage, where shifts in microbial community composition are closely linked to increased soil carbon content (He et al., 2023; Li et al., 2021) and microbial growth (Shi et al., 2015).

Polyphenol oxidase activity was also significantly affected by tillage and residue management ($F = 22.080$, $p < 0.001$; Figure 3). Conventional tillage (P+H) exhibited the highest PPO activity, followed by H and NT. In contrast, all zero-tillage treatments with surface residue cover showed reduced PPO activity, with decreases of 17, 10, 24, and 28 % under NT+33S, NT+33L, NT+66, and NT+100, respectively. Notably, residue retention reduced PPO activity even in the short term (NT+33S). These results are consistent with those reported by Sharma et al. (2021) and Wen et al. (2023), who observed a decrease in PPO activity in soils under zero-tillage and crop residue management or green manure incorporation.

La actividad de la β -gal difirió significativamente entre los tratamientos de labranza y manejo de los residuos ($F = 61.402$, $p < 0.001$; Figura 2). El tratamiento R presentó la actividad más baja de la β -gal, seguido del tratamiento A+R, que mostró solo un aumento marginal (1.6 %). Por el contrario, los tratamientos sin labranza y con retención de residuos mostraron una actividad enzimática notablemente mayor. Los tratamientos LC, LC+33L y LC+66 no difirieron significativamente entre sí, a pesar de presentar aumentos de 45.33, 49.06 y 36.26 %, respectivamente, en relación con R. La mayor actividad de la β -gal se observó en LC+100, con un aumento de 72.26 % en comparación con el valor más bajo.

La β -gal es una enzima clave en el ciclo del carbono, la cual cataliza la hidrólisis de la lactosa y otros carbohidratos de bajo peso molecular. Además de la degradación de los carbohidratos, su actividad de transgalactosilación contribuye a la formación de galactooligosacáridos (Rico et al., 2017). Los productos de la actividad de la β -gal sirven como fuentes de energía disponibles fácilmente para los microorganismos del suelo (Das et al., 2015), lo que sugiere una estrecha relación entre la actividad enzimática y la disponibilidad de carbono orgánico. En los sistemas de AC, la descomposición gradual de los residuos de cultivos retenidos en la superficie probablemente aumenta la disponibilidad de sustrato al estimular la actividad de la β -gal y mejorar la renovación de carbono (Zhang et

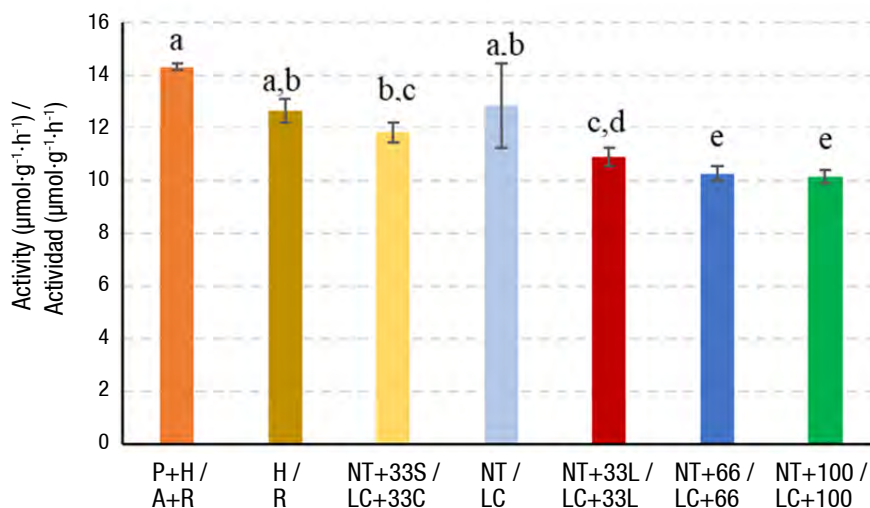


Figure 3. Polyphenol oxidase activity in soils under different tillage and residue management. Bars with different letters indicate significant differences between treatments (Tukey, $p \leq 0.05$). P+H: plow + harrow; H: harrow; NT+33S: no-tillage + 33 % residue surface cover (short-term); NT: no-tillage; NT+33L: no-tillage + 33 % residue surface cover (long-term); NT+66: no-tillage + 66 % residue surface cover; NT+100: no-tillage + 100 % residue surface cover.

Figura 3. Actividad de la polifenol oxidasa en suelos sometidos a diferentes tipos de labranza y manejo de residuos. Barras con letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$). A+R: arado + rastra; R: rastra; LC+33C: labranza cero + 33 % de cobertura superficial de residuos (corto plazo); LC: labranza cero; LC+33L: labranza cero + 33 % de cobertura superficial de residuos (largo plazo); LC+66: labranza cero + 66 % de cobertura superficial de residuos; LC+100: labranza cero + 100 % de cobertura superficial de residuos.

Polyphenol oxidase catalyzes the oxidation of phenolic compounds, such as lignin and tannins, and is involved in humus formation and soil carbon stabilization (Zhou et al., 2022). The lower PPO activity in soils under CA is likely related to the reduced oxygen availability in no-till systems, which is a key factor for oxidative enzyme activity. In contrast, conventional tillage increases soil aeration, thereby enhancing oxygen diffusion and stimulating PPO activity. Reduced PPO activity under the relatively hypoxic conditions of CA promotes the accumulation of phenolic compounds released during crop residue decomposition, as their oxidative breakdown is slower. The accumulation of soluble phenolic compounds can inhibit hydrolytic enzymes (Tejirian & Xu, 2011), thereby reducing organic matter mineralization and favoring carbon sequestration (Sinsabaugh, 2010).

Although phenolic compounds accumulated during residue decomposition may exert allelopathic effects that hinder seed germination and early crop growth (Adeboye et al., 2014), these compounds can be progressively transformed by soil microorganisms through alternative metabolic pathways, contributing to nutrient cycling and SOM stabilization (Chen et al., 2020; Fu et al., 2021; Revillini et al., 2023). Moreover, the reactivity and persistence of phenolic compounds depend strongly on their chemical structure (Chen et al., 2020; Grilli et al., 2020). Water-soluble phenolics, such as phenolic acids and tannins, may remain in solution within soil pores and undergo reversible sorption through hydrophobic, hydrogen-bonding, and ionic interactions, ultimately contributing to the formation of higher-molecular-weight organic fractions, including fulvic acids, humic acids, and humins (Min et al., 2015; Misra et al., 2023; Usha-Rani & Jyothsna, 2010).

Soil organic carbon stocks

Soil organic carbon reserves were significantly influenced by soil management ($F = 4.325$, $p = 0.006$), as all treatments under CA showed higher COS stocks than conventional management (Figure 4). The increase in SOC under CA treatments was associated with surface residue retention, which provides continuous organic inputs and enhances SOM accumulation, even under short-term management (Liu et al., 2014; Zhang et al., 2015b). Increased SOC stocks may also be linked to improved aggregate stability and greater microbial and root biomass (Zhao et al., 2013). In contrast, conventional tillage disrupts soil aggregates, accelerates SOM decomposition, and promotes SOC losses through enhanced microbial oxidation (Zhao et al., 2013). Chao et al. (2019) obtained similar results under no-till and residue retention conditions.

al., 2015a). Por el contrario, los sistemas de labranza convencional (A+R y R) mostraron una menor actividad enzimática, probablemente debido a la limitación de los insumos orgánicos y a la frecuente perturbación del suelo, lo que reduce la continuidad del sustrato y la estabilidad del hábitat microbiano. Se han documentado respuestas similares en suelos enriquecidos con residuos orgánicos y manejados sin labranza, donde los cambios en la composición de la comunidad microbiana están estrechamente relacionados con el aumento del contenido de carbono del suelo (He et al., 2023; Li et al., 2021) y el crecimiento microbiano (Shi et al., 2015).

La actividad de la PFO también se vio significativamente influenciada por la labranza y el manejo de los residuos ($F = 22.080$, $p < 0.001$; Figura 3). La labranza convencional (A+R) exhibió la mayor actividad de la PFO, seguida de R y LC. Por el contrario, todos los tratamientos de labranza cero con cobertura de residuos en la superficie mostraron una reducción de la actividad de la PFO, con disminuciones del 17, 10, 24 y 28 % en LC+33C, LC+33L, LC+66 y LC+100, respectivamente. Cabe destacar que la cobertura con residuos redujo la actividad de la PFO incluso a corto plazo (LC+33C). Estos resultados concuerdan con los reportados por Sharma et al. (2021) y Wen et al. (2023), quienes observaron una disminución de la actividad de la PFO en suelos con labranza cero y manejo de residuos de cultivos o incorporación de abono verde.

La PFO cataliza la oxidación de compuestos fenólicos, como la lignina y los taninos, y participa en la formación del humus y la estabilización del carbono del suelo (Zhou et al., 2022). La menor actividad de la PFO en los suelos sometidos a AC probablemente está relacionada con la menor disponibilidad de oxígeno en los sistemas sin labranza, factor clave para la actividad de las enzimas oxidativas. Por el contrario, la labranza convencional aumenta la aireación del suelo, lo que mejora la difusión del oxígeno y estimula la actividad de la PFO. La disminución de la actividad de la PFO en las condiciones relativamente hipóxicas de la AC favorece la acumulación de compuestos fenólicos liberados durante la descomposición de los residuos de los cultivos, ya que su degradación oxidativa es más lenta. La acumulación de compuestos fenólicos solubles puede inhibir las enzimas hidrolíticas (Tejirian & Xu, 2011), lo cual reduce la mineralización de la materia orgánica y favorece el secuestro de carbono (Sinsabaugh, 2010).

Aunque los compuestos fenólicos acumulados durante la descomposición de residuos pueden ejercer efectos alelopáticos que dificultan la germinación de las semillas y el crecimiento temprano de los cultivos (Adeboye et al., 2014), estos compuestos pueden ser transformados

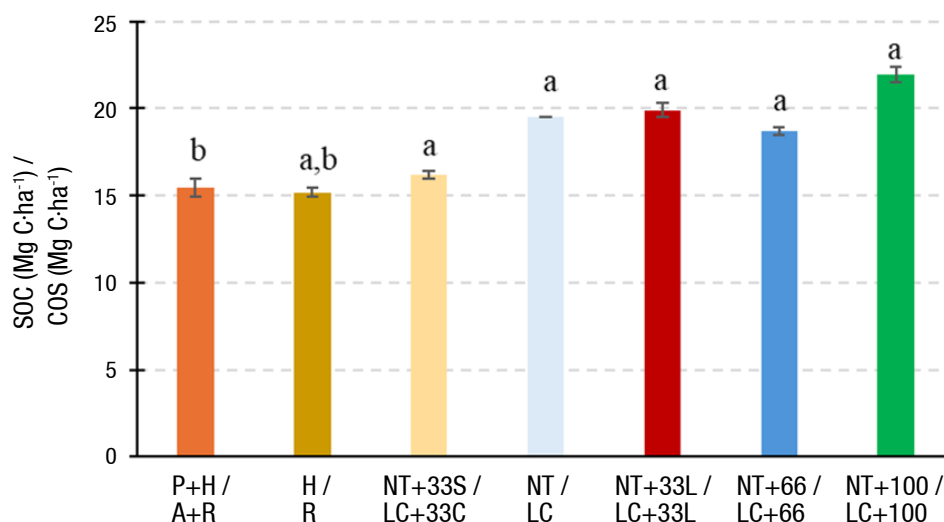


Figure 4. Soil organic carbon (SOC) stocks with different tillage and residue management. Bars with different letters indicate significant differences between treatments (Tukey, $p \leq 0.05$). P+H: plow + harrow; H: harrow; NT+33S: no-tillage + 33 % residue surface cover (short-term); NT: no-tillage; NT+33L: no-tillage + 33 % residue surface cover (long-term); NT+66: no-tillage + 66 % residue surface cover; NT+100: no-tillage + 100 % residue surface cover.

Figura 4. Reservas de carbono orgánico del suelo (COS) con diferentes métodos de labranza y manejo de residuos. Barras con letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$). A+R: arado + rastra; R: rastra; LC+33C: labranza cero + 33 % de cobertura superficial de residuos (corto plazo); LC: labranza cero; LC+33L: labranza cero + 33 % de cobertura superficial de residuos (largo plazo); LC+66: labranza cero + 66 % de cobertura superficial de residuos; LC+100: labranza cero + 100 % de cobertura superficial de residuos.

Correlation between soil organic carbon stocks and enzyme activity

Soil organic carbon storage was strongly correlated with enzymatic activity, showing a positive relationship with β -gal ($R = 0.923$) and a negative relationship with PPO ($R = -0.742$; Figure 5). This suggests that hydrolytic enzyme activity promotes SOC accumulation, while elevated oxidative enzyme activity is associated with SOC depletion. These results agree with the meta-analysis carried out by Wu et al. (2021), who analyzed 138 studies worldwide and found that C-degrading enzymes are essential in regulating SOC dynamics (carbon sequestration or emission) in soil degradation/restoration. Increased activity of enzymes targeting labile substrates relative to lignin-degrading enzymes is characteristic of soil restoration processes, whereas the opposite pattern is associated with land degradation. Thus, soil restoration promotes greater biogeochemical stability in soils by increasing the activity of hydrolytic enzymes associated with the degradation of readily available substrates, such as β -gal, while reducing the activity of oxidative enzymes such as PPO.

In this context, CA promotes a functional shift in microbial metabolism toward efficient cycling of labile carbon, while reducing reliance on oxidative pathways involved in the degradation of recalcitrant

progresivamente por los microorganismos del suelo mediante vías metabólicas alternativas, lo que contribuye al ciclo de los nutrientes y a la estabilización de la MOS (Chen et al., 2020; Fu et al., 2021; Revillini et al., 2023). Además, la reactividad y la persistencia de los compuestos fenólicos dependen en gran medida de su estructura química (Chen et al., 2020; Grilli et al., 2020). Los compuestos fenólicos solubles en agua, como los ácidos fenólicos y los taninos, pueden permanecer en solución dentro de los poros del suelo y experimentar una sorción reversible a través de interacciones hidrofóbicas, de enlace de hidrógeno e iónicas, lo que en última instancia contribuye a la formación de fracciones orgánicas de mayor peso molecular, como los ácidos fúlvicos, los ácidos húmicos y las huminas (Min et al., 2015; Misra et al., 2023; Usha-Rani & Jyothsna, 2010).

Reservas de carbono orgánico del suelo

Las reservas de COS se vieron significativamente influenciadas por el manejo del suelo ($F = 4.325$, $p = 0.006$), ya que todos los tratamientos bajo AC mostraron reservas de COS más altas que el manejo convencional (Figura 4). El aumento del COS en los tratamientos de AC se asoció con la retención de residuos en la superficie, lo que proporciona aportes orgánicos continuos y mejora la acumulación de MOS, incluso con manejo a corto plazo (Liu et al., 2014; Zhang et al., 2015b). El

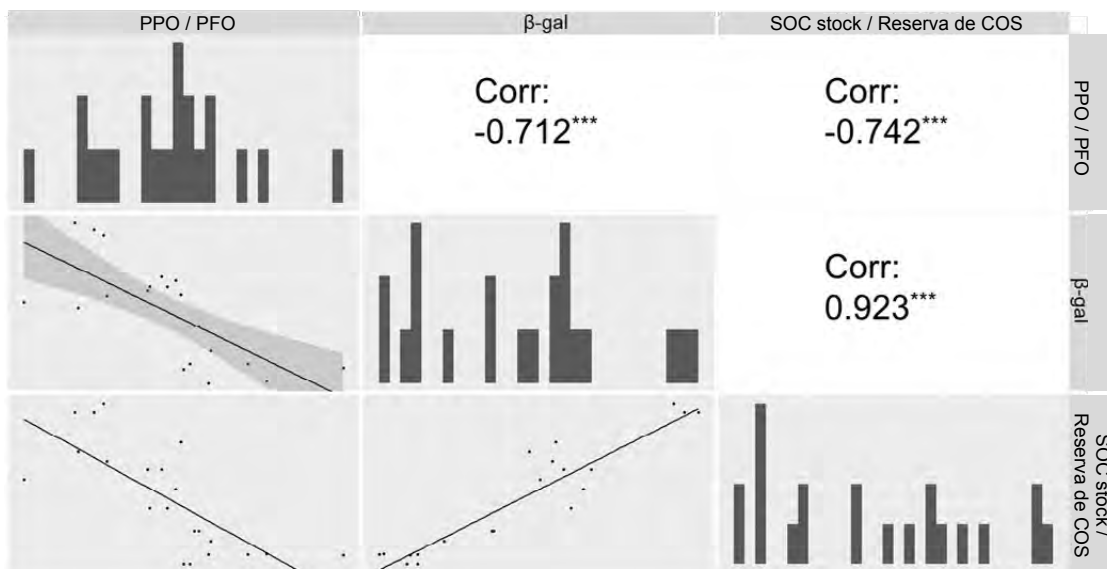


Figure 5. Pearson correlation matrix between soil enzyme activities (β -galactosidase [β -gal] and polyphenol oxidase [PPO]) and soil organic carbon (SOC) stocks under different tillage and residue management.

Figura 5. Matriz de correlación de Pearson entre la actividad enzimática del suelo (β -galactosidasa [β -gal] y polifenol oxidasa [PFO]) y las reservas de carbono orgánico del suelo (COS) bajo diferentes sistemas de labranza y manejo de residuos.

phenolic compounds. Consequently, the ratio between PPO/ β -gal may serve as a biochemical index of agroecosystem restoration, analogous to the ligninase/cellulase ratio used to assess soil recovery. A lower PPO/ β -gal ratio would indicate improved biological quality, enhanced soil structure, and a more efficient microbial community in transforming organic carbon.

Multiple regression analysis further supported the strong predictive capacity of enzyme activities for SOC storage ($F = 58.04$, $p < 0.001$). The coefficient of determination ($R^2 = 0.93$) indicated that 93 % of the variability in SOC stocks across tillage and residue management systems was explained by β -galactosidase and PPO activities. The resulting regression equation was:

$$SOC\ stock = 0.307(\beta\text{-gal}) - 0.315(PPO) + 11.462$$

These results confirm that soil enzyme activities are sensitive and integrative indicators of management effects on soil carbon dynamics, consistent with previous studies (Choudhary et al., 2018; Sarto et al., 2020). Overall, enzymatic indicators provide a robust and early assessment tool for evaluating soil quality and carbon sequestration under CA systems.

Conclusions

Conservation agriculture practices, particularly no-tillage combined with crop residue incorporation, improved soil quality and carbon sequestration in irrigated semiarid agroecosystems. Increased β -gal

aumento de las reservas de COS también puede estar relacionado con una mejor estabilidad de los agregados, y una mayor biomasa microbiana y radicular (Zhao et al., 2013). Por el contrario, la labranza convencional altera los agregados del suelo, acelera la descomposición de la MOS y promueve la pérdida de COS al aumentar la oxidación microbiana (Zhao et al., 2013). Chao et al. (2019) obtuvieron resultados similares bajo condiciones de labranza cero y retención de residuos.

Correlación entre las reservas de carbono orgánico del suelo y la actividad enzimática

La reserva de COS se correlacionó fuertemente con la actividad enzimática, al mostrar una relación positiva con β -gal ($R = 0.923$) y negativa con PFO ($R = -0.742$; Figura 5). Esto sugiere que la actividad enzimática hidrolítica favorece la acumulación de COS, mientras que la actividad enzimática oxidativa elevada se asocia con el agotamiento del COS. Estos resultados concuerdan con el metaanálisis realizado por Wu et al. (2021), quienes analizaron 138 estudios de todo el mundo e identificaron que las enzimas degradadoras de carbono son esenciales para regular la dinámica del COS (secuestro o emisión de carbono) en la degradación/restauración del suelo. El aumento de la actividad enzimática sobre sustratos lábiles en relación con las enzimas degradadoras de lignina es característico de los procesos de restauración del suelo, mientras que el patrón opuesto se asocia con la degradación del suelo. Por lo tanto, la restauración del suelo promueve una mayor estabilidad biogeoquímica en los suelos

activity and reduced PPO activity under CA indicate contrasting enzymatic responses to management that are closely linked to SOC storage. These results indicate that soil enzymatic activities respond rapidly to management changes and can function as early indicators of soil restoration and carbon capture, providing valuable information before measurable changes in SOC stocks become apparent. Accordingly, β -gal and PPO activities represent practical, sensitive, and cost-effective tools for evaluating the effectiveness of CA in semiarid irrigated systems.

Furthermore, the observed enzymatic patterns support the potential use of the PPO/ β -gal ratio as an integrative biochemical indicator of agroecosystem restoration. This ratio integrates key aspects of soil functional status, including organic carbon lability, the balance between hydrolytic and oxidative processes, and the functional response of soil microbial communities to conservation-oriented management. Nevertheless, degradation-restoration gradients must be evaluated under diverse agroecological conditions to confirm their sensitivity and robustness as a diagnostic tool for monitoring soil recovery under sustainable agricultural management.

Acknowledgements

The authors want to thank the *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)* for the support through the project No. 1013377530 “*Actividad enzimática del suelo como bioindicador del almacén de carbono bajo agricultura de conservación*”.

End of English version

References / Referencias

- Adeboye, P. T., Bettiga, M., & Olsson, L. (2014). The chemical nature of phenolic compounds determines their toxicity and induces distinct physiological responses in *Saccharomyces cerevisiae* in lignocellulose hydrolysates. *AMB Express*, 4(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s13568-014-0046-7>
- Alsamin, B., El-Hendawy, S., Refay, Y., Tola, E., Mattar, M. A., & Marey, S. (2022). Integrating tillage and mulching practices as an avenue to promote soil water storage, growth, production, and water productivity of wheat under deficit irrigation in arid countries. *Agronomy*, 12(9), 2235. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092235>
- Babujia, L. C., Hungria, M., Franchini, J. C., & Brookes, P. C. (2010). Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and

al aumentar la actividad de las enzimas hidrolíticas asociadas a la degradación de sustratos fácilmente disponibles, como la β -gal, al tiempo que reduce la actividad de las enzimas oxidativas como la PFO.

En este contexto, la AC promueve un cambio funcional en el metabolismo microbiano hacia un ciclo eficiente del carbono lábil, al mismo tiempo que reduce la dependencia de las vías oxidativas implicadas en la degradación de compuestos fenólicos recalcitrantes. En consecuencia, la relación PFO/ β -gal puede servir como indicador bioquímico de la restauración del agroecosistema, similar a la relación ligninasa/celulasa utilizada para evaluar la recuperación del suelo. Una relación PFO/ β -gal baja indicaría una mejor calidad biológica, mejor estructura del suelo y una comunidad microbiana más eficiente en la transformación del carbono orgánico.

El análisis de regresión múltiple respaldó la capacidad predictiva de las actividades enzimáticas para el almacenamiento de COS ($F = 58.04$, $p < 0.001$). El coeficiente de determinación ($R^2 = 0.93$) indicó que el 93 % de la variabilidad en las reservas de COS entre los sistemas de labranza y el manejo de residuos se explicó por las actividades de la β -gal y la PFO. La ecuación de regresión resultante fue:

$$\text{Reserva de COS} = 0.307(\beta\text{-gal}) - 0.315(\text{PFO}) + 11.462$$

Estos resultados confirman que las actividades enzimáticas del suelo son indicadores sensibles e integradores de los efectos del manejo sobre la dinámica del carbono del suelo, en concordancia con estudios anteriores (Choudhary et al., 2018; Sarto et al., 2020). En general, los indicadores enzimáticos proporcionan una herramienta sólida y temprana para evaluar la calidad del suelo y el secuestro de carbono en los sistemas de AC.

Conclusiones

Las prácticas de AC, en particular la labranza cero combinada con la incorporación de residuos de cultivo, mejoraron la calidad del suelo y el secuestro de carbono en los agroecosistemas semiáridos irrigados. El aumento de la actividad de la β -gal y la reducción de la actividad de la PFO bajo AC indican respuestas enzimáticas contrastantes al manejo, estrechamente relacionadas con las reservas de COS. Estos resultados indican que las actividades enzimáticas del suelo responden rápidamente a los cambios en el manejo y pueden funcionar como indicadores tempranos de la restauración del suelo y la captura de carbono, al proporcionar información valiosa antes de que se manifiesten los cambios medibles en las reservas de COS. En consecuencia, las actividades

- conventional tillage. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(12), 2174-2181. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.08.013>
- Baraket, F., González-Rosado, M., Brahim, N., Roca, N., Ben-Mbarek, H. B., Świtoniak, M., Chaker, R., Sánchez-Bellón, Á., Rigane, H., Gargouri, K., & Parras-Alcántara, L. (2021). Short and long-term effect of land use and management on soil organic carbon stock in semi-desert areas of North Africa-Tunisia. *Agriculture*, 11(12), 1267. <https://doi.org/10.3390/agriculture11121267>
- Ben-Mbarek, H., Gargouri, K., Mbadra, C., Ben-Mahmoud, I., Chaker, R., Maktouf, S., Abbas, O., Baeten, V., & Rigane, H. (2020). Effects of combination of tillage with olive mill wastewater on soil organic carbon groups in arid soils. *Arabian Journal of Geosciences*, 13, 255. <https://doi.org/10.1007/s12517-020-5235-x>
- Bhaduri, D., Sihi, D., Bhowmik, A., Verma, B. C., Munda, S., & Dari, B. (2022). A review on effective soil health bio-indicators for ecosystem restoration and sustainability. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1-25. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.938481>
- Bogunovic, I., Pereira, P., Kiscic, I., Sajko, K., & Sraka, M. (2018). Tillage management impacts on soil compaction, erosion and crop yield in Stagnosols (Croatia). *CATENA*, 160, 376-384. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2017.10.009>
- Boudiar, R., Alshallash, K. S., Alharbi, K., Okasha, S. A., Fenni, M., Mekhlouf, A., Fortas, B., Hamsi, K., Nadjem, K., Belagrouz, A., Mansour, E., & Mekhlouf, M. (2022). Influence of tillage and cropping systems on soil properties and crop performance under semi-arid conditions. *Sustainability*, 14(18), 11651. <https://doi.org/10.3390/su141811651>
- Chao, P., Zheng-rong, K., Peng, L., Shou-tian, M., Jian-ying, Q., Zhao, X., & Zhang, H. (2019). Residue management induced changes in soil organic carbon and total nitrogen under different tillage practices in the North China Plain. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(6), 1337-1347. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62079-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62079-9)
- Chen, L. C., Guan, X., Wang, Q. K., Yang, Q. P., Zhang, W. D., & Wang, S. L. (2020). Effects of phenolic acids on soil nitrogen mineralization over successive rotations in Chinese fir plantations. *Journal of Forestry Research*, 31(1), 303-311. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0842-z>
- Choudhary, M., Datta, A., Jat, H. S., Yadav, A. K., Gathala, M. K., Sapkota, T. B., Das, A. K., Sharma, P. C., Jat, M. L., Singh, R., & Ladha, J. K. (2018). Changes in soil biology under conservation agriculture based sustainable intensification of cereal systems in Indo-Gangetic Plains. *Geoderma*, 313, 193-204. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.10.041>
- Das, B., Roy, A. P., Bhattacharjee, S., Chakraborty, S., & Bhattacharjee, C. (2015). Lactose hydrolysis by β -galactosidase enzyme: Optimization using response surface methodology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 121, 244-252. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.03.024>
- Djemiel, C., Dequiedt, S., Karimi, B., Cottin, A., Horrigue, W., Bailly, A., Boutaleb, A., Sadet-Bourgeteau, S., Maron, P. A., Prévost-Bouré, N. C., Ranjard, L., & Terrat, S. (2022). Potential of meta-omics to provide modern microbial indicators for monitoring soil quality and securing food production. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1-20. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.889788>
- de la β -gal y la PFO representan herramientas prácticas, sensibles y rentables para evaluar la eficacia de la AC en sistemas de riego semiáridos.
- Adicionalmente, los patrones enzimáticos observados respaldan el uso potencial de la relación PFO/ β -gal como indicador bioquímico integrador de la restauración de los agroecosistemas. Esta relación contempla aspectos clave del estado funcional del suelo, como la labilidad del carbono orgánico, el equilibrio entre los procesos hidrolíticos y oxidativos, y la respuesta funcional de las comunidades microbianas del suelo al manejo orientado a la conservación. No obstante, se deben evaluar gradientes de degradación-restauración en diversas condiciones agroecológicas para confirmar su sensibilidad y solidez como herramienta de diagnóstico para el seguimiento de la recuperación del suelo bajo un manejo agrícola sostenible.
- ### Agradecimientos
- Los autores agradecen al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por el apoyo proporcionado a través del proyecto núm. 1013377530 “Actividad enzimática del suelo como bioindicador del almacén de carbono bajo agricultura de conservación”.
- ### Fin de la versión en español
- =====
- Dong, L., Si, T., Li, Y., & Zou, X. X. (2021). The effect of conservation tillage in managing climate change in arid and semiarid areas—a case study in Northwest China. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 26(4), 17. <https://doi.org/10.1007/s11027-021-09956-3>
- Dotaniya, M. L., Aparna, K., Dotaniya, C. K., Singh, M., & Regar, K. L. (2019). Role of soil enzymes in sustainable crop production. In K. Mohammed (Ed.), *Enzymes in Food Biotechnology* (pp. 569-589). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00033-5>
- Drobnik, T., Greiner, L., Keller, A., & Grêt-Regamey, A. (2018). Soil quality indicators – From soil functions to ecosystem services. *Ecological Indicators*, 94(1), 151-169. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.06.052>
- Eivazi, F., & Tabatabai, M. A. (1988). Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 20(5), 601-606. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(88\)90141-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(88)90141-1)
- Fan, J., Ding, W., Xiang, J., Qin, S., Zhang, J., & Ziadi, N. (2014). Carbon sequestration in an intensively cultivated sandy loam soil in the North China Plain as affected by compost and inorganic fertilizer application. *Geoderma*, 230-231, 22-28. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.03.027>
- Fu, B., Chen, L., Huang, H., Qu, P., & Wei, Z. (2021). Impacts of crop residues on soil health: a review. *Environmental Pollutants and*

- Bioavailability*, 33(1), 164-173. <https://doi.org/10.1080/2639594.0.2021.1948354>
- Grilli, E., Di Resta, E., Scognamiglio, M., Pacifico, S., Fiorentino, A., Rodrigues-Nogueira, T. A., Vigliotti, R. C., & Ganga, A. (2020). Soil phenolic compound variability in two Mediterranean olive groves. *Plant, Soil and Environment*, 66(5), 207-215. <https://doi.org/10.17221/165/2020-PSE>
- Haruna, S. I. (2024). Effects of cover crop on selected abiotic and biotic soil health indicators. *Environmental Challenges*, 17, 101045. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2024.101045>
- He, C., Chen, Z., Qiu, K. Y., Chen, J. S., Bohoussou, Y. N., Dang, Y. P., & Zhang, H. L. (2023). Effects of conservation agriculture on carbon mineralization: A global meta-analysis. *Soil and Tillage Research*, 229, 105685. <https://doi.org/10.1016/j.still.2023.105685>
- Jat, H. S., Datta, A., Sharma, P. C., Kumar, V., Yadav, A. K., Choudhary, M., Choudhary, V., Gathala, M. K., Sharma, D. K., Jat, M. L., Yaduvanshi, N. P. S., Singh, G., & McDonald, A. (2018). Assessing soil properties and nutrient availability under conservation agriculture practices in a reclaimed sodic soil in cereal-based systems of North-West India. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64(4), 531-545. <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1359415>
- Julio-Miranda, P., Ortíz-Rodríguez, A. J., Palacio-Aponte, A. G., López-Doncel, R., & Barboza-Gudiño, R. (2012). Damage assessment associated with land subsidence in the San Luis Potosí-Soledad de Graciano Sánchez metropolitan area, Mexico, elements for risk management. *Natural Hazards*, 64, 751-765. <https://doi.org/10.1007/s11069-012-0269-3>
- Kabiri, V., Raiesi, F., & Ghazavi, M. A. (2016). Tillage effects on soil microbial biomass, SOM mineralization and enzyme activity in a semi-arid Calcixerepts. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 232, 73-84. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.07.022>
- Kuncheva, G., Ivanova, I., & Gynchev, G. (2024). Soil peroxidase and polyphenoloxidase activity under soil conservation practices on sloping terrains. *BIO Web of Conferences*, 122, 01018. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202412201018>
- Latkovic, D., Maksimovic, J., Dinic, Z., Pivic, R., Stanojkovic, A., & Stanojkovic-Sebic, A. (2020). Case study upon foliar application of biofertilizers affecting microbial biomass and enzyme activity in soil and yield related properties of maize and wheat grains. *Biology*, 9(12), 452. <https://doi.org/10.3390/biology9120452>
- Lee, S. H., Kim, M. S., Kim, J. G., & Kim, S. O. (2020). Use of soil enzymes as indicators for contaminated soil monitoring and sustainable management. *Sustainability*, 12(19), 8209. <https://doi.org/10.3390/SU12198209>
- Li, Y., Duan, Y., Wang, G., Wang, A., Shao, G., Meng, X., Hu, H., & Zhang, D. (2021). Straw alters the soil organic carbon composition and microbial community under different tillage practices in a meadow soil in Northeast China. *Soil and Tillage Research*, 208, 104879. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104879>
- Li, Y., Song, D., Liang, S., Dang, P., Qin, X., Liao, Y., & Siddique, K. H. M. (2020). Effect of no-tillage on soil bacterial and fungal community diversity: A meta-analysis. *Soil and Tillage Research*, 204, 104721. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104721>
- Liu, E., Teclerariam, S. G., Yan, C., Yu, J., Gu, R., Liu, S., He, W., & Liu, Q. (2014). Long-term effects of no-tillage management practice on soil organic carbon and its fractions in the northern China. *Geoderma*, 213, 379-384. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.08.021>
- Lorenz, K., & Lal, R. (2016). *Soil organic carbon – an appropriate indicator to monitor trends of land and soil degradation within the SDG framework?*. Umweltbundesamt. www.umweltbundesamt.de/en/publikationen/soil-organic-carbon-an-appropriate-indicator-to
- Min, K., Freeman, C., Kang, H., & Choi, S. U. (2015). The Regulation by phenolic compounds of soil organic matter dynamics under a changing environment. *BioMed Research International*, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2015/825098>
- Misra, D., Dutta, W., Jha, G., & Ray, P. (2023). Interactions and regulatory functions of phenolics in soil-plant-climate nexus. *Agronomy*, 13(2), 280. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020280>
- Muñoz-Rojas, M. (2018). Soil quality indicators: critical tools in ecosystem restoration. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 5, 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.COESH.2018.04.007>
- Nyakudya, I. W., & Stroosnijder, L. (2015). Conservation tillage of rainfed maize in semi-arid Zimbabwe: A review. *Soil and Tillage Research*, 145, 184-197. <https://doi.org/10.1016/j.still.2014.09.003>
- Onet, A., Dinca, L. C., Grenni, P., Laslo, V., Teusdea, A. C., Vasile, D. L., Enescu, R. E., & Crisan, V. E. (2018). Biological indicators for evaluating soil quality improvement in a soil degraded by erosion processes. *Journal of Soils and Sediments*, 19, 2393-2404. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-02236-9>
- Rao, D. L. N., Aparna, K., & Mohanty, S. R. (2019). Microbiology and biochemistry of soil organic matter, carbon sequestration and soil health. *Indian Journal of Fertilisers*, 15(2), 124-138.
- Revillini, D., David, A. S., Reyes, A. L., Knecht, L. D., Vigo, C., Allen, P., Searcy, C. A., & Afkhami, M. E. (2023). Allelopathy selected microbiomes mitigate chemical inhibition of plant performance. *New Phytologist*, 240(5), 2007-2019. <https://doi.org/10.1111/nph.19249>
- Saiy-Cork, K. R., Sinsabaugh, R. L., & Zak, D. R. (2002). The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(9), 1309-1315. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00074-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00074-3)
- Sarto, M. V. M., Borges, W. L. B., Bassegio, D., Pires, C. A. B., Rice, C. W., & Rosolem, C. A. (2020). Soil microbial community, enzyme activity, C and N stocks and soil aggregation as affected by land use and soil depth in a tropical climate region of Brazil. *Archives of Microbiology*, 202(10), 2809-2824. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01996-8>
- Sekaran, U., & Kumar, S. (2021). Responses of soil carbon storage, compaction, and biological properties under no-till and conventional-till systems. In S. Jayaraman, R. C. Dalal, A. K. Patra, & S. K. Chaudhari (Eds.), *Conservation Agriculture: A Sustainable Approach for Soil Health and Food Security* (pp. 359-378). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-0827-8_17

- Sharma, S., Saikia, R., Thind, H. S., Singh, Y., & Jat, M. L. (2021). Tillage, green manure and residue management accelerate soil carbon pools and hydrolytic enzymatic activities for conservation agriculture based rice-wheat systems. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 52(5), 470-486. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1862147>
- Shi, P., Wang, S., Jia, S., & Gao, Q. (2015). Effect of 25-year fertilization on soil microbial biomass and community structure in a continuous corn cropping system. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 61(9), 1303-1317. <https://doi.org/10.1080/03650340.2014.996136>
- Sinsabaugh, R. L. (2010). Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(3), 391-404. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.014>
- Tejirian, A., & Xu, F. (2011). Inhibition of enzymatic cellulolysis by phenolic compounds. *Enzyme and Microbial Technology*, 48(3), 239-247. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2010.11.004>
- Thapa, V. R., Ghimire, R., Adhikari, K. P., & Lamichhane, S. (2023). Soil organic carbon sequestration potential of conservation agriculture in arid and semi-arid regions: A review. *Journal of Arid Environments*, 217, 105028. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2023.105028>
- Unagwu, B. O. (2019). Organic amendments applied to a degraded soil: Short term effects on soil quality indicators. *African Journal of Agricultural Research*, 14(4), 218-225. <https://doi.org/10.5897/AJAR2018.13457>
- Usha-Rani, P., & Jyothsna, Y. (2010). Biochemical and enzymatic changes in rice plants as a mechanism of defense. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32, 695-701. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0449-2>
- Wang, X., Bian, Q., Jiang, Y., Zhu, L., Chen, Y., Liang, Y., & Sun, B. (2021). Organic amendments drive shifts in microbial community structure and keystone taxa which increase C mineralization across aggregate size classes. *Soil Biology and Biochemistry*, 153, 108062. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.108062>
- Wen, L., Peng, Y., Zhou, Y., Cai, G., Lin, Y., & Li, B. (2023). Effects of conservation tillage on soil enzyme activities of global cultivated land: A meta-analysis. *Journal of Environmental Management*, 345, 118904. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118904>
- Wu, J., Cheng, X., Luo, Y., Liu, W., & Liu, G. (2021). Identifying carbon-degrading enzyme activities in association with soil organic carbon accumulation under land-use changes. *Ecosystems*, 25(6), 1219-1233. <https://doi.org/10.1007/S10021-021-00711-Y>
- Zhang, L., Chen, W., Burger, M., Yang, L., Gong, P., & Wu, Z. (2015a). Changes in soil carbon and enzyme activity as a result of different long-term fertilization regimes in a greenhouse field. *PLOS One*, 10(2), e0118371. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118371>
- Zhang, P., Wei, T., Li, Y., Wang, K., Jia, Z., Han, Q., & Ren, X. (2015b). Effects of straw incorporation on the stratification of the soil organic C, total N and C:N ratio in a semiarid region of China. *Soil and Tillage Research*, 153, 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.still.2015.04.008>
- Zhao, F. Z., Ren, C. J., Han, X. H., Yang, G. H., Wang, J., & Doughty, R. (2018a). Changes of soil microbial and enzyme activities are linked to soil C, N and P stoichiometry in afforested ecosystems. *Forest Ecology and Management*, 427, 289-295. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.06.011>
- Zhao, Q., Tang, J., Li, Z., Yang, W., & Duan, Y. (2018b). The influence of soil physico-chemical properties and enzyme activities on soil quality of saline-alkali agroecosystems in Western Jilin Province, China. *Sustainability*, 10(5), 1529. <https://doi.org/10.3390/su10051529>
- Zhao, X., Hu, K., & Stahr, K. (2013). Simulation of SOC content and storage under different irrigation, fertilization and tillage conditions using EPIC model in the North China Plain. *Soil and Tillage Research*, 130, 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.still.2013.02.005>
- Zhou, Y., Zhang, J., Xu, L., Nadeem, M. Y., Li, W., Jiang, Y., Ding, Y., Liu, Z., & Li, G. (2022). Long-term fertilizer postponing promotes soil organic carbon sequestration in paddy soils by accelerating lignin degradation and increasing microbial necromass. *Soil Biology and Biochemistry*, 175, 108839. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108839>