



# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO**

**Construyendo Materia Orgánica  
en Suelos Degradados bajo  
Clima Semiárido mediante el Uso  
de Enmiendas Orgánicas**

**D<sup>a</sup> María Dolores Coll Almela**

**2020**





# **CONSTRUYENDO MATERIA ORGÁNICA EN SUELOS DEGRADADOS BAJO CLIMA SEMIÁRIDO MEDIANTE EL USO DE ENMIENDAS ORGÁNICAS**

Directores:

Dra. M<sup>a</sup> Teresa Hernández Fernández

Dr. Carlos García Izquierdo

M.D. Coll Almela

Murcia, 2020



# INDICE



# INDICE

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>SUMMARY</b> .....	13
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	25
EL SUELO COMO RECURSO NATURAL. IMPORTANCIA .....	27
Los microorganismos del suelo .....	30
Materia orgánica de los suelos .....	31
Indices de calidad del suelo .....	35
SERVICIOS ECOSISTÉMICOS DE LOS SUELOS .....	36
El suelos y servicios ecosistémicos .....	37
SUELOS SEMIÁRIDOS: INTERÉS Y PROBLEMÁTICA .....	38
Amenazas sobre la sostenibilidad, calidad y salud de los suelos semiáridos. Pérdida de la materia orgánica .....	42
SERVICIOS ECOSITÉMICOS DE SUELOS SEMIÁRIDOS.....	47
RESTAURACIÓN DE SUELOS SEMIÁRIDOS DEGRADADOS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS. TIPOS DE ENMIENDAS ORGÁNICAS Y SU CALIDAD .....	50
TIPOS DE ENMIENDAS ORGÁNICAS .....	53
SELECCIÓN DE LA ENMIENDA ORGÁNICA.....	56
BENEFICIOS EN EL SUELO RESTAURADO TRAS LA ENMIENDA ORGÁNICA.....	57
Efectos sobre las propiedades físicas y químicas del suelo.....	57
Efectos sobre las propiedades microbiológicas y bioquímicas del suelo.....	58
Las enmiendas orgánicas en la Economía Circular.....	63
<b>2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO</b> .....	67
<b>3. METODOS ANALÍTICOS</b> .....	77
<b>4. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b> .....	105
<b>4.1. CONSTRUCCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN SUELOS DEGRADADOS RECUPERADOS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS</b> .....	107

INTRODUCCION .....	109
OBJETIVO .....	110
<b>A. EXPERIMENTOS A CORTO PLAZO</b> .....	112
<b>ESTUDIO EN DOS ZONAS DIFERENTES DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE COMPOST DE ESTIÉRCOL ANIMAL</b> .....	112
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	117
<i>PARÁMETROS AGRONÓMICOS</i> .....	117
Parámetros físicos y físico-químicos .....	117
Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales .....	119
<i>Materia orgánica</i> .....	119
<i>Parámetros nutricionales</i> .....	123
<i>PARAMETROS AMBIENTALES</i> .....	125
<i>PARAMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA</i> .....	128
Actividades enzimáticas .....	128
Respiración microbiana .....	132
Análisis de la estructura de la comunidad microbiana .....	134
ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN .....	139
CONCLUSIONES PARCIALES .....	142
<b>B. EXPERIMENTOS A MEDIO PLAZO</b> .....	142
<b>B.1. ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS DE DIFERENTE NATURALEZA</b> .....	142
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	146
<i>PARAMETROS AGRONOMICOS</i> .....	146
Parámetros físicos y físico-químicos .....	146
Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales .....	148
<i>Materia orgánica</i> .....	148
<i>Parámetros nutricionales</i> .....	152

<i>PARAMETROS AMBIENTALES</i> .....	154
<i>PARAMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA</i> .....	158
Actividades enzimáticas .....	158
Respiración microbiana .....	164
Análisis de la estructura de la comunidad microbiana .....	166
ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN.....	171
CONCLUSIONES PARCIALES.....	173
<b>B.2. ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA ESTABILIDAD DE LA ENMIENDA</b> .....	175
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	179
<i>PARAMETROS AGRONOMICOS</i> .....	179
Parámetros físicos y físico-químicos .....	179
Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales .....	180
<i>Materia orgánica</i> .....	180
<i>Parámetros nutricionales</i> .....	183
<i>PARAMETROS AMBIENTALES</i> .....	185
<i>PARAMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA</i> .....	187
Actividades enzimáticas .....	187
Respiración microbiana .....	191
Análisis de la estructura de la comunidad microbiana .....	193
ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN.....	197
CONCLUSIONES PARCIALES.....	199
<b>C. EXPERIMENTOS A LARGO PLAZO</b> .....	201
<b>ESTUDIO DEL EFECTO DE LA DOSIS DE LA ENMIENDA APLICADA</b> .....	201
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	204
<i>PARÁMETROS AGRONÓMICOS</i> .....	204
Parámetros físicos y físico-químicos .....	204

Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales .....	206
<i>Materia orgánica</i> .....	206
<i>Parámetros nutricionales</i> .....	209
<i>PARAMETROS AMBIENTALES</i> .....	211
<i>PARAMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA</i> .....	213
Actividades enzimáticas .....	213
Respiración microbiana .....	217
Análisis de la estructura de la comunidad microbiana .....	219
ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN .....	222
CONCLUSIONES PARCIALES .....	225
<b>4.2. CONSTRUCCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN SUELOS AGRÍCOLAS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS</b> .....	227
INTRODUCCION .....	229
OBJETIVO .....	230
<b>A. EXPERIMENTOS A CORTO PLAZO</b> .....	232
<b>ESTUDIO DEL EFECTO A CORTO PLAZO DE LA APLICACIÓN DE LODO EDAR EN CULTIVO DE CEREAL</b> .....	232
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	236
<i>PARÁMETROS AGRONÓMICOS</i> .....	236
Parámetros físicos y físico-químicos .....	236
Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales .....	237
<i>Materia orgánica</i> .....	237
<i>Parámetros nutricionales</i> .....	239
<i>PARAMETROS AMBIENTALES</i> .....	241
<i>PARAMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA</i> .....	243
Actividades enzimáticas .....	243
Respiración microbiana .....	246
Análisis de la estructura de la comunidad microbiana .....	247

ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN .....	251
CONCLUSIONES PARCIALES.....	254
<b>B. EXPERIMENTOS A MEDIO PLAZO</b> .....	254
<b>ESTUDIO A MEDIO PLAZO DE LA APLICACIÓN DE DIFERENTES ENMIENDAS EN CULTIVO DE CIRUELO</b> .....	254
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	258
<i>PARÁMETROS AGRONÓMICOS</i> .....	258
Parámetros físicos y físico-químicos .....	258
Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales .....	260
<i>Materia orgánica</i> .....	260
<i>Parámetros nutricionales</i> .....	263
<i>PARAMETROS AMBIENTALES</i> .....	264
<i>PARAMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA</i> .....	266
Actividades enzimáticas .....	266
Respiración microbiana .....	270
Análisis de la estructura de la comunidad microbiana .....	271
ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN.....	276
CONCLUSIONES PARCIALES.....	278
<b>C. EXPERIMENTOS A LARGO PLAZO</b> .....	280
<b>C.1. ESTUDIO A LARGO PLAZO DEL EFECTO DE 16 AÑOS DE APLICACIÓN DE COMPOST DE ALPERUJO EN CULTIVO DE OLIVO</b> .....	280
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	283
<i>PARAMETROS AGRONOMICOS</i> .....	283
Parámetros físicos y físico-químicos .....	283
Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales .....	284
<i>Materia orgánica</i> .....	285
<i>Parámetros nutricionales</i> .....	287
<i>PARAMETROS AMBIENTALES</i> .....	289
<i>PARAMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA</i> .....	291
Actividades enzimáticas .....	291
Respiración microbiana .....	295

Análisis de la estructura de la comunidad microbiana .....	296
ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN .....	300
CONCLUSIONES PARCIALES .....	304
<b>C.2. ESTUDIO A LARGO PLAZO DEL EFECTO DE 2 Y 16 AÑOS DE APLICACIÓN DE BIOSOLARIZACIÓN EN CULTIVO DE PIMIENTO .....</b>	<b>304</b>
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	309
<i>PARAMETROS AGRONOMICOS</i> .....	309
Parámetros físicos y físico-químicos .....	309
Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales .....	310
<i>Materia orgánica</i> .....	310
<i>Parámetros nutricionales</i> .....	312
<i>PARAMETROS AMBIENTALES</i> .....	313
<i>PARAMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA</i> .....	316
Actividades enzimáticas .....	316
Respiración microbiana .....	320
Análisis de la estructura de la comunidad microbiana .....	322
ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN .....	326
CONCLUSIONES PARCIALES .....	327
<b>4.3. ANÁLISIS GLOBAL DE LOS DATOS .....</b>	<b>331</b>
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>347</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>355</b>

# RESUMEN



## RESUMEN

Dentro del área del conocimiento de la degradación y restauración de suelos, es de vital importancia entender cómo hemos llegado hasta aquí para poder decidir cómo queremos que sea el mañana.

El aprovechamiento de la naturaleza, se ha practicado desde el comienzo de nuestra civilización, pero en sus orígenes se realizaba a pequeña escala y de forma local. Ya entonces, los elementos de origen orgánico que se consumían, eran devueltos al entorno natural para su degradación. Con el paso del tiempo, la sociedad fue capaz de desarrollar productos cada vez más complejos, no degradables hasta su estado inicial, al menos en una escala de tiempo comparable con la humana.

Así, a través del esquema económico de extracción, uso, consumo y disposición final, hemos llegado hasta nuestros días, gobernados por los criterios de lo que conocemos como *Economía Lineal*. Este modelo económico sobre el que se asientan los cimientos de nuestra sociedad, manifiesta un síntoma grave; “*no puede ser sostenible*”. El sistema actual de producción y consumo “*lineal*” se rige por los criterios de usar y tirar. Para ello se explotan los recursos naturales que se transforman en bienes, que una vez consumidos, generan en última instancia un **gran volumen de residuos**. Este modelo económico ha permitido un gran desarrollo de la sociedad desde mediados del siglo XX, pero, basado en la explotación infinita de recursos, toca a su fin. Debemos plantearnos que nuestro planeta es finito y que el ritmo de su naturaleza no es compatible con este sistema económico.

La sociedad actual necesita nuevas formas de relacionarse con la naturaleza y los recursos que nos proporciona, así como desarrollar nuevos criterios económicos, más respetuosos con el medio ambiente. En este contexto, surge un nuevo modelo económico en contraposición al de la economía lineal: la **Economía circular**. Este modelo proporciona un nuevo enfoque que se basa en imitar el funcionamiento de la naturaleza, donde “*Todo es nutriente de todo*”.

La economía circular y la mitigación del **cambio climático** sin duda, van cogidas de la mano. Gracias a este modelo económico basado en la búsqueda del residuo cero, se pueden reducir considerablemente los impactos medioambientales negativos. Sabemos que cada país, cada región del mundo, está amenazada de diferente forma por los efectos del cambio climático. Gran parte de España, y más concretamente la Región de Murcia, está en serio riesgo de convertirse en un desierto como consecuencia del calentamiento global.

La acción del suelo, como agente regulador dentro del ciclo del C, le otorga un papel fundamental en el equilibrio entre los niveles de CO<sub>2</sub> en la atmósfera y el volumen de C acumulado en la superficie terrestre en forma de **materia orgánica** gracias, entre otros aspectos, al desarrollo vegetal y animal que en él se producen. Los restos vegetales y animales, al incorporarse de nuevo al suelo sirven de materia prima a los organismos descomponedores (bacterias y hongos), incorporándose de nuevo dentro del pool de C del suelo. Sin embargo, los cambios en el uso del suelo, procesos erosivos, etc... producen una alteración en tal equilibrio, comprometiendo la funcionalidad de este, pasando de actuar como almacén natural de C a emisor

activo de CO<sub>2</sub> atmosférico, provocando la inversión en su función como sumidero de C, secuestrando parte del CO<sub>2</sub> atmosférico. Así, la **calidad del suelo** determina cómo nos afecta el cambio climático.

Por tanto, para mantener la fertilidad y calidad de nuestros suelos semiáridos degradados, es fundamental alcanzar unos niveles mínimos de materia orgánica, que nos puedan asegurar la viabilidad de los cultivos, así como reducir la degradación del suelo. Si consideramos como premisas los problemas de desertificación del suelo y la elevada producción de residuos, podemos desarrollar estrategias de recuperación de estos suelos aplicando las bases de la Economía circular. Es decir, aprovechar la materia orgánica presente en un residuo para desarrollar un pool de C en un suelo carente de ella, y por tanto, convertir un residuo en una nueva materia prima y de esta forma recuperar la calidad de estos suelos degradados.

Diversos estudios ya realizados muestran que la adición al suelo de residuos orgánicos puede ser una técnica eficaz en la recuperación de suelos degradados. Sin embargo, hay escasa información disponible en suelos degradados de zonas semiáridas tanto naturales como agrícolas, sobre su capacidad de generar un pool de C tras la adición de enmiendas orgánicas de diferente naturaleza, grado de estabilidad y concentración, y por tanto, en la fijación del carbono orgánico exógeno, a diferentes escalas de tiempo.

Por este motivo, el **Objetivo General** de este trabajo de Tesis Doctoral ha sido la evaluación de la capacidad y eficacia del manejo de diferentes enmiendas orgánicas, a diferentes dosis, y en distintos escenarios (suelos no agrícolas y agrícolas) y distintas escalas de tiempo (corto, medio y largo plazo), para construir nuevos y estables pools de C orgánico en el suelo y así, asegurar la sostenibilidad de suelos agrícolas y no agrícolas de zonas semiáridas. Se han contemplado diferentes estrategias de manejo: i) aplicación única de enmienda orgánica a dosis elevada con el objetivo de restaurar suelos no agrícolas abandonados muy degradados; ii) aplicación de enmiendas orgánicas a dosis más bajas y de manera continuada a suelos agrícolas de zonas semiáridas.

Con tal fin, los **objetivos específicos** planteados han sido los siguientes:

**Evaluación de la construcción de materia orgánica** (pool de C) generada con el tiempo, como consecuencia directa de la enmienda orgánica.

**Contribución a la sostenibilidad** a través de parámetros que nos permitan describir el estado de calidad y salud de los suelos degradados no agrícolas y agrícolas.

**Búsqueda de nuevos modelos de representación** e interpretación de los resultados obtenidos en ensayos de aplicación de enmiendas orgánicas a corto, medio y largo plazo mediante el uso de técnicas de análisis de regresión.

Para llevar a cabo este estudio, se han realizado diferentes ensayos englobados en los apartados 4.1, 4.2 y 4.3 de este trabajo que se describen a continuación.

#### **4.1. CONSTRUCCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN SUELOS DEGRADADOS RECUPERADOS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS**

El objetivo de este estudio ha sido establecer el efecto de la adición de materia orgánica exógena de diferente naturaleza y grado de estabilidad en la recuperación de la calidad de suelos degradados de zonas semiáridas, así como su efecto sobre la creación de un pool de carbono estable en el suelo a diferentes espacios de tiempo (corto, medio y largo plazo). Para ello, se han monitorizado parámetros relacionados tanto con la posible construcción de nueva materia orgánica (ligados al C y su fijación), cómo parámetros del suelo asociados a la mejora de su sostenibilidad (agronómicos, ambientales, y relacionados con su diversidad biológica).

Para el desarrollo de este trabajo se seleccionaron suelos no agrícolas degradados, localizados en diferentes áreas de la Región de Murcia, sometidos a condiciones de clima cálido semiárido, que habían sido enmendados, en su momento, con fines de rehabilitación. Así, se escogieron cinco zonas diferentes, que nos permitían realizar estudios del efecto de la enmienda a corto, medio y largo plazo. En todos los ensayos la dosis de aplicación de la enmienda se había calculado de modo que la materia orgánica del suelo incrementara al menos hasta el 1,5-2%. A continuación se detallan los ensayos realizados.

##### **A. EXPERIMENTOS A CORTO PLAZO**

**Estudio en dos zonas diferentes del efecto de la adición de compost de estiércol animal.** Se ha estudiado el efecto a corto plazo (3 años), de la adición de una enmienda orgánica sobre suelos degradados no agrícolas, situados en dos zonas diferentes de la Región de Murcia: Cartagena y Abarán. En estas zonas se habían establecido parcelas de 25-30 m<sup>2</sup> a las que se había adicionado por triplicado, dosis de 150 t ha<sup>-1</sup>, de compost de estiércol de cabra y oveja. Tres parcelas sin adición de enmienda fueron utilizadas como control en cada una de las zonas. Tres años después de la adición de las enmiendas se han muestreado los suelos de las diferentes parcelas de ambas zonas con la finalidad de conocer el efecto de la enmienda sobre la creación de un pool de C y la mejora de la calidad del suelo.

Los resultados obtenidos nos permiten constatar que el efecto positivo de la adición de enmienda a suelos degradados semiáridos, persiste en el tiempo, presentando los suelos 3 años después de la incorporación de la enmienda mayor porosidad, capacidad de retención hídrica y agregados estables, así como un mayor contenido de materia orgánica y nutrientes. También persiste la reactivación de la vida microbiana promovida por la adición de la enmienda, mostrando los suelos enmendados, un mayor tamaño y actividad de las poblaciones microbianas del suelo. Cabe subrayar la intensa respuesta que han tenido estos suelos a la incorporación de compost de estiércol animal en una única aplicación de 150 t ha<sup>-1</sup> mejorando su calidad y su capacidad para secuestrar carbono, como demuestra el incremento en las fracciones de carbono orgánico total y de sustancias húmicas. También es importante destacar la vegetación desarrollada espontáneamente en estos suelos por efecto de la enmienda.

## **B. EXPERIMENTOS A MEDIO PLAZO**

En una finca experimental situada en el paraje de La Matanza, Santomera (Murcia), se llevó a cabo el estudio a medio plazo (7 y 10 años respectivamente para Santomera 1 y 2) del efecto de la adición de enmiendas orgánicas de diferente naturaleza y grado de estabilidad, sobre la calidad del suelo y la fijación de carbono.

**B.1. Estudio del efecto de la adición de enmiendas orgánicas de diferente naturaleza.** En la zona 1 de Santomera (Santomera-1) se muestrearon una serie de parcelas en las que 7 años antes se había adicionado enmiendas orgánicas de distinta naturaleza, grado de estabilidad y concentración como son: Residuo vegetal (RV), Estiércol animal (EA), Lodo EDAR (L), Lodo y basura doméstica (L+B), Compost de lodo y basura (C(L+B)) y Compost de residuo vegetal (C(RV)). Todas estas enmiendas fueron incorporadas a razón de 150 t ha<sup>-1</sup>. Además, las enmiendas Residuo vegetal (RV), Compost de lodo y basura (C(L+B)) y Compost de residuo vegetal (C(RV)) también fueron incorporadas a dosis de 300 t ha<sup>-1</sup>. La aplicación de enmiendas orgánicas al suelo influye sobre las propiedades físicas y físico-químicas de éste, ya que siete años después de la incorporación de la enmienda, persiste el efecto positivo de las mismas sobre la agregación del suelo, presentando los suelos enmendados mayor porcentaje de agregados estables que el suelo control. Igualmente, se observó un incremento en las diferentes fracciones de carbono estudiadas, tanto de las fracciones más lábiles que actúan como fuente de energía para los microorganismos (carbono soluble, Cs), como de las más estables (sustancias húmicas, SH). En general, los suelos enmendados presentaban mayor actividad enzimática que el control, con algunas excepciones, y todos los suelos enmendados presentaron una mayor tasa de respiración que el suelo control, poniéndose de relieve asimismo que una única aplicación de enmienda orgánica conducía, en general, a un mayor incremento de las diferentes poblaciones microbianas respecto del suelo control.

Los resultados obtenidos sugieren que la incorporación de las enmiendas al suelo produce cambios en las propiedades físicas, físico-químicas, químicas y microbiológicas del suelo, y que estos cambios están influenciados por la naturaleza de la enmienda aplicada, grado de estabilidad y dosis de aplicación. Así, con este estudio podemos concluir que la incorporación de materia orgánica exógena al suelo degradado mejoró su calidad, consiguiendo generar un pool de C a medio plazo (7 años) gracias al incremento de las diferentes fracciones de C, siendo por tanto considerado como una buena estrategia en la lucha contra la degradación del suelo en ambientes semiáridos a medio plazo, contribuyendo a la sostenibilidad de estos ecosistemas.

**B.2. Estudio de la influencia de la estabilidad de la enmienda.** En la zona 2 de Santomera (Santomera-2) se muestrearon los suelos de parcelas en las que 10 años antes se había añadido lodo EDAR fresco y compostado a dosis de 120 t ha<sup>-1</sup>, evaluando así la incidencia del grado de estabilidad de la enmienda. Resulta interesante contrastar el efecto de estos dos tipos de materia orgánica: una sin estabilizar, que aporta sustratos fácilmente accesibles para plantas y microorganismos, y otra estabilizada cuyos sustratos son más difíciles de degradar, y cómo esto puede afectar a la calidad de estos suelos degradados.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que la incorporación de materia orgánica de la naturaleza del lodo y compost de lodo de depuradora, si bien no produce un cambio destacable en las propiedades físicas de estos suelos, sí que consiguió incrementar el pool de C en los suelos enmendados a medio plazo (10 años), observándose un aumento en todas las fracciones de carbono (COT, Cs, SH). Estos parámetros aumentaron en mayor medida en los suelos que recibieron compost de lodo, debido tanto al carácter más estable de la materia orgánica de esta enmienda como a la mayor cantidad de materia orgánica aportada con la misma. En cuanto a los parámetros relacionados con la diversidad microbiana, en general, podemos afirmar que estas enmiendas produjeron cambios significativos en el ecosistema, lo suficientemente importantes como para desarrollar una mayor actividad enzimática, permitiendo un mayor acceso de las poblaciones microbianas a nutrientes en los suelos enmendados respecto al control, obteniendo mayores tasas de respiración microbiana, así como un incremento del tamaño de la población microbiana en los suelos enmendados.

Por tanto, podemos concluir que estas enmiendas orgánicas ayudan a preservar y a mejorar la calidad y fertilidad de los suelos degradados de estas áreas. Es importante considerar que a medio plazo la enmienda estabilizada es más efectiva que la fresca, ya que en general, produjo un mayor beneficio sobre la calidad del suelo, probablemente gracias a que contiene mayor cantidad de compuestos menos biodegradables, con efectos más duraderos.

### **C. EXPERIMENTOS A LARGO PLAZO**

En un suelo altamente degradado, en el término municipal de Abanilla se procedió a evaluar el efecto sobre la calidad del suelo de la adición 28 años antes, de la fracción orgánica de basura doméstica a diferentes dosis. La enmienda orgánica se incorporó a la capa arable del suelo (15-20 cm) con la ayuda de un rotovator. Las dosis utilizadas (65, 130, 195 y 260 t ha<sup>-1</sup>), son mayores que las empleadas habitualmente en ensayos agrícolas, ya que el fin último es la recuperación de un suelo altamente degradado. El residuo orgánico empleado consistió en un material que no sufrió compostaje, tan solo 20 días de maduración natural, con el fin de que esta enmienda ejerciese una rápida respuesta en el suelo que presentaba un elevado grado de degradación y un bajo contenido en materia orgánica (0,5%).

Los resultados obtenidos nos indican que la adición de esta enmienda supone a largo plazo una mejora en diversas propiedades del suelo. Así afectó positivamente a las propiedades físico-químicas del suelo reduciendo sensiblemente su elevado pH y su densidad, dando lugar a un incremento de retención hídrica y de la estabilidad de agregados, siendo este efecto mayor en el caso de las dosis más altas 195 y 260 t ha<sup>-1</sup>. En cuanto a las diferentes fracciones de carbono estudiadas se observó, en general, un aumento en todas ellas (COT, Cs y SH) en los suelos enmendados respecto al suelo control, 28 años después de la incorporación de la enmienda, siendo más evidente para las dosis más elevadas (195 y 260 t ha<sup>-1</sup>).

Por otro lado, la enmienda produjo una serie de sustratos capaces de activar diversas enzimas implicadas en los ciclos de diversos elementos, contribuyendo a su funcionalidad. Más concretamente, 28 años después de

la incorporación de la enmienda, los suelos enmendados mostraban mayores valores de actividad de enzimas relacionadas con el ciclo del carbono (celulasa y  $\beta$ -glucosidasa), a excepción de la actividad polifenoloxidasa, debido al incremento de materia orgánica en el suelo, bien por el efecto directo de la propia enmienda sobre el suelo o bien, gracias al desarrollo de una mayor densidad de cobertura vegetal en las parcelas enmendadas. Las actividades de estas enzimas, celulasa y  $\beta$ -glucosidasa, no presentaron una relación dosis-dependiente. Las actividades fosfatasa y ureasa también eran superiores en los suelos enmendados que en el control al igual que la actividad catalasa. La actividad glicina-aminopeptidasa solo era superior en los suelos enmendados con las dosis más altas, 195 t ha<sup>-1</sup>. Estas enmiendas han sido capaces de incrementar el desarrollo y actividad de los microorganismos del suelo, y han inducido el desarrollo de una cubierta vegetal que ayuda a mantener la calidad del suelo a tan largo plazo.

Como conclusión podemos destacar la capacidad de estos suelos para funcionar como sumidero de C, siendo capaces de crear un pool de C estable cuando la enmienda es aplicada a dosis altas. Por otro lado, gracias a la acción de las diferentes actividades enzimáticas se ha podido promover el desarrollo de una población microbiana. Gracias a todos estos factores, la mejora de la calidad de este suelo, se ha traducido en el desarrollo de una cobertura vegetal, que asegura la protección del suelo frente a procesos degradativos de erosión y el retorno de materia orgánica al suelo.

#### **4.2. CONSTRUCCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN SUELOS AGRÍCOLAS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS**

El objetivo de este capítulo ha sido la realización de un estudio comparativo sobre la eficacia de la aplicación de materiales orgánicos de diferente naturaleza y grado de estabilización, y de diferentes tipos de manejo, en la mejora y la recuperación de la calidad de suelos agrícolas de zonas semiáridas y la construcción de materia orgánica en los mismos. Para alcanzar estos objetivos se han monitorizado parámetros relacionados tanto con la posible construcción de nueva materia orgánica (ligados al C orgánico y su fijación), cómo parámetros del suelo asociados a la mejora de su sostenibilidad (agronómicos, ambientales, y relacionados con su diversidad biológica), todo ello con la finalidad de conocer si la aplicación de enmiendas orgánicas puede ser empleada como una herramienta eficaz de mantenimiento y mejora de la calidad de suelos agrícolas de zonas semiáridas y en la creación de materia orgánica, a diferentes escalas de tiempo.

Para el desarrollo de este trabajo se seleccionaron diversos suelos agrícolas, localizados en diferentes zonas de la Región de Murcia, sometidos a condiciones de clima cálido semiárido. En cada una de las zonas de estudio se muestrearon tanto los suelos enmendados cómo los suelos control sin enmendar. Las muestras de suelo se tomaron en los primeros 20 cm del suelo (capa arable). Se han llevado a cabo los siguientes estudios:

## **A. EXPERIMENTOS A CORTO PLAZO**

**Estudio del efecto a corto plazo de la aplicación de lodo de EDAR en cultivo de cereal.** Se han muestreado los suelos de parcelas experimentales situadas en el término municipal de Jumilla, donde se adicionaron lodos frescos de EDAR durante 2 años sucesivos en suelos con cultivos de cereal. La forma de adición de los lodos al suelo seguida en estos ensayos, es la que se hace normalmente en agricultura, extendiéndolo primero de modo homogéneo sobre la superficie de la parcela y mezclándolo a continuación con la capa arable de los suelos (15-20 cm).

Se establecieron 3 parcelas diferentes donde se aplicó la enmienda con LODO EDAR durante dos cultivos sucesivos a dosis de 170 kg N/ ha año, dejando una zona adyacente con idéntico cultivo sin aplicación de lodo (parcelas control). Dos años después de la enmienda, no se han observado modificaciones en los parámetros físicos y físico-químicos de los suelos enmendados, mientras que sí se produjo un incremento en todas las fracciones de carbono estudiadas (Cs, COT y SH) respecto al suelo control. Solamente se observó incremento significativo en la actividad enzimática fosfatasa y un ligero aumento en ureasa de los suelos enmendados respecto al suelo control. En general, la incorporación del lodo aumentó la respiración y tamaño de la población microbiana en el suelo, siendo mucho más significativo el incremento en la población de hongos respecto al control que el de la población bacteriana. Para interpretar estos resultados es importante tener en cuenta que la dosis aplicada de lodo no fue muy elevada (170 kg N /ha año) así como el corto plazo del ensayo. No obstante, la tendencia es hacia una ligera mejora de la calidad del suelo que, seguramente, con el tiempo se traducirá en un mayor incremento de su fertilidad.

## **B. EXPERIMENTOS A MEDIO PLAZO**

**Estudio a medio plazo del efecto de la aplicación de diferentes enmiendas en cultivo de ciruelo.** Se ha muestreado una finca experimental en el término municipal de Cieza donde durante 11 años se ha venido desarrollando un cultivo ecológico de ciruelo con adición de diferentes tipos de enmiendas: compost de estiércol de oveja (CP), restos de poda (RP) y abono verde (AV). El compost, a su vez, fue adicionado anualmente (CPa) o cada dos años (CPb).

Todas las parcelas (excepto la parcela control) recibieron el aporte de las ramas podadas de los árboles de la misma parcela, que se incorporó al suelo con la ayuda de un rotovator (aproximadamente 9-10 kg de madera árbol<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> equivalente a 5625-6250 kg madera ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>), considerando esta enmienda como restos de poda (RP). El resto de parcelas (a excepción de las parcelas control y con adición de restos de poda), recibieron además el correspondiente aporte adicional de enmienda orgánica (CPa, CPb y AV). Tanto el compost como el abono verde se incorporaron al suelo mediante labranza superficial mientras que los restos de poda se incorporaron con la ayuda de rotovator. El compost se adicionó a razón de 20 t ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (CPa) y 20 t ha<sup>-1</sup> cada dos años (CPb), los restos de poda (RP) a dosis de 5625-6250 kg<sup>-1</sup> de madera ha<sup>-1</sup>año<sup>-1</sup> y el abono verde (AV) a dosis de: 120 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>.

Entre los resultados podemos destacar que la aplicación anual de compost de estiércol animal mejoró de forma más significativa que el resto de enmiendas las propiedades físicas del suelo, aunque, en general, todas las enmiendas orgánicas estudiadas mejoraron la capacidad de retención hídrica y la porosidad del suelo respecto al suelo control. Asimismo, todas las enmiendas empleadas aumentaron tanto la cantidad de COT como de las fracciones lábiles (Cs) y más resistentes a la degradación (SH), siendo mayor el aumento en la fracción de SH que en la de Cs, lo que se puede considerar como un efecto positivo de las enmiendas aplicadas. En general, aumentaron las actividades de diferentes enzimas, siendo los suelos tratados con compost (CPa y CPb) los que mostraron los mayores incrementos, excepto para la actividad polifenoloxidasas que mostró los mayores valores en el suelo enmendado con abono verde (AV). Los tratamientos incrementaron la población de bacterias totales, Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup> y hongos, así como la respiración microbiana, lo que puede entenderse como un efecto positivo de la incorporación de las diferentes enmiendas orgánicas al suelo, directamente relacionado con el carbono orgánico disponible aportado por éstas.

En resumen, en función de los resultados obtenidos en este experimento a medio plazo (11 años) podemos asegurar que la incorporación al suelo de compost, abono verde y restos de poda representa una opción válida en términos de incremento de secuestro de C, calidad y fertilidad de suelos agrícolas bajo manejo orgánico.

## **C. EXPERIMENTOS A LARGO PLAZO**

**C.1. Estudio a largo plazo del efecto de 16 años de aplicación de compost de alperujo en cultivo de olivo.** Para este estudio se seleccionó una finca experimental situada en el término municipal de Jumilla, donde se había venido desarrollando durante 16 años un cultivo de olivo con adición de compost de alperujo.

El objetivo principal de este estudio fue la evaluación del efecto de la aplicación agronómica durante 16 años de compost de alperujo sobre la calidad de un suelo bajo cultivo de olivo y el secuestro de C en el mismo. La adición del compost se realizó encima de la línea del gotero, cerca del árbol, y con una labor superficial, quedando el compost de esta forma semienterrado. El compost se había aplicado durante 16 años de los que en los 12 primeros años se aportaban 40 kg compost/árbol cada 4 años y los 4 últimos años se aportaron 5 kg compost/árbol cada 2 años.

Entre los principales resultados obtenidos cabe destacar que la incorporación de compost al suelo mejoró las propiedades físicas de éste gracias a una sensible disminución de la densidad, así como a incrementos significativos en parámetros como capacidad de retención hídrica y estabilidad de agregados. Asimismo, se observaron incrementos de las diferentes fracciones de carbono (COT, Cs y SH), lo que, junto a un importante incremento del contenido de nitrógeno y fósforo contribuye a mejorar la fertilidad de estos suelos y a estimular la actividad microbiana, favoreciendo un incremento general en los valores de las diferentes actividades enzimáticas en el suelo enmendado respecto al suelo control. Dicha actividad biológica resultó en una mayor respiración de la población microbiana, así como del tamaño de las poblaciones de bacterias, hongos, Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup> en el suelo.

Es importante destacar que durante la descomposición de la materia orgánica el N mineral es retenido, no existiendo lixiviación de nitratos, siendo la mineralización del C muy lenta gracias a la naturaleza del compost de alperujo, y por tanto, su aplicación en el suelo podría incrementar el secuestro de C en el mismo.

**C.2. Estudio a largo plazo del efecto de 2 y 16 años de aplicación de biosolarización en cultivo de pimiento.** Este estudio se llevó a cabo en una zona en el término municipal de San Pedro del Pinatar donde se había realizado biosolarización, con empleo de estiércol animal (vaca 60%+oveja 40%), compostado anteriormente entre 7-8 meses con al menos dos volteos, y gallinaza, durante 2 y 16 años consecutivos, con cultivo de hortalizas. La enmienda orgánica se aplicó durante los meses de verano (julio-septiembre) realizando a continuación la biosolarización mediante la instalación de plásticos.

La aplicación del tratamiento mejoró las propiedades físicas y físico-químicas del suelo, siendo mayor el efecto en el suelo tratado un mayor número de años. Asimismo, dio lugar a un importante incremento en el porcentaje de COT y de sus fracciones solubles (Cs) y más estables (SH), así como del contenido de nutrientes respecto al suelo control, tanto en el ensayo a 2 años como a largo plazo después de 16 años. Precisamente ese aumento tan importante en las fracciones de C se tradujo, en mayor o menor medida, en un aumento respecto del suelo control de las diferentes actividades enzimáticas, a excepción de PPO, así como de la respiración microbiana y del tamaño de la comunidad microbiana.

En definitiva, el tratamiento de biosolarización orientado a la desinfección del terreno, resultó en una estrategia válida en la restauración de estos suelos agrícolas degradados ya que, gracias a la adición de la materia orgánica consiguió mejorar las propiedades agronómicas del suelo así como estimular las actividades enzimáticas y el desarrollo de la comunidad microbiana en los mismos, tanto a corto plazo como largo plazo, permitiendo desarrollar este tipo de cultivo intensivo y mantener su producción constante sin deteriorar la calidad del suelo.

### **4.3. ANÁLISIS GLOBAL DE DATOS**

Con el fin de obtener una visión global de los resultados obtenidos en los diferentes estudios llevados a cabo, se realizó un análisis multivariante de todos los parámetros analizados (agronómicos, medioambientales y relacionados con la diversidad microbiana), considerando suelos agrícolas, y no agrícolas tanto separadamente como en conjunto. Desde otra perspectiva, se realizó un estudio de minería de datos donde se integraron todos los resultados obtenidos en los diferentes experimentos llevados a cabo tanto en suelos agrícolas como no agrícolas, con el fin de poder establecer conclusiones más generalistas y así conocer el efecto de los materiales orgánicos en suelos degradados de zonas semiáridas, sobre los factores que intervienen en la construcción de un pool de C en el suelo en las condiciones ensayadas.

Así, gracias al uso de estas herramientas estadísticas podemos establecer patrones globales de respuesta, en suelos degradados de zonas semiáridas a la incorporación de materia orgánica. En primer lugar destacar el efecto positivo de las enmiendas orgánicas sobre las características de los suelos no agrícolas, gracias al

incremento observado de las reservas de carbono en estos suelos degradados, para todos los tipos de enmiendas ensayadas a diferentes escalas de tiempo. Dicho efecto se vio influido tanto por la naturaleza de la enmienda, como grado de estabilidad y dosis aplicada.

Este resultado positivo en el suelo tras la de adición de enmienda, también se confirmó en los experimentos realizados en suelos agrícolas degradados. No solamente se produjo una mejora en la calidad de estos suelos, gracias al estímulo positivo sobre las actividades de enzimas relacionadas con los ciclos del C, N y P que favorecen el ciclo de los nutrientes en el suelo, sino que bajo la estrategia de manejo de aplicaciones continuadas de enmienda en ensayos a corto, medio y largo plazo, se consigue dotar a estos suelos de la fertilidad adecuada que permita asegurar la continuidad de los cultivos.

Finalmente, el estudio de minería de datos ha puesto de manifiesto la importancia de la existencia de una población microbiana en estos suelos degradados, que pueda contribuir a la construcción de un pool de COT y de SH, así como de la necesidad de fuentes de N que contribuyan a este proceso. Asimismo se ha puesto de relieve la estrecha relación existente entre el contenido en COT y SH en los suelos y las características de la enmienda aplicada. En cuanto a las fracciones de Cs, el uso de minería de datos, nos proporciona información sobre la relevancia de la dosis de enmienda empleada. Teniendo en cuenta que los suelos estudiados son muy pobres en C, cobra valor la dosis de enmienda aplicada, que permita asegurar la disponibilidad de las formas más lábiles de C (Cs). Estas, a su vez proporcionarán la energía necesaria a las poblaciones microbianas presentes, que de esta forma puedan contribuir a la construcción de COT y SH, tan necesarios para asegurar la sostenibilidad de suelos degradados de zona semiáridas.

# **SUMMARY**



## SUMMARY

Within the area of knowledge of soil degradation and restoration, it is of paramount importance to understand how we got here so we can decide how we want tomorrow to be like.

The use of nature has been practiced since the beginning of our civilization, but in its origins it was carried out on a small scale and in a local way. Even then, the organic elements that were consumed were returned to the natural environment for degradation. Over time, society was able to develop increasingly complex products non-degradable to their initial state, at least on a human scale of time.

Thus, through the economic scheme of extraction, use, consumption and final disposal, we have come up to today, governed by the criteria of what we know as *Linear Economy*. This economic model on which the foundations of our society are based, shows a serious symptom; "It can't be sustainable." The current "linear" production and consumption system is governed by the criteria of using and throwing away. This involves exploiting natural resources that are transformed into goods, which, once consumed, ultimately generate a **large volume of waste**. This economic model has allowed a great development of society since the mid-twentieth century, but, based on the infinite exploitation of resources, it comes to an end. We must consider that our planet is finite and that the rhythm of its nature is not compatible with this economic system.

Today's society needs new ways of relating to the nature and resources it provides to us, as well as developing new economic criteria, more respectful with the environment. In this context, a new economic model emerges as opposed to that of the linear economy: the **Circular Economy**. This model provides a new approach that is based on imitating the functioning of nature, where "*Everything is nutrient of everything*."

The circular economy and climate **change mitigation** certainly go hand in hand. Thanks to this zero waste economic model, negative environmental impacts can be significantly reduced. We know that each country, each region of the world, is threatened differently by the effects of climate change. Much of Spain, and more specifically the Region of Murcia, is at serious risk of becoming a desert as a result of global warming.

The action of the soil, as a regulatory agent within the C cycle, gives it a fundamental role in the balance between CO<sub>2</sub> levels in the atmosphere and the volume of C accumulated on earth's surface in the form of **organic matter**, thanks, among other aspects, to the plant and animal development that occur in it. Vegetable and animal remains, by re-entering the soil, serve as raw material for decomposing organisms (bacteria and fungi), being incorporated back into the soil C pool. However, changes in land use, erosive processes, etc ... produce an alteration in such equilibrium, compromising its functionality, moving from acting as a natural store of C to an active emitter of atmospheric CO<sub>2</sub>, causing the inversion in its role as a C sink by sequestering part of the atmospheric CO<sub>2</sub>. Thus, **soil quality** determines how climate change affects us.

Therefore, in order to maintain the fertility and quality of degraded semi-arid soils, it is essential to achieve minimum levels of organic matter, which can assure the viability of crops, as well as reducing soil degradation. If we consider as premises the problems of soil desertification and the high waste production, we can develop recovery strategies for these soils applying the bases of the Circular Economy. That is to say, to take advantage of the organic matter present in a residue to develop a C pool in soils devoid of it, and thus, turn a residue into a new raw material and thus recover the quality of these degraded soils.

Several studies show that the addition of organic waste to the soil can be an effective technique in the recovery of degraded soils. However, there is little information available on degraded soils in semiarid-areas, both natural and agricultural, on their ability to generate a C pool following the addition of organic amendments of different nature, degree of stability and concentration, and therefore, in the fixation of exogenous organic carbon, at different time scales.

For this reason, the **General Objective** of this Doctoral Thesis work has been the evaluation of the capacity and effectiveness of the management of different organic amendments, at different doses, and in different scenarios (non-agricultural and agricultural soils) and different time scales (short, medium and long term), to build new and stable organic C pools in the soil and thus, ensure the sustainability of agricultural and non-agricultural soils in semi-arid areas. Different management strategies have been considered: i) a sole application of organic amendment at high dose, with the objective of restoring seriously degraded non-agricultural abandoned soils; ii) application of organic amendments at lower doses and on a continuous basis to agricultural soils in semi-arid areas.

To this end, the following **specific objectives** have been established:

**Evaluation of the construction of organic matter** (C pool), generated over time, as a direct consequence of the organic amendment.

**Contribution to sustainability** through parameters that allow us to describe the quality and health status of degraded, non-agricultural and agricultural soils.

**Search for new models of representation** and interpretation of results obtained in short-, medium- and long-term organic amendment application trials, using regression analysis techniques.

To carry out this study, different assays have been carried out in the sections 4.1, 4.2 and 4.3 of this Report, described below.

#### **4.1. CONSTRUCTION OF ORGANIC MATTER IN DEGRADED SOILS RECOVERED WITH ORGANIC AMENDMENTS**

The objective of this study has been to establish the effect of the addition of exogenous organic matter of different nature and degree of stability on the recovery of the quality of degraded soils from semi-arid areas,

as well as its effect on the creation of a stable carbon pool in the soil at different periods of time (short, medium and long term). To this end, parameters related to the possible construction of new organic matter (linked to organic C and its fixation), as well as soil parameters associated to the improvement of its sustainability (agronomic, environmental, and related to its biological diversity) have been monitored.

For the development of this work, degraded non-agricultural soils were selected, located in different areas of the Region of Murcia, subjected to semi-arid climate conditions, which had been amended, at the time, for rehabilitation purposes. Thus, five different zones were chosen, allowing us to carry out studies of the effect of the amendment in the short, medium and long term. In all the tests the dose of application of the amendment had been calculated in such a way that the organic matter in the soil would increase up to at least 1.5-2%. The assays carried out are detailed below.

### **A. SHORT TERM EXPERIMENTS**

**Study in two different areas of the effect of the addition of animal manure compost.** The short-term effect (3 years) of the addition of an organic amendment on degraded non-agricultural soils, located in two different areas of the Region of Murcia: Cartagena and Abarán, has been studied. In these areas, plots of 25-30 m<sup>2</sup> had been established, to which 150 t ha<sup>-1</sup> doses of goat and sheep manure compost had been added in triplicate. Three plots without amendment addition were used as control in each zone. Three years after the addition of the amendments, the soils of the different plots of both zones have been sampled in order to know the effect of the amendment on the creation of a C pool and the improvement of soil quality.

The results obtained allow us to note that the positive effect of the addition of an amendment to semi-arid degraded soils, persists over time, presenting the soils 3 years after the incorporation of the amendment greater porosity, water holding capacity and stable aggregates, as well as a higher organic matter and nutrient content. The reactivation of microbial life promoted by the addition of the amendment also persists, showing the amended soils, a greater size and activity of the soil microbial populations. It is worth highlighting the strong response of these soils to the incorporation of animal manure compost in a single application of 150 t ha<sup>-1</sup> by improving its quality and carbon sequestration capacity, as demonstrated by the increase in the fractions of total organic carbon and humic substances. It is also important to highlight the vegetation cover developed spontaneously in these soils by the effect of the amendment.

### **B. MEDIUM TERM EXPERIMENTS**

In an experimental farm located in the area of La Matanza, Santomera (Murcia), a mid-term study (7 and 10 years respectively for Santomera 1 and 2) of the effect of the addition of organic amendments of a different nature and degree of stability on soil quality and C fixation was carried out.

**B.1. Study of the effect of adding of organic amendments of different nature.** In zone 1 of Santomera (Santomera-1) a series of plots were sampled in which 7 years earlier, organic amendments of different nature, degree of stability and concentration, such as vegetal residue (RV), animal manure (EA), sewage sludge (L), a mixture of sewage sludge and the organic fraction of household waste, both, fresh (L+B) and composted (C (L+B)) and vegetable residue compost (C (RV)) were added. All these amendments were incorporated at a rate of 150 t ha<sup>-1</sup>. In addition, the vegetal residue (RV), sewage sludge and household waste compost (C (L+B)) and vegetal residue compost (C (RV)) were also incorporated at dose of 300 t ha<sup>-1</sup>. The application of organic amendments to the soil influences the physical and physical-chemical properties of the soil in the mid-term, since 7 years after the incorporation of the amendment, their positive effect on soil aggregation persists, presenting the amended soils higher percentage of stable aggregates than the control soil. Likewise, an increase was observed in both, the most labile C fraction, that acts as a source of energy for microorganisms (soluble carbon, Cs), and the most stable C fraction (humic substances, HS). In general, the amended soils had higher enzymatic activity than the control, and all the amended soils showed also higher respiration rate than the control. It is also of note that a single application of organic amendment led, in general, to a greater increase of the different microbial populations in comparison with the control soil.

The results obtained suggest that the incorporation of the amendments to the soil produces changes in the physical, physical-chemical, chemical and microbiological properties of the soil, and that these changes are influenced by the nature of the amendment applied, degree of stability and dose of application. Thus, from this study it can be concluded that the incorporation of exogenous organic matter to degraded soils improved its quality, managing to generate a pool of C in the medium term (7 years) thanks to the increase of the different fractions of C. Therefore, it can be considered as a good strategy in the fight against soil degradation in semi-arid environments in the medium term, contributing to the sustainability of these ecosystems.

**B.2. Study of the influence of the amendment's stability.** In zone 2 of Santomera (Santomera-2), soils were sampled from plots, where fresh and composted sewage sludge had been added 10 years earlier at a dose of 120 t ha<sup>-1</sup> in order to assess the the impact of the stability of the amendment on soil characteristics. It is interesting to contrast the effect of these two types of organic matter: a non-stabilized one, which provides substrates easily accessible for plants and micro-organisms, and another stabilized one, whose substrates are more difficult to degrade, and how this can affect the quality of these degraded soils.

The results obtained show that the incorporation of organic matter from the sludge and sewage sludge compost, although it does not produce a remarkable change in the physical properties of these soils, it did manage to increase the C pool in the amended soils in the medium term (10 years), with an increase observed in all carbon fractions (TOC, Cs, HS). These parameters increased more in the soils that received sludge compost, due both, to the more stable nature of the organic matter in this amendment and to the greater amount of organic matter provided with it. Regarding the parameters related to microbial diversity, in

general, we can affirm that these amendments produced significant changes in the ecosystem, important enough to develop greater enzymatic activity, allowing greater access of microbial populations to nutrients in the amended soils with respect to control, resulting in higher rates of microbial respiration, as well as an increase in the size of the soil microbial populations.

Therefore, we can conclude that these organic amendments help to preserve and improve the quality and fertility of degraded soils in these areas. It is important to consider that in the medium term the stabilized amendment is more effective than the fresh one, since in general it produced a greater benefit on soil quality, probably because it contains a greater amount of less biodegradable compounds with more lasting effects.

### **C. LONG TERM EXPERIMENTS**

In a highly degraded soil, in the municipality of Abanilla, the effect on the soil quality of the addition 28 years earlier of the organic fraction of household waste at different doses was evaluated. The organic amendment was incorporated into the arable soil layer (15-20 cm) with the help of a rotovator. The doses used (65, 130, 195 and 260 t ha<sup>-1</sup>), are higher than those normally used in agriculture, since the ultimate goal is the recovery of a highly degraded soil. The organic waste used consisted of a material that did not suffer composting, only 20 days of natural maturation, in order to ensure a rapid response in a soil with a high degree of degradation and a low organic matter content (0,5%).

The results obtained indicate that the addition of this amendment leads, even in the long term to an improvement in various soil properties. Thus, the amendment has positively affected the physico-chemical properties of the soil by significantly reducing its high pH and density, leading to an increase in soil water holding capacity and aggregate stability. These effects were greater in the soil amended at the highest doses, 195 and 260 t ha<sup>-1</sup>. Regarding the different carbon fractions studied, an increase was generally observed in all of them (TOC, Cs and HS) in the amended soils with respect to the control soil, 28 years after the incorporation of the amendment, increases being more evident for the highest doses (195 and 260 t ha<sup>-1</sup>).

On the other hand, the amendment produced a series of substrates capable of activating various enzymes involved in the cycles of various macronutrients, contributing to their functionality. More specifically, 28 years after the amendment was incorporated, amended soils showed higher activities of enzymes related to the carbon cycle (cellulase and  $\beta$ -glucosidase), with the exception of polyphenol oxidase, due to the increase in organic matter in the soil, either by the direct effect of the amendment itself on the soil or, by the development of a greater density of vegetation cover in the amended plots. The activities of these enzymes, cellulase and  $\beta$ -glucosidase, did not show a dose-dependent relationship. Phosphatase and urease activities were also higher in the amended soils than in the control as well as the catalase activity. Glycine-aminopeptidase activity was higher only in the amended soils with the highest doses, 195 t ha<sup>-1</sup>. These

amendments have been able to increase the development and activity of soil microorganisms, and have led to the development of a plant cover that helps to maintain soil quality in the long term.

In conclusion, it must be highlighted the ability of these soils to function as a C sink, being able to create a stable C pool when the amendment is applied at high doses. On the other hand, thanks to the action of different enzymatic activities, it has been possible to promote the development of a microbial population. Thanks to all those factors, the improvement in the quality of this soil has given rise to the development of a plant cover, which ensures the protection of the soil against degradation processes of erosion, and the return of organic matter to the soil.

## **4.2. CONSTRUCTION OF ORGANIC MATTER IN AGRICULTURAL SOILS WITH ORGANIC AMENDMENTS**

The objective of this chapter has been to carry out a comparative study on the effectiveness of the application of organic materials of different nature and degree of stabilization, and of different types of management, in the improvement and recovery of the quality of agricultural soils of semi-arid zones as well as in the construction of organic matter in them. To achieve these objectives, parameters related to the possible construction of new organic matter (linked to organic C and its fixation), and soil parameters associated with the improvement of its sustainability (agronomic, environmental, and related to its biological diversity) have been monitored. All this in order to know if the application of organic amendments can be used as an effective tool for maintenance and improvement of the quality of agricultural soils in semi-arid areas, and in the creation of organic matter, at different time scales.

For the development of this work different agricultural soils were selected, located in different zones of the Region of Murcia subjected to semi-arid climate conditions. In each of the study areas both, amended and not amendment soils (control soils) were sampled. Soil samples were taken in the first 20 cm of the soil (arable layer). The following studies have been carried out:

### **A. SHORT TERM EXPERIMENTS**

**Study of the short-term effect of the application of sewage sludge in cereal cultivation.** The soils of different experimental plots located in the municipality of Jumilla, where fresh sewage sludge was added for 2 successive years in soils with cereal crops, have been sampled. The method of sewage sludge addition to the soil followed in this experiment was that normally done in agriculture: sewage sludge was first extended homogeneously over the soil surface and then mixed with the arable layer of the soil (15-20 cm).

Three different plots were established where the amendment with fresh sewage sludge was applied during two successive crops at rate of 170 kg N/ha year, leaving an adjacent area with identical crop without sludge application (control plot). Two years after the amendment, no changes have been observed in the physical

and physical-chemical parameters of the amended soils, while there was an increase in all the carbon fractions studied (Cs, TOC and HS) with respect to the control soil.

Only a significant increase in phosphatase enzyme activity and a slight increase in urease of the amended soils relative to the control soil were observed. In general, the incorporation of the sludge increased soil respiration rate and the size of microbial populations. The increase with respect to the control in the abundance of fungi population was much more significant than that of bacterial population. To interpret these results, it is important to note that the applied dose of sludge was not very high (170 kg N/ ha year) as well as the short term of the experiment (2 years). However, the trend is towards a slight improvement in the quality of the soil, which will probably lead to a greater increase in fertility over time.

## **B. MEDIUM TERM EXPERIMENTS**

**Medium-term study of the effect of the application of different amendments on plum cultivation.** The soils of an experimental farm have been sampled in the municipality of Cieza, where for 11 years an organic plum crop has been developed with the addition of different types of amendments: sheep manure compost (CP), pruning residues (RP) and green manure (AV). The compost, in turn, was added annually (CPa) or every two years (CPb).

All plots (except the control plot) received input from the pruned branches of the trees of the same plot, which was incorporated into the ground with the help of a rotovator (approximately 9-10 kg of tree wood<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> equivalent to 5625-6250 kg wood ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>), considering this amendment as pruning remains (RP). The rest of the plots (with the exception of the control plot and with addition of pruning remains), also received the corresponding additional organic amendment (CPa, CPb and AV). Both, the compost and the green manure, were incorporated into the soil by surface tillage while the pruning remains were incorporated with the help of rotovator. The compost was added at a rate of 20 t ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> (CPa) and 20 t ha<sup>-1</sup> every two years (CPb), RP: 5625-6250 kg<sup>-1</sup> wood ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> and AV: 120 kg ha<sup>-1</sup>year<sup>-1</sup>.

Among the results we can highlight that the annual application of animal manure compost improved the physical properties of the soil more significantly than the rest of the amendments, although, in general, all the organic amendments studied improved the soil water holding capacity and porosity with respect to the control soil. Likewise, all the amendments increased both, the amount of total organic C (TOC) and the labile (Cs), and more degradation-resistant (SH) C fractions, with a higher increase in the fraction of SH than in that of Cs, which can be considered as a positive effect of the amendments applied. In general, the activities of different enzymes increased, with the soils treated with compost (CPa and CPb) showing the largest increases, except for the PPO activity, which showed the highest values in the soil amended with green manure (AV). The treatments increased the population of total, Gram<sup>+</sup> and Gram<sup>-</sup> bacteria, and fungi, as well as microbial respiration rate. This, can be understood as a positive effect of the incorporation of the different

organic amendments to the soil, directly related to the available organic carbon provided by these amendments.

In summary, based on the results obtained in this experiment in the medium term (11 years), we can ensure that the incorporation of compost, green manure and pruning remains into the soil represents a valid option in terms of increased C sequestration, quality and fertility of agricultural soils under organic management.

## **C. LONG TERM EXPERIMENTS**

### **C.1. Long-term study of the effect of 16 years of application of alperujo compost on olive cultivation.**

For this study, an experimental farm located in the municipality of Jumilla was selected, where an olive crop with the addition of alperujo compost had been developed for 16 years.

The main objective of this study was the evaluation of the effect of the agronomic application for 16 years of compost of alperujo on the quality of a soil under olive cultivation and the sequestration of C in it. The addition of the compost was carried out on top of the dropper line, near the tree, and with a superficial work, leaving the compost in this way semi buried. Compost had been applied for 16 years of which in the first 12 years 40 kg compost/tree was provided every 4 years, and in the last 4 years 5 kg compost/tree was provided every 2 years.

Among the main results obtained, it should be noted that the incorporation of compost into the soil improved its physical properties thanks to a significant decrease in density, as well as significant increases in parameters such as water holding capacity and aggregate stability. Increases in the different carbon fractions (TOC, Cs and HS) were also observed, which, together with a significant increase in the nitrogen and phosphorus content, contributes to improving the fertility of these soils and stimulating microbial activity, favoring a general increase in the values of the different enzymatic activities in the amended soil with respect to the control soil. This biological activity resulted in an increase in the microbial population respiration rate, as well as in the size of total, Gram<sup>+</sup> and Gram<sup>-</sup> bacteria, and fungi populations in the soil.

It is important to highlight that during the decomposition of the organic matter the mineral N is retained in the soil, there being no nitrate leaching, being the mineralization of C very slow thanks to the nature of the alperujo compost, and therefore, its application in the soil could increase the sequestration of C in it.

### **C.2. Long-term study of the effect of 2 and 16 years of application of biosolarization in pepper**

**cultivation.** This study was carried out in an area in the municipality of San Pedro del Pinatar where biosolarization had been carried out, using animal manure (60% cow+40% sheep), previously composted for 7-8 months with at least two turns, and poultry manure, for 2 and 16 consecutive years, with vegetable cultivation. The organic amendment was applied during the summer months (July-September), and biosolarization was then carried out through the installation of plastics.

The application of the treatment improved the physical and physico-chemical properties of the soil, being greater the effect on the treated soil for a greater number of years (16 years). It also led to a significant increase with respect to the control in the content of total organic C and its soluble (Cs) and more stable (HS) fractions, as well as in the nutrient content, both, in the short (2 years) and long-term (16 years). Precisely this important increase in C fractions resulted, to a greater or lesser extent, in an increase with respect to the soil control of the different enzymatic activities analyzed, with the exception of PPO, as well as microbial respiration and the size of the microbial community.

In short, the biosolarization treatment aimed at the disinfecting of the land, resulted in a valid strategy in the restoration of these degraded agricultural soils since, thanks to the addition of organic matter managed to improve the agronomic properties of the soil as well as stimulate enzyme activities and the development of the microbial community in them, both in the short and in the long term, allowing the development of this type of intensive crop and maintaining its constant production without deteriorating soil quality.

### **4.3. GLOBAL DATA ANALYSIS**

In order to obtain an overview of the results obtained in the different studies carried out, a multivariate analysis of all the analyzed parameters (agronomic, environmental and related to microbial diversity) was carried out taking into view of agricultural and non-agricultural soils both separately and together. From another perspective, a data mining study was carried out which integrated all the results obtained from the different experiments carried out in both agricultural and non-agricultural soils, in order to be able to establish more general conclusions and thus know the effect of organic materials in degraded soils of semi-arid areas, on the factors involved in the construction of a pool of C in the soil under the conditions tested.

Thus, thanks to the use of these statistical tools we can establish global response patterns, in degraded soils of semi-arid zones to the incorporation of organic matter. First, highlight the positive effect of organic amendments on the characteristics of non-agricultural soils, as reflected by the observed increase in carbon stocks in these degraded soils, for all types of amendments tested at different time scales. This effect was influenced both by the nature of the amendment, as well as the degree of stability and the dose applied.

This positive result in the soil after the addition of amendment was also confirmed in the experiments carried out on degraded agricultural soils. Not only was there an improvement in the quality of these soils, thanks to the positive stimulus on enzyme activities related to the C, N and P cycles, which favors the cycle of nutrients in the soil, but under the strategy of managing continuous amendment applications in short-, medium- and long-term trials, it is possible to provide these soils with adequate fertility to ensure the continuity of crops.

Finally, the data mining study has highlighted the importance of the existence of a microbial population in these degraded soils, which could contribute to the construction of a TOC and HS pool, as well as the need for N sources to contribute to this process. Likewise it has been highlighted the close relationship existing

between the characteristics of the organic amendment and the content of organic C and SH in the amended soils. Regarding the fractions of Cs, the use of data mining provides us with information on the relevance of the dose of amendment used. Taking into account that the soils studied are very poor in C, the applied amendment dose is valued, which allows to ensure the availability of the most labile forms of C (Cs). These, in turn, will provide the necessary energy to the microbial populations present, which in this way can contribute to the construction of TOC and HS, so necessary to ensure the sustainability of degraded soils of semi-arid zones.

# **1. INTRODUCCIÓN**



# INTRODUCCIÓN

## EL SUELO COMO RECURSO NATURAL. IMPORTANCIA

El suelo es un recurso natural indispensable para la vida en el planeta, formado a lo largo de miles de años a partir de la roca madre, a través de procesos físicos, químicos y biológicos en los que dicha roca es meteorizada en fragmentos e incorporada junto con restos orgánicos de organismos vegetales y animales (edafogénesis). Por tanto, dado el largo periodo de tiempo necesario para su formación, podemos considerar al suelo como un recurso no renovable, al menos en una escala temporal humana, y de ahí la necesidad de protegerlo y conservarlo para las generaciones presentes y futuras.

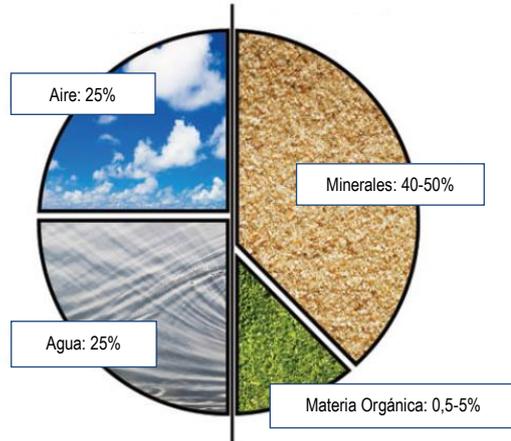
El suelo es un elemento natural muy complejo que puede presentar muchas variantes dependiendo de la orografía y clima de la región geográfica, de las transformaciones y manejo a que haya sido sometido por el ser humano, etc. Está constituido por materia mineral (arena, limo y partículas arcillosas), materia orgánica, aire, agua (Cooperband, 2002) y organismos vivos (lombrices, algas, bacterias y hongos), entre los que se establece un intercambio continuo mediante procesos físicos, químicos y biológicos. La composición y función de cada una de estas fracciones se indican en la Tabla 1.1.

**Tabla 1.1.**-Composición y función de las diferentes fracciones del suelo

Fracción suelo	Composición	Función
Mineral	Arena+limo+arcillas	Textura
Agua	Minerales disueltos	Principal fuente de agua y nutrientes
Aire	O <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> , CO, CO <sub>2</sub>	Proporciona el oxígeno necesario para las raíces de las plantas y microorganismos
Materia orgánica	Restos de animales y plantas en diferentes estadios de descomposición	Principal fuente de C y nutrientes

Por tanto, no es un ente estático, sino que mantiene un equilibrio dinámico con el medio que le rodea, con procesos continuos de síntesis y degradación, derivados fundamentalmente de la actividad de su biota y de su acción sobre los compuestos orgánicos. El suelo necesita de unas condiciones mínimas adecuadas que le permitan llevar a cabo sin problemas aquellas funciones suficientes para su mantenimiento y conservación, así como para la producción de alimentos, y para el mantenimiento de la calidad ambiental local, regional y global (Doran y col., 1999), y de esto dependerá el mantenimiento de su calidad y fertilidad.

Los servicios proporcionados por el suelo están principalmente determinados por sus tres propiedades (textura, mineralogía y materia orgánica), las cuales, juntas, forman el capital natural del suelo (Palm y col., 2007). La textura y mineralogía son propiedades inherentes del suelo, que se heredan de los materiales originales que lo forman y que solo cambian muy lentamente con el tiempo, mientras que la materia orgánica, en su estado natural, alcanza el equilibrio con el ambiente del suelo del cual forma parte, pero responde rápidamente a los cambios inducidos por el hombre, por lo tanto, su gestión es fundamental para la sostenibilidad de éste (Figura 1.1).



**Figura 1.1.**-Proporciones de las diferentes fracciones que forman el suelo

La importancia del suelo radica en las esenciales funciones que desempeña, siendo la base no sólo para la agricultura y para los diferentes ecosistemas, sino que de él depende toda la vida del planeta. De acuerdo con Doran y Safley (1997) estas funciones las podemos agrupar en:

a) Ecológicas:

- Es el soporte físico de una vegetación estable y de la producción de biomasa (comida, fibra, energía).
- Juega un papel crítico en el mantenimiento de la calidad del aire y de los ecosistemas, debido a su capacidad de filtrar, amortiguar y transformar compuestos tóxicos para proteger el ambiente y los nacimientos de agua de la contaminación.
- Desempeña un papel esencial en el almacenamiento de agua y nutrientes para las plantas y microorganismos, proporcionándoles un hábitat adecuado, al tiempo que es un reservorio genético para plantas, animales y organismos que deben ser protegidos de la extinción.

b) Relacionadas con la actividad humana:

- Constituye un medio físico que sirve de base espacial para estructuras técnicas e industriales y actividades socioeconómicas.
- Es fuente de materia prima y suplemento de agua, arcilla, arena, grava, y minerales, entre otros.
- Es parte de la herencia cultural al contener restos arqueológicos y paleontológicos importantes para preservar la historia de la tierra y de la humanidad.

El suelo juega un importantísimo papel en la sostenibilidad de los ecosistemas, tanto naturales como agrarios, en los que constituye un reservorio temporal en el ciclo del agua, a la que filtra y depura en su recorrido hacia los acuíferos. Además, sirve de soporte a todos los seres vivos del ecosistema, vegetales y animales, a los que suministra el agua y los nutrientes que necesitan para el desarrollo completo de su ciclo vital. La calidad del suelo se relaciona con su capacidad para desarrollar estas funciones en el ecosistema. Todas ellas

dependen, en gran medida, del contenido en materia orgánica, cuyo componente principal es el carbono orgánico.

Para destacar su importancia, 2015 fue declarado Año Internacional de los Suelos por las Naciones Unidas. Se destacaron aspectos tan importantes como:

### **1) La tierra saludable alimenta al mundo**

El suelo es donde comienza la alimentación. Compuesto de minerales, agua, aire y materia orgánica, el suelo proporciona el ciclo de nutrientes primarios para la vida vegetal y animal, y actúa como una base para la alimentación, combustibles, fibras y productos médicos, así como para muchos servicios ecosistémicos esenciales.

### **2) El suelo, como el petróleo o el gas natural, es un recurso finito**

El suelo es un recurso natural no renovable-su pérdida no es recuperable en el marco de tiempo de una vida humana. Un centímetro de suelo puede tardar cientos de miles de años en formarse desde la roca madre, pero este centímetro de suelo puede desaparecer en el plazo de un año a través de la erosión.

Las malas prácticas agrícolas como laboreo intensivo, eliminación de la materia orgánica, irrigación excesiva utilizando agua de mala calidad y el uso excesivo de fertilizantes, herbicidas y pesticidas, agotan los nutrientes del suelo más rápido de lo que son capaces de formarse, lo que lleva a la pérdida de la fertilidad del suelo y a la degradación del mismo.

### **3) El suelo puede mitigar el cambio climático**

El suelo constituye la mayor reserva de carbono orgánico terrestre, más del doble de la cantidad almacenada en la vegetación. Además de ayudar a suministrar agua potable, evitar la desertificación y proporcionar resiliencia a las inundaciones y la sequía, el suelo mitiga el cambio climático a través del secuestro de carbono y la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero.

### **4) El suelo es un ser vivo, lleno de vida**

El suelo alberga la cuarta parte de la diversidad biológica del planeta. Hay literalmente miles de millones de microorganismos tales como bacterias, hongos y protozoos en el suelo, así como miles de insectos, ácaros y gusanos. Hay más organismos en una cucharada de suelo sano que gente en el planeta.

### **5) Invertir en la gestión sostenible de los suelos tiene sentido económico y ambiental**

La gestión sostenible del suelo cuesta menos que la rehabilitación o la restauración de las funciones del suelo. La sostenibilidad implica, tanto altos rendimientos que se pueden mantener en el tiempo, como un impacto medioambiental aceptable de la gestión agrícola. Así, Tilman y col., (2002) definen una gestión “*agrícola sostenible*” como aquella gestión que permite satisfacer las necesidades actuales y futuras de la sociedad en materia de alimentos, piensos, servicios del ecosistema y salud, maximizando el beneficio neto para la población.

## Los microorganismos del suelo

La mayoría de la biomasa viviente de nuestro planeta se alberga en el suelo, dónde los microorganismos emplean la materia orgánica o mineral como fuente de nutrientes y energía. Es por ello, que los microorganismos desempeñan un papel fundamental en los suelos, ya que son los últimos responsables del estado de la materia orgánica y, en general, del desarrollo y funcionalidad de un ecosistema terrestre (Simth y Panpendick, 1993).

Una de las funciones más importantes de los microorganismos del suelo consiste en descomponer las diversas clases de materia orgánica de origen vegetal o animal: estiércol, rastrojos, hojas, raíces, restos de animales, productos del metabolismo humano y animal, fertilizantes, etc....La capacidad de un suelo para descomponer restos vegetales está substancialmente controlada por la abundancia, composición (ej. relación hongos:bacterias) y actividad de las comunidades microbiológicas del suelo y por las interacciones microorganismos del suelo-planta (Ochoa-Hueso y col., 2019). Los hongos descomponen residuos de baja calidad y compuestos orgánicos recalcitrantes más eficientemente que las bacterias (Van der Wal y col., 2013) y por lo tanto, se asocian a suelos en condiciones de menor fertilidad y más sequedad (Schiwinning y Sala, 2004). Por otro lado, las bacterias prosperan en ambientes dónde domina las entradas de formas más lábiles de C (Fierer y col., 2012).

Los microorganismos del suelo actúan en general, a través de actividades extracelulares hidrolíticas capaces de descomponer compuestos complejos en estructuras más sencillas (glucosa, almidón, etc...) que pueden ser empleados como nutrientes por ellos mismos y otros organismos. Intervienen activa y directamente en ciclos geoquímicos de nutrientes, como el del C, el del N, el del P y el del S, que son los más conocidos, estableciendo con ello las condiciones idóneas para el desarrollo de una cobertura vegetal estable. También intervienen en una buena cantidad de procesos y reacciones que tienen que ver con la nutrición vegetal, como por ejemplo, en la tasa neta de mineralización del N ( $N_{min}$ ), que es un factor crítico en la disponibilidad de nitrógeno en el suelo para el crecimiento vegetal. Los cambios en la biomasa microbiana del suelo tienen un profundo impacto sobre el  $N_{min}$ . Así, las variaciones en  $N_{min}$  del suelo se atribuyen en primer lugar a cambios en la biomasa microbiana del suelo seguidos por cambios en el uso del suelo (Li y col., 2018). Además, los microorganismos al morir, enriquecen el suelo y aumentan su fertilidad.

Por otro lado, esta actividad microbiológica puede estar afectada por numerosos factores que, en último término, dependen de la estructura del suelo, tales como la humedad, temperatura, etc. Ya que la humedad del suelo es un fuerte determinante de la actividad microbiológica del mismo (Schiwinning y Sala, 2004), también se puede esperar que cambios en la disponibilidad de agua, asociados con el cambio climático previsto, influyan en la descomposición de los residuos orgánicos (García-Palacios y col., 2013).

La actividad de los microorganismos del suelo es determinante en la ganancia o pérdida de fertilidad de los suelos, así como en la velocidad con que se puede restaurar un suelo deteriorado, y en la posibilidad de que pueda ser restaurado. El cambio climático global afectará a estos procesos de forma que es necesario

conocer mejor en qué medida los puede deteriorar. A su vez, el suelo se encuentra sometido cada vez a una mayor presión, debido al aumento de la población mundial. Por este motivo, es de gran importancia conocer cómo los cambios en el uso del suelo, pueden afectar al pool de microorganismos que viven en él, ya que estos ayudan a mantener su fertilidad.

El estado biológico del suelo es el que se ve afectado en primer lugar cuando el suelo sufre alguna degradación, y como consecuencia se ve disminuido el poder productivo del mismo. Es importante destacar la relevancia de los microorganismos y de su actividad en la calidad de un suelo, y, por tanto, en su conservación y mantenimiento, así como en su recuperación cuando se encuentra sometido a procesos degradativos.

Los efectos directos de la sequía están frecuentemente asociados con una reducción en las tasas de descomposición, debido a efectos inhibitorios sobre la actividad y biomasa microbiana (Walter y col., 2003; Sanaullah y col., 2012) mientras que, en cambio, un incremento en las precipitaciones resulta en un aumento de la actividad microbiana e inmovilización de nutrientes (Sponseller, 2007), resultando en mayor descomposición (Djukic y col., 2018). La escasa actividad microbiana de los suelos degradados incidirá negativamente en su calidad, fertilidad, y productividad natural, ya que los ciclos biogeoquímicos de los elementos importantes en el suelo se desarrollan en los suelos degradados con enorme dificultad.

Todo tipo de vida depende de la calidad del suelo para su supervivencia, por lo que su protección es fundamental. Por ello, es importante contar con indicadores que permitan evaluar su calidad y de esta forma aplicar un manejo adecuado del suelo.

### **Materia orgánica de los suelos**

Se conoce como materia orgánica del suelo a un conjunto de residuos orgánicos de origen animal y/o vegetal, que están en diferentes etapas de descomposición, y que se acumulan tanto en la superficie como dentro del perfil del suelo (Rosell, 1999). Además, incluye una fracción viva, o biota, que participa en la descomposición y transformación de estos residuos orgánicos (Aguilera, 2000).

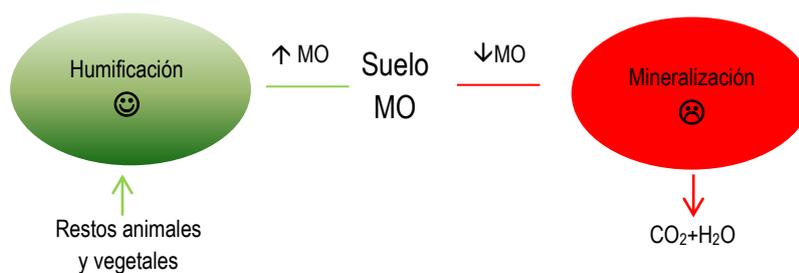
Durante su génesis, los animales muertos, así como el material vegetal empiezan a descomponerse tan pronto como son incorporados al suelo. Lombrices de tierra, escarabajos, colémbolos, macro y meso fauna, comienzan a romper los trozos grandes de detritus en trozos pequeños. Al mismo tiempo, la población microbiana incrementa, así como los subproductos microbianos (Courtier-Murias y col., 2013; Plaza y col., 2013; Lehman y Kebler, 2015). Estos microorganismos, que consumen también restos vegetales y animales, después mueren, pasando a formar parte de la materia orgánica. La mayoría de ésta se localiza cerca de la superficie del suelo, más que en profundidad (Cooperband, 2002).

Asimismo, las raíces de las plantas se convierten en materia orgánica a medida que sus células se desprenden o mueren (Cooperband, 2002). Éstas, también juegan un importante papel, controlando la dinámica de la materia orgánica del suelo a través de sus efectos sobre la agregación y el movimiento del C

en profundidad. Las entradas de C de la planta al suelo a través de la exudación de las raíces es una de las principales fuentes de carbono disponible para los microorganismos (Luo y col., 2014).

La materia orgánica desempeña un papel clave en el desarrollo y funcionamiento de los ecosistemas terrestres, así, tanto la calidad como la cantidad de la materia orgánica es bastante importante. La calidad de la materia orgánica está relacionada con el proceso implicado en su formación (humificación) y con el material del cual procede. Respecto a la cantidad, la materia orgánica en el suelo debería ser casi constante, existiendo un balance entre el aporte de restos de origen animal y fragmentos vegetales (material dirigido al proceso de humificación) y las pérdidas de materia orgánica produciendo  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$  (proceso de mineralización) (Bastida y col., 2008 b), (Figura 1.2).

La materia orgánica de un ecosistema maduro presenta un estado de evolución permanente, que tiende a alcanzar un equilibrio dinámico cuando las entradas de carbono al suelo, por los aportes de los residuos vegetales y animales, son iguales a las salidas, debidas a los procesos de mineralización y lixiviación de sus fracciones solubles (Schulze y Freibauer, 2005).



**Figura 1.2.** -Balance proceso humificación/mineralización de la materia orgánica del suelo

Una alteración de tal equilibrio debido al manejo del suelo (Kandeler y col., 1999 b; Conant y col., 2004), mal uso o deterioro del terreno (erosión, salinización, alcalinización o degradación del suelo), incremento del uso no agrícola (urbanizaciones y construcciones de autopistas) (Masciandaro y col., 2018) y presiones climáticas, pueden alterar los stocks de C en el suelo y potencialmente causar su degradación, afectando por tanto a la sostenibilidad del planeta.

La materia orgánica del suelo es con frecuencia considerada como el hilo que enlaza las propiedades biológicas, químicas y físicas del suelo, influyendo directamente en su calidad, ya que está implicada en numerosas funciones, tal como se indica en la Tabla 1.2.

---

**Tabla 1.2.-Funciones de la materia orgánica en el suelo**

---

1. Almacén y suministro de nutrientes a las plantas (NPK y otros macro y micronutrientes). Incremento de la capacidad de intercambio catiónico
  2. Estabiliza y favorece la agregación de las partículas del suelo
  3. Ayuda al suelo a resistir la compactación, favoreciendo la infiltración de agua y reduciendo la escorrentía
  4. Ayuda al crecimiento de los cultivos, mejorando la capacidad del suelo para la reserva y difusión del aire y agua, determinado por la mejora en su porosidad, capacidad de retención hídrica y resistencia a la sequía
  5. Favorece la penetración de las raíces de las plantas favoreciendo así la absorción de nutrientes y el desarrollo vegetal
  6. Fuente de C y energía para los microorganismos del suelo implicados en los ciclos de nutrientes y en la lucha contra enfermedades
  7. Reduce el impacto medioambiental negativo de los pesticidas, metales pesados y otros contaminantes
- 

En función del tiempo de incorporación, la materia orgánica se divide en dos grupos:

**a) Fracciones que se incorporan de forma rápida-media**, más fácilmente degradables, que se producen por la despolimerización de la materia orgánica fresca catalizada por las enzimas del suelo. Esta fracción está compuesta por productos químicos de bajo peso molecular que suelen ser solubles en agua (proteínas, ácido ribonucleico, carbohidratos y aminoácidos) y por lo tanto más accesibles para los microorganismos como fuente de energía, C y nutrientes. Esta fracción suele tener un tiempo de residencia medio que abarca desde meses hasta décadas y constituye el 40% del total de la materia orgánica del suelo.

**b) Fracciones más recalcitrantes que se incorporan lentamente.** Esta fracción es resistente a la descomposición y representa el reservorio de energía a largo plazo, que sirve para sostener el sistema y contribuye a la formación de agregados del suelo y a la resistencia contra la erosión (Grandy y Neff, 2008). Esta fracción tiene un tiempo de residencia de siglos a milenios, y está formada en gran cantidad por sustancias húmicas y otras macromoléculas orgánicas resistentes al ataque microbiano y que están físicamente protegidas por asociaciones superficiales o agregadas con minerales o capas de arcilla (Mikutta y col., 2006). Estas formas de materia orgánica estabilizada pueden actuar como una esponja, absorbiendo hasta seis veces su peso en agua (Lewandowski, 2017). Las sustancias húmicas son componentes críticos de larga duración de los sistemas naturales del suelo persistiendo por cientos e incluso miles de años (Mayhew, 2004).

Muchos de los nutrientes usados por las plantas son retenidos en la materia orgánica hasta que los microorganismos del suelo descomponen el material y liberan amonio y otros nutrientes disponibles para las plantas.

La materia orgánica del suelo es especialmente importante, proporcionando nitrógeno, fósforo, azufre y hierro. También afecta al ciclo de los nutrientes por quelación de los mismos (retención química), evitando que se vuelvan insolubles y por tanto no disponibles para las plantas (Lewandowski, 2017).

A pesar de su pequeño porcentaje, la materia orgánica es la base de un suelo saludable y productivo. La fertilidad, la tendencia a la erosión, la compactación del suelo, e incluso su resistencia a insectos y enfermedades dependen de la materia orgánica del suelo.

Se reconoce pues la importancia del C orgánico en los suelos (calidad y fertilidad), y la necesidad de que alcance unos valores umbrales suficientes para poder gestionar las funciones que dicho suelo debe hacer. Esa importancia será aún mayor en suelos degradados y frágiles bajo climas semiáridos.

Los ecosistemas áridos y semiáridos tienen escasa vegetación y por tanto, menos acumulación de C que otros ecosistemas, pero se estima que contienen el 20% del pool global de C (orgánico+inorgánico) en áreas continentales (Ramussen y col., 2006).

Globalmente, las mayores concentraciones y stocks de C orgánico en el suelo están en humedales y turberas (Köchy y col., 2015). Las concentraciones de C orgánico del suelo en zonas secas son marcadamente inferiores, con frecuencia representan menos del 0,5% de la masa del suelo, resultando en unas densidades de 0-15 kg m<sup>-2</sup> (Lal, 2004). Sin embargo, debido a la gran extensión de estos ecosistemas secos, la cantidad de C orgánico almacenada en estos suelos es significativa en el contexto global del ciclo de C (Lal, 2004).

En particular, se estima que el C orgánico presente en áreas secas supone un 33% del C orgánico global contenido en la capa superior de 1 m del suelo. Este C orgánico se reparte en un 26% en suelos hiperáridos mientras que el 74% restante se localiza entre los suelos semiáridos y seco-subhúmedos.

En cuanto al C inorgánico, en zonas secas se concentra el 97% del stock mundial, repartido el 80% en suelos hiperáridos y áridos, y el 20% restante del stock en suelos semiáridos y seco sub-húmedos.

La estimación actual de los stocks de C en zonas secas son todavía pobres ya que se obtienen de bases de datos de suelo que pueden no representar a algunas regiones (Köchy y col., 2015). Más aún, los datos del perfil del suelo no son obtenidos con una metodología consistente y generalmente no incluye capas de suelo de más de un metro de profundidad (Darrouzet-Nardi, 2013).

No obstante, la mayor parte del C en suelos secos se cree que reside en la capa superficial (Ciais y col., 2011), haciéndolo altamente vulnerable al cambio climático y a los procesos de erosión (Plaza y col., 2013).

El conocimiento del stock mundial de C orgánico y su distribución espacial, es esencial para entender su vulnerabilidad al cambio global y poder desarrollar estrategias para recuperar, preservar o mejorar los servicios proporcionados por sus ecosistemas (Plaza y col., 2013).

## Indices de calidad del suelo

El suelo es un recurso indispensable para la vida que permite el desarrollo de plantas, los animales y el hombre. Según Atlas y Bartha (2002) y Nannipieri y col., (2003) *“el suelo es un sistema estructurado, heterogéneo y discontinuo, fundamental e irremplazable, desarrollado a partir de una mezcla de materia orgánica, minerales y nutrientes capaces de sostener el crecimiento de los organismos y microorganismos”*.

Sin embargo, la calidad del suelo no es fácil de definir. En los últimos años se han propuesto nuevas definiciones que integran las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos, así como su capacidad para ser sostenibles, producir alimentos sanos y mitigar la contaminación medioambiental.

La calidad del suelo se considera como una medida de su capacidad para funcionar adecuadamente en relación con su uso específico (Gregorich y col., 1994). Sin embargo, definiciones posteriores de calidad del suelo se basan en varias de sus funciones y no solo en su uso específico.

Así, el Comité para la Salud del Suelo de la *Soil Science Society of America* sintetizó esta definición como *“la capacidad del suelo para funcionar dentro de los límites de un ecosistema natural o manejado, sostener la productividad de las plantas y los animales, mantener o mejorar la calidad del aire y del agua, y sostener la salud humana y el hábitat”* (García y col., 2012 a).

Como no existen criterios universales para evaluar los cambios en la calidad del suelo, surgen “indicadores” que son atributos edáficos sensibles al manejo y a las condiciones edafoclimáticas, entre otras características, que permiten valorar su estado (García y col., 2012 b).

Pero, ¿qué condiciones deben cumplir los indicadores de calidad del suelo?. Ya que existen muchas propiedades alternativas para evaluar la calidad del suelo, Larson y Pierce (1991), Doran y Parkin (1994) y Seybold y col., (1997) plantearon un conjunto mínimo de propiedades del suelo para ser usadas como indicadores y evaluar los cambios que ocurren en el suelo a lo largo del tiempo.

La identificación efectiva de indicadores apropiados para evaluar la calidad del suelo depende del objetivo, que debe considerar los múltiples componentes de la función del suelo, en particular el productivo y el ambiental (Bautista y col., 2004). Los indicadores físicos de la calidad del suelo varían de acuerdo con las características predominantes del lugar y el manejo, lo cual es válido también para los indicadores químicos y biológicos.

En la Tabla 1.3 se muestran los indicadores de la calidad del suelo que más se emplean a nivel mundial.

**Tabla 1.3.-**Conjunto de indicadores físicos, químicos y biológicos de la calidad del suelo

<b>Indicador</b>	<b>Relación con las funciones y condiciones del suelo</b>
<b>Físicos</b>	
Textura del suelo	Retención y transporte de agua y compuestos químicos, erosión del suelo
Profundidad del suelo	Estimación del potencial productivo y de erosión
Infiltración y densidad aparente	Potencial de lixiviación, productividad y erosión
Capacidad de retención hídrica	Relacionado con el contenido de humedad transporte y erosión
Estabilidad de agregados	Erosión potencial de un suelo, infiltración de agua
<b>Químicas</b>	
Materia orgánica (C y N orgánico)	Fertilidad del suelo, estabilidad y grado de erosión. Potencial productivo
pH	Actividad química y biológica, límites para el crecimiento de las plantas y actividad microbiológica
Conductividad eléctrica	Actividad microbiológica y de las plantas, límites para el crecimiento de las plantas y la actividad microbiológica
P, N y K extraíble	Disponibilidad de nutrientes para las plantas y pérdida potencial de N, indicadores de productividad y calidad ambiental
Capacidad de intercambio catiónico	Fertilidad del suelo y potencial productivo
Metales pesados disponibles	Niveles de toxicidad para el crecimiento de la planta y la calidad del cultivo
<b>Biológicas</b>	
Biomasa microbiana (C y N)	Potencial catalizador microbiano y reposición de C y N
N potencial mineralizable	Productividad del suelo y aporte potencial de N
Respiración edáfica, contenido de agua, temperatura del suelo	Medición de la actividad microbiana
Número de lombrices	Relacionado con la actividad microbiana
Rendimiento del cultivo	Producción potencial del cultivo, disponibilidad de nutrientes

Fuente: De Chen (2000) modificado por Acevedo y col., 2005

## **SERVICIOS ECOSISTEMICOS DE LOS SUELOS**

El suelo es un recurso finito, lo que implica que su pérdida y degradación no son reversibles en el curso de una vida humana. En cuanto componente fundamental de los recursos de las tierras, del desarrollo agrícola y de la sostenibilidad ecológica, es la base para la producción de alimentos, piensos, combustibles y para muchos servicios ecosistémicos esenciales.

La superficie natural de los suelos productivos es limitada y se encuentra sometida a una creciente presión, debido a la intensificación y el uso competitivo que caracteriza el aprovechamiento de los suelos con fines agrícolas, forestales, pastorales y de urbanización.

En función del manejo del suelo, se tiende a diferenciar los tipos de suelos y sus características. De esta manera se podrán definir intervenciones específicas para cada uno de ellos, con la intención de mejorar su calidad según el uso seleccionado. Las prácticas específicas de manejo del suelo son necesarias para la protección y conservación de sus recursos. Además, existen intervenciones concretas que consiguen aumentar el almacenamiento de carbono en el suelo y mitigar el cambio climático.

## El suelo y servicios ecosistémicos

El suelo es uno de los hábitats más ricos en especies de los ecosistemas terrestres y realiza diversas funciones (producción de biomasa, mantenimiento del balance hídrico, reciclado químico y almacenamiento de agua) (Blum, 2005). Un ecosistema es una combinación compleja y dinámica de plantas, animales, microorganismos y el entorno natural, donde existen juntos como una unidad y dependen unos de otros. Los ecosistemas sustentan todas las actividades y la vida de los seres humanos. Los bienes y servicios que proporcionan son vitales para el bienestar y el desarrollo económico y social en el futuro.

Los ecosistemas de la Tierra dan a la Humanidad toda una serie de beneficios, conocidos como “*bienes y servicios ecosistémicos*”, que son los servicios que las personas recibimos de los ecosistemas y que mantienen directa o indirectamente nuestra calidad de vida. Muchos de estos servicios están proporcionados por el suelo.

“*La Evaluación de los Ecosistemas del Milenio*” (M.A., 2005) es el estudio global más exhaustivo realizado hasta la fecha sobre el estado de los ecosistemas del mundo. Según este estudio los ecosistemas proporcionan al ser humano diferentes tipos de servicios: 1) de provisión o abastecimiento (alimentos, agua, energía); 2) de regulación (como la purificación del agua y la regulación climática); 3) culturales (educación, ocio) y 4) esenciales, que engloba todos los servicios (ciclo de nutrientes, formación del suelo), (Figura 1.3).

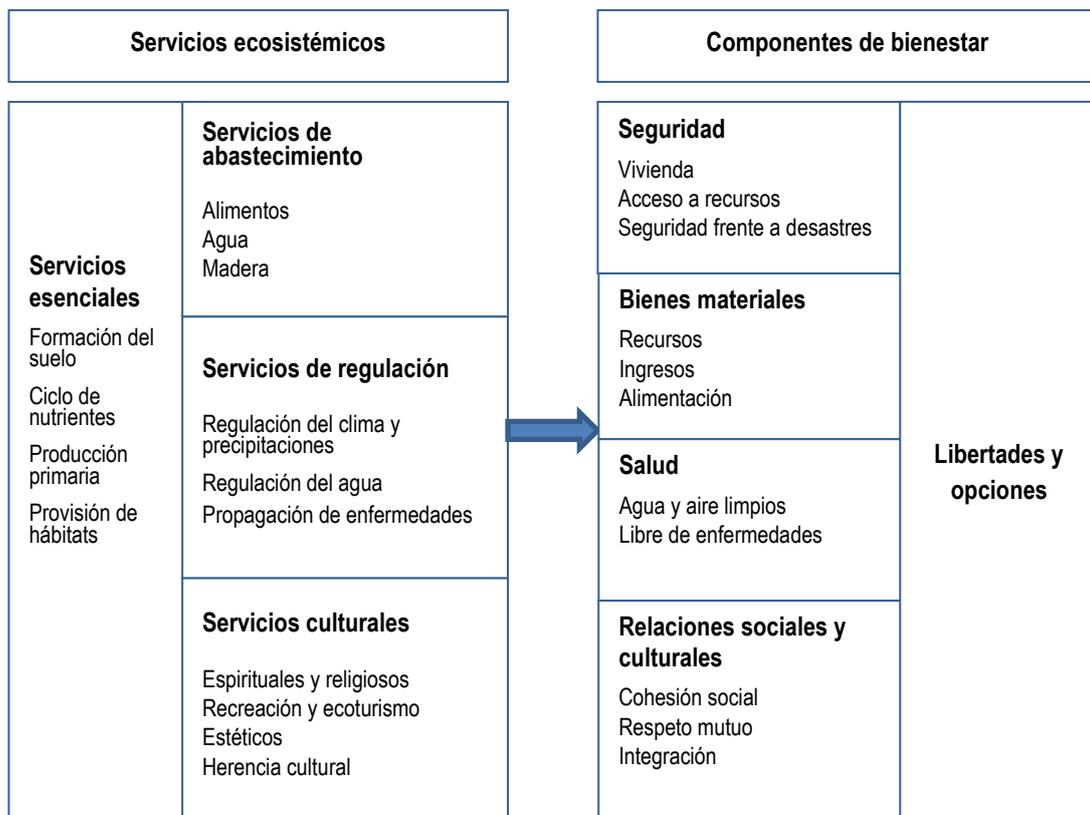


Figura 1.3.-Clasificación de los Servicios Ecosistémicos (M.A., 2005)

Los servicios de abastecimiento se pueden valorar económicamente, sin embargo los de regulación (calidad del aire y del agua, mitigación del cambio climático, protección y formación de suelo) y los servicios culturales (recreativos, estéticos, espirituales), que son igualmente importantes para el bienestar humano, no siempre son valorados y considerados en la toma de decisiones (Marañón y Madejón, 2016).

La biodiversidad, esencial para la supervivencia de los ecosistemas, está amenazada, y ya se ha perdido gran parte de ella. Los cambios en los usos del suelo, como la intensificación de la agricultura y la urbanización, la sobreexplotación, la contaminación, el cambio climático, etc, son todos ellos causantes de daños a los ecosistemas naturales. Una vez destruidos, su restauración suele ser muy costosa, y en ocasiones, imposible.

Los suelos aportan servicios ecosistémicos que permiten la vida en la Tierra (FAO, 2015) tales como:

1. Suministro de alimentos, fibras y combustibles
2. Retención de carbono
3. Purificación del agua y reducción de contaminantes del suelo
4. Regulación del clima
5. Ciclo de nutrientes
6. Hábitat para organismos
7. Regulación de inundaciones
8. Fuente de productos farmacéuticos y recursos genéticos
9. Base para las infraestructuras humanas
10. Suministro de materiales de construcción
11. Herencia cultural

Los suelos son importantes para el bienestar humano. Sin embargo, en los estudios globales de evaluación de servicios ecosistémicos no han sido considerados con suficiente atención. Las propiedades del suelo, que pueden ser inherentes o manejables, influyen sobre los procesos que representan la capacidad del sistema de proveer servicios. Los beneficios producidos por estos servicios son valorados por los individuos y la sociedad de una forma explícita o implícita. Estas valoraciones influyen en la toma de decisiones y en la mejora de la gestión del suelo.

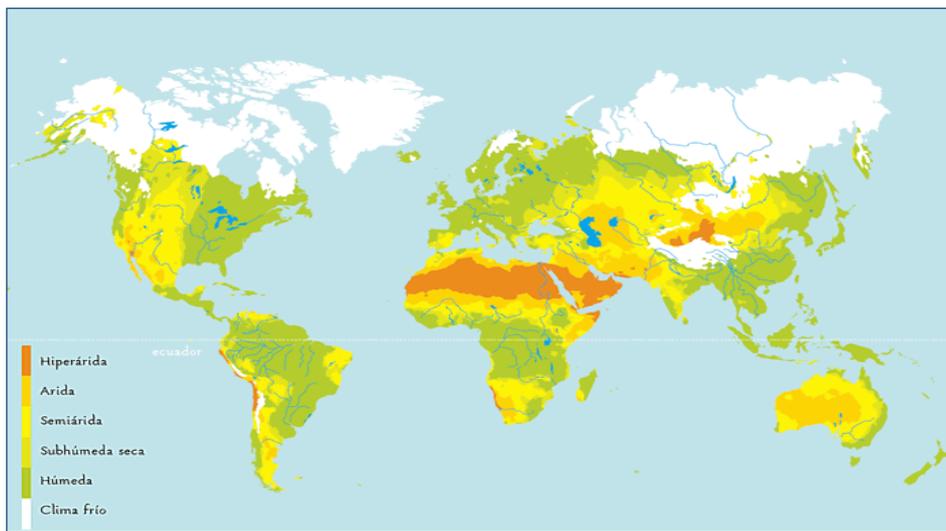
## **SUELOS SEMIÁRIDOS: INTERÉS Y PROBLEMÁTICA**

Según el Programa de Medio Ambiente de Naciones Unidas (UNEP) las áreas terrestres del planeta se pueden clasificar en función del Índice de aridez (I). Este Índice es el resultado del cociente entre las precipitaciones anuales (mm), (P), y la evapotranspiración potencial media anual (mm), (PE), de un área de la superficie terrestre ( $I=P/PE$ ). Según los valores del Índice de aridez las áreas del planeta pueden presentar diferentes climas, como se indica en la Tabla 1.4.

**Tabla 1.4.**-Clasificación del clima según Índice de Aridez (I), (UNEP)

Valores Aridez (I)	Clima
>0,65	Húmedo
0,65-0,5	Subhúmedo seco
0,5-0,2	Semiárido
0,2-0,05	Árido
<0,05	Hiperárido

De ellos, las zonas áridas ocupan  $6,31 \times 10^9$  ha o 47% de la superficie terrestre (UNEP, 1992) y se encuentran distribuidas en cuatro tipos de climas: hiperárido ( $1,0 \times 10^9$  ha), árido ( $1,62 \times 10^9$  ha), semiárido ( $2,37 \times 10^9$  ha) y subhúmedo seco ( $132 \times 10^9$  ha) (Figura 1.4).



**Figura 1.4.**-Mapa Mundial de las zonas áridas

(Fuente: Hispagua. Sistema Español de Información sobre el agua. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente)

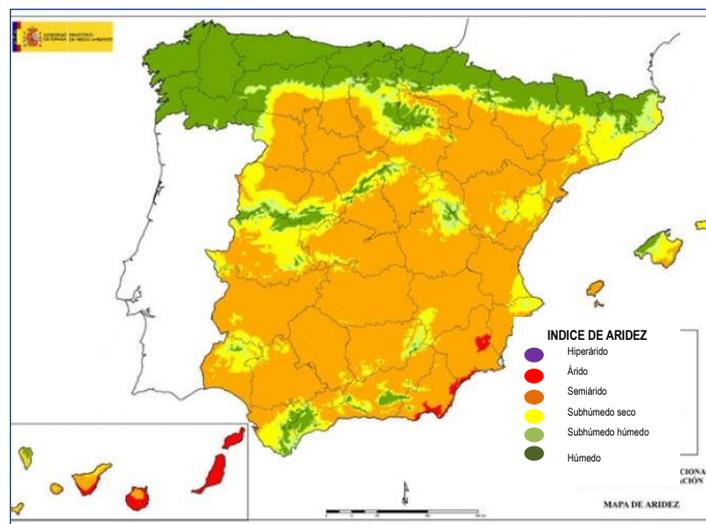
En el plano ambiental, dado la extensa superficie que ocupan, presentan especial importancia las regiones semiáridas, que se caracterizan por precipitaciones bajas, poco frecuentes, irregulares e impredecibles, grandes variaciones entre la temperatura diurna y nocturna, suelos pobres en materia orgánica, escasez de agua disponible para el consumo, vegetación y animales adaptados a las condiciones climáticas (resistentes al calor y a la escasez de agua) ([www.hispagua.cedex.es](http://www.hispagua.cedex.es)).

La desertificación es el principal problema en estas zonas. Desertificación y degradación del suelo no son sinónimos. En un sentido muy amplio se entiende por **degradación del suelo** la disminución de su capacidad para producir biomasa. La FAO la define como un “proceso que rebaja la capacidad actual del suelo para producir bienes y servicios”, mientras que la Convención de Naciones Unidas para combatir la Desertificación (UNCED) la define como “la reducción o pérdida de la productividad y diversidad biológica o económica de las tierras de cultivo, las praderas, los pastizales y los bosques, disminuyendo su capacidad para mantener ya sea la vegetación natural, como así también los cultivos hechos por el hombre”. La degradación del suelo es,

en definitiva, la disminución de su capacidad para soportar vida, no solo la vegetal, que es la más aparente, sino también la de la microflora y de la fauna propia del suelo.

Por otro lado, en el contexto de la Agenda 21, la **desertificación del suelo** es definida como “*degradación del terreno en las zonas áridas, semiáridas y subhúmedas secas como consecuencia de diversos factores tales como las variaciones climáticas y las actividades humanas*” (UNCED, 1992). Por tanto, **la degradación del suelo tiene lugar en muchos lugares del mundo, pero solo se define como desertificación cuando se produce en las regiones secas.**

Según la Convención de Lucha contra la Desertificación (CLD), en cuanto al ámbito geográfico, las zonas susceptibles de sufrir desertificación son las áreas áridas, semiáridas y subhúmedas secas (es decir aquellas zonas donde la proporción entre la precipitación anual y la evapotranspiración potencial está comprendida entre 0,05 y 0,65). Así, de acuerdo a estos valores, amplias zonas de la geografía española se encuentran potencialmente afectadas por el proceso de desertificación (Figura 1.5).



**Figura 1.5.-Mapa de Aridez de España (Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2016)**

De hecho, más de dos terceras partes del territorio español pertenecen a las categorías de áreas áridas, semiáridas y subhúmedas secas (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2016).

La Convención de las Naciones Unidas para la Lucha contra la Desertificación insiste en el hecho de que la “desertificación” es causada por interacciones complejas entre factores físicos, biológicos, políticos, sociales, culturales y económicos. En estas áreas, la acción inducida por el hombre y las condiciones naturales contribuyen a la pérdida de materia orgánica del suelo, lo cual está estrechamente ligado a la degradación y desertificación del suelo. Todo ello causa una disminución en la productividad agraria y conduce al fracaso de estos ecosistemas (Adhikari y Hartemik, 2016).

Así, la degradación del terreno es un fenómeno complejo que se produce cuando factores biofísicos, económicos, sociales, culturales e institucionales actúan sinérgicamente para producir y afianzar la desertificación a largo plazo (Reynolds y col., 2011).

En las zonas secas, el suelo y la vegetación, pueden verse afectados de forma significativa por el viento y la erosión hídrica (Sivakumar, 2007). El cambio climático puede agravar el estado de los suelos de estas zonas al perjudicar el desarrollo vegetal, debido a la reducción de las precipitaciones y el incremento de la temperatura, lo que reduce los inputs de C al suelo, acelerando potencialmente su degradación (Bisaro y col., 2014).

Todo ello produce que la desertificación tenga serias consecuencias sobre el medio ambiente (Figura 1.6) tales como:

- Pérdida de materia orgánica debido a la sobreexplotación agrícola
- Pérdida de la superficie de los suelos debido a la erosión producida por los vientos y las lluvias, particularmente a causa de la pérdida de vegetación
- Deslizamientos de terreno debido a la acción del agua y a los efectos de la pérdida de vegetación
- Incremento en la salinidad y acidificación de los suelos debido a los sistemas de irrigación
- Contaminación de los suelos por el exceso de fertilizantes



**Figura 1.6.-Consecuencias de la desertificación en el medio ambiente**

En el caso de la Región Mediterránea, en la que nos encontramos, todas las predicciones climatológicas informan sobre un aumento de las temperaturas y un descenso de las precipitaciones (IPCC, 2014). Según Quereda y col., (2000), las regiones españolas donde mayores reducciones de precipitación se han registrados desde mediados del S. XIX son precisamente el sur y el sureste peninsular. Los cambios en el clima provocados por el sumatorio de estos factores en estas zonas, pueden inducir alteraciones en estos ecosistemas terrestres a diferentes escalas.

## **Amenazas sobre la sostenibilidad, calidad y salud de los suelos semiáridos. Pérdida de materia orgánica**

Un **uso sostenible** del suelo es el que permite mantenerlo como recurso de manera que se obtengan beneficios a largo plazo sin que se produzca su degradación.

La **degradación** del suelo constituye un grave problema socio-económico y ambiental a nivel mundial, agravado en severidad y extensión en los últimos años, y que afecta, con mayor o menor gravedad, a todos los países mediterráneos (Ruiz y Febles, 2004). Debido tanto a acciones inducidas por los seres humanos como a las condiciones naturales, la pérdida de materia orgánica en el suelo está estrechamente ligada a su degradación y desertificación en áreas áridas y semiáridas, y causa una disminución en la productividad agrícola y en los servicios ecosistémicos del suelo (García y col., 2017).

La materia orgánica del suelo es una fuente de alimentos para la fauna del suelo y contribuye a su biodiversidad, actuando como depósito de nutrientes tales como nitrógeno, fósforo y azufre. De hecho, es el elemento más importante para la fertilidad del suelo. El C orgánico del suelo incide en la estructura del mismo y mejora el entorno físico, lo que hace que las raíces penetren con mayor facilidad, favoreciendo el desarrollo vegetal.

El contenido de C orgánico tiende a descender exponencialmente con la temperatura (Lal, 2002). Su concentración en el suelo depende principalmente del clima, textura del suelo, hidrología, el manejo de las tierras y la vegetación. Las altas temperaturas y el bajo contenido en humedad característicos del clima de zonas semiáridas, aceleran los procesos de descomposición de la materia orgánica, debido a la mayor presencia de oxígeno. Son múltiples los factores que amenazan la sostenibilidad del suelo en zonas semiáridas favoreciendo su degradación y por tanto, su erosión. Entre ellos destacamos la acción de los siguientes factores:

### **Viento**

La erosión del suelo por el viento es un serio problema medioambiental (Lal, 1994) que, con frecuencia, da lugar a severas formas de degradación (Dregne y Chou, 1992; Warren, 2003; Zhang y col., 2014). Esta ocurre en condiciones secas cuando el suelo es expuesto al viento (Webb y col., 2006). En un movimiento del suelo forzado por el viento, las partículas más finas, particularmente arcillas y margas, son arrastradas y transportadas a gran distancia antes de ser redepositadas en otro lugar (Chepil, 1946).

El incremento de la tasa de pérdida de suelo debido a este fenómeno meteorológico constituye un reto in-situ que disminuye la capacidad de los suelos para la sostenibilidad de la vegetación y el ganado (Goossens, 2003).

## **Manejo**

La agricultura es el principal uso del suelo a lo largo del planeta, si el manejo agrícola del suelo no es adecuado, puede causar la degradación del mismo y otros problemas medioambientales (polución, emisiones de gas invernadero, disminución de la biodiversidad). Así, el laboreo aumenta el volumen de oxígeno en el suelo e incrementa la temperatura media de éste, lo que estimula la descomposición de la materia orgánica, así como su pérdida debido a la erosión, reduciendo la capa superficial arable y el humus.

Las prácticas agrícolas inapropiadas conducen al agotamiento de la materia orgánica. Este aspecto, combinado con factores climáticos y medioambientales adversos, hacen al suelo particularmente sensible a los procesos de degradación, especialmente intensos en el área mediterránea (Montemurro y col., 2007; Doni y col., 2017). El impacto de la erosión en suelos agrícolas suele ser elevado y no tolerable, produciendo pérdida de suelo (Sastre y col., 2017). Los suelos degradados no son fértiles y no pueden mantener una producción sostenible (Diacono y Montemurro, 2010). La eliminación de los restos de cultivo y las continuas alteraciones del suelo bajo las prácticas de labranza intensiva pueden acelerar la erosión del suelo principalmente por reducción de su contenido de materia orgánica y de la estabilidad de agregados, dando lugar por tanto, a una disminución de la productividad y calidad del mismo (Raieisi y Kabiri, 2016). Se piensa que dicha labranza intensiva usada para el control de las malezas y preparación del lecho de siembra, incrementa el volumen de macroagregados, inhibiendo así, la formación de microagregados en cuyas partículas la materia orgánica del suelo es estabilizada a largo plazo (Six y col., 2000).

Por otra parte, los suelos agrícolas de regadío suelen estar sometidos a una doble amenaza para su sostenibilidad, ya que en estos coinciden dos procesos como son el anegamiento y la salinización (Singh, 2015). Este es un problema particularmente importante en ecosistemas agrarios con baja entrada de C en ambientes áridos y semiáridos (Mrabet y col., 2001; Moreno y col., 2006; Álvaro-Fuentes y col., 2008). Así, perturbando la estructura del suelo, la labranza, hace a la materia orgánica del suelo más vulnerable a las pérdidas por erosión (Plaza y col., 2013).

Sin embargo, un buen manejo del suelo agrícola puede proporcionar un amplio rango de servicios al ecosistema (producción de alimentos, regulación del agua, secuestro de carbono, adaptación y mitigación del cambio climático, biodiversidad) (Howden y col., 2007; Lal, 2013 a). Por tanto, cambios en el uso del suelo, y en particular, la adopción de prácticas de gestión del suelo que reduzcan su perturbación e incrementen la entrada y estabilización de la materia orgánica, pueden contribuir al incremento de las reservas de C orgánico en el suelo y con ello, al control de los flujos de CO<sub>2</sub> a la atmósfera.

## **Abandono**

La intensificación de la agricultura, el empleo masivo de fertilizantes y fitosanitarios, y la potenciación de la mecanización del mundo rural han supuesto un gran avance, pero al mismo tiempo, esta lucha por producir más a toda costa, y la búsqueda de beneficios económicos máximos a corto plazo, han provocado el empleo

de prácticas agrícolas incorrectas que han desembocado, a la larga, en la pérdida de la fertilidad, el abandono y posterior degradación de muchos suelos, la contaminación de aguas subterráneas y superficiales, y la disminución de la biodiversidad. En las zonas secas de Europa, el abandono de las áreas de cultivo, debido a la erosión y/o a la pérdida de fertilidad por mala gestión, causa que estas se conviertan en matorrales (Parsons, 2014).

En algunos ambientes, el abandono de la agricultura es considerado beneficioso. El incremento de la cobertura vegetal puede reducir la erosión del suelo e incrementar la biodiversidad de plantas, proporcionando, por tanto, hábitats para un mayor rango de animales. Sin embargo, en el escenario de los suelos áridos, no se alcanzan tales beneficios, ya que las políticas llevadas a cabo hasta 2008 donde se pagaba a los agricultores para que abandonaran la producción, lejos de producir beneficios, han resultado en un aumento de la degradación del terreno. Además, la sustitución de la variedad de tierras agrícolas por una cubierta de matorral uniforme puede disminuir la variedad de hábitats y por tanto su biodiversidad (Hill y col., 2008).

### **Contaminación**

Una de las fuentes de contaminación del suelo es la producción agrícola que se practica en los sistemas convencionales y que utiliza primordialmente fertilizantes químicos para proporcionar a las plantas los nutrientes necesarios. Esta práctica conlleva efectos colaterales negativos de contaminación y degradación del suelo, los cuales, se hacen más graves con la excesiva mecanización de la agricultura. Derivado de ello, en la actualidad, es necesario encontrar alternativas más sostenibles para fertilizar los cultivos.

En Europa hay más de 2,5 millones de sitios potencialmente contaminados, de los cuales, un 14% se espera que requieran remediación. Aceites minerales y metales pesados son los principales contaminantes (60%) encontrados en los sitios contaminados en Europa y el coste de su gestión está estimado en 6 millones de euros anuales (Huysegoms y Cappuyns, 2017).

La recuperación de la composición de las especies y funciones de la comunidad microbiana del suelo en zonas degradadas es crucial para garantizar la auto-sostenibilidad a largo plazo de los ecosistemas (Kohler y col., 2016).

### **Cambio climático**

Por cambio climático se entiende al calentamiento del sistema climático, que en su mayor parte se debe muy probablemente al aumento de las concentraciones de gases de efecto invernadero (GEI) provocado por actividades humanas como el uso extendido de combustibles fósiles-el petróleo, el gas o el carbón-, la descomposición de residuos urbanos o ganaderos y los cambios en el uso de la tierra. La temperatura de la atmósfera a nivel superficial ha sufrido un calentamiento progresivo desde el comienzo de la era industrial hasta nuestros días de 0,6° C de media, registrándose un aumento mayor en algunas zonas como los polos o el arco mediterráneo (IPCC, 2014), (Figura 1.7).



**Figura 1.7.-Resultado del Cambio Climático en el planeta**

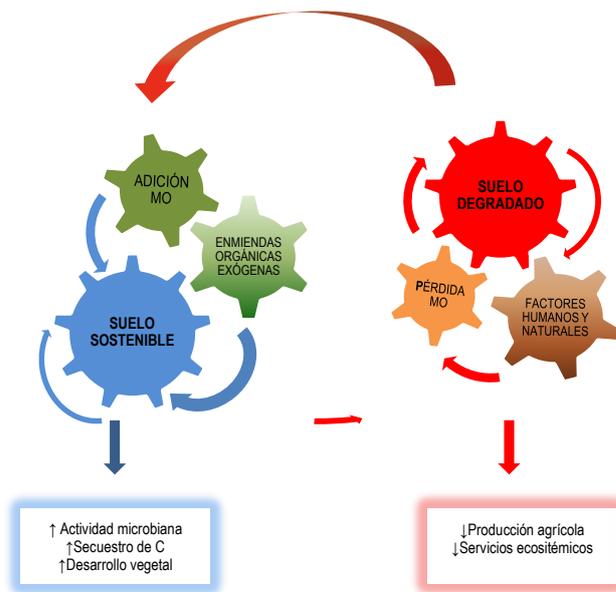
Respecto al control de la materia orgánica del suelo, el cambio climático resulta especialmente preocupante, ya que las variaciones en las temperaturas y precipitaciones pueden alterar tanto los factores bióticos como abióticos que controlan la inmovilización del carbono en zonas semiáridas. La retroalimentación positiva de la comunidad microbiana en respuesta al aumento de la concentración de CO<sub>2</sub> y calentamiento, pueden acelerar la descomposición microbiana de la materia orgánica del suelo y conducir potencialmente a pérdidas de carbono en éste (Nie y col., 2013).

Existe una fuerte conexión entre degradación del suelo y desertificación por un lado, y riesgo de acelerar el efecto invernadero y cambio climático por otro lado (Komatsuzaki y Ohta, 2007). Aunque los efectos del cambio climático sobre la erosión del suelo es un tema común en la literatura científica, es un aspecto generalmente tratado de manera superficial, con escaso rigor científico. Dada la incertidumbre sobre los patrones de las precipitaciones en el futuro (magnitud, frecuencia, estacionalidad, variabilidad interanual,...) proyectados en modelos climáticos, es muy difícil prever las posibles consecuencias del cambio climático sobre la erosión (Frei y col., 2003). El Mediterráneo se considera un “punto caliente” del impacto del cambio climático y aún más propenso a los efectos esperados del cambio global (Giorgi, 2006). Las predicciones para el sur de la Península Ibérica sugieren una disminución en la media anual de precipitaciones, pero un incremento en la intensidad de éstas para final de este siglo (Rodríguez-Lloveras y col., 2016).

En el caso de ambientes semiáridos, el cambio climático puede ser crítico para la supervivencia de las comunidades vegetales (El Kenawy y col., 2016; Vicente-Serrano, 2016), particularmente bajo alta presión de pastoreo, llevando los ecosistemas hacia el borde de la extinción (Kéfi y col., 2007). Todo este entrelazado de factores se espera que reduzca la cobertura vegetal total y la abundancia y diversidad de bacterias y hongos en el suelo, ejerciendo consecuencias negativas sobre los ciclos y almacenamiento del C (Delgado-Baquerizo y col., 2016).

El cambio climático puede afectar a diversos servicios ecosistémicos tales como el aprovisionamiento de madera y otros recursos forestales, o los múltiples servicios ecosistémicos asociados al funcionamiento del régimen hidrológico y sus interacciones edáficas, o a los sumideros de carbono. La materia orgánica es un componente esencial de un suelo sano; la pérdida de materia orgánica da lugar a suelos degradados. Si,

como se prevé, el calentamiento global acelera la descomposición de la materia orgánica, ello liberará aún más CO<sub>2</sub> y acentuará el cambio climático. La degradación del suelo como consecuencia de un bajo contenido en carbono puede ser evitada por la adición de enmiendas orgánicas que promueven un incremento en el contenido de materia orgánica y actividad microbiana, lo cual está ligado a un incremento de la fertilidad del suelo. Los beneficios mutuos entre la actividad microbiana, secuestro de C y crecimiento de las plantas son claros en términos de sostenibilidad (García y col., 2017), (Figura 1.8).



**Figura 1.8.-Factores implicados en la degradación/sostenibilidad del suelo y sus consecuencias**

La materia orgánica del suelo está sometida a fuertes y complejos controles físicos, químicos, bioquímicos y biológicos que son los últimos responsables para su estabilización y mineralización (Six y col., 2002; von Lutzow y col., 2006). Una alteración de tal equilibrio debido al uso del suelo y a presiones climáticas puede alterar los stocks de C en el suelo y causar potencialmente su degradación, afectando por tanto a la sostenibilidad del planeta.

En las zonas áridas y semiáridas del planeta no se puede permitir la pérdida de carbono ya que, muchas de estas áreas están localizadas en zonas de agricultura intensiva que proporcionan el alimento necesario para una población en crecimiento, siendo necesaria la mitigación del cambio global mediante el secuestro de C, en el cual el suelo juega un papel esencial (García y col., 2017).

Los suelos son el nexo entre el agua, la energía y el alimento (Biggs y col., 2015; Jónsson y col., 2016), lo cual ilustra la necesidad de un enfoque holístico en el manejo sostenible del suelo (Weigelt y col., 2013; McCormick y Kapustka, 2016).

El reto frente a una población creciente es el uso aumentado e intensificado de los servicios ecosistémicos proporcionados por los suelos (Blum, 2005), entendiendo por tales no sólo la suma de los procesos que sostiene el sistema suelo, sino como el conjunto de las funciones del suelo específicamente beneficiosas para la humanidad (Ludwig y col., 2018).

## **SERVICIOS ECOSISTÉMICOS DE SUELOS SEMIÁRIDOS**

Los ecosistemas de zonas semiáridas como son los ecosistemas mediterráneos son especialmente sensibles al cambio climático debido a su elevada complejidad topográfica y heterogeneidad de usos del suelo, así como por sus marcados gradientes de disponibilidad hídrica (Lavorel y col., 1998). Los matorrales mediterráneos son en cierta medida vulnerables a la subida de las temperaturas y a la disminución de disponibilidad hídrica (Usodomenech y col., 1995). Regiones ya de por sí secas sufrirán, con casi toda probabilidad, serias consecuencias tras estos cambios (IPCC, 2007).

En la cuenca mediterránea la precipitación ha disminuido un 20% de media durante el siglo XX y a lo largo de este siglo se esperan que las condiciones sean significativamente más secas. Esta disminución en las precipitaciones, junto con posibles cambios estacionales, pueden acelerar los procesos de desertificación (Rodrigo, 2002) y reducir la productividad de los ecosistemas, afectando por tanto, de manera directa a los servicios ecosistémicos que los suelos de zonas semiáridas ofrecen.

Una característica común a estos suelos es el bajo contenido en materia orgánica y nutrientes, y baja estabilidad de agregados, baja capacidad de retención hídrica, lo cual amplifica las condiciones de sequía para las plantas (Armas y col., 2011). No obstante, el sureste español, se encuentra entre las áreas más ricas en biodiversidad vegetal de Europa con cerca de 3.000 especies (Carrión y col., 2010).

En cuanto a los suelos agrícolas de zonas semiáridas, que son aquellos que se utilizan en el ámbito de la productividad, deben ser, en primer lugar, suelos fértiles que permitan el crecimiento y desarrollo de diferentes tipos de cultivo que sean luego cosechados y utilizados por el hombre, por lo cual también debe ser apto por sus componentes para el ser humano.

Un tercio de la superficie terrestre se utiliza para la producción de alimentos y es posible encontrar ecosistemas agrícolas en casi todo el mundo. España es el segundo Estado Comunitario en cuanto a extensión agrícola, con cerca de 25 millones de hectáreas de superficie agrícola (Figura 1.9).

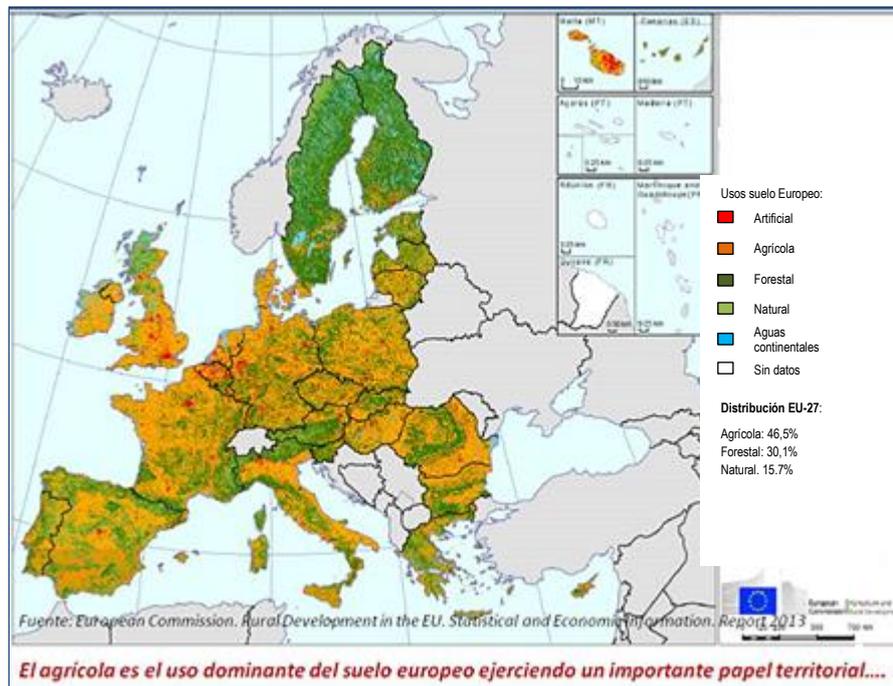


Figura 1.9.-Distribución de usos de suelos en UE. Predominancia de uso agrícola

Los ecosistemas agrícolas presentan como función ecosistémica principal, la de servicio de abastecimiento:

**Proporcionando alimentos**, el mundo produce actualmente lo suficiente como para alimentar a la población mundial. De todos los servicios ecosistémicos la producción de alimentos ha mostrado una tendencia ascendente. No obstante, en la actualidad se reconoce que los aumentos de la producción y productividad agrícolas fueron acompañados de efectos adversos sobre los recursos naturales de los que dependen los ecosistemas agrícolas, efectos tan graves que ponen en peligro su potencial productivo en el futuro (FAO, 2006).

La agricultura es la principal actividad humana: involucra a 1.300 millones de personas, casi una cuarta parte de la población mundial. El área cultivada, es decir, el área donde los seres humanos planifican y controlan directamente la cubierta vegetal, ahora representa más del 20% de la masa terrestre. Frente a los desafíos de la demografía y la pobreza, los sistemas agrícolas, en toda su diversidad, están siendo llamados a intensificar y mejorar la producción de bienes y servicios. Al mismo tiempo, se espera que sean capaces de hacer frente mejor a los riesgos climáticos y otras incertidumbres (Hainzelin, 2014).

En España, la mayor parte de su superficie está dirigida a uso forestal y tierras de cultivo, alcanzando entre ambos usos un 60% del total ([www.mapama.gob](http://www.mapama.gob)).

Se estima que en Europa un 16% del terreno cultivado es vulnerable a la desertización (Holland, 2004). Si bien este porcentaje puede ser superior en el área mediterránea (Romanyà y col., 2007).

Según Lal (2016), existen relaciones entre la calidad y la salud del suelo, con los servicios ecosistémicos que proporciona. Así, la calidad del suelo la define como “*la capacidad del suelo para funcionar como un sistema vital para mantener la productividad biológica, mantener la calidad del medioambiente y promover la salud vegetal, animal y humana*”. Así, señala la importante conexión que existe entre el mantenimiento de los servicios ecosistémicos y la gestión del suelo, con el objetivo de alcanzar un desarrollo sostenible.

Como ya se ha ido exponiendo a lo largo de este trabajo de Tesis Doctoral, la materia orgánica del suelo juega un papel esencial en sus propiedades físicas, químicas y biológicas, las cuales se mantienen interrelacionadas. Así, la fracción de materia orgánica en el suelo está directamente vinculada a una serie de servicios ecosistémicos y beneficios agronómicos, siendo dicha materia orgánica el conductor principal de la fertilidad del suelo (Schillaci y col., 2017). Aunque supone menos de 5% de su fase sólida, resulta vital. De hecho, es crítico para los procesos biofísicos que ocurren en el suelo, proporcionando fertilidad al suelo más allá de la proporcionada por su material original (Clothier y col., 2011).

En el caso particular de los suelos agrícolas de zonas semiáridas, uno de los problemas principales, por sus características particulares, es la pérdida de materia orgánica y el riesgo de desertificación cuando su concentración baja del 1,7% (Marañón y Madejón, 2016). Estos suelos han sido agotados en cuanto a su contenido en materia orgánica debido al cultivo, lo cual también afecta negativamente al estado de agregación del suelo, tasa de infiltración de agua, biota y fertilidad (Saia y col., 2014; Bruun y col., 2015; Parras-Alcántara y col., 2016).

Para superar este déficit de materia orgánica se utilizan técnicas de laboreo de conservación que incorporan los residuos de cultivo al suelo. Otra solución es la aplicación de materia orgánica exógena procedente de residuos orgánicos, consiguiendo de este modo, por un lado, mejorar la fertilidad de los suelos tratados y por otro, eliminar de manera racional los residuos mediante su reciclado.

Estas enmiendas orgánicas no solamente incrementan la materia orgánica en el suelo, sino que también estimulan el desarrollo de la vegetación natural, capaz de mantener una biomasa microbiana significativa en el suelo y proporcionar un suministro casi constante de nutrientes, a través de la incorporación de residuos vegetales en el suelo (García y col., 2017).

Los suelos enmendados con compost de calidad aumentan la producción de alimentos y materias primas, por tanto, aportan servicios ecosistémicos de abastecimiento que son valorados por la sociedad.

El uso agrícola de otros compost urbanos como los procedentes de biosólidos o basuras domésticas ha sido también ampliamente discutido y valorado (Stephen, 2009). Otro servicio de regulación cada vez más apreciado por la sociedad, es la contribución a la mitigación del cambio climático, mediante el secuestro de carbono en el suelo.

La evaluación de los múltiples servicios ecosistémicos que aportará un suelo degradado, mejorado gracias a su enmienda con materia orgánica exógena, no abarcará solo a la producción de alimento, sino también de otros servicios ecosistémicos relacionados con la calidad del aire y agua, reciclado de residuos, mitigación del cambio climático, sumidero de carbono, mejora del paisaje, etc, y contribuirá a que la sociedad aprecie el valor de estos, como piezas clave en el desarrollo de una economía circular y fuente de bienestar.

Cómo hemos ido exponiendo a lo largo de toda la introducción, el **suelo es un recurso no renovable**. Las predicciones para 2050 calculan que la población mundial superará los 9.000 millones de personas, lo que supondrá una mayor demanda de alimentos, y exigirá un aumento de la producción agrícola (FAO, 2015). Los suelos están amenazados por la intensificación y uso competitivo con fines forestales, agrícolas, pastorales y de urbanización. Actualmente, el 33% del suelo mundial está de moderada a altamente degradado debido a fenómenos como la erosión, salinización, contaminación química, agotamiento de nutrientes, etc...lo que obstaculiza su función, principalmente en aquellas áreas donde las condiciones climatológicas son adversas (bajas precipitaciones, altas temperaturas) cómo son las áreas áridas y semiáridas.

Por tanto, detener la degradación de los suelos y restablecer los suelos degradados, mediante el empleo de enmiendas orgánicas que nos permita construir materia orgánica, nos puede ayudar a salvar nuestros suelos y conseguir una gestión sostenible de estos. Por ello, se propone la aplicación de materia orgánica exógena como sistema de recuperación de materia orgánica en estos suelos. Además, de esta manera se contribuye al desarrollo de la denominada *Economía Circular* ya que los RESIDUOS se convierten en RECURSOS para mejorar la calidad de estos suelos.

## **RESTAURACIÓN DE SUELOS SEMIÁRIDOS DEGRADADOS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS. TIPOS DE ENMIENDAS ORGÁNICAS Y SU CALIDAD**

La degradación del suelo resulta en una pérdida de su fertilidad, en la disminución de su concentración de carbono, biodiversidad y capacidad de retención hídrica, en la desorganización de los ciclos de nutrientes y gases, y en una reducción de la degradación de contaminantes (Bai y col., 2008). La disminución en el contenido de materia orgánica de muchos suelos se está convirtiendo en un importante proceso de degradación de éste, particularmente en las regiones Europeas Mediterráneas semiáridas (Diacono y Montemurro, 2010).

En zonas con un régimen climático semiárido, la progresiva degradación que sufren los suelos afectará de forma primordial a la vegetación que soportan (autóctona). Si dicha vegetación desaparece, los suelos quedan entonces desprovistos de su principal barrera contra la degradación y la erosión.

Como se puede observar en el mapa mundial de severidad de degradación del suelo, el sureste español presenta un grado muy alto de degradación (Figura 1.10).

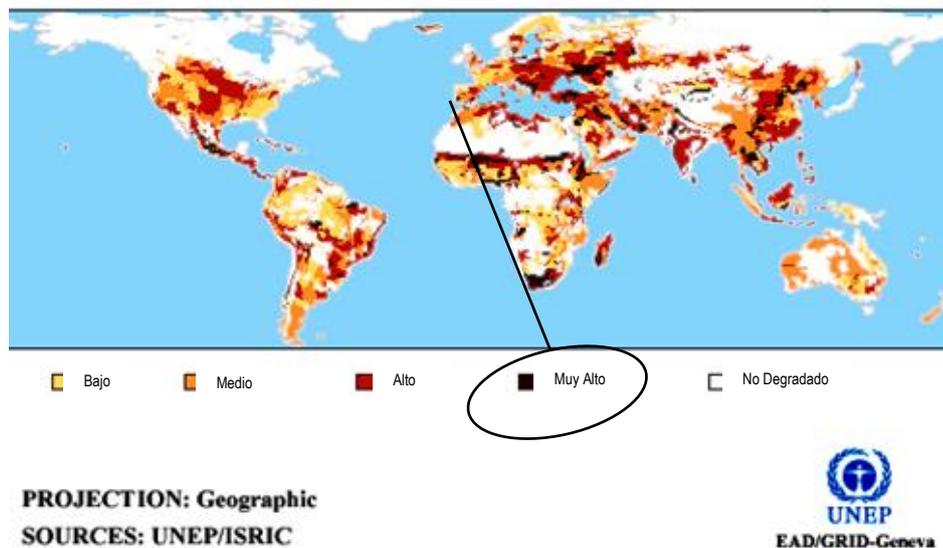


Figura 1.10.-Mapa mundial severidad de la degradación del suelo (Fuente: UNEP/ISRIC)

Como ya se ha comentado en este trabajo de Tesis Doctoral, la cantidad de materia orgánica en el suelo es el resultado de dos procesos contrapuestos a que se ven sometidos los materiales orgánicos que se incorporan al suelo, los procesos de **humificación** y asociación de los materiales orgánicos a la fracción mineral del suelo, y las pérdidas por procesos de **mineralización**. En suelos semiáridos la adición regular de residuos orgánicos es necesaria para mantener una cantidad consistente de materia orgánica en el suelo.

La construcción de materia orgánica en el suelo es un proceso lento y gradual. Puede llevar hasta una década o más incrementar la materia orgánica del suelo hasta niveles significativos, sin embargo, sus beneficios se pueden observar tras varias adiciones de residuos orgánicos (Toor y Shober, 2015). Por otro lado, la tasa de mineralización de la materia orgánica varía mucho en función del tipo de materia orgánica y de las condiciones ambientales (Llovet y col., 2008).

La adición de nueva materia orgánica y el mantenimiento de la materia orgánica nativa del suelo, sin duda disminuirá los niveles de CO<sub>2</sub> en la atmósfera. En este sentido, el Informe sobre materia orgánica y biodiversidad de la *European Strategy for Soil Protection*, el cual es el preámbulo a una nueva directiva, identifica la pérdida de materia orgánica como una de las principales causas de la degradación del suelo, y subraya que la materia orgánica exógena es actualmente una fuente orgánica inestimable para el suelo, favoreciendo el desarrollo de una cobertura vegetal estable (García y col., 2017).

La aportación de cantidades importantes de materia orgánica, mediante la fertilización orgánica, que supla su escasez en estos suelos, mejorará notablemente sus características físicas, químicas y microbiológicas. Las enmiendas orgánicas afectan a las propiedades del suelo de diferentes modos, pudiendo ser estos efectos directos, debido a las propiedades intrínsecas de la enmienda, o indirectos, a través de las modificaciones que causan en las propiedades físicas, biológicas y químicas del suelo. Por ende, el uso de enmiendas

orgánicas en la restauración de suelos degradados y erosionados puede contrarrestar el efecto del calentamiento global.

En un suelo **no agrícola**, la adición de materia orgánica se lleva a cabo por el constante reciclado de la misma, en forma de residuos de plantas y animales vivos o muertos (Toor y Shober, 2015). Sin embargo, en los suelos de zonas semiáridas los inputs de C son insuficientes ya que el balance entre las entradas de C procedentes de la vegetación y la tasa de mineralización producida por la actividad microbiana del suelo es negativo. En estas zonas los procesos de mineralización predominan sobre los de humificación o fijación de C, siendo una característica común en estos suelos el bajo contenido de materia orgánica y su exposición a procesos degradativos.

Los suelos degradados necesitan de estrategias para reducir la erosión y remediar los efectos de la degradación (García-Orenes y col., 2009). Los suelos de las zonas semiáridas tienen una actividad microbiana muy baja (García y col., 1994), bajos niveles de biomasa microbiana y bajo contenido en materia orgánica (0,5-2%). Si se recuperan y mejoran las características de los suelos degradados en zonas semiáridas con la aplicación de enmiendas orgánicas, se mejorará el ciclo de los nutrientes (Ros y col., 2002; Clark y col., 2007).

Existe una amplia variedad de fuentes de materia orgánica explotable que pueden ser usadas para corregir la ausencia de materia orgánica en los suelos, especialmente de zona semiáridas. Teniendo en cuenta la enorme cantidad de residuos orgánicos generados en el mundo por la actividad humana e industrial, ésta sería una opción a considerar en estrategias de restauración (García y col., 2017).

Los residuos de origen urbano son frecuentemente incinerados o llevados a vertederos, pero podrían ser reciclados al ser usados como enmiendas en suelos erosionados y degradados (Kizilkaya y Bayraklim, 2005; Carlson y col., 2015). Por ejemplo, los lodos de depuradora, que son generados en grandes cantidades en plantas de tratamiento de agua residuales, poseen un elevado contenido en materia orgánica y nutrientes, lo que los convierte en buenos candidatos para ser empelados como enmienda de suelos (García y col., 2017). En los sistemas agrícolas de zonas semiáridas, tanto los fertilizantes orgánicos como las enmiendas orgánicas de diferente origen han sido propuestos para mejorar y aliviar la escasez de materia orgánica en estos suelos.

El cambio climático supone un importante reto para la producción de alimentos, el calentamiento global junto con la escasez de agua han puesto en peligro los sistemas agrícolas especialmente en climas semiáridos (Zalidis y col., 2002; Dunjó y col., 2003; García y col., 2017). El manejo sostenible de los suelos agrícolas del mundo y la producción sostenible son imprescindibles para invertir la tendencia de degradación de los suelos y garantizar la seguridad alimentaria actual y futura del mundo (FAO, 2015). Todos estos procesos quedan claramente detallados en la Figura 1.11.

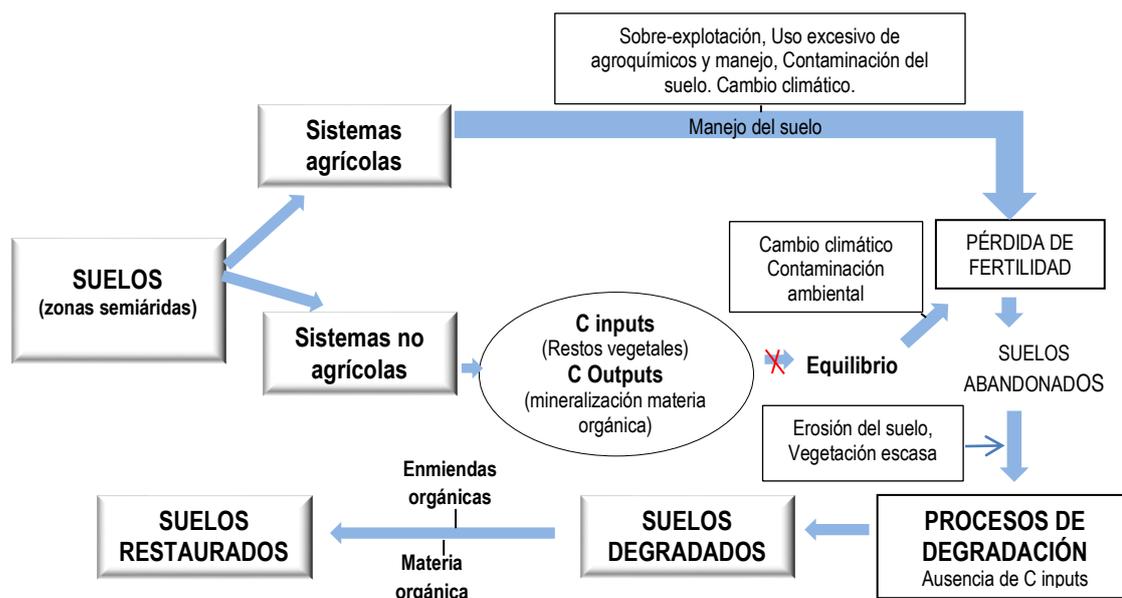


Figura 1.11.-Degradación y restauración del suelo en zonas semiáridas (García y col., 2017)

Para alcanzar el propósito de una agricultura mejor, la calidad del suelo destinado a usos agrícolas debe ser preservada o mejorada a través de nuevas fuentes de fertilización (Calleja-Cervantes y col., 2015). De acuerdo con Lal (2004) y Diacono y Montemurro (2010), las prácticas de gestión agrícola que incrementen el contenido en materia orgánica pueden preservar tanto la producción agrícola como la calidad ambiental. Hay una clara necesidad de sistemas sostenibles, ya que la práctica de la agricultura intensiva en los suelos que ya eran pobres en nutrientes ha reducido aún más su calidad y fertilidad, resultando en el abandono de tierras y degradación del suelo (Hernández y col., 2015).

La realización de prácticas sostenibles con enmiendas orgánicas (manejo del suelo), podría ser una herramienta útil para el mantenimiento e incluso incremento del contenido de materia orgánica en suelos agrícolas, preservando y mejorando la fertilidad del suelo (Scotti y col., 2015, 2016). Así, residuos orgánicos que contiene materia orgánica, tales como lodos de depuradora, estiércol animal, y otros residuos orgánicos, han sido empleados como fuente de materia orgánica. El objetivo de emplear estos residuos es doble: mejorar la calidad y fertilidad de los suelos degradados y, al mismo tiempo, reciclar residuos orgánicos de una forma racional y respetuosa con el medio ambiente (Hernández y col., 2015).

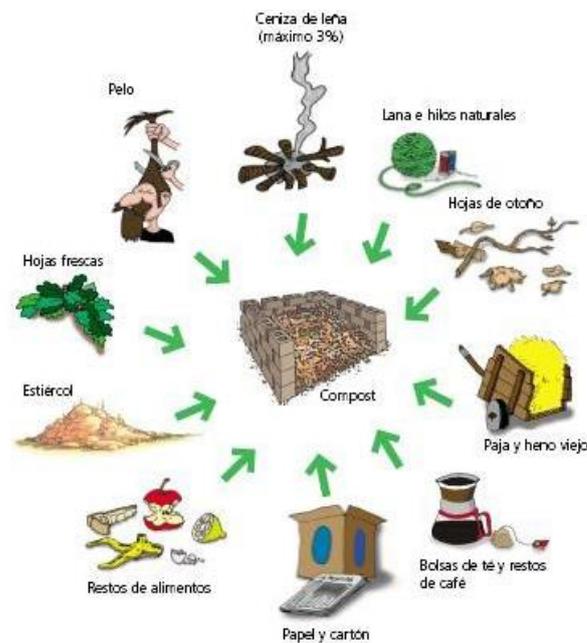
## TIPOS DE ENMIENDAS ORGÁNICAS

Las enmiendas orgánicas más empleadas incluyen, entre otros, el estiércol de granja, compost de residuos orgánicos urbanos, lodos de depuradoras, residuos de molienda de oliva, lodos de pulpa, residuos de madera y subproductos de la producción de etanol (García y col., 2017). Las enmiendas del suelo con materiales orgánicos consiguen mejorar el estado de los nutrientes en estos, ya que funcionan como fuente de macro y

micronutrientes, así como las propiedades físicas, al incrementar la porosidad y la capacidad de retención de agua del suelo como resultado de la presencia de sustancias húmicas. Entre estas enmiendas podemos destacar las siguientes:

### Composts

Mediante el proceso de compostaje se consigue transformar un residuo orgánico bruto en uno biológicamente más estable. El producto de este proceso es el compost, de aspecto semejante al humus y con poco parecido al material original. Se trata de un producto estabilizado por procesos biológicos, fácil de manejar, almacenar y sin olor. El compost presenta una capacidad única para mejorar las características químicas, físicas, y biológicas del suelo. Mejora la capacidad de retención hídrica en suelos arenosos y estimula la estructura del suelo al aumentar la estabilidad de sus agregados. El suelo llega a ser microbiológicamente más activo y más supresivo a patógenos. Fomenta la actividad microbiana y también acelera la descomposición de plaguicidas (Cooperband, 2002). Las características químicas, físicas y biológicas del compost dependerán de la naturaleza de los residuos que se utilicen en su elaboración (Figura 1.12).



**Figura 1.12.-Naturaleza de los residuos utilizados en la elaboración de compost.** Fuente: Recuperado de internet el 31 de Agosto de 2017. [http://asociacionlomascountry.org/composta/o\\_Materias%20para%20compostaje%20compos4.jpg](http://asociacionlomascountry.org/composta/o_Materias%20para%20compostaje%20compos4.jpg)

Los factores que inciden en el proceso de elaboración del compost, y en consecuencia en el producto final, son esencialmente, la naturaleza de los residuos biodegradables y de los microorganismos, el tamaño de las partículas, el pH y la temperatura. El interés en su uso reside fundamentalmente en el alto contenido en materia orgánica que poseen, ya que dependiendo de las materias primas empleadas oscila generalmente entre un 35 a un 45%. También es importante considerar el grado de madurez del mismo. Un buen indicador para ello es, con algunas excepciones, la relación C/N del compost.

### ***Estiércol Animal***

Los estiércoles son los excrementos sólidos y líquidos de los animales, mezclados con los residuos vegetales que se han utilizado como lecho. Ha sido durante mucho tiempo el abono orgánico de origen animal más utilizado para reponer la fertilidad natural de los suelos, ya que su incorporación al suelo aporta nutrientes, incrementa la retención de la humedad y mejora la actividad biológica y, por tanto, la fertilidad del suelo y su productividad. Como todos los otros abonos orgánicos, el estiércol no tiene una concentración fija de nutrientes. Ésta dependerá de la especie animal, su edad, su alimentación y los residuos vegetales que se utilizan, entre otros.

En la composición del estiércol el mayor rol lo juega la especie animal ya que cada especie produce excrementos muy diferentes en cuanto a su contenido en nutrientes. Analizando los diferentes abonos según este criterio, los estiércoles ovinos son los más ricos en nutrientes, después sigue el guano de gallina (gallinaza), el estiércol equino, bovino y, por último, el estiércol porcino. Por lo general, todos contienen mucho nitrógeno y potasio, pero muy poco fósforo disponible.

El estiércol puede ser aplicado sin tratar o compostado aunque el proceso de compostaje cambiará sus cualidades, como por ejemplo la disponibilidad de nutrientes, que será menor tras el compostaje, o la estabilidad biológica del producto, que será mayor. Esto significa que el efecto de la materia orgánica será más duradero (Cooperband, 2002).

### ***Residuo Vegetal***

Los residuos vegetales están constituidos por los restos de poda y/o por las partes de las plantas que quedan en el suelo tras realizar la cosecha. Es una importante fuente de materia orgánica y como tienen una elevada concentración en carbono, son biológicamente muy activos. Dejar restos de poda sobre la superficie consigue incrementar la agregación del suelo y protegerlo de la formación de costras causadas por el impacto de la lluvia y heladas, que rompen los agregados del suelo en partículas finas.

### ***Lodos de depuradora (Biosólidos)***

El lodo de depuradora se define como un *“material sólido heterogéneo cuya composición no sólo depende del agua residual, sino también de la tecnología empleada y de la época del año”* (Terry y col., 1979).

Los lodos de depuradora son empleados habitualmente como enmiendas orgánicas en la restauración de suelos, ya que contienen macro y micronutrientes, los cuales son buena fuente de nutrientes para las plantas, así como constituyentes orgánicos que proporcionan propiedades de acondicionamiento beneficiosas para el suelo. Por otro lado, su incorporación al suelo permite el reciclado de nutrientes y elimina o disminuye la necesidad de usar fertilizantes comerciales en los cultivos. Sin embargo, los lodos de depuradora también pueden contener compuestos perjudiciales como detergentes, sales y pesticidas debido a los efluentes de las instalaciones municipales e industriales, tóxicos orgánicos y disruptores hormonales, cuya presencia en el

lodo tratado dependerá del origen de éste (aguas residuales urbanas o aguas industriales) (García y col., 2017).

Los biosólidos digeridos y deshidratados contienen normalmente 3-6 % de N, 1-4% P, 0.2-1% K y 50-60% de materia orgánica. También contienen Ca, Mg y metales traza. El contenido en agua está en el rango de 70-95% en peso, dependiendo del procesado (Cooperband, 2002).

### **Abono verde**

Los abonos verdes corresponden a la biomasa vegetal producida por la siembra de alguna especie de gramínea, leguminosa o crucífera u otra especie vegetal, que permite incorporar materia orgánica al suelo. Las especies gramíneas favorecen la formación de la estructura del suelo, mientras que las leguminosas incorporan nitrógeno por efecto de fijación simbiótica, que permite enriquecer con N los tejidos de la planta, y por descomposición directa de los nódulos ricos en nitrógeno. La combinación de ambas especies es muy favorable para mejorar las condiciones físicas y químicas del suelo. El efecto del abono verde es muy efímero, pues esta materia orgánica es muy fácil de mineralizar, por lo que su efecto residual no es largo. Sin embargo, es una materia orgánica económica (Sierra, 2016).

### **SELECCIÓN DE LA ENMIENDA ORGÁNICA**

Las enmiendas orgánicas empleadas en la restauración de suelos pueden tener multitud de procedencias, tanto de fuentes animales como vegetales, pudiendo destacar desde estiércoles (frescos, envejecidos, compostados), a la fracción orgánica de residuos urbanos, biosólidos, residuos agrícolas y forestales, residuos de la industria conservera y residuos agroindustriales (Larney y Pan, 2006). Como ya señalaron anteriormente numerosos autores (García y col., 1994, Sims y col., 1997; Pascual y col., 1999, Stewart y col., 2000, Ros y col., 2002, 2003; Tejada y col., 2006, 2009), cuando se incorporan estos residuos al suelo se produce una mejora de sus propiedades físicas, químicas y biológicas gracias al aporte de materia orgánica contenida en estos residuos.

La estabilidad y madurez de la enmienda orgánica son dos importantes factores a tener en cuenta para obtener éxito en la recuperación de suelos degradados. Generalmente el término estabilidad se relaciona con la tasa de degradación de la materia orgánica, mientras que el término madurez se refiere a la descomposición de compuestos orgánicos potencialmente fitotóxicos (Larney y Angers, 2012). La aplicación de enmiendas orgánicas inestables o inmaduras, pueden provocar efectos adversos sobre las propiedades del suelo, tales como malos olores, alteración del suelo y pH del agua, inmovilización del N disponible y adición de fitotoxinas y patógenos animales en el suelo y agua, exceso de nutrientes, metales pesados, etc...

Así, el efecto de la enmienda orgánica sobre las propiedades del suelo variará en gran medida en función de su composición y grado de descomposición anterior a su aplicación en el suelo. Las enmiendas orgánicas fácilmente degradables (biosólidos, estiércoles, gallinaza), tienen menor probabilidad de ser retenidas en el

suelo durante largos periodos de tiempo, contribuyendo en menor medida al almacenamiento de C a largo plazo. Por otro lado, enmiendas más recalcitrantes, ricas en lignina, como son los restos vegetales, son menos lábiles en el suelo y en general, mostrarán un efecto menor pero más duradero sobre las propiedades del suelo (Larney y Angers, 2012). Palumbo y col., (2004) sugirieron que el origen, calidad y cantidad de la enmienda orgánica debería ser seleccionada en función del objetivo y sitio de restauración del suelo.

Normalmente, la dosis de enmienda aplicada así como el tiempo transcurrido entre enmiendas está estrechamente relacionado. Al contrario de lo que ocurre cuando las enmiendas orgánicas son utilizadas en agricultura, la mayoría de los escenarios de recuperación de suelos, generalmente se basan en una sola aplicación de grandes cantidades de materia orgánica, en lugar de múltiples aplicaciones de dosis más bajas de enmienda durante periodos de tiempo más largos. Esta única dosis elevada de enmienda asegura un rápido desarrollo de la vegetación, la cual es esencial en la activación del ciclo de los nutrientes y la mejora de las propiedades físicas del suelo (Larney y Angers, 2012).

## **BENEFICIOS EN EL SUELO RESTAURADO TRAS LA ENMIENDA ORGÁNICA**

El empleo de enmiendas orgánicas en la restauración de suelos degradados consigue mejorar las características físicas, químicas, bioquímicas y microbiológicas del suelo al que se adiciona. Entre las principales funciones de las enmiendas orgánicas en el suelo destacan: el desarrollo de los agregados del suelo, el suministro de nutrientes a las plantas, y la reducción de la pérdida de agua, además de otras funciones beneficiosas (García y col., 2017).

### **Efectos sobre las propiedades físicas y químicas del suelo**

Uno de los efectos más característicos que provoca la enmienda orgánica en los suelos degradados es la mejora de sus propiedades físicas. La materia orgánica de los residuos orgánicos incorporados al suelo influye positivamente en éste. Diversos autores han observado que la aplicación de lodos de depuradora mejora la calidad del suelo mejorando sus propiedades físico-químicas, incrementado la agregación del suelo, su porosidad y capacidad de retención hídrica, y disminuyendo la densidad aparente (Ramulu, 2001; Garg y col., 2005; Diacono y Montemurro, 2010; Nkoa y col., 2014).

Sobre la **estabilidad de agregados** del suelo, Abiven y col., (2009) concluyeron que el efecto de las enmiendas fácilmente biodegradables sobre los agregados del suelo es intenso pero transitorio, mientras que las enmiendas más resistentes a la degradación, cómo son las de carácter ligno-celulósico, tiene un efecto menos intenso, pero más duradero. Esta acción de la materia orgánica en la estabilización de agregados puede realizarse a través de dos posibles mecanismos (Van-Camp y col., (2004)): i) Incremento de la cohesión entre partículas de los agregados, ii) Mejora de su hidrofobicidad, lo que hace decrecer el riesgo de rotura. La comunidad microbiana incorporada al suelo con la enmienda orgánica también juega un papel importante en la evolución de los agregados (Bronick y Lal, 2005) ya que controlan la degradación de la

materia orgánica. La estabilidad de agregados es uno de los factores físicos que más afectan a la calidad del suelo y su fertilidad.

La riqueza en materia orgánica de los residuos orgánicos y su carácter coloidal mejora el balance hídrico del suelo, al aumentar la **capacidad de retención hídrica**, lo que permite al suelo resistir mejor los periodos de sequía (Mabuhay y col., 2006), asimismo, reduce la **densidad aparente** de los suelos (Mbagwu, 1992), hecho atribuible a la baja densidad de estos productos, y a su tendencia a aumentar el espacio poroso. Además de los lodos de depuradora, residuos orgánicos compostados tales como los residuos urbanos han demostrado tener un efecto significativamente positivo sobre las propiedades físicas del suelo, produciendo igualmente un incremento en la estabilidad de agregados, la capacidad de retención hídrica y la porosidad del suelo (Albiach y col., 2001; Hernández y col., 2015).

Por otro lado, altas tasas de aplicación de lodo, incrementan la **capacidad de intercambio catiónico**, lo cual ayuda a las plantas a retener los nutrientes esenciales dentro de la zona de las raíces gracias a la presencia adicional de sitios de unión de cationes. La descomposición de las fuentes de materia orgánica produce cohesiones entre las partículas minerales y las sustancias orgánicas, principalmente carbohidratos. Esto a su vez contribuye a mejorar la resistencia del suelo a la erosión (Annabi y col., 2007). La adición de las enmiendas orgánicas a los suelos degradados puede disminuir su **pH** (Pomares-García y Pratt, 1978), incrementarlo (Epstein y col., 1976) o no tener efecto sobre el pH (Gallardo-Lara y col., 1990). En cualquier caso, la modificación del pH del suelo dependerá de la capacidad tampón del mismo.

Las enmiendas orgánicas pueden presentar un contenido elevado en sales, especialmente los compost. Por ello, la adición de enmiendas orgánicas, particularmente a dosis elevadas, puede producir un incremento de la **CE** del mismo, lo cual puede afectar negativamente al ecosistema. No obstante en ensayos de recuperación de suelos degradados se observó que aunque la CE aumentaba inmediatamente después de la enmienda, el contenido en sales tendía a disminuir con el tiempo, debido al lavado de dichas sales por efecto de la lluvia, así como la absorción de nutrientes por la vegetación desarrollada de modo espontáneo en el suelo (Díaz, 1992; Ros, 2000).

La aplicación de materiales orgánicos también puede mejorar el estado nutricional del suelo, actuando como fuente de **macro y micronutrientes**. Los residuos orgánicos urbanos aumentan los contenidos en macro y micronutrientes del suelo, ya que se presentan en grandes cantidades en ellos (Ayuso y col., 1996; Tejada y col., 2006; O'Dell y col., 2007). Estos materiales aportan el nitrógeno y fósforo, mayoritariamente en forma orgánica, mientras que el resto de macronutrientes son aportados en forma inorgánica.

### **Efectos sobre las propiedades microbiológicas y bioquímicas del suelo**

La fracción biótica de la materia orgánica (formada por organismos vivos), desempeña un papel fundamental en los suelos, al ser la última responsable del estado de la materia orgánica, y en general, del desarrollo y funcionalidad de un ecosistema terrestre (Smith y Papendick, 1993). Los microorganismos, por tanto, influyen

sobre los ecosistemas y sobre la fertilidad de los suelos, interviniendo tanto en el establecimiento de los ciclos biogeoquímicos de nutrientes, como en la formación de la estructura de los suelos (Harris y Birch, 1989).

La medida de la actividad enzimática del suelo es considerada como un método sensible propuesto como un indicador potencial de su calidad (Bhattacharya y col., 2016) ya que integra las características químicas, físicas y biológicas del suelo. Los cambios en la biomasa microbiana del suelo y en las actividades enzimáticas podrían reflejar modificaciones en los stocks de la materia orgánica y otras propiedades del suelo (Dick y Tabatabai, 1993).

Los suelos degradados presentan una baja actividad microbiana que incidirá negativamente en su calidad, fertilidad y productividad natural, ya que los ciclos biogeoquímicos de los elementos importantes en el suelo se desarrollan en los sistemas degradados con enorme dificultad, según se manifiesta por los escasos valores de actividades enzimáticas detectados en ellos. La incorporación de residuos orgánicos a los suelos va a producir una reactivación de sus propiedades microbiológicas y bioquímicas, estimulando la proliferación microbiana y su actividad metabólica, como consecuencia de los aportes de nuevas fuentes lábiles de carbono que van a servir como sustrato a la biota del suelo (Ros y col., 2003; Tejada y col., 2006). Este aumento se traduce, a su vez, en un incremento de las enzimas y metabolitos en el suelo.

Las enzimas son responsables de la mayor parte de las reacciones que intervienen en los procesos de mineralización e inmovilización de los nutrientes del suelo y, por tanto, están en relación con la disponibilidad de los mismos para la planta. Algunos de los metabolitos liberados por los microorganismos (vitaminas y/o aminoácidos, etc...) o moléculas de bajo peso molecular procedente de la mineralización de la materia orgánica, pueden influir de forma positiva y directa sobre el crecimiento vegetal (Albuzio y col., 1989).

Existe controversia sobre si la comunidad microbiana presente en la materia orgánica exógena incorporada al suelo, alterará o no la comunidad microbiana nativa de dicho suelo. Según Saison y col., (2006), la actividad microbiana intrínseca del compost empleado como enmienda, se une a la actividad de la población original del suelo con un mínimo impacto sobre comunidad microbiana nativa. Por el contrario, para Ondoño y col., (2014) la incorporación de materia orgánica exógena a la matriz suelo puede modificar su comunidad microbiana al incorporar una considerable cantidad de microorganismos ligados al compost (hongos y bacterias), los cuales pueden resultar en una competición o antagonismo con los ya existentes en el suelo. El compost de residuos orgánicos estimula la actividad microbiana en los suelos, aumentando la mineralización de la materia orgánica, apoyando así el crecimiento y la activación de los microorganismos (Albiach y col., 2001; Heidari y col., 2016; Scotti y col., 2016).

Por otro lado, la adición de otros tipos de enmiendas orgánica al suelo como el lodo de depuradora, en algunos casos se ha visto que puede producir algunos efectos negativos sobre las actividades enzimáticas del suelo debido a la presencia en el mismo de metales pesados (Kandeler y col., 2000), dependiendo del origen de éste. No obstante, también se ha observado que la aplicación como enmienda de lodos de depuradora aumenta la actividad microbiana, la tasa de respiración y actividades enzimáticas en ensayos a medio plazo

(10 y 3 años respectivamente) (Pascual y col., 2000; Carlson y col., 2015). En la Tabla 1.5 se resumen los principales efectos de diferentes enmiendas orgánicas empleadas en restauración de suelos degradados.

**Tabla 1.5.-Principales efectos de las enmiendas orgánicas empleadas en restauración de suelos degradados**

Propiedades	Efecto	Referencias
<b>Propiedades físicas</b>		
pH	Disminuye	Bastida y col., 2008 a; Medina y col., 2015
pH	Incrementa	Novak y col., 2009; Prayogo y col., 2014
Estabilidad de agregados	Incrementa	Garg y col., 2005; Nkoa y col., 2014
Densidad aparente	Disminuye	Ojeda y col., 2003; Nkoa y col., 2014
Capacidad de retención hídrica	Incrementa	Nkoa y col., 2014; Hernández y col., 2015
Porosidad	Incrementa	Nkoa y col., 2014; Hernández y col., 2015
Erosión	Disminuye	Ojeda y col., 2003; Garg y col., 2005
<b>Propiedades químicas</b>		
Carbono orgánico total	Incrementa	Calleja-Cervantes y col., 2015; Kästner y Miltner, 2016
Conductividad eléctrica	Incrementa	Hargreaves y col., 2008; Laird y col., 2010
N y P	Incrementa	Marron, 2015; Debiase y col., 2016
Metales pesados	Incrementa	Walter y col., 2006; Zhang y col., 2006
<b>Propiedades bioquímicas y microbiológicas</b>		
Actividad microbiana	Incrementa	Calleja-Cervantes y col., 2015; Hernández y col., 2015
Respiración	Incrementa	Pascual y col., 2000; Fernández-Getino y col., 2012
Biomasa microbiana	Incrementa	Alguacil y col., 2009; Hernández y col., 2015

Fuente: García y col., 2017

Debido a el largo periodo de tiempo requerido para que un suelo degradado alcance un nuevo equilibrio, el efecto de las enmiendas orgánicas debería ser estudiado en ensayos de campo a largo plazo (Diacono y Montemurro, 2010). Sin embargo, cómo se ha expuesto anteriormente, la tasa de degradación de la materia orgánica varía enormemente dependiendo de su origen, grado de madurez, estabilidad, naturaleza del suelo, condiciones climáticas, etc. Por este motivo resulta interesante profundizar en el conocimiento de ensayos de restauración de suelos degradados bajo diferentes escenarios.

Según Carlson y col., (2015), la calidad y cantidad de la enmienda orgánica incorporada al suelo tiene influencia en la eficacia del proceso de restauración. Estos autores observaron que tras la incorporación de diferentes tipos de enmiendas al suelo, el mayor impacto sobre las actividades enzimáticas de éste, tuvo lugar en todos los casos en el primer año de su aplicación disminuyendo la actividad con el tiempo, si bien se mantenía en valores superiores a los del control. Por tanto, sugirieron que aplicaciones repetidas (al menos cada tres años), pueden ser necesarias para alcanzar beneficios a largo plazo. En cuanto a la calidad de la enmienda, en este estudio se proporcionaron evidencias de que el empleo de compost de lodo producía un cambio más significativo y duradero en los grupos de hongos que el empleo de compost vegetal, probablemente debido a la capacidad de los hongos para degradar los compuestos orgánicos más recalcitrantes, la cual se fomenta al incorporar altas dosis de enmienda.

Muchos autores han afirmado que una única aplicación a alta dosis de materia orgánica es suficiente para recuperar la cobertura vegetal en suelos degradados (Walter y col., 2006; Bastida y col., 2007; Carlson y col., 2015) manteniendo altos niveles de C orgánico durante un largo periodo de tiempo.

De acuerdo con Hernández y col., (2015), la incorporación de compost en grandes cantidades en una única aplicación produce las mayores mejoras en las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo y a un mayor incremento en el pool de C orgánico de suelos degradados de zonas semiáridas. Por ende, debido al bajo contenido de C orgánico en los suelos de estas zonas, estos suelos son capaces de admitir grandes aportes de materia orgánica exógena, la cual queda en parte fijada de forma estable en el suelo en forma de ácidos húmicos.

Normalmente, la dosis aplicada y el tiempo transcurrido desde la enmienda están estrechamente relacionados con el efecto en el suelo. En experimentos a **corto plazo**, altas tasas de aplicación producen una mayor respuesta en los parámetros bioquímicos y microbiológicos, mientras que las propiedades físicas del suelo no resultan tan afectadas, ya que las propiedades biológicas son más sensibles.

Llovet y col., (2008), evaluaron el aporte a **medio-largo plazo** de una amplia gama de dosis y tipos de lodos de depuradora en experiencias de repoblación en ambiente semiárido seco. A los 7 años de tratamiento las parcelas con alta dosis de enmienda presentaron un porcentaje de materia orgánica superior (6%) a las parcelas control (4%), mientras que a dosis moderadas o bajas de lodo no se observaron diferencias significativas. Estos datos indican que una buena parte de la enmienda se ha mineralizado, no llegando a formar parte de la materia orgánica del suelo. Nicolás y col., (2012) obtuvieron resultados parecidos aplicando grandes dosis de enmienda orgánica, mostrando los suelos enmendados mayores concentraciones de C orgánico que el control durante el periodo de estudio.

Diferentes experimentos sobre el efecto a **largo plazo** de la adición de compost de diferente origen a suelos degradados demostraron que la incorporación de compost mejoraba propiedades biológicas del suelo, tales como el tamaño de las poblaciones microbianas (carbono de la biomasa microbiana), la respiración basal, el contenido en adenosin-tri-fosfato (ATP) y la actividad de diferentes enzimas (Ros y col., 2006; Tejada y col., 2006, 2009). Este efecto es permanente en el tiempo, posiblemente debido a que la gradual descomposición del compost en el suelo mantiene una continua liberación de nutrientes que permite mantener a las poblaciones microbianas durante largos periodos de tiempo (Murphy y col., 2007).

En un estudio de recuperación de un suelo semiárido degradado mediante la adición única de la fracción orgánica de basura doméstica, estabilizada de modo natural durante 20 días, y a dosis de 65, 130, 195 y 260 Mg ha<sup>-1</sup>, Bastida y col., (2007) observaron que 17 años después de la enmienda, los suelos enmendados presentaban mayores contenidos de C de la biomasa microbiana, ATP, respiración basal y actividad de diferentes hidrolasas relacionadas con los ciclos de macronutrientes tales como ureasa,  $\beta$ -glucosidasa, proteasa y fosfatasa que el suelo control, mejorando por tanto la calidad microbiológica del suelo. Este efecto positivo sobre la calidad del suelo aumentaba al hacerlo la dosis de enmienda aplicada.

En un experimento de campo sobre suelo degradado semiárido, se le incorporaron dosis de 150 y 450 Mg ha<sup>-1</sup> de la fracción orgánica de una basura doméstica y compostada, resultando en una mayor abundancia de grupos microbianos en los suelos de las parcelas que recibieron la mayor dosis de enmienda (García y col., 2012 a).

Por otro lado, en los últimos años, la explotación masiva de los suelos agrícolas destinados a satisfacer la creciente demanda de alimentos, ha ocasionado una reducción de la fertilidad del suelo debido a la pérdida de nutrientes y materia orgánica (Debiase y col., 2018). Además, en muchas regiones Mediterráneas, los efectos negativos en el suelo como resultado de un manejo agrícola inadecuado son agravadas por factores medioambientales inherentes, tales como sustrato litológico, relieve y clima semiárido (López Bermúdez y García Gómez, 2005). Los suelos Mediterráneos ricos en carbonato cálcico y pobres en materia orgánica son susceptibles a la erosión y a importantes pérdidas de C debido a los cambios estacionales. Por lo tanto, para poder implementar una agricultura sostenible en estos suelos, es importante establecer un manejo adecuado, que incluya el aporte de materia orgánica externa, asegurando el suministro de nutrientes y consolidando la continuidad de los cultivos.

Ya a **corto plazo**, Debiase y col., (2018) comprobaron que el cambio de labranza convencional a labranza mínima de un suelo agrícola mediterráneo con cultivo de *Brassica carinata* A. para producción de biomasa, junto con la adición de enmiendas orgánicas como compost y lodo de depuradora, conseguían incrementar la fertilidad del suelo. Así, los resultados de su estudio mostraron que es posible tener una producción sostenible e incrementar los nutrientes en el suelo agrícola gracias al empleo de enmiendas orgánicas y labranza reducida.

También, en cuanto al impacto del manejo agrícola en estas zonas Almagro y col., (2016) observaron que tras cuatro años de cambio de labranza intensiva a otras más conservadoras (reducción de la labranza junto a la aplicación de abono verde), conducía a la mejora en la estructura y calidad del suelo en agroecosistemas semiáridos mediterráneos de cultivo de almendra, reduciendo de manera paralela la erosión del suelo, e incrementando el secuestro de carbono en estos suelos de secano.

Por su parte, Cherfouh y col., (2018) , aplicando diferentes manejos (lodos de depuradora, riego con aguas residuales, lodo de depuradora+riego con aguas residuales y suelo control sin ninguno de los tratamientos anteriores) en suelos agrícolas mediterráneos con cultivo de uva de mesa, comprobaron que a **largo plazo** (14 años de aplicación de enmienda), la adición anual de lodo de depuradora (15-20 t ha<sup>-1</sup>) resultó en un mayor incremento tanto en la cantidad como en la biodisponibilidad de nutrientes, así como de materia orgánica y Nt de estos suelos, mejorando por tanto sus propiedades agronómicas a largo plazo.

La adición anual de digerido de lodo de depuradora durante 20 años a suelos agrícolas mediterráneos con cultivo de cereal, consiguió mejorar no sólo las propiedades químicas de éstos, sino también la actividad metabólica, medida como actividades enzimáticas, sin afectar a la diversidad y riqueza microbiana. No obstante, estos objetivos se alcanzaron con diferente éxito en función de la dosis aplicada de materia

orgánica, así como de la frecuencia de aplicación. Los mejores resultados se obtuvieron para la aplicación anual de alta dosis de enmienda ( $80 \text{ t ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ ), seguida por la combinación de materia orgánica y aplicación mineral de N (urea) ( $40 \text{ t ha}^{-1} \text{ año}^{-3}$ ) frente a la adición sólo de materia orgánica ( $40 \text{ t ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ ). No obstante, todos los tratamientos mejoraron la calidad del suelo agrícola frente al suelo control sin enmendar (Calleja-Cervantes y col., 2017).

Por tanto, tendremos que elegir aquellas prácticas que nos permitan alcanzar nuestros objetivos, teniendo siempre en cuenta que la construcción y mantenimiento de la materia orgánica requiere un esfuerzo sostenido pero que puede ser realizado (Cooperband, 2002).

### Las enmiendas orgánicas en la Economía Circular

El presente modelo económico lineal de “tomar, hacer, desechar” (Figura 1.13) se basa en disponer de grandes cantidades de energía y otros recursos baratos y de fácil acceso, pero está llegando ya al límite de su capacidad física (ellenmacarthurfoundation.org). Este modelo económico tiene sus pilares en la explotación descontrolada de recursos naturales, en su uso ineficiente, y en el final de su vida útil en forma de residuo.

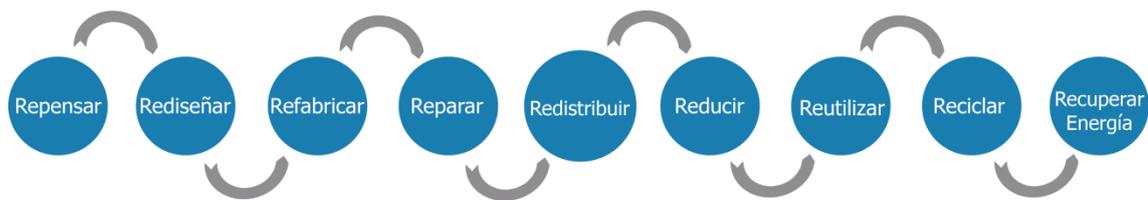


Figura 1.13.-Economía circular. Fuente: [www.economiadircular.org](http://www.economiadircular.org)

En este punto crítico es donde aparece la economía circular como una opción, inspirada en los seres vivos y la naturaleza, la cual busca que los productos, sus componentes y materiales, mantengan autoridad y valor. Este concepto de diseño económico pretende alargar el ciclo de vida de los recursos naturales, mejorando la gestión del tratamiento de residuos.

«Una Europa que utilice eficazmente los recursos» es una de las siete iniciativas emblemáticas que forman parte de la estrategia Europa 2020, que pretende generar un crecimiento inteligente, sostenible e integrador. La economía circular es un **concepto económico** que se interrelaciona con la sostenibilidad, y cuyo objetivo es que el valor de los productos, los materiales y los recursos (agua, energía,...) se mantengan en la economía durante el mayor tiempo posible, y que se reduzca al mínimo la generación de residuos. Se trata de implementar una nueva economía, circular -no lineal-, basada en el principio de «cerrar el ciclo de vida» de los productos, los servicios, los residuos, los materiales, el agua y la energía. Los residuos de unos se convierten en recursos para otros. El producto debe ser diseñado para ser deconstruido. La economía circular consigue convertir nuestros residuos en materias primas, paradigma de un sistema de futuro.

Finalmente, (Figura 1.14) este sistema es un sistema generador de empleo local y no deslocalizable (economíacircular.org).



Figura 1.14.-Aspectos fundamentales de la conversión de economía circular a lineal. Fuente: Unión Europea, 2018

La conversión de residuos en un recurso es el elemento que «cierra el círculo» en los sistemas de economía circular. Los objetivos y metas fijadas en la legislación europea han sido factores decisivos para mejorar la gestión de los residuos: estimulan la innovación en el reciclado y la reutilización, limitan el depósito en vertederos, reducen las pérdidas de recursos y crean incentivos para modificar el comportamiento de los consumidores.

La Unión Europea ha adoptado el compromiso político de reducir la generación de residuos, reciclar los residuos convirtiéndolos en una fuente importante y fiable de materias primas para la Unión, recuperar energía únicamente de materiales no reciclables y eliminar prácticamente los vertederos (COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLAMENT: Towards a circular economy: a zero waste programme for Europe, (2014) 398 final). Cobra particular importancia la gestión de los residuos orgánicos, tanto por la cantidad que suponen, como por las implicaciones ambientales que puede tener su mala gestión.

Así, dentro de este concepto, las enmiendas orgánicas del suelo descritas anteriormente, son susceptibles de someterse a un sistema de valorización (compostaje, digestión anaerobia,...), pasando de ser considerados como residuos en el marco de una economía lineal, a un subproducto rico en materia orgánica capaz de mejorar las características del suelo dentro del concepto de la economía circular.

En la Tabla 1.6 se resume algunos de los beneficios que aporta la gestión de biorresiduos en la protección del suelo.

**Tabla 1.6.-Beneficios ambientales de la separación de biorresiduos en origen**

	Protección del suelo	Producción/Ahorro de energía	Uso sostenible de recursos	Lucha contra el cambio climático
<b>Utilización del compost</b>				
Sustitución del uso de fertilizantes minerales (N, P y K) y otras	√	√		√
Recuperación y aportación de la materia orgánica y nutrientes	√		√	
Secuestro de "carbono" en el suelo	√		√	√
Incremento de la biodiversidad	√			
Resiliencia (capacidad de recuperación) de los suelos	√		√	
Reducción de la erosión	√		√	
Soporte de la actividad biológica: Prevención de la desertificación	√		√	
Liberación lenta de las fuentes de N	√		√	
Mejora del trabajo de la tierra	√	√	√	√
Incremento de la retención de agua del suelo	√	√	√	
Sustitución de pesticidas	√	√	√	
Sustitución de turbas	√	√	√	√
<b>Producción y uso del Biogás (obtenido en proceso de digestión anaerobia)</b>				
Sustitución de combustibles fósiles		√	√	√

Fuente: "El desafío de la gestión de la materia orgánica" (2016). [www.concama.es](http://www.concama.es)

Cuando los biorresiduos se separan en origen, su tratamiento se hace con procesos específicos para la materia orgánica y se forman subproductos como el compost o el material orgánico estabilizado, fuente de materia orgánica exógena que se podrá utilizar como enmienda en suelos no agrícolas y agrícolas degradados, convirtiendo un residuo en materia prima y, por tanto, cerrando el círculo de hacer, consumir, y enriquecer, produciendo numerosos beneficios, tales como:

**Ciclo producto-residuo cerrado.** Utilización de los residuos como recurso.

**Aumento del porcentaje de reciclado global de residuos.**

**Mejora de la fertilidad del suelo agrícola.** Aplicación en suelos agrícolas del compost u otras fuentes de materia orgánica exógena (restos de poda, estiércol animal, ..) que incrementa el contenido de materia orgánica en el suelo, mejorando la fertilidad del mismo y el rendimiento de los cultivos.

**Protección frente a la erosión del suelo y la desertificación.** El tipo de suelo mediterráneo y en general el de España es un suelo propenso a la erosión y desertificación, fácilmente degradable, que requiere en especial, un aporte de materia orgánica continuado.

**Gran disminución de la materia orgánica depositada en vertederos.** Esto comporta una gran disminución en la generación de lixiviados y biogás, facilitando la gestión de los vertederos tanto en su fase de explotación como en la de clausura y control posterior.

**Prevención del cambio climático, con la disminución de gases de efecto invernadero.**



## **2. OBJETIVOS**



## OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

El suelo desempeña funciones de gran importancia para el sustento de la vida en este planeta, es fuente de nutrientes, agua y aire para las plantas, manteniendo la producción de biomasa y alimentos, actúa como medio filtrante, amortiguador y transformador, es el hábitat natural de miles de organismos, y el escenario donde ocurren los ciclos biogeoquímicos. La agricultura sigue siendo la actividad humana que suministra la mayor parte de los productos alimenticios y materias primas esenciales para la humanidad, por ello, la conservación del suelo, base de las cadenas vitales, parece esencial, ya que sin él, sería imposible conseguir un ritmo mantenido de abastecimiento a las poblaciones.

La desertificación, el cambio climático, la generación excesiva de residuos, la pérdida de biodiversidad, son síntomas de la ruptura en el equilibrio que debe existir entre los recursos naturales de los que se dispone y el sistema socio-económico que los explota, reduciendo las posibilidades de un desarrollo sostenible. El modelo de explotación de los recursos naturales de los últimos años ha empezado a entrar en crisis. Se empieza a atisbar los primeros síntomas claros de agotamiento en los ecosistemas.

En respuesta a esta situación está surgiendo un nuevo concepto socio-económico conocido como "*Economía Circular*", que aboga por un desarrollo sostenible que permita satisfacer las necesidades humanas actuales de acuerdo a estrategias que respeten los recursos, disminuyendo la degradación ambiental. Así, este cambio de paradigma ha influido en la gestión de los residuos, que han pasado de considerarse como productos de desecho, a ser fuentes de materia orgánica que nuestra sociedad no puede permitirse el lujo de desaprovechar.

Los residuos orgánicos constituyen una importante fuente de materia orgánica, por lo cual, se deben aprovechar las ventajas que nos ofrecen, es decir, ser un material de bajo costo, fácilmente disponible, y de producción permanente, y además, sus efectos positivos en el suelo perduran en el tiempo (Figueroa y col., 2002).

Uno de los principales problemas de los suelos de las zonas semiáridas es precisamente su escaso contenido de materia orgánica (haciéndolos especialmente frágiles), lo que puede limitar su capacidad para desarrollar sus funciones. Por otro lado, la producción elevada de residuos orgánicos es un problema cada vez más acuciante al que tiene que dar una salida nuestra sociedad. En este contexto, cobra interés el reciclado de estos residuos como enmiendas orgánicas que pueden ser empleadas para construir nueva materia orgánica en suelos degradados, no agrícolas y agrícolas, de zonas semiáridas.

En función de lo expuesto, el trabajo de Tesis Doctoral que aquí se presenta se basa en las siguientes premisas:

### **a) Problema de desertificación**

Se ha estimado que cerca del 33% del suelo mundial está en estado de degradación (FAO, 2014), y como consecuencia, el proceso de desertificación se puede encontrar a lo largo de los cinco continentes, debido al efecto del fuego, erosión del suelo, eliminación de residuos, y cambios en el manejo del suelo (Mohawesh y col., 2015). La erosión del suelo es considerada como uno de los problemas medioambientales más acuciantes en la Región de Murcia por ser un destacado proceso de desertificación. Las consecuencias ambientales, económicas y sociales de la degradación del suelo son graves, sobre todo, allí donde la capacidad de regeneración de los ecosistemas es débil. En la mayor parte de la Región de Murcia, la erosión del suelo representa una seria amenaza para la sostenibilidad de los agroecosistemas y el sistema socioeconómico.

### **b) Problema de generación de residuos**

La generación de residuos constituye un grave problema social y ambiental que puede generar importantes impactos negativos no solo sobre el medio ambiente, sino también sobre el sistema económico, sanitario y social, creando una importante problemática ambiental, entre la que destacan la sobreexplotación de los recursos naturales y la contaminación del suelo.

Los residuos constituyen uno de los mayores problemas de todas las sociedades industriales modernas, y su gravedad no deja de aumentar debido a la evolución de su generación, creciente en la mayoría de los casos, y a la enorme variabilidad de los tipos y flujos de residuos existentes. Solucionar este problema significará, colateralmente, solucionar o contribuir a la solución de otros muchos, pero en cualquier caso supondrá un menor riesgo para la salud pública y la biodiversidad.

Tan solo en la Región de Murcia, como consecuencia del modelo empleado como sistema de separación de residuos sólidos urbanos (RSU) en origen, basado en la separación de dichos residuos en 4 fracciones (vidrio, papel-cartón, envases ligeros y resto), la fracción denominada "Resto" (entendida como fracción indiferenciada, no considerada como recogida separada, que incluye la fracción orgánica+restos de jardinería y poda), constituye la fracción mayoritaria, con una media de 42,62 %, seguidos del papel/cartón con una media de 14,48 %. (Informe de Sostenibilidad Ambiental (ISA) del Plan de Residuos de la Región de Murcia, 2015-2020). De esta forma nos podemos hacer una idea del volumen de residuos generados, y por tanto, de la importancia del desarrollo de estrategias para su reciclaje y valorización.

### **c) Restauración de suelos degradados, no agrícolas y agrícolas, con enmiendas orgánicas**

Para mantener la fertilidad y calidad de nuestros suelos, es clave que presenten una cantidad suficiente de materia orgánica. Precisamente, en los suelos semiáridos los niveles de materia orgánica son demasiado bajos como para poder asegurar un nivel mínimo de fertilidad en los cultivos, así como para evitar el aumento de la degradación de estos suelos. Por ello, es importante desarrollar estrategias para la gestión de dichos suelos, y es precisamente en este contexto, donde la adición de materia orgánica exógena cobra sentido.

Estas “enmiendas orgánicas” que pueden ser empleadas para la construcción de materia orgánica en el suelo, se pueden diferenciar en numerosos aspectos, entre los que destacan su origen, grado de estabilización y calidad.

Por este motivo, es de enorme interés conocer la capacidad que este aporte externo de materia orgánica tiene para construir un pool de carbono orgánico que sea estable en el tiempo y que mejore la fertilidad edáfica en los suelos, bien para evitar la degradación de los mismos, bien para conseguir su restauración, bajo un criterio medioambiental o agrícola.

#### **d) Capacidad de generar nueva materia orgánica en los suelos enmendados**

Para construir materia orgánica en suelos frágiles con elevado grado de degradación se pueden emplear enmiendas orgánicas de diferente origen, grado de estabilidad y calidad, siempre y cuando se apliquen con el manejo adecuado. Las enmiendas orgánicas frescas tendrán un efecto más inmediato sobre las características del suelo, sin embargo, su contribución al pool de carbono del suelo será menor que con el empleo de enmiendas orgánicas más estables (composts) dada la mayor tasa de mineralización de su materia orgánica. Así, en términos generales, una adecuada estrategia para la restauración de suelos degradados no agrícolas consiste en la aplicación de grandes dosis de enmienda orgánica, fresca o compostada, en una única dosis, con el fin de reactivar rápidamente la actividad microbiana del suelo y volver a poner en marcha los ciclos biogeoquímicos de nutrientes, mientras que en el caso de la recuperación de suelos agrícolas degradados la construcción del pool de C debe ser más lenta, con adiciones de enmienda no masivas, sino continuadas en el tiempo.

### **OBJETIVOS**

Sobre la base de estas premisas se ha establecido como **Objetivo General** de este trabajo de Tesis Doctoral la evaluación de la capacidad y eficacia del manejo de diferentes enmiendas orgánicas, a diferentes dosis, y en distintos escenarios (suelos no agrícolas y agrícolas) y distintas escalas de tiempo (corto, medio y largo plazo), para construir nuevos y estables pools de C orgánico en el suelo y así, asegurar la sostenibilidad de suelos agrícolas y no agrícolas de zonas semiáridas. Generar este tipo de conocimiento ayudará a explotar el suelo de forma sostenible, de manera que pueda ser utilizado en lo sucesivo, manteniendo y mejorando sus características.

Se contemplan diferentes estrategias de manejo: i) aplicación única de enmienda orgánica a dosis elevada con el objetivo de restaurar suelos no agrícolas (SN) abandonados muy degradados; ii) aplicación de enmiendas orgánicas a dosis más bajas y de manera continuada en suelos agrícolas (SA) de zonas semiáridas.

Como **Objetivos específicos** se indican los siguientes:

**Evaluación de la materia orgánica** (pool de C) generada con el tiempo, como consecuencia directa de la enmienda orgánica. Se caracterizarán los pools de carbono orgánico de manera cuantitativa y cualitativa, a través de las determinaciones de las diferentes fracciones de C: carbono orgánico total (COT), C hidrosoluble (Cs) y sustancias húmicas (SH). La diferencia de manejo de la enmienda y el tiempo de aplicación influirá en los diferentes pools de C generados. La comparación entre los pools de C generados en suelos enmendados vs suelos autóctonos sin tratar nos proporcionará, asimismo, una información esencial.

**Contribución a la sostenibilidad** a través de parámetros que nos permitan describir el estado de calidad y salud de los suelos degradados no agrícolas y agrícolas. Como herramientas de monitorización, se incluyen parámetros agronómicos, ambientales y relativos a la biodiversidad, que aportarán una información precisa y completa del efecto de la aplicación de estos materiales al suelo.

**Búsqueda de nuevos modelos de representación** e interpretación de los resultados obtenidos en ensayos de aplicación de enmiendas orgánicas a corto, medio y largo plazo mediante el uso de técnicas de análisis de regresión.

Para lograr estos objetivos se dispuso de una serie de zonas experimentales con suelos no agrícolas y agrícolas degradados, localizadas en diferentes puntos de la geografía de la Región de Murcia (Figura 2.1).



**Figura 2.1.**-Localización de las zonas experimentales con suelos no agrícolas y agrícolas en la Región de Murcia

Las parcelas experimentales existentes en estas zonas se consideraron aptas para estudiar en ellas el pool de carbono generado, su estabilidad y sostenibilidad, y tienen su origen en los trabajos desarrollados dentro

de diferentes Proyectos de Investigación, nacionales y europeos, de recuperación de suelos con enmiendas orgánicas, llevados a cabo, a lo largo del tiempo, por el Grupo de Enzimología y Biorremediación de Suelos del CEBAS (CSIC). En estos proyectos se realizaron ensayos de adición, a diferentes dosis, y durante distintos periodos de tiempo, de enmiendas orgánicas de distinta naturaleza y grado de estabilidad, con fines, bien de recuperación de suelos degradados no agrícolas, o bien de incremento de la fertilidad de suelos agrícolas bajo diferente tipo de manejo y cultivo.

Los suelos de estas parcelas experimentales fueron muestreados, analizando en estas muestras de suelo diversos parámetros agronómicos, ambientales y relacionados con la diversidad microbiana.

En concreto, el efecto de la adición de enmiendas orgánicas en suelos degradados se ha evaluado en los siguientes escenarios:

### **Suelos no agrícolas (SN)**

**A. EXPERIMENTOS A CORTO PLAZO.** Estudio en dos zonas diferentes del efecto a corto plazo de la adición de una misma enmienda sobre la creación de un pool de C y sobre la calidad del suelo. Se han muestreado y analizado los suelos de parcelas experimentales situadas en dos zonas diferentes de la Región de Murcia (Cartagena y Abarán) con suelos degradados, (Figura 2.1), donde 3 años antes se había adicionado una misma dosis de compost de estiércol animal con el fin de conseguir su rehabilitación.

**B. EXPERIMENTOS A MEDIO PLAZO.** Este estudio se ha llevado a cabo en dos zonas diferentes (Santomera-1 y Santomera-2) de una finca experimental situada en el paraje de La Matanza, Santomera (Murcia) (Figura 2.1). En la zona de Santomera-1 se muestrearon una serie de parcelas en las que 7 años antes se había adicionado enmiendas orgánicas de distinta naturaleza y grado de estabilidad, evaluando la incidencia en el medio plazo de la naturaleza de la enmienda sobre la creación de materia orgánica y la calidad del suelo. En la zona de Santomera-2 se muestrearon los suelos de parcelas en las que 10 años antes se había añadido lodo EDAR fresco y compostado, evaluando así la incidencia del grado de estabilidad de la enmienda aplicada sobre los parámetros que nos ocupan.

**C. EXPERIMENTOS A LARGO PLAZO.** Para este estudio se seleccionaron unas parcelas situadas en el término municipal de Abanilla (Murcia) (Figura 2.1), donde 28 años antes se había adicionado fracción orgánica de basura doméstica a diferentes dosis para la recuperación de un suelo degradado. El estudio de estos suelos nos permitió evaluar el efecto a largo plazo sobre el pool de C del suelo de la aplicación de esta enmienda.

En todos estos ensayos se realizó una única aplicación de enmienda al comienzo del ensayo de restauración.

## **Suelos agrícolas (SA)**

**A. EXPERIMENTOS A CORTO PLAZO.** Se han muestreado los suelos de parcelas experimentales situadas en el término municipal de Jumilla, donde se habían adicionado lodo fresco de EDAR durante dos años sucesivos bajo cultivo de cereal.

**B. EXPERIMENTOS A MEDIO PLAZO.** Se ha muestreado en una finca experimental situada en el término municipal de Cieza, donde durante 11 años se ha venido desarrollando un cultivo ecológico de ciruelo con adición de diferentes tipos de enmiendas. Este estudio servirá para establecer el efecto a medio plazo sobre un mismo suelo de la adición de diferentes tipos de enmienda.

**C. EXPERIMENTOS A LARGO PLAZO.** Para el estudio del efecto a largo plazo de la adición de enmiendas orgánicas, se seleccionó una finca experimental situada en el término municipal de Jumilla, donde se había venido desarrollando durante 16 años un cultivo de olivo con adición de compost de alperujo (Jumilla, SA) (Figura 2.1), y una zona en el término municipal de San Pedro del Pinatar (San Pedro, SA) (Figura 2.1), donde se había realizado biosolarización, con empleo de estiércol animal (vaca 60%+oveja 40%) compostado anteriormente entre 7-8 meses con dos volteos mínimos y gallinaza, durante 2 y 16 años consecutivos, con cultivo de hortalizas.

La monitorización de estos ensayos de recuperación de suelos, tanto agrícolas como no agrícolas, fue realizada atendiendo a parámetros de tipo agronómico, ambiental y relacionado con la diversidad microbiana. Con la información obtenida a partir de un espectro de parámetros tan diversos, podremos obtener información sobre la capacidad de estos suelos para construir nuevos pools de C orgánico, incrementando la fertilidad y asegurando la sostenibilidad de estos suelos degradados. En la Figura 2.2 se muestra de manera esquematizada el Plan de Trabajo propuesto.

# Suelos semiáridos degradados

Recuperación por adición de materia orgánica diferente: naturaleza, grado de estabilización, dosis o manejo

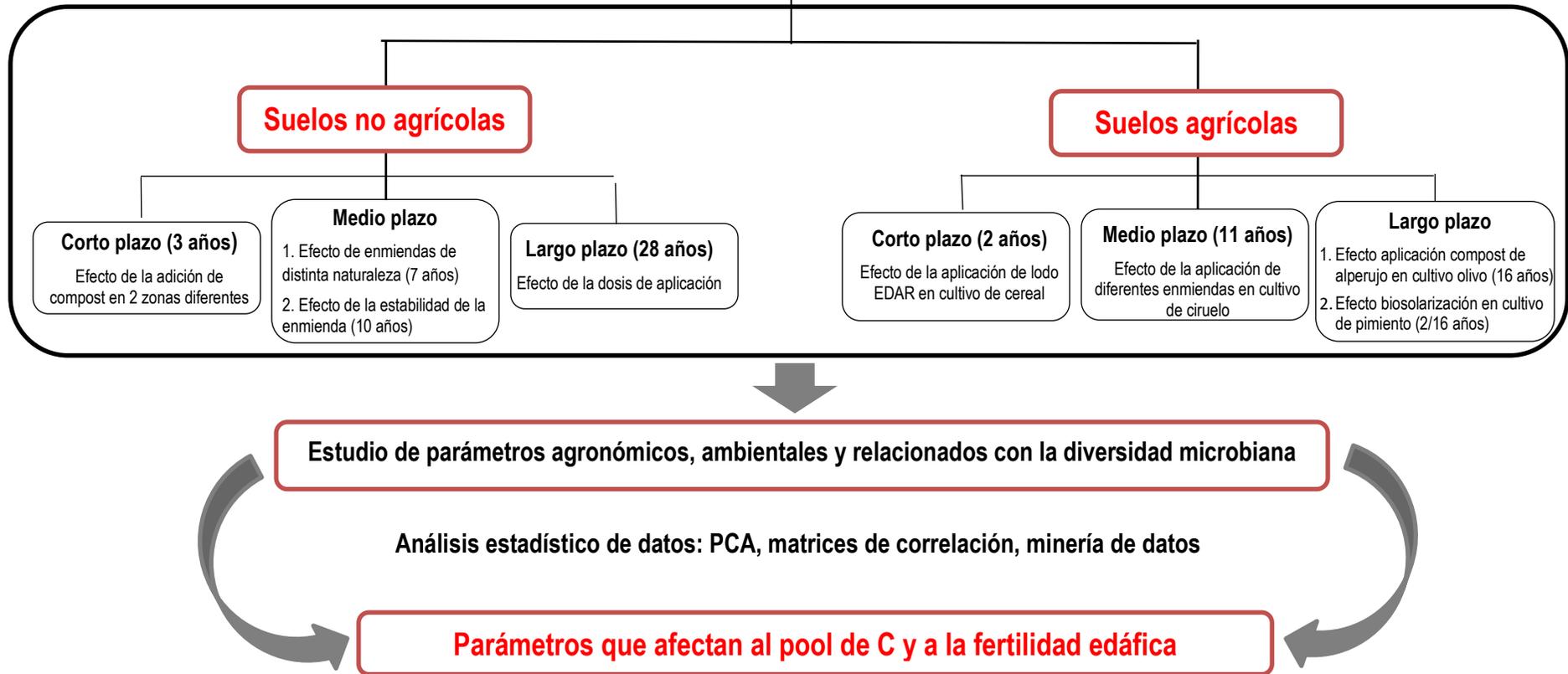


Figura 2.2. -Esquema del Plan de Trabajo



## **3. MÉTODOS ANALÍTICOS**



## MÉTODOS ANALÍTICOS

### TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Los suelos sometidos a ensayo, se muestrearon dependiendo de su naturaleza. Los suelos recuperados con enmiendas orgánicas (Capítulo 4.1) se muestrearon en los primeros 20 cm del suelo (capa arable), recorriendo la parcela en zig-zag tomando submuestras, las cuales se mezclaron y homogenizaron adecuadamente formando de esta forma la muestra a analizar. Por su parte, los suelos agrícolas fueron muestreados en función de la aplicación de la enmienda, así como tipo de cultivo, como de detalla más adelante en cada uno de los ensayos llevados a cabo (Capítulo 4.2)

En laboratorio, todas las muestras se tamizaron a través de un tamiz de 2 mm para todos los parámetros, excepto para la estabilidad de agregados. A continuación, las muestras fueron conservadas a 4°C y -18°C hasta su análisis, dependiendo del estudio de parámetros llevado a cabo posteriormente.

### DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS AGRONÓMICOS

#### Parámetros físicos y físico-químicos

##### *Humedad*

Determinación del porcentaje de agua contenido en la muestra húmeda.

##### Procedimiento

Se pesan de 1-1,5 g de suelo, en un pesa sustancias previamente tarado, y se seca en estufa a 105°C durante 2 horas. A continuación se enfría en un desecador y se pesa. Esta operación se realiza varias veces sucesivas hasta peso constante. La pérdida de peso se considera como la humedad, expresada en tanto por ciento de muestra en las condiciones operativas.

##### Cálculo

$$\% \text{Humedad} = \frac{\text{masa suelo húmedo} - \text{masa suelo seco}}{\text{masa suelo húmedo}} \times 100$$

##### **Análisis granulométrico y textural**

Se determinan la cantidad de sólidos en suspensión midiendo su densidad con un hidrómetro (Bouyoucos, 1962).

##### Reactivos

Peróxido de hidrógeno

Éter etílico

Disolución dispersante: hexametáfosfato sódico (37 g), carbonato sódico (8 g) y agua (hasta 1 L)

### Procedimiento

Se toma una muestra (40 g) de suelo. Se incorporan 10 ml de peróxido de hidrógeno para destruir los coloides orgánicos. Cuando sea necesario se incorpora agua para romper espumas. A continuación se calienta en baño de agua hasta destrucción de materia orgánica, y eliminación del reactivo en exceso. En suelos con conductividad eléctrica en extracto 1:5 mayor de  $1 \text{ dS m}^{-1}$ , será necesario efectuar lavados sucesivos hasta eliminar las sales, para evitar la floculación de los coloides. Este lavado se realiza sobre un embudo Buchner con papel de filtro de poro fino ayudado de vacío. Una vez eliminada la materia orgánica y las sales, el suelo se transfiere a una botella (1,5 L) donde se enrasa a  $300 \text{ cm}^3$  y se incorporan  $50 \text{ cm}^3$  de solución dispersante, agitando toda la noche a 120 rpm en agitador rotatorio.

La suspensión de suelo se pasa a una probeta de 1L y se agita con una varilla durante 1 minuto para que la mezcla sea lo más homogénea posible. Inmediatamente después de terminar la agitación se introduce un hidrómetro, realizando la medida a los 40 segundos (valor que expresa la cantidad de limo+arcilla que contiene la muestra). Esta misma operación se repite exactamente a las 2 horas y la medida que se obtiene proporciona el porcentaje de arcilla. Por diferencia entre ambas medidas se obtiene el porcentaje de limo, y por diferencia con la primera medida a 100, el de arena.

### **Textura**

A partir de los porcentajes obtenidos en el apartado anterior para arena, limo y arcillas y mediante el diagrama de textura propuesto por el U.S.D.A (1951), se clasifica el suelo en el tipo textural correspondiente.

### **pH**

Se prepara un extracto acuoso de suelo en proporción 1:5 (p/v). Se mantiene en agitación mecánica durante 2 horas. Sobre este extracto se realiza la medida de pH de la muestra en agitación magnética utilizando pHmetro Crison, modelo GLP21+.

### **Densidad real (D)**

Determinación según la metodología establecida por el grupo español de Estandarización de Métodos Analíticos (1978).

### Reactivos

Gasoil

### Procedimiento

Se introducen 10 g de muestra en un matraz aforado de 25 ml. A continuación se añaden 10 ml de gasoil, se tapa y se agita el matraz durante unos minutos, comprobándose que las burbujas de aire se desprenden del suelo y se desplazan al cuello del matraz. Después de 2 horas se añaden de nuevo al matraz otros 10 ml de gasoil, y se vuelve a agitar, dejándolo en reposo durante 4 horas hasta que se aprecie que no se desprenden más burbujas de aire. Por medio de una microbureta se completa el matraz con gasoil hasta el enrase de 25 ml.

### Cálculo

La densidad real se expresa en  $\text{g cm}^{-3}$  y se calcula mediante la siguiente expresión:

$$D_r = 10 / (5 - x)$$

Dónde:

X es el volumen del gasoil necesario para llevar el volumen a 25 ml.

### **Capacidad de retención hídrica (CRH)**

Determinación de la cantidad de agua que retiene el suelo saturado sin que se pierda por drenaje, medida de retención hídrica a 0,5 y 15 de atmósfera de presión.

### Procedimiento

Anillos cilíndricos de  $\frac{1}{2}$  cm de altura llenos de pasta saturada de agua del suelo en estudio se colocan sobre una membrana en una cámara cerrada. La pasta saturada se somete a presiones de 0,5 (capacidad de campo) y 15 atmósferas (punto de marchitez) y cuando el suelo no pierde más agua, se saca la muestra del anillo y se introduce en un pesa-sustancias tarado para seguidamente pesarlo (A). A continuación los mencionados pesa-sustancias se llevan a estufa a  $105^\circ\text{C}$  durante 1 día, y una vez secos, se vuelven a pesar (B).

### Cálculo

El resultado de la capacidad de retención hídrica (CRH) se expresa en % de agua sobre suelo seco y se obtiene a partir de la siguiente expresión:

$$\%CRH = (A - B) \times 100 / B$$

Dónde:

A=peso de la muestra húmeda (g)

B=peso de la muestra seca (g)

La diferencia entre el agua retenida a 0,5 y 15 atm nos da el agua útil de la muestra.

### ***Estabilidad de agregados (EA)***

Determinación de los agregados del suelo estables al impacto de una lluvia artificial de energía conocida (Lax y col., 1994).

#### ***Procedimiento***

Se pesan 4 g de suelo tamizado a 4 mm, se extienden sobre un tamiz de 0,25 mm (7,5 cm de diámetro) y humedecen mediante pulverización. Después de 10 minutos se someten los agregados a una lluvia de 150 ml de agua desionizada proveniente de una vasija cilíndrica de 6,6 cm de diámetro interior, provista en su fondo con 11 orificios distribuidos regularmente, y elevada 1 m sobre el tamiz. La fracción del suelo que pasa el tamiz se desprecia. El suelo que queda en el tamiz, se pasa mediante chorro de agua desionizada a una cápsula previamente tarada (T), la cual se seca a 105°C, se deja enfriar y se pesa (P1), (Figura 3.1).



**Figura 3.1.-***Secuencia del tratamiento de la muestra de suelo para la determinación de estabilidad de agregados*

A continuación, el contenido de la cápsula se humedece y se deja 2 horas. Los agregados de la cápsula se vuelven a pasar por el tamiz de 0,25 mm, ayudándose con una varilla y un chorro de agua. Las partículas orgánicas y de arena que quedan sobre el tamiz, se colocan de nuevo en una cápsula, se secan y se pesan (P2).

#### ***Cálculo***

El porcentaje de agregados estables a la lluvia (EA) respecto a los agregados totales del suelo se calcula mediante la fórmula siguiente.

$$\%EA=(P1 - P2) \times 100/(4 - P2 + T)$$

### **Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales**

#### ***Determinación de Carbono Total (Ct), Nitrógeno total (Nt) y Carbono Orgánico Total (COT) en muestras sólidas***

El contenido de C total, N total y C orgánico en las muestras de suelo se determinaron con un Analizador Elemental Automático LECO TruSpec C/N/S (San José MI, EEUU) (Figura 3.2). En la determinación de C orgánico del suelo los carbonatos fueron eliminados previamente por calentamiento de la muestra con HCl.



Figura 3.2.-Analizador Elemental Automático LECO

### ***Materia orgánica***

Para suelos, el contenido de materia orgánica se calcula multiplicando el contenido en carbono orgánico total del suelo por el factor 1,728.

Para las enmiendas orgánicas, el contenido en materia orgánica se determina por calcinación (materia orgánica volátil, MOV).

#### Procedimiento

Tras determinación de la humedad siguiendo el procedimiento descrito anteriormente, se introduce el crisol con la muestra seca en horno Mufla a 550°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se procede a la determinación de cenizas. La diferencia a 100 del porcentaje de cenizas del material, nos dará el porcentaje de materia orgánica volátil del mismo. Para ello se aplica la siguiente fórmula.

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{P_{\text{crisol} + \text{cenizas}} - P_{\text{crisol}}}{\text{Peso suelo seco}} \times 100$$

$$\text{Materia orgánica volátil (MOV)} = 100 - \text{cenizas(\%)}$$

### ***Determinación de Carbono hidrosoluble (Cs)***

Preparación del extracto acuoso

Obtención del extracto en la relación sólido líquido (1:5, p/v) y determinación sobre él, del carbono soluble en agua y carbohidratos, utilizando los métodos correspondientes que se describen a continuación.

#### Reactivos

Agua destilada

#### Procedimiento

El extracto se obtiene mediante agitación mecánica durante 2 horas de 5 g de muestra en 25 ml de agua destilada. A continuación se centrifuga a 15.000 rpm por espacio de 15 minutos y posteriormente se filtra a través de papel de filtro libre de cenizas.

Determinación del contenido de carbono orgánico contenido en el extracto acuoso, mediante Analizador de Carbono en muestras líquidas Analytikjena Multi N/C 3.100, Figura 3.3.



Figura 3.3.-Analizador de Carbono Orgánico total en muestras líquidas

### ***Determinación de Sustancias Húmicas (SH)***

Extracción de las sustancias húmicas del suelo mediante un extractante alcalino.

#### Reactivos

Pirofosfato de sodio, 0,1M (pH 9,8)

#### Procedimiento

En un tubo de centrifuga se colocan 2 g de suelo y 40 ml de  $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$  0,1 M, a pH 9,8 (proporción 1:20 p/v) y se somete a agitación durante 4 horas. A continuación se centrifuga durante 10 minutos a 15.000 rpm y el sobrenadante se filtra. A partir de este extracto se determina el carbono extraíble total, (carbono de sustancias húmicas). El carbono extraíble total se determinó sobre el extracto en pirofosfato sódico alcalino mediante oxidación con dicromato potásico en medio ácido.

#### Reactivos

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  2 N

$\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado

#### Procedimiento

En un tubo de digestión se colocan 4 ml de extracto, 2 ml de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  2 N, y 4 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Se dispone durante 15 minutos en bloque digestor a  $150^\circ\text{C}$ , dejándolo enfriar hasta  $t^a$  ambiente. Posteriormente se lleva hasta volumen total a 10 ml con agua destilada y se lee en espectrofotómetro a 590 nm. La curva patrón se realiza con glucosa en concentraciones de 0, 50, 100, 200 y 500  $\text{mg kg}^{-1}$  de glucosa (Sims y Haby, 1971).

### ***Determinación de Macronutrientes y Micronutrientes***

Para la determinación de estos parámetros (Pt, Kt, Ca, Mg, Mn, Al, S y Fe) las muestras deben ser previamente digeridas. El análisis se basa en el principio de mineralización de la muestra por vía húmeda con  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  y con utilización de radiación electromagnética (microondas).

Para mineralizar la muestra por vía húmeda en microondas, se sitúa en su interior un vaso de teflón de alta presión debidamente seco. Se pesan  $(0,1000-0,2000)\pm 0,0005$  g de muestra. Una vez añadidos los reactivos de digestión (1ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  y 4 ml de  $\text{HNO}_3$ ), se introduce en el microondas con una rampa de temperatura final de 20 minutos a  $220^\circ\text{C}$ . Este, una vez frío se introduce en un matraz aforado de 25 ml donde se enrasa a dicho volumen con agua miliQ, y se guarda en botella de poliestireno para su almacenamiento en nevera hasta posterior análisis (Figura 3.4).



**Figura 3.4.**-Tubos de teflón. Reactor de Teflón ULTRACLAVE MLS

A partir de este extracto se determinan los diferentes elementos por determinación cuantitativa mediante ICP-OES (Inductively coupled plasma-optical emission spectrometer).

ICP-OES es una técnica de análisis multielemental que utiliza una fuente de plasma de acoplamiento inductivo para disociar los átomos o iones que constituyen la muestra, excitándolos a nivel donde emiten la longitud de onda característica. Un detector mide la intensidad de luz emitida, y calcula la concentración de ese elemento en la muestra. El plasma es un gas ionizado, eléctricamente neutro y confinado en un tubo de descarga (Figura 3.5).



Figura 3.5.-Cromatógrafo ICAP 6500 DUO THERMO (ICP-OES)

## **DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS AMBIENTALES**

### **Conductividad eléctrica (CE)**

El extracto preparado para la medida de pH (1:5, p/v), se somete a un proceso de centrifugado y filtrado a través de papel de filtro libre de cenizas. En el extracto obtenido se mide directamente la conductividad, en agitación mecánica con un conductímetro Crison, modelo GLP 31+.

### **Na<sup>+</sup>**

Para la determinación de este parámetro (Na<sup>+</sup>) se siguió el mismo método descrito para macro y micronutrientes.

### **Nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)**

Extracción acuosa y medida de los aniones por Cromatografía de Intercambio Catiónico (Figura 3.6).



Figura 3.6.-Cromatógrafo iónico para la determinación de nitratos

Esta cromatografía se basa en el equilibrio de intercambio entre una fase sólida que contiene grupos sulfónicos o carboxílicos (para la separación de cationes) o grupos amino cuaternarios o primarios (para la separación de aniones).

### ***Nitrógeno hidrosoluble (Ns)***

Preparación del extracto acuoso

Obtención del extracto en la relación sólido líquido (relación 1:5) y determinación sobre él del nitrógeno soluble en agua, utilizando los métodos correspondientes que se describen a continuación.

#### Reactivos

Agua destilada

#### Procedimiento

El extracto se obtiene mediante agitación mecánica durante 2 horas de 5 g de muestra en 25 ml de agua destilada. A continuación se centrifuga a 15.000 rpm por espacio de 15 minutos y posteriormente se filtra a través de papel de filtro libre de cenizas. Posteriormente, se determina el contenido de nitrógeno contenido en el extracto acuoso, mediante Analizador en muestras líquidas Analytikjena Multi N/C 3100, (Figura 3.3).

### ***Metales pesados***

Para la determinación de estos parámetros (Cd, Cr, Cu, Zn, Pb, Ni) se siguió el mismo método descrito para macro y micronutrientes.

## ***DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA***

### ***Actividades enzimáticas***

#### ***Actividad celulasa***

La enzima celulasa cataliza la hidrólisis de la celulosa, la cual es insoluble y no puede ser asimilada directamente por los microorganismos. Esta hidrólisis es extracelular. Al menos 3 enzimas intervienen sinérgicamente en la degradación de la celulosa. En enzimología de suelos es complicada la determinación de la celulosa ya que no es soluble en agua, por ello se emplea como sustrato carboximetilcelulosa. El nivel de celulosa en el suelo está determinado por numerosos factores como la temperatura, la cantidad y calidad de materia orgánica disponible y las prácticas de manejo del suelo (Doyle y col., 2006; Drewnik, 2006). La determinación de la enzima celulasa del suelo se realizó según el Método de Pancholy y Rice (1973), modificado por García-Álvarez e Ibañez (1994).

#### Reactivos

Acetato de Sodio

Carboxi-metil Celulosa (sal sódica)

Tolueno

Carbonato de Sodio

Tartrato sódico potásico

Sulfato de cobre penta-hidratado

Hidrogeno carbonato de sodio

Reactivo de Somogyi

1. Disolver 24 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en 250 ml de agua destilada. Una vez disuelto incorporar 12 g de tartrato sódico.
2. Disolver 4 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  en 40 ml de agua. Una vez disuelto incorporar a la disolución anterior (1) manteniendo agitación constante.
3. Añadir a la mezcla (1+2), 16 g de  $\text{NaHCO}_3$ .
4. Disolver 180 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro en 500 ml de agua caliente. Hervir la solución durante unos minutos para desgasificar. Dejar enfriar. Una vez frío incorporar a la solución anterior (3) y completar volumen hasta 1L con agua destilada.
5. Conservar en una estufa en oscuridad durante una semana a  $30^\circ\text{C}$ . Filtrar y conservar en frasco topacio. Conservar a temperatura ambiente en lugar fresco y seco.

Reactivo de Nelson

1. Disolver 25 g de Molibdato Amónico Tetrahidrato en 450 ml de agua destilada.
2. Incorporar cuidadosamente 21 ml de ácido sulfúrico concentrado, manteniendo agitación constante (2).
3. Disolver 3 g de Hidrógeno Arseniato Sódico ( $\text{AsO}_4\text{HNa}_2$ ) en 25 ml de agua destilada. Mezclar con la dilución anterior (2). Mantener en la estufa a  $37^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Conservar a temperatura ambiente en lugar fresco y seco en frasco topacio.

### Procedimiento

*Muestras:* Pesar 5 g de suelo en tubos de cristal Pobel. A continuación incorporar 20 ml de tampón sodio-acetato 50 mM pH 5,5 con CMC 2% a las muestras.

*Controles:* Se incorporan 20 ml de tampón sodio-acetato 50 mM pH 5,5. Añadir 0,5 ml de tolueno. Incubar en baño a  $37^\circ\text{C}$  con agitación continua durante 24 horas. Pasar las muestras a tubos de centrifuga y centrifugarlos a 3.000 rpm durante 5 min. Recoger el sobrenadante en un tubo limpio (de cristal).

*Sobrenadante:* Dispensar 1 ml de sobrenadante en un tubo de ensayo de vidrio. Añadir 1 ml de reactivo Alcalino de Somogyi. Agitar y calentar a  $100^\circ\text{C}$  en baño termostático durante 15 minutos. Introducir en hielo 15 minutos. Incorporar 1 ml de reactivo de Nelson, agitar, y dejar reposar durante 2-3 minutos. Añadir 12 ml de agua destilada (para completar con agua hasta 15 ml). Determinar absorbancia a  $\lambda=540 \text{ nm}$ .

### Cálculos

$$\text{Actividad celulasa (CLL)} = \frac{C \times V}{G \times T}$$

Dónde:

Actividad celulasa= Actividad ( $\mu\text{g}$  de glucosa  $\text{g}^{-1}$  suelo seco  $\text{h}^{-1}$ )<sup>3</sup>

C=Concentración media de glucosa de las 3 repeticiones de la muestra de suelo una vez sustraído el control ( $\mu\text{g}$  de glucosa  $\text{ml}^{-1}$ )

V=Factor de dilución que corresponde al volumen de líquidos añadidos a la muestra de suelo, es decir, la disolución de incubación y el agua destilada (30 ml)

G=Factor relativo a la cantidad de suelo seco utilizada en el ensayo

T=Factor relativo al tiempo de incubación (24 horas)

### **Actividad B-Glucosidasa**

El método utilizado toma como referencia el descrito por Tabatabai (1982) y Eivazi y Tabatabai (1988), basado en la determinación colorimétrica del p-nitrofenol obtenido por la acción de la  $\beta$ -glucosidasa después de incubar el suelo con el sustrato artificial p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosido (PNG) en medio tamponado a PH 6 y a temperatura de 37°C, y extracción del p-nitrofenol liberado por filtración después de la adición de  $\text{CaCl}_2$  y tampón THAM pH 12, que en medio básico desarrolla color amarillo.

#### Reactivos

Paranitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosido (PNG) 0,025 M

Paranitrofenol: solución madre 1000  $\mu\text{g}$   $\text{ml}^{-1}$ , a partir de la cual se preparan otras diluciones para la recta patrón hasta 250  $\mu\text{g}$   $\text{ml}^{-1}$

$\text{CaCl}_2$  0,5M

NaOH 0,5M

Disolución Stock: Disolver 12,2 g de Tris-hidroximetil-aminometano (THAM), 11,6 g de ácido maleico, 14 g de ácido cítrico, y 6,28 g de ácido bórico en agua destilada. Añadir 488 ml de NaOH 1M y enrasar a 1000 ml con agua destilada. Almacenar a 4°C.

Disolución Tampón MUB-HCl pH 6: mezclar 200 ml de disolución stock con 500 ml de HCl 0,1M y enrasar a 1 litro con agua destilada.

Disolución Tampón THAM-NaOH 0,1 M pH 12 (disolución extractante): pesar 12,2 g de Tris-hidroximetil-aminometano, disolver en aproximadamente 800 ml de agua y ajustar con NaOH 0,5M hasta pH 12 y enrasar a 1 litro con agua destilada.

#### Procedimiento

A 0,5 g de muestra de suelo se le añaden 0,5 ml de sustrato PNG (p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosido) 0,025M y 2 ml de tampón MUB-HCl de pH 6. Paralelamente se prepara para cada muestra un control con 0,5 g de suelo

y 2 ml de tampón. Se prepara un blanco conteniendo 0,5 ml de sustrato y 2 ml de tampón. Muestra, control y blanco, se incuban en baño termostático con agitación a 37°C durante 2 horas, (Figura 3.7).

A continuación, todos los tubos se enfrían a 4°C en baño con hielo durante 15 minutos, para frenar la reacción enzimática. Terminado este periodo se añaden 0,5 ml de sustrato a los controles. Posteriormente se adiciona a todos los tubos, muestra, control, y blanco, 0,5 ml de CaCl<sub>2</sub> 0,5M y 2 ml de disolución THAM-NaOH 0,1 M pH 12. Se agita bien para que la suspensión se mezcle perfectamente. Seguidamente se centrifugan los tubos a 3.000 rpm durante 10 minutos. Se diluye convenientemente el sobrenadante y se mide su absorbancia en espectrofotómetro, después de haber ajustado el equipo a cero con el blanco, a una longitud de onda 400 nm. El CaCl<sub>2</sub> se añade para bloquear la reacción y para provocar la dispersión de los coloides que podrían interferir en la lectura espectrofotométrica, y la disolución THAM-NaOH sirve para salificar el producto de reacción obtenido dándole color amarillo (Figura 3.8).

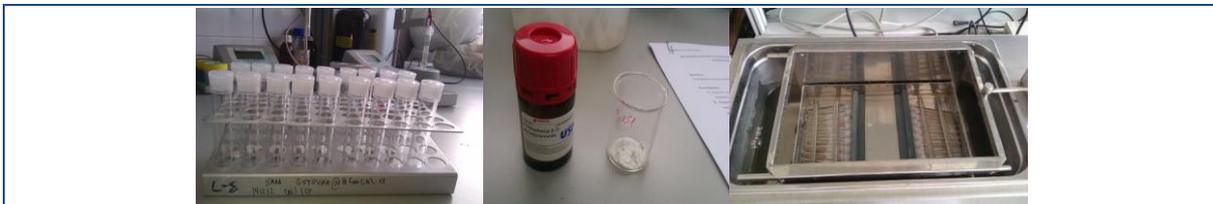


Figura 3.7.-Secuencia desarrollo actividad enzimatica  $\beta$ -glucosidasa

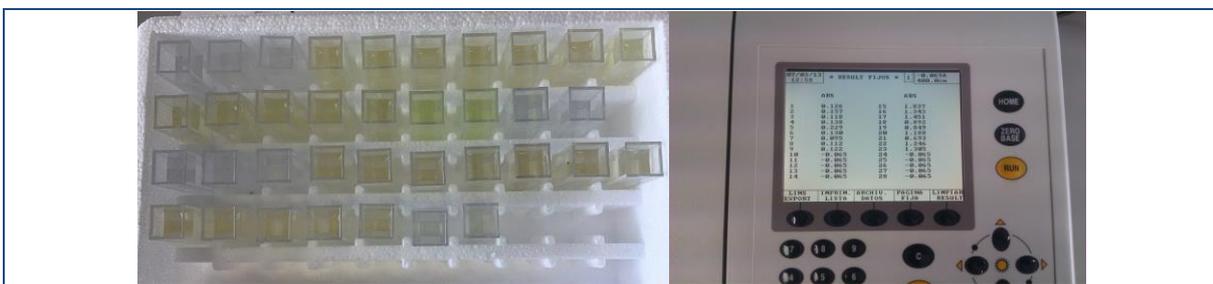


Figura 3.8.-Determinación colorimétrica de la actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa

### Cálculo

La densidad óptica medida se transforma en concentración mediante una recta patrón obtenida con concentraciones conocidas de PNF. Las unidades propuestas para expresar esta actividad enzimática son  $\mu$ moles PNF g<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>. La actividad  $\beta$ -glucosidasa se calcula usando la expresión:

$$\text{Actividad } \beta_{\text{Glucosidasa}} (\beta_{\text{gluc}}) = (C \times V) / (Pm \times G \times T)$$

Dónde:

Actividad  $\beta$ -glucosidasa=actividad  $\mu$ mol PNF g<sup>-1</sup>suelo seco h<sup>-1</sup>

C=concentración de PNF ( $\mu$ g) en el extracto, según la recta de calibración obtenida

V=factor de dilución

Pm=peso molecular del p-nitrofenol (139 g mol<sup>-1</sup>)

G=factor referente al peso del suelo seco

T=factor relativo al tiempo de incubación, en horas

### ***Actividad polifenoloxidasas***

La enzima polifenoloxidasas cataliza la oxidación de compuestos fenólicos a quinonas usando el oxígeno como aceptor de electrones y también participa en la formación de sustancias húmicas. Además esta enzima está implicada en la transformación de compuestos orgánicos recalcitrantes como la lignina (Perucci y col., 2000). El comportamiento de esta enzima no está claro, aunque no parece correlacionar con ninguna actividad hidrolasa o con la cantidad de materia orgánica en el suelo (Sinsabaugh, 2010).

La actividad polifenoloxidasas se determinó mediante el Método de Allison (2006).

### Material y reactivos

Tubos plástico 50mL.

Tampón Tris-HCl 50 mM, pH 7. Disolver 6,06 g de tris (hidroxi) aminometano en agua destilada, ajustar el pH a 7 y enrasar a un litro.

Sustrato pyrogallol 50 mM. Para 50 mL de sustrato pesar 0,930 g de EDTA y disolver en tampón. Una vez disuelto el Edta, añadir 0,315 g de pyrogallol y enrasar a 50 mL.

Ácido ascórbico 4,2 mM: Disolver 0,074 g de ácido ascórbico en 100 ml de agua destilada.

### Procedimiento

Pesar 1 g de suelo en los tubos de plástico de 50 mL. Añadir 30 mL de tampón tris-HCl 50 mM ajustado a pH 7. Agitación durante 30 minutos (agitador orbital). Del extracto resultante se toman 1 ml (en agitación mecánica) para muestra y control respectivamente en tubos de ensayo de plástico de 10 mL. Adición de 1 ml de sustrato (pyrogallol 50 mM) a las muestras. Agitación en baño durante 1 hora a 30°C. Enfriar en hielo.

Adición a los controles de 1 mL de sustrato. Incorporar 3 ml de ácido ascórbico 4,2 mM con el fin de parar la reacción. Centrifugar 10' 3.400 rpm.

Blanco espectro: 2 ml tris-HCl+3 ml ác. Ascórbico. Determinar absorbancia a 460 nm.

### Cálculo

*Actividad Polifenoloxidasas (PPO): (mmol pyrogallol/ g suelo seco\*hora)= [(pdte\*abs-ordenas)\* 150\*dilución]/ (peso suelo seco\*horas)*

### ***Actividad fosfatasa alcalina***

Utilización del método descrito por Tabatabai y Bremer (1989), basado en la determinación espectrofotométrica del p-nitrofenol liberado cuando se incuba el suelo a 37°C con una disolución tamponada (pH 11,5) del sustrato artificial p-nitrofenol-fosfato (PNF). El método colorimétrico para medir p-nitrofenol liberado se basa en el hecho de que las disoluciones alcalinas de este compuesto tienen color amarillo (Trasar Cepeda y col., 2003).

#### Reactivos

Disolución stock de MUB: Disolver 12,2 g de Tris-hidroximetil-aminometano (THAM), 11,6 g de ácido maleico, 14 g de ácido cítrico, y 6,28 g de ácido bórico en agua destilada. Añadir 488 ml de NaOH 1M y enrasar a 1 L con agua destilada. Almacenar a 4°C.

Tampón Universal Modificado (MUB) pH 11,5: tomar 200 ml de la solución stock y llevar hasta pH 11,5 con NaOH

Paranitrofenil fosfato (PNF) 0,025M

Paranitrofenol: solución madre 1000 µg ml<sup>-1</sup>, a partir de la cual se preparan otras diluciones para la recta patrón hasta 250 µg ml<sup>-1</sup>

CaCl<sub>2</sub> 0,5M

NaOH 0,5M

#### Procedimiento

A 0,5 g de muestra de suelo se le añaden 0,5 ml de p-nitrofenol fosfato 0,025 M y 2 ml de tampón MUB pH: 11,5. Paralelamente se prepara para cada muestra un control con 0,5 g de suelo y 2 ml de tampón MUB pH 11,5. Además, se prepara un blanco con 0,5 ml de sustrato y 2 ml de tampón MUB pH 11,5. Muestra, control y blanco, se incuban en baño termostático con agitación a 37°C durante 1 hora. Transcurrido dicho periodo de tiempo, los tubos se enfrían a 4°C durante 15 minutos para frenar la reacción enzimática (Figura 3.9).

A continuación se le incorporan a los controles los 0,5 ml de sustrato y a todos los tubos, muestra, control y blanco, 0,5 ml de CaCl<sub>2</sub> 0,5 M y 2 ml de NaOH 0,5 M. Se agita bien para que la suspensión se mezcle completamente. Seguidamente se centrifugan los tubos a 3.400 rpm durante 10 minutos. Se diluye convenientemente el sobrenadante y se mide su absorbancia, en el espectrofotómetro, después de haber ajustado el equipo a cero con el blanco, a una longitud de onda de 400 nm (Figura 3.10).



**Figura 3.9.**-Secuencia ensayo para la determinación de la actividad enzimática Fosfatasa



**Figura 3.10.-Determinación colorimétrica de la actividad enzimática fosfatasa**

### Cálculo

La densidad óptica medida se transforma en concentración mediante una recta patrón obtenida con concentraciones conocidas de p-nitrofenol-fosfato. Las unidades propuestas para expresar esta actividad enzimática son  $\mu\text{moles p-nitrofenol liberado g}^{-1}\text{h}^{-1}$ . La actividad fosfatasa se calcula usando la siguiente expresión:

$$\text{Actividad Fosfatasa (F)} = (C \times V) / (Pm \times G \times T)$$

donde:

Actividad Fosfatasa=actividad ( $\mu\text{moles p-nitrofenol liberado g}^{-1}\text{h}^{-1}$ )

C=cantidad p-nitrofenol de la muestra en  $\mu\text{g}$

V=factor de dilución

Pm=peso molecular del p-nitrofenol ( $139 \text{ g mol}^{-1}$ )

G=factor relativo al peso de del suelo seco utilizado

T=factor relativo al tiempo de incubación en horas

### **Actividad Ureasa**

Según el Método de Kandeler y Gerber (1988) basado en la determinación del amonio liberado en la incubación de una solución de suelo a  $37^\circ\text{C}$  durante 2 horas. La determinación del amonio se realiza a través de la reacción de Berthelot. En este método, el amonio producido por la actividad ureasa reacciona con salicilato y dicloroisocianuro, generando un color verde azulado. La absorbancia a  $690 \text{ nm}$  es directamente proporcional a la concentración de nitrógeno amoniacal.

### Reactivos

Urea 0,48%

KCl 1 M acidulado

NaOH 0,3 M

Disolución de Salicilato sódico: se disuelven 17 g de salicilato-Na y 120 mg de nitroprusiato sódico en agua destilada y se lleva a un volumen de 100 ml.

Disolución de Salicilato-Na/ NaOH: mezclar volúmenes iguales de NaOH 0,3M, salicilato-Na y agua destilada. Preparar diariamente.

Disolución de dicloro-isocianuro de sodio 0,1% en agua destilada. Preparar diariamente.

Tampón borato pH 10: 30 g de tetraborato disódico anhidro en 1,5 L de agua destilada templada. Enfriar y ajustar a pH 10 con NaOH (20%) y llevar a 2 L en matraz.

### Procedimiento

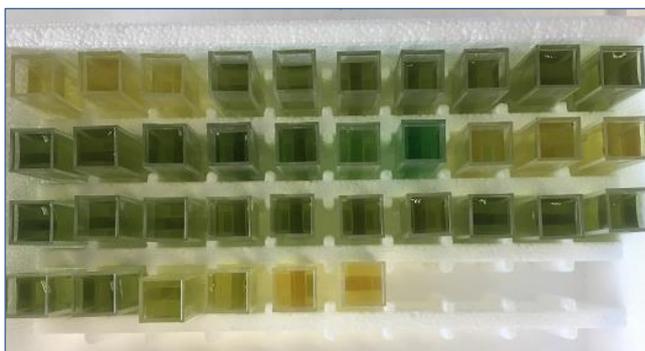
Los ensayos se realizan en tubos de 10 ml de volumen, procediéndose del siguiente modo:

A 1 g de muestra de suelo se añaden 0,5 ml de urea 0,48% y 4 ml de tampón borato pH 10. Paralelamente se prepara para cada muestra un control con 1 g de suelo y 4 ml de tampón borato pH 10. Además, se prepara un blanco conteniendo 0,5 ml de urea 0,48% y 4 ml de tampón borato pH 10. Muestra, control y blanco, se incuban en baño termostático con agitación a 37°C durante 2 horas. Terminado este periodo se añaden 0,5 ml de urea 0,48% al control.

A continuación, en ambos casos, se extrae el amonio liberado utilizando 6 ml KCl 7,4%, agitando durante 30 minutos. Seguidamente, se centrifuga y filtra la suspensión de suelo, resultando un filtrado de extracto claro en el que se determina amonio por colorimetría como a continuación se detalla.

### Determinación de amonio

A 0,5 ml de extracto se adicionan en el siguiente orden: 4,5 ml de agua destilada, 2,5 ml de salicilato de Na/NaOH y 1 ml de dicloroisocianuro de sodio, y la mezcla se deja reposar 30 minutos en oscuridad. La absorbancia se mide en el espectrofotómetro (Figura 3.11), después de haber ajustado el equipo a cero con el blanco, a una longitud de onda de 690nm.



**Figura 3.11.**-Desarrollo de color para la determinación de la actividad enzimática ureasa

### Cálculo

La densidad óptica relativa medida se transforma en concentración mediante una recta patrón obtenida con concentraciones conocidas de amonio. Las unidades propuestas para esta actividad enzimática son  $\mu\text{moles de N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{suelo seco h}^{-1}$ . La actividad ureasa se calcula usando la siguiente expresión:

$$\text{Actividad Ureasa (U)} = [(S - B) \times V] / (Pm \times G \times T)$$

Actividad ureasa=actividad ( $\mu\text{moles de N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{suelo seco h}^{-1}$ )

S=cantidad de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en las muestras ( $\mu\text{g de N-NH}_4$ ) obtenida de la curva patrón

B=cantidad de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ( $\mu\text{g de N-NH}_4$ ) para los blancos

Pm=peso atómico de nitrógeno ( $14 \text{ g mol}^{-1}$ )

V=volumen total del extracto de incubación

G=factor relativo a la cantidad de suelo seco usado

T=factor de tiempo de incubación (horas)

### **Actividad Glicina Aminopeptidasa**

La enzima glicina aminopeptidasa en suelos cataliza la degradación de proteínas. Para ello se utilizó el Método descrito por Sinsabaugh y col (1993), basado en la determinación colorimétrica de la p-nitroanilina obtenida por la acción de la glicina aminopeptidasa después de incubar el suelo con el sustrato artificial glicina p-nitroanilida en un medio tamponado Tris-HCL 50 mM ajustado a pH 7 y a temperatura 40°C durante 2 horas.

### Reactivos

Ácido tris(hidroxi)aminometano-HCL (50mM) a pH 7

Glicina p-nitroanilida 50 mM

Ácido acético (0,75 %, v/v)

### Procedimiento

A 0,5 g de muestra de suelo se le añaden 2 ml de tampón tris-HCl 50 mM a pH 7 y 2 ml de sustrato glicina p-nitroanilida 50 mM. Paralelamente se prepara para cada muestra un control con 0,5 g de muestra y 2 ml de tampón tris-HCl 50 mM a pH 7. Además se prepara un blanco con 2 ml de tampón Tris-HCl 50 mM a pH 7. Muestra, control y blanco, se incuban en baño termostático con agitación a 40°C durante 2 horas. Terminado este periodo se añaden 0,5 ml de sustrato a los controles.

A continuación todos los tubos se enfrían a 4°C durante 15 minutos, para frenar la reacción enzimática. Pasado este tiempo, se adiciona a todos los tubos, muestra, control y blanco, se añade 1 ml de ácido acético (0,75% v/v). Se agita bien para que la suspensión se mezcle completamente. Seguidamente se centrifugan los tubos a 3.400 rpm durante 10 minutos. Se diluye convenientemente el sobrenadante y se mide su

absorbancia, en el espectrofotómetro, después de haber ajustado el equipo a cero con el blanco, a una longitud de onda de 410 nm.

### Cálculos

La densidad óptica relativa medida se transforma en concentración mediante una recta patrón obtenida con concentraciones conocidas de p-nitroanilina. Las unidades propuestas para expresar esta actividad enzimática son  $\mu\text{moles PNA g}^{-1}\text{h}^{-1}$ . La glicina aminopeptidasa se calcula usando la siguiente expresión

$$\text{Actividad Glicina aminopeptidasa (GLC)} = [(pte \times Abs \text{ ordenada}) \times 10 \times V] / (\text{Peso suelo seco} \times h)$$

Dónde:

Actividad glicina aminopeptidasa: actividad ( $\mu\text{moles p-nitroanilina g}^{-1}\text{h}^{-1}$ )

V: Factor de dilución

### **Actividad Catalasa**

Es una enzima intracelular que está presente en todas las bacterias aerobias y en la mayoría de las bacterias anaerobias facultativas. No hay catalasa sin embargo en las anaerobias obligatorias (Trevors, 1984). Esta enzima actúa sobre el agua oxigenada tóxica producida por la cadena de transporte de electrones y varias reacciones de hidroxilación y oxidación, rompiendo estos compuestos para formar oxígeno y agua. Catalasa fue el primer enzima estudiado en suelos (Woods, 1989) y es considerado por ser un indicador de la actividad global de los microorganismos del suelo. Además esta enzima está asociada a la fertilidad del suelo (García y Hernández, 1997).

Para su determinación, se adiciona una cierta cantidad de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al suelo y en la incubación de la mezcla a  $20^\circ\text{C}$  durante un periodo de tiempo determinado en el que actúa la enzima, provocando la descomposición del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$ . Posteriormente el  $\text{H}_2\text{O}_2$  residual que permanece inalterado después de que tuvo lugar la reacción enzimática, se mide mediante una valoración con permanganato potásico según el Método de Johnson y Temple (1964).

### Reactivos

Agua oxigenada (1:100) Diluir 1 ml de agua oxigenada (30%) en 100 ml de agua destilada (inmediatamente antes de su uso).

Ácido sulfúrico 1,5 M: 16 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  / 200 ml  $\text{H}_2\text{O}$

Permanganato de potasio 0,01M. Valorar con oxalato sódico para conocer su normalidad exacta. (Kolthof y col., 1972).

### Procedimiento

**Muestras:** Pesar 0,5 g de suelo muestra. Incorporar 40 ml agua destilada. Agitar durante 30 minutos en agitador orbital, posteriormente añadir 5 ml agua oxigenada (1:100) y agitar 10 minutos en agitador orbital. Incorporar 5 ml ácido sulfúrico 1,5 M (para parar la reacción) y filtrar.

**Controles:** Sustituir los 5 ml de agua oxigenada por agua destilada.

**Blancos:** 40 mL de agua destilada+5 ml de agua oxigenada (1:100)+5 ml de ácido sulfúrico 1,5 M.

Para determinar agua oxigenada residual en los extractos: 25 ml extracto filtrado se valoran con permanganato de potasio 0,01 M agitando continuamente (esperar a que la disolución sea incolora antes de añadir siguiente gota de permanganato). Final de la valoración cuando se alcance color rosa permanente. Valorar muestras y controles.

La concentración de agua oxigenada añadida al suelo corresponderá a la valoración del blanco

$$\text{Actividad catalasa (CTL)} = [BG - (S - B)] * N * 0,5 * V * T / G$$

Actividad catalasa: actividad mmoles agua destilada consumida  $\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$

BG=cantidad de permanganato en ml valoración blanco

S=permanganato (ml) muestras

B=permanganato (ml) control

N=Normalidad exacta del permanganato

V=factor de dilución (50ml/ 25 ml)

G=factor relativo a la cantidad de suelo seco utilizado (peso del suelo seco que hay en 0,5 g de suelo húmedo)

T=factor de tiempo (la incubación dura 10 min)

Contraste de una disolución de  $\text{KMnO}_4$  0,01N usando oxalato sódico

Contraste de la disolución de  $\text{KMnO}_4$

### Procedimiento normalidad del $\text{KMnO}_4$ .

Pesar con exactitud 0,10-0,120 g de oxalato sódico en matraz Erlenmeyer (mantener previamente en estufa a 105°C para eliminar humedad. Colocar en desecador hasta pesar). Disolver en 60 ml de agua destilada, y añadir 18 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:8) 2M. Calentar hasta completa disolución a 60°C.

La valoración se debe realizar a 60°C mínimo. Incorporar con bureta la disolución de permanganato de potasio que se vaya a realizar (0,01N). La reacción debe realizarse lo más rápido posible, hasta viraje rosa pálido (durante al menos 30 segundos debe mantener el color).

$$F = A * 1000 / E * 0,1 * V$$

Siendo:

a=gramos pesados de  $C_2O_4Na_2$

V=ml consumidos de permanganato de potasio 0,01 N

Eq=peso equivalente de  $C_2O_4Na_2$ .  $Pm/2= 67,0$

### Respiración microbiana (medida del desprendimiento de $CO_2$ )

Determinación del desprendimiento de C- $CO_2$  por los microorganismos, durante la incubación del suelo en un sistema cerrado. El  $CO_2$  desprendido es medido por un analizador de gases IR (Hernández y García, 2003).

#### Procedimiento

En frascos con cierre hermético, de 125 cm<sup>3</sup> provistos de tapón son septum, que permita pinchar para extraer gas, se introducen 15 g de suelo humedecido con agua destilada al 60% de su capacidad de retención hídrica. Se cierra herméticamente el frasco y se coloca en incubación a 28°C. Periódicamente (primera muestra tomada tras 24 horas del comienzo de la incubación), se determina la concentración de  $CO_2$  liberado por la muestra en el espacio de cabeza del frasco a través de Analizador de gas de espacio de cabeza electroquímico/infrarrojo con compensación de tª DanSensor Checkmate 3  $CO_2/O_2$ . El equipo toma directamente el volumen de muestra (6 ml) del espacio de cabeza del frasco durante 10 segundos para determinar la concentración de  $CO_2$ , (Figura 3.12).

Tras las correspondientes medidas, los frascos son abiertos durante unos minutos para renovar la atmósfera de aire contenida en los mismos y evitar problemas de anaerobiosis. Finalmente, se cierran de nuevo con su correspondiente tapón hermético y se vuelven a poner en estufa e incubación a 28°C hasta la próxima medida.



Figura 3.12.-Analizador de gas de espacio de cabeza electroquímico/infrarrojo

#### Cálculo

Las unidades del analizador de gas de espacio de cabeza vienen expresadas como % $CO_2$ , pero la lectura obtenida hay que referirla al volumen del frasco empleado en la incubación de la muestra. Si A es la lectura de  $CO_2$  obtenida en el analizador, entonces.

Volumen de  $CO_2$  presente en el frasco (litros)=  $(125-V \text{ muestra de suelo}) \times 10^{-3} \times A/100 = (125-V \text{ muestra de suelo}) \times A \times 10^{-5}$ .

Para calcular los mg de C-CO<sub>2</sub> en ese volumen de gas, se utilizará la ecuación general de los gases

$$P \times V = n \times R \times T$$

Por lo que los moles de CO<sub>2</sub> presentes serán:

$$n = PV/RT = P (125 - V \text{ muestra de suelo}) \times A \times 10^{-5} / RT$$

Dónde:

P=presión a la que se toma la muestra (presión ambiental), 1 atm.

V=volumen que ocupa el gas en el interior del frasco calculado cómo se indica.

R=0,082

T=Temperatura en grados Kelvin (273+28 °C en este caso)

Teniendo en cuenta que se han utilizado 15 g de suelo, los moles de CO<sub>2</sub> desprendidos por kilo serían:

Moles de CO<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup> de suelo= (125-V muestra de suelo)×A×10<sup>-2</sup>/ 30 RT

Y dado que un mol de CO<sub>2</sub> equivale a 12 g de C-CO<sub>2</sub>, y considerando la duración del ensayo

$$C\text{-CO}_2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ suelo día}^{-1} = (125 - V \text{ muestra de suelo}) \times A \times 4 / RT \times t$$

### **Análisis de la estructura de la comunidad microbiana**

Extracción de los ácidos grasos de las membranas de los microorganismos del suelo mediante cloroformo-metanol y posterior fraccionamiento y cuantificación (Frostegård y col., 1999, Bardgett y McAlister, 1999).

#### Reactivos

Todos los reactivos empleados (cloroformo, metanol, isooctano y hexano) son de calidad para análisis por cromatografía de gases (CG). Los diferentes ácidos grasos de membrana estudiados se cuantifican según los siguientes patrones:

FAME Bacteriano (ácidos grasos metil-éster). Solución patrón 0,4 mg ml<sup>-1</sup> de BacMix para PLFA preparada en isooctano.

FAME Eucariotas. Se emplea una solución de 0,2 mg ml<sup>-1</sup> de FameMix para PLFA preparada en isooctano.

Patrón interno. Se emplea una solución de 230,8 µg ml<sup>-1</sup> de ácido metilnonadecanoico (21:0) preparada en isooctano.

#### Procedimiento

Todo el material empleado en el proceso de extracción debe ser lavado con cloroformo antes de su uso.

### *Extracción lípidos de membrana de la muestra de suelo*

Pesar 6 g de suelo en tubos de centrifuga (50 ml) y añadir 18,4 ml de reactivo de Bligh y Dyer, compuesto de tampón citrato (0,15M/pH 4)/metanol/cloroformo (1/2/0,8 v/v/v). Tapar y agitar durante 2 horas. Posteriormente se centrifugan a 2.500 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se decanta en otro tubo de centrifuga. Se repite el proceso de extracción del suelo con 2,5 ml del reactivo durante 30 minutos. El sobrenadante obtenido se junta con el anterior. En el tubo con el sobrenadante se incorporan 6,2 ml de cloroformo y 6,2 ml de tampón citrato. Se agita en vórtex durante 1 minuto y se centrifuga a 2.500 rpm durante 10 minutos. A continuación, se toman 8 ml de la fase orgánica (fase inferior) y se transfieren a un tubo de vidrio de 10 ml previamente lavado con cloroformo. Esta fase orgánica se concentra hasta sequedad a 40°C en centrifuga al vacío SCANVAC Speed 32. Conservar a -18°C, (Figura 3.13).



**Figura 3.13.-***Secuencia extracción lípidos de membrana de las muestras de suelos*

### *Fraccionamiento de lípidos*

Para la obtención de la fracción de fosfolípidos de membrana, se hace pasar la muestra obtenida en la fase de extracción a través de columnas de elución (Sep-Pak Vacc 3; Silica Cartridges). Para ello se redisuelve la muestra en 300  $\mu$ l de cloroformo. Tras agitar hasta asegurar la redisolución, se introduce con ayuda de una pipeta Pasteur de vidrio en la columna de elución. Repetir el proceso.

A continuación, una vez que la muestra está retenida en la columna procedemos a eliminar las fracciones de lípidos que no nos interesan para finalmente recoger los fosfolípidos de membrana. Para ello se va lavando las columnas con los siguientes disolventes orgánicos. 5 ml de cloroformo para eluir lípidos neutros, 20 ml de acetona (elución de glucolípidos), y por último se incorporan 5 ml de metanol que serán recogidos en tubo de vidrio que contiene la fracción fosfolípida que nos interesa, (Figura 3.14).



**Figura 3.14.**-Secuencia fraccionamiento de lípidos de membrana a través de columnas de elución

Concentrar hasta sequedad en centrífuga al vacío, SCANVAC Speed 32 (Figura 3.15). Congelar a  $-18^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 3.15.**-Centrifuga de concentración a vacío

#### *Metanolisis alcalina*

Los fosfolípidos fueron transformados en ácidos grasos metil ésteres (FAMES) por metanolisis alcalina (Guckert y col., 1985) y descritos por Frostegård y col., (1993).

La fracción de FAMES seca fue disuelta en isoctano conteniendo  $0.23 \text{ mg ml}^{-1}$  de FAME 21:0 como patrón interno. Los análisis fueron llevados a cabo por cromatógrafo de gases Trace Ultra Thermo Scientific equipado con columna capilar de 60 m (Thermo TR-FAME  $60 \times 0.25 \text{ mm ID} \times 0.25 \mu\text{m}$  capa), empleando helio como gas portador, (Figura 3.16).



Figura 3.16.-Cromatógrafo de gases Trace Ultra Thermo Scientific

Los siguientes ácidos grasos son característicos de los ácidos grasos bacterianos y fueron elegidos como biomarcadores bacterianos: i15:0, a15:0, 15:0, i16:0, i17:0, cy17:0, cy19:0, 16:1 $\omega$ 7c, 16:1 $\omega$ 7t, 18:1 $\omega$ 9c, 18:1 $\omega$ 9t, 10Me16:0, y 10Me18:0 (Frostegård y col., 1993; Dungait y col., 2011). El ácido graso 18:2  $\omega$ 6 fue utilizado como indicador de biomasa fúngica (Brant y col., 2006; Rinna y Baath, 2009). Como ácidos grasos representativo de Gram-positivas fueron usados i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, 10Me16:0, y 10Me18:0, y de Gram-negativas cy17:0, cy19:0, 16:1 $\omega$ 7c, 16:1 $\omega$ 7t, 18:1 $\omega$ 9c, 18:1 $\omega$ 9t (Frostegård y col., 1993; Dungait y col., 2011). FAMES metoxilados en posición 10 (10 Me 16:0 y 10 Me 18:0) fueron tomados como biomarcador específico de actinobacterias dentro de las bacterias Gram-positivas (Dungait y col., 2011).

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos fue llevado a cabo con el software IBM-SPSS (versión 24.0). En función de determinar las diferencias significativas entre medias de los tratamientos, los datos fueron sometidos a ANOVA de una vía y posteriormente tratados según test de diferencias significativas Tukey, con nivel de confianza del 95%. En el caso particular del tratamiento estadístico de los ensayos realizados en las zonas 1 y 2, del área A de suelos naturales degradados y área C suelos agrícolas, los datos fueron sometidos a estudio de diferencias de medias bajo criterio de aceptación/rechazo según test t de Student ( $p < 0,05$ ).

Por otro lado, se procedió al cálculo del cambio relativo (Relative Change, RC %) según Boyrahmadi y Raiesi (2018):

$$RC = \frac{V_c - V_t}{V_c} \times 100$$

Donde RC es el cambio relativo de la variable en los suelos enmendados respecto al suelo control; Vc corresponde al valor medido para cada variable en el tratamiento control y Vt es el valor medido para cada variable en los tratamientos con adición de enmienda orgánica.

Análisis de componentes principales fue llevado a cabo para los parámetros relacionados con la diversidad microbiana, así como parámetros físico-químicos, para conocer las posibles diferencias entre tratamientos.

Finalmente, todos los datos obtenidos mediante la consecución de los ensayos fueron sometidos a tratamiento de minería de datos. Se trata de una aplicación directa de algoritmos de inteligencia artificial para, a partir de un elevado número de datos, sacar resultados (Data Mining) de ellos. Para tal fin, se empleó el software *Weka* (Versión 3.8) (*Waikato Environment for Knowledge Analysis*), una biblioteca de clases de aprendizaje en Java.



## **4. DESARROLLO EXPERIMENTAL**



## **4.1. CONSTRUCCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN SUELOS RECUPERADOS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS**



## 4.1. CONSTRUCCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN SUELOS RECUPERADOS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS

### INTRODUCCIÓN

La acción del suelo como agente regulador dentro del ciclo del carbono, le confiere un papel decisivo en los niveles de CO<sub>2</sub> presentes en la atmósfera y en el volumen de carbono acumulado en la superficie terrestre en forma de materia orgánica. Así, la pérdida progresiva de la materia orgánica acumulada, acaba por traducirse en una transformación de la función original del suelo, pasando de actuar como almacén natural de carbono a convertirse en emisor activo de CO<sub>2</sub> atmosférico, provocando, por tanto, una inversión de su función como sumidero de carbono, siendo dicha función la que le convierte en uno de los factores más importantes en la lucha contra el cambio climático.

Por tanto, recuperar la salud del suelo es de vital importancia para nuestra sociedad. El manejo correcto y la restauración de suelos degradados es necesario en función de revertir los efectos negativos y proteger los ecosistemas (Tarrasón y col., 2007). Las aportaciones de materia orgánica exógena, pueden contribuir tanto a recuperar el normal funcionamiento de estos suelos y el secuestro de carbono, como a corregir alteraciones de las propiedades físicas del suelo y las deficiencias de nutrientes que se derivan de la escasez de materia orgánica, tan característica en suelos degradados. La materia orgánica exógena constituye una fuente inestimable de materia orgánica para el suelo, y contribuye además a fijar carbono en el mismo, y por tanto, a disminuir en parte el efecto invernadero derivado de la emisión de CO<sub>2</sub> a la atmósfera (Van Camp y col., 2004).

Paralelamente a la degradación de los suelos, la sociedad actual se enfrenta a la generación de toneladas de residuos como resultado de un estilo de vida basado en una *economía lineal* cuyo fundamento es “*usar y tirar*”. Este sistema de economía lineal no sólo conduce a una producción exagerada de residuos, sino que también provoca el agotamiento de los recursos disponibles para una población cada vez más numerosa. Por el contrario, la *economía circular* pretende desarrollar un nuevo modelo donde los residuos orgánicos puedan aprovecharse al máximo, incorporándolos de nuevo a la naturaleza, contribuyendo así a la sostenibilidad del planeta.

La adición de residuos orgánicos a suelos degradados puede ser una buena estrategia para preservar y mejorar la calidad del suelo para su uso futuro, ya que las enmiendas orgánicas no solo incrementan la materia orgánica en el suelo, sino que también, estimulan el desarrollo de una vegetación natural capaz de mantener una biomasa microbiana significativa, proporcionando un suministro casi constante de nutrientes a través de las plantas que se incorporan al suelo.

Son muchos los ensayos de recuperación de suelos degradados, llevados a cabo mediante la adición al mismo de residuos orgánicos de distinta naturaleza, que han puesto de relieve la eficacia de esta estrategia (Ros y col., 2003; Bastida y col., 2008 b; Tejada y col., 2011; García y col., 2012 a; Bastida y col., 2015;

Yazdanpanah y col., 2016). Sin embargo, quedan lagunas por conocer como, por ejemplo, si el efecto positivo de la enmienda se mantiene en el tiempo y hasta cuando, ¿es indiferente el tipo de enmienda utilizada, importando tan solo la cantidad de materia orgánica aportada con ella? ¿Varia el efecto conseguido a medio-largo plazo con la dosis de aplicación? ¿Cuál es a la larga la contribución de estas enmiendas al incremento del pool de C orgánico del suelo? Por ello, en este trabajo de Tesis Doctoral nos proponemos aclarar algunas de estas incógnitas, aprovechando experimentos de recuperación de suelos llevados a cabo por nuestro grupo de trabajo, años atrás.

## **OBJETIVO**

El objetivo de este capítulo ha sido la realización de un estudio comparativo sobre la eficacia a corto, medio y largo plazo, de la aplicación de materiales orgánicos de diferente naturaleza y grado de estabilización (en una única adición a dosis media y/o elevada), en la recuperación de la calidad de suelos degradados de zonas semiáridas y en la creación de un pool de carbono estable en el suelo.

Para alcanzar estos objetivos se han monitorizado parámetros relacionados tanto con la posible construcción de nueva materia orgánica (ligados al C y su fijación), cómo parámetros del suelo asociados a la mejora de su sostenibilidad (agronómicos, ambientales, y relacionados con su diversidad biológica), todo ello con la finalidad de conocer si la aplicación de enmiendas orgánicas puede ser empleada como una herramienta eficaz de mejora, en la recuperación de suelos degradados de zonas semiáridas y en la creación de materia orgánica, a diferentes escalas de tiempo.

Para el desarrollo de este trabajo se seleccionaron suelos no agrícolas (SN) degradados, localizados en diferentes zonas de la Región de Murcia, sometidos a condiciones de clima cálido semiárido según clasificación climática de Köppen-Geiger (Kottek y col., 2006), que habían sido enmendados en su momento, con fines de rehabilitación, con una sola aplicación de materia orgánica exógena de distinto origen según el caso. El tiempo transcurrido desde la aplicación de la enmienda hasta el muestreo de suelo realizado para el desarrollo de este trabajo de Tesis Doctoral, difería según la zona de muestreo considerada (Tabla 4.1.1).

En todos los casos, las dosis de materia orgánica aplicadas fueron calculadas de modo que se incrementase el contenido de materia orgánica del suelo al menos hasta 1,5-2%. Las enmiendas orgánicas se incorporaron en la capa arable del suelo, lugar más efectivo para aprovechar al máximo el efecto positivo de la enmienda (Bastida y col., 2008 b; García-Franco, 2014). Además, en estos suelos, se desarrolló tras el aporte de materia orgánica una vegetación espontánea y oportunista que, al morir durante el periodo estacional seco, dio lugar a un aporte adicional de materia orgánica fresca al suelo.

**Tabla 4.1.1.-Descripción de los experimentos y las zonas de estudio**

Tipo de estudio	Zona	Años desde enmienda	Materia orgánica exógena	Nomenclatura	OBJETIVO
Corto plazo	Cartagena (Z1)	3	Compost estiércol animal (CP)	SN-3-Z1(CP)	Efecto de la adición de compost en 2 zonas diferentes
	Abarán (Z2)			SN-3-Z2(CP)	
Medio plazo	Santomera-1	7	Residuo vegetal (RV)	SN-7-RV	Efecto de enmiendas de diferente naturaleza
			Estiércol animal (EA)	SN-7-EA	
			Lodo EDAR (L)	SN-7-L	
			Lodo y basura doméstica (L+B)	SN-7-(L+B)	
			Compost de lodo y basura (C(L+B))	SN-7-C(L+B)	
	Compost de residuo vegetal (C(RV))	SN-7-C(RV)			
Santomera-2	10	Lodo EDAR (L)	SN-10-L	Efecto de la estabilidad de la enmienda	
		Compost de Lodo EDAR (C(L))	SN-10-C(L)		
Largo plazo	Abanilla	28	0,5% Basura domiciliaria (B-d1)	SN-28-Bd1	Efecto de la dosis de aplicación
			1% Basura domiciliaria (B-d2)	SN-28-Bd2	
			1,5% Basura domiciliaria (B-d3)	SN-28-Bd3	
			2% Basura domiciliaria (B-d4)	SN-28-Bd4	

En cada una de las áreas de estudio se muestrearon tanto los suelos enmendados como los suelo control sin enmendar. Las muestras de suelo se tomaron en los primeros 20 cm del suelo (capa arable). Cada muestra era el resultado de la mezcla y homogeneización de varias submuestras tomadas recorriendo la parcela en zig-zag, obteniendo así una muestra representativa de cada parcela. Además, cada tratamiento se encontraba replicado 3 veces en el campo. En el laboratorio, las muestras se tamizaron a 2 mm y, a continuación, se separaron en dos fracciones que se conservaron a 4°C hasta su análisis químico y bioquímico y a -18°C hasta su análisis microbiológico, respectivamente. Antes de tamizar, los restos vegetales fueron eliminados manualmente, con el fin de evitar la influencia de éstos sobre los parámetros a determinar.

La incorporación de enmiendas orgánicas en suelos degradados puede ser una buena estrategia para preservar y mejorar la calidad del suelo para su uso en el futuro (García y col., 2017). En relación a la calidad de la enmienda aplicada, Tejada y col., (2008) observaron un mayor efecto positivo cuando las enmiendas procedían de residuos orgánicos compostados en comparación con los residuos frescos, tales como vinaza de remolacha, estiércol animal y lodos de depuradora.

Esto sugiere que no todas las clases de residuos son adecuadas para una aplicación directa en el suelo, ni son igual de eficaces en la mejora de la calidad del suelo. Según Bhattacharya y col., (2016), los residuos compostados incrementan más que los materiales frescos la materia orgánica en el suelo. Durante el compostaje, los compuestos orgánicos más biodegradables son mineralizados, mientras que otra parte de estos compuestos orgánicos llegan a ser precursores de sustancias húmicas (Senesi y Plaza, 2007).

Por todo lo expuesto, en el desarrollo de este trabajo se valoran los efectos de residuos orgánicos de diferente naturaleza (vegetal, animal, doméstico) y distinto grado de estabilización (fresco vs compostado) en la restauración de suelos degradados en ambientes semiáridos.

## **A. EXPERIMENTOS A CORTO PLAZO**

### **ESTUDIO EN DOS ZONAS DIFERENTES DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE COMPOST DE ESTIÉRCOL ANIMAL**

Cabe esperar que la adición de enmiendas orgánicas a los suelos degradados de lugar a un aumento inmediato del contenido en carbono orgánico total de ese suelo. Sin embargo, esa materia orgánica exógena se mineraliza en gran medida, dependiendo de numerosos factores tales como la naturaleza y estado de degradación del suelo, grado de estabilidad de la enmienda, dosis de la enmienda aplicada, presencia o no de vegetación etc..., siendo impredecible la continuidad de sus efectos positivos en el suelo.

En este apartado del presente trabajo de Tesis Doctoral, se establecen los cambios en las diferentes características de dos suelos degradados de distinta naturaleza, que persisten, en dichos suelos, 3 años después de la adición de una misma enmienda orgánica.

En las dos zonas (Zona 1 y Zona 2) consideradas en este estudio, se empleó como enmienda una mezcla de estiércol de origen animal (cabra y oveja) estabilizada mediante proceso de compostaje, cuyas principales características se detallan en la Tabla 4.1.2.

El **compost de estiércol animal** se considera como un recurso importante para mantener y mejorar la calidad del suelo ya que:

- Fomenta su biodiversidad al incrementar el contenido en nutrientes (N, P, K) y materia orgánica, mejorando la actividad microbiana.
- Controla la erosión del suelo al favorecer el desarrollo vegetal.
- Disminuye la emisión a la atmósfera de gases invernadero, al mejorar la estructura del suelo, aumentando la fijación de carbono.

No obstante, es importante supervisar su incorporación al suelo, ya que ésta puede estar asociada a problemas como:

- Cambios en el balance de nutrientes (Benke y col., 2008)
- Salinidad en el suelo (Hao y Chang, 2003)
- Contaminación por lixiviación de nitratos (Chang y Entz, 1996)

**Tabla 4.1.2.-Principales características del compost animal de estiércol de cabra y oveja (m.s.)**

Parámetros	Compost animal
pH	8,31
Conductividad Eléctrica (25 °C), dS m <sup>-1</sup>	14,21
Carbono hidrosoluble, mg kg <sup>-1</sup>	14710,3
Carbono Orgánico Total, g 100g <sup>-1</sup>	18,47
Materia Orgánica, g 100g <sup>-1</sup>	53,80
Nitratos, mg kg <sup>-1</sup>	51,85
Fósforo total, g 100g <sup>-1</sup>	0,59
Nitrógeno total, g 100g <sup>-1</sup>	1,46
Potasio total, g 100g <sup>-1</sup>	4,50
Cadmio total, mg kg <sup>-1</sup>	0,31
Cobre total, mg kg <sup>-1</sup>	30,92
Cromo total, mg kg <sup>-1</sup>	13,80
Níquel total, mg kg <sup>-1</sup>	6,90
Plomo total, mg kg <sup>-1</sup>	7,56
Zinc total, mg kg <sup>-1</sup>	79,92

*m.s: materia seca*

### **ZONA 1.-Cartagena (SN-3-Z1)**

El experimento se desarrolló en una zona perteneciente a la sierra minera de La Unión, Cartagena, de coordenadas: 37°37'20"N, 0°50'55"W- 37°40'03"N, 0°48'12"W, que cubre un área de 50 km<sup>2</sup>. El terreno es bajo, pero con pendientes pronunciadas debido a su proximidad a la costa.

La zona de Cartagena se caracteriza por presentar un clima cálido semiárido de acuerdo al sistema de clasificación climática de Köppen-Geiger (2006). La temperatura media anual en esta zona durante el periodo de estudio fue de 18,2°C y la precipitación media de 296 mm/año.

Tres parcelas (25-30 m<sup>2</sup>) fueron enmendadas 3 años antes de la toma de muestras con 150 t ha<sup>-1</sup> de compost de estiércol de oveja y cabra, que fue incorporado sobre la capa arable del terreno mediante la ayuda de un rotovator.

La adición de la enmienda se llevó a cabo por triplicado y al azar, de manera que se dispusieron parcelas control y parcelas enmendadas con compost de estiércol animal, tal y como se detalla en la Figura 4.1.1, 4.1.2 y la Tabla 4.1.3. El suelo en esta zona está clasificado como Regosol calcárico (FAO, 2006) con textura franco-arenosa.



**Figura 4.1.1.-Distribución de las parcelas experimentales de la zona de Cartagena (Z1)**



**Figura 4.1.2.-Delimitación de las parcelas experimentales de la zona de Cartagena (Z1)**

**Tabla 4.1.3.-Nomenclatura y descripción de los tratamientos aplicados en los suelos de la zona de Cartagena (Z1)**

TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN	DOSIS (t ha <sup>-1</sup> )
SN-3-Z1	Sin enmienda	0
SN-3-Z1(CP)	Enmienda con compost de estiércol animal	150

En el momento del muestreo del suelo, las parcelas experimentales se encontraban con una escasa cubierta vegetal, siendo mucho menor su desarrollo en el suelo control que en el suelo enmendado (SN-3-Z1) como se puede observar en la Figura 4.1.3.



**Figura 4.1.3.-Cubierta vegetal desarrollada en las parcelas de la zona de Cartagena, 3 años después de la aplicación de la enmienda al suelo**

Las principales características del suelo sobre el que se realizó el ensayo se muestran en la Tabla 4.1.4.

**Tabla 4.1.4.-Características del suelo control de la zona de Cartagena (Z1)**

Parámetros	Suelo Control
pH*	8,27
Conductividad Eléctrica,* (25 °C), dS m <sup>-1</sup>	0,16
Carbono Orgánico Total, g 100g <sup>-1</sup>	1,81
Nitrógeno total, g 100g <sup>-1</sup>	0,18
Fósforo total, g 100g <sup>-1</sup>	0,04
Potasio total, g 100g <sup>-1</sup>	0,76
Cloruros, mg L <sup>-1</sup>	53,92
Nitratos, mg L <sup>-1</sup>	23,54
Calcio, g 100g <sup>-1</sup>	7,13
Textura	Franco-arenosa

\*Determinados en extracto acuoso (1:5)

### ZONA 2- Abarán (SN-3-Z2)

El lugar de estudio está situado en Abarán, Murcia: 38°13'20,6"N, 1°21'05,2"W, donde los suelos están sometidos a condiciones de clima cálido semiárido, caracterizado por un periodo seco de larga duración, con importantes procesos de erosión debido a su fina textura, escasa permeabilidad y alta escorrentía superficial por las escasas lluvias, a veces torrenciales. La temperatura media anual fue de 17,4°C y la precipitación media anual de unos 300-400 mm/año. La descripción de los tratamientos y su nomenclatura se detallan en la Tabla 4.1.5. Las principales características del suelo control de esta Zona se muestran en la Tabla 4.1.6.

**Tabla 4.1.5.-Nomenclatura y descripción de los tratamientos aplicados en los suelos de la zona de Abarán (Z2)**

TRATAMIENTO	DESCRIPCION	DOSIS (t ha <sup>-1</sup> )
SN-3-Z2	Parcela sin enmienda	0 
SN-3-Z2(CP)	Compost de Estiércol Animal	150 

**Tabla 4.1.6.-Características del suelo control de la zona de Abarán (Z2)**

Parámetros	Suelo Control
pH*	8,17
Conductividad Eléctrica* (25 °C), dS m <sup>-1</sup>	2,46
Carbono Orgánico Total, g 100g <sup>-1</sup>	1,17
Nitrógeno total, g 100g <sup>-1</sup>	0,10
Fósforo total, g 100g <sup>-1</sup>	0,03
Potasio total, g 100g <sup>-1</sup>	0,64
Cloruros, mg L <sup>-1</sup>	1363,95
Nitratos, mg L <sup>-1</sup>	22,57
Calcio, g 100g <sup>-1</sup>	23,0
Textura	Areno-arcillo-limosa

\*Determinados en extracto acuoso (1:5)

Estas parcelas (SN-3-Z2) fueron enmendadas 3 años antes de la toma de muestras con el mismo compost de estiércol animal utilizado en la Zona 1 (Tabla 4.1.2) y a la misma dosis, procediéndose para su incorporación, de modo similar a como se hizo en la Zona 1. La disposición de las parcelas en la Zona 2 se muestra en la Figura 4.1.4 y 4.1.5.



**Figura 4.1.4.-Distribución de las parcelas experimentales de la zona de Abarán (Z2)**



**Figura 4.1.5.-Delimitación de las parcelas experimentales de la zona de Abarán (Z2)**

El suelo de la zona presenta textura franco-arcillo-arenosa, y está clasificado como Regosol calcárico (FAO, 2006) (Tabla 4.1.6). Al igual que en la Zona 1, en el momento del muestreo de suelos, las parcelas experimentales estaban cubiertas de una vegetación espontánea que se desarrolló a los pocos meses de la

incorporación de la enmienda, y que se ha mantenido hasta el momento actual, si bien las especies vegetales han ido cambiando con el tiempo.

El porcentaje medio de cobertura vegetal en las parcelas control en el momento del muestreo era bajo, mientras que las parcelas enmendadas con compost presentaban una densidad media de cobertura vegetal alta, predominado por matorral xerofítico (Figura 4.1.6).



SN-3-Z2

SN-3-Z2(CP)

**Figura 4.1.6.**-Cubierta vegetal desarrollada en las parcelas de la zona de Abarán, 3 años después de la aplicación de la enmienda al suelo

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### PARÁMETROS AGRONÓMICOS

#### Parámetros físicos y físico-químicos

Tres años después de la aplicación del compost de estiércol animal, no se observaron, en los suelos de ambas zonas, diferencias significativas en los valores de pH (Tablas 4.1.7 y 4.1.8). La aplicación de estiércol animal puede contribuir a la acidificación del suelo, debido a procesos de nitrificación del amonio procedente de la mineralización de la materia orgánica de la enmienda y/o existente en la enmienda, y/o a la incorporación con la misma de ácidos orgánicos (Havlin y col., 2014). Considerando la elevada concentración en carbonato cálcico de los suelos de estas zonas, cabe la posibilidad de que éste reaccione con los  $H^+$  de la enmienda, evitando que se produzcan variaciones significativas del pH en estos suelos. El pH influye en los procesos que se producen en el suelo, tales como disponibilidad de nutrientes, capacidad de intercambio iónico, actividad microbiana y disponibilidad de metales pesados entre otros. Los suelos de Cartagena están localizados en una zona minera con mayor contenido en metales pesados. Una disminución significativa de pH con la adición de la enmienda, podría afectar a la solubilidad de los metales pesados presentes en estos suelos.

Uno de los principales objetivos de la incorporación de residuos orgánicos al suelo es la mejora de sus propiedades físicas. Las enmiendas orgánicas pueden contribuir a mantener las condiciones físicas del suelo, incluyendo la estabilidad estructural (Diacono y Montemurro, 2010). En nuestro caso, no se observaron diferencias significativas en los valores de densidad entre el suelo control y enmendado (Tablas 4.1.7 y 4.1.8),

mientras que la capacidad de retención hídrica aumentó significativamente solo en el suelo enmendado de Abarán (Tabla 4.1.8). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Miller y col., (2018), quienes observaron cómo las adiciones de estiércol animal durante tres años consecutivos, tanto compostado como sin compostar, a tres concentraciones diferentes (13, 39 y 77 t ha<sup>-1</sup>), no mejoraban las propiedades físicas estudiadas en los suelos enmendados respecto al suelo sin enmienda.

La densidad intrínseca del material orgánico es mucho menor que la de los minerales del suelo (Fierro y col., 1999) y su capacidad de retención hídrica mayor (Camberato y col., 2006). No obstante, el efecto de la enmienda sobre la densidad del suelo puede que no sea detectable debido a que se haya aplicado a dosis bajas para este parámetro (Bendfeldt y col., 2001). Por otro lado, como ocurre para otros factores, el efecto de la enmienda sobre la capacidad de retención hídrica y su duración, dependerá de la cantidad aplicada y del estado de descomposición de la enmienda (Larney y Angers, 2012).

**Tabla 4.1.7.**-Valores de pH, densidad y capacidad de retención hídrica (CRH) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Cartagena

	pH	Densidad g cm <sup>-3</sup>	CRH g 100g <sup>-1</sup>
SN-3-Z1	8,97 (0,16)	1,07 (0,08)	36,00 (2,00)
SN-3-Z1(CP)	9,03 (0,09)	0,85 (0,02)	48,00 (4,00)

SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, CP: compost estiércol animal. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3), entre paréntesis: desviación standard

**Tabla 4.1.8.**-Valores de pH, densidad y capacidad de retención hídrica (CRH) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Abarán

	pH	Densidad g cm <sup>-3</sup>	CRH g 100g <sup>-1</sup>
SN-3-Z2	8,41 (0,34)	1,10 (0,10)	38,67 (3,21)
SN-3-Z2(CP)	8,33 (0,39)	0,98 (0,05)	<b>50,00 (0,00)</b>

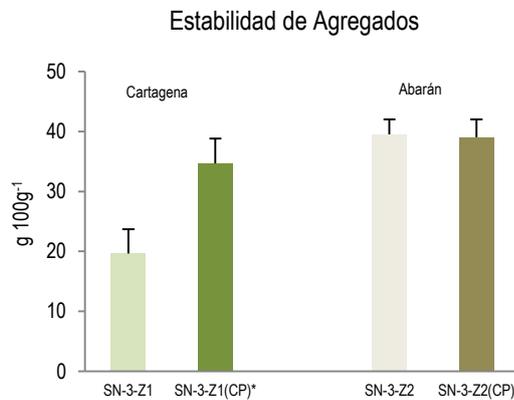
SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda; Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3), entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student (p≤0,05)

En cuanto al efecto de la enmienda sobre la estabilidad de los agregados del suelo, se observó un efecto diferente dependiendo de la zona considerada. Así, en los suelos de la zona de Cartagena el suelo enmendado mostraban mayor porcentaje de agregados estables que el correspondiente suelo control, mientras que en la zona de Abarán no se observaban diferencias significativas entre el suelo enmendado y el control (Figura 4.1.7).

La estabilidad de agregados es uno de los indicadores de calidad de los suelos más ampliamente reconocidos, ya que este parámetro presenta una rápida respuesta a los cambios producidos en los suelos (Lapied y col., 2009). Generalmente, la estabilidad de agregados se correlaciona bien con el contenido de materia orgánica del suelo (Ojeda y col., 2008), así como con el contenido de C hidrosoluble. El suelo de Cartagena presenta inicialmente un contenido en C orgánico 1,5 veces superior al suelo de Abarán, de forma que, en nuestro caso, la naturaleza del suelo determina el efecto de la enmienda (Tablas 4.1.4 y 4.1.6).

Hueso-González y col.,(2018), seis años después de aplicar estiércol de vaca a dosis de 10 t ha<sup>-1</sup> a un suelo desnudo, no encontraron diferencias significativas entre el suelo enmendado y control en cuanto a la estabilidad de agregados, mientras que Hernández y col., (2015) observaron mayor estabilidad de agregados, capacidad de retención hídrica y porosidad, en suelos enmendados con 150 t ha<sup>-1</sup> y 450 t ha<sup>-1</sup> de compost, procedente de fracción orgánica de basura doméstica, tras 5 años de la adición de la enmienda a un suelo degradado en ambiente semi-árido, incrementado el efecto positivo sobre las propiedades físicas del suelo con el incremento de la dosis.

Normalmente, la dosis aplicada y el tiempo transcurrido desde la aplicación de la enmienda están estrechamente relacionados con el efecto observado. En experimentos a corto plazo, como es el que nos ocupa, altas tasas de aplicación causan mayores respuestas en parámetros bioquímicos y microbiológicos, mientras que las propiedades físicas del suelo pueden no cambiar tan rápido como las biológicas, debido a que estas últimas son indicadores más sensibles (García y col., 2017).



**Figura 4.1.7.-**Porcentaje de agregados estables en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

### Contenido en materia orgánica y Parámetros nutricionales

La adición de compost de residuos orgánicos a suelos degradados da lugar al desarrollo de una cubierta vegetal a partir de las semillas contenidas en la enmienda, existentes en el suelo y/o transportadas por el viento, y de la mejora de las características del suelo producida por la enmienda, que favorece dicho desarrollo (Ros y col., 2003). Esta vegetación, junto con la materia orgánica aportada por la enmienda contribuirá a incrementar el pool de carbono orgánico del suelo. Asimismo, la adición de enmiendas orgánicas favorece la estimulación del desarrollo y actividad de las poblaciones microbianas del suelo, contribuyendo a la activación de los ciclos de nutrientes en el mismo (Harris, 2003).

### Materia orgánica

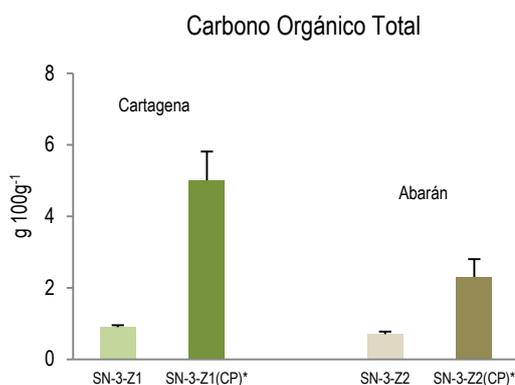
Entre los principales objetivos de la aplicación de enmiendas orgánicas en suelos degradados de zonas semiáridas, como los sometidos a estudio en este apartado, está la capacidad de recuperar y mantener su

fertilidad, incrementando los contenidos en materia orgánica. A través del estudio del carbono orgánico total (COT) en el suelo y de sus variaciones, podemos obtener información de los procesos que sigue el carbono en los suelos enmendados.

Los suelos semiáridos poseen un considerable potencial para la fijación de carbono orgánico cuando se les adiciona materia orgánica (Van Camp y col., 2004; Lal, 2009), constituyendo este aporte de materia orgánica exógena una buena estrategia para incrementar el pool de materia orgánica del suelo y contribuir a mitigar los efectos del cambio climático. Como se muestra en la Figura 4.1.8, los suelos a los que se les había incorporado el compost de estiércol animal, presentaban 3 años después de la enmienda, concentraciones de carbono orgánico total (COT) superiores a sus controles tanto en la zona de Cartagena (Zona 1) como en la de Abarán (Zona 2).

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Bouajila y Sanâa (2011), quienes tras el empleo de compost de estiércol animal a diferentes concentraciones (40, 80 y 120 t ha<sup>-1</sup>) en la recuperación de suelos en Túnez, observaron contenidos de COT más elevados en todos los suelos enmendados que en el control, siendo estos contenidos dosis dependientes, ya que las mayores concentraciones de COT se obtuvieron en los suelos emendados a dosis 120 t ha<sup>-1</sup>.

Hay que hacer notar que, a pesar de la vegetación desarrollada, los valores de carbono orgánico total en los suelos control han disminuido a lo largo de los 3 años de estudio respecto de los valores iniciales (Tablas 4.1.4 y 4.1.6) poniendo de manifiesto la intensa mineralización del carbono orgánico en estas zonas semiáridas.

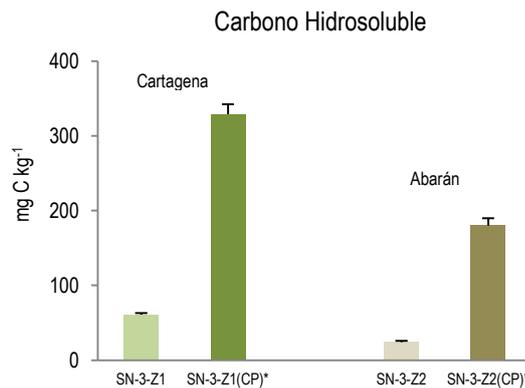


**Figura 4.1.8.**-Contenido de carbono orgánico total en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Por otro lado, se han estudiado las fracciones más lábiles del carbono (carbono hidrosoluble, Cs), así como las más estables en forma de sustancias húmicas (SH), con el fin de conocer la forma en que se construye el pool de carbono en estos suelos tras la aplicación de la enmienda orgánica. El COT, engloba todas las formas de carbono presentes en el suelo susceptibles de ser oxidadas, sin embargo, son más reactivas aquellas más lábiles, que vienen reflejadas en el carbono hidrosoluble. En relación a este parámetro se observa que los

suelos enmendados presentan mayor concentración de carbono hidrosoluble que sus respectivos controles 3 años después de la aplicación del compost (Figura 4.1.9).

El mayor contenido de Cs de estos suelos en comparación con el control favorecerá un mayor desarrollo y actividad de las poblaciones microbianas del suelo y la mayor activación de los ciclos de nutrientes, ya que esta fracción de carbono es fácilmente asimilable por los microorganismos del suelo, que la utilizan como fuente de energía para la construcción de sus propias estructuras.

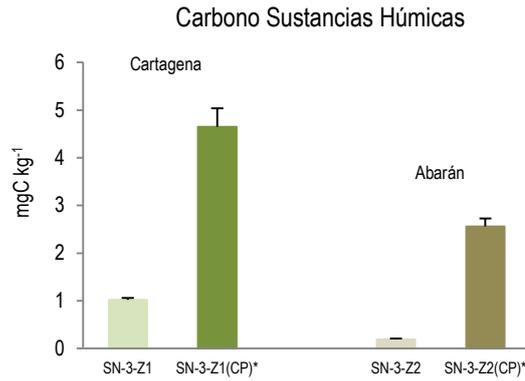


**Figura 4.1.9.-**Contenido de carbono hidrosoluble en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Esta fracción de C es muy dinámica sufriendo en el suelo procesos constantes de formación, a partir de la degradación de fuentes más estables de carbono, y de degradación por parte de los microorganismos del suelo.

El humus, constituido por las sustancias húmicas (ácidos húmicos y fúlvicos) y la humina, es la fracción más estable y el principal componente de la materia orgánica del suelo (Guimarães y col., 2013; Muscolo y col., 2013), pudiendo persistir en el mismo desde décadas hasta cientos de años. Las sustancias húmicas juegan un papel clave en el funcionamiento y biodiversidad de los ecosistemas, ejerciendo un efecto beneficioso sobre las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo y favoreciendo el desarrollo de las plantas (Klinoromos y Hart, 2001; Jindo y col., 2012, Guo y col., 2019).

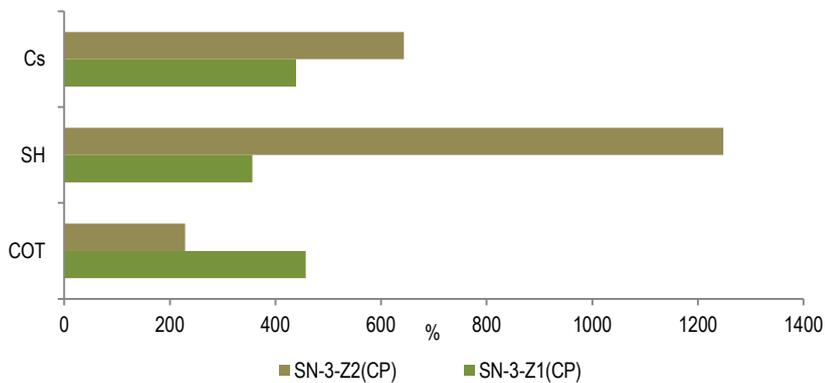
Diversos autores han indicado que la adición de enmiendas orgánicas al suelo incrementa su contenido de sustancias húmicas (Galantini y Rosell, 2006; García y col., 2017; Zhang y col., 2017 a). Como se puede apreciar en la Figura 4.1.10, en nuestro estudio, se observa también, en las dos Zonas consideradas, un mayor contenido de sustancias húmicas en los suelos enmendados que en sus respectivos controles, presentando el suelo enmendado de la Zona 1 mayor contenido de sustancias húmicas que el suelo enmendado de la Zona 2, lo cual concuerda con el mayor contenido de C orgánico de los suelos de la Zona 1.



**Figura 4.1.10.**-Contenido de carbono de sustancias húmicas en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Sin embargo, si consideramos el incremento de sustancias húmicas producido por la enmienda en comparación con el suelo control (Figura 4.1.11) observamos que este incremento es mayor en la Zona 2, más pobre inicialmente en COT que en la Zona 1.

Asimismo, se observa un mayor incremento con respecto al control, de la fracción de C hidrosoluble en la Zona 2 que en la Zona 1 (Figura 4.1.11), mientras que el incremento con respecto al control de COT producido por la enmienda en el suelo de la Zona 1, es mayor, 3 años después de la enmienda, que el del suelo de la Zona 2. Todo esto pone de relieve la incidencia de las características del propio suelo en la dinámica seguida en el suelo por la materia orgánica incorporada al mismo.



**Figura 4.1.11.**-Porcentaje de variación de las diferentes fracciones de carbono: carbono hidrosoluble (Cs), sustancias húmicas (SH) y carbono orgánico total (COT) en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal

En cualquier caso, se ha evidenciado que, en ambas zonas de estudio, los suelos enmendados mantienen 3 años después de la enmienda niveles de COT, Cs y SH superiores a los del suelo control, dejando patente el efecto beneficioso de la enmienda en la creación de materia orgánica en el suelo. Estos resultados coinciden con los aportados por Hernández y col., (2015), quienes 5 años después de la adición de una gran cantidad

de compost en una única aplicación, observaron un gran incremento en el pool de carbono orgánico en suelos degradados de zonas semiáridas.

Debido a su bajo contenido en materia orgánica, estos suelos de zonas áridas son capaces de recibir grandes aportes de carbono orgánico exógeno, el cual permanece en parte fijado en el suelo de manera estable como ácidos húmicos. Este efecto es mayor en el suelo de la Zona 2, ya que es un suelo muy pobre cuya reserva de C en forma de SH es muy baja. Así, podemos observar cómo el aporte de compost de estiércol animal 3 años antes, consigue incrementar una de las fracciones más estables de la materia orgánica como son las sustancias húmicas.

### ***Parámetros nutricionales***

La aplicación de materiales orgánicos puede mejorar el estado nutricional de los suelos, ya que estos materiales pueden actuar como fuente tanto de macro como de micronutrientes (Hernández y col., 2016; Faridullah y col., 2018).

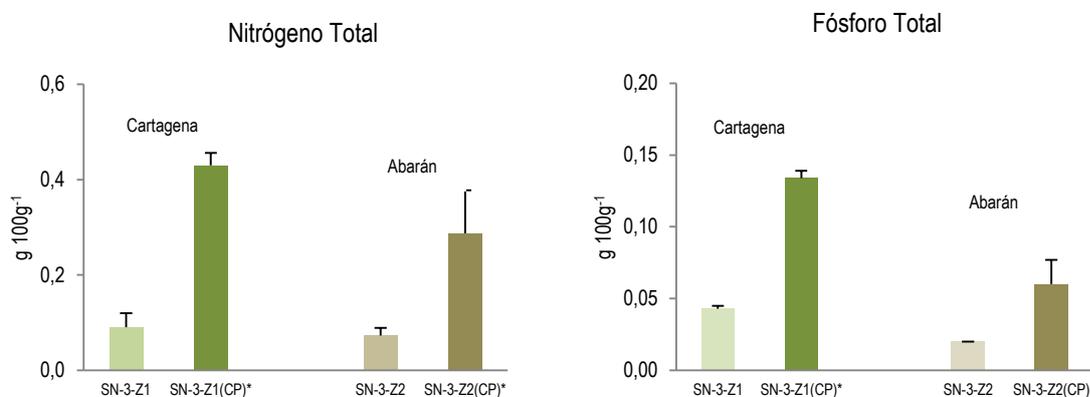
El Nitrógeno es el macronutriente de mayor relevancia en la producción vegetal y es el único nutriente esencial para las plantas que no es liberado a partir de los minerales en el suelo. El nitrógeno estimula el crecimiento de las plantas y desarrolla su sistema radicular (Brady y Weil, 2008). Las raíces producen sustancias orgánicas que promueven un incremento de la población microbiana circundante, la cual excreta polisacáridos que actúan como agentes de unión, estabilizando la materia orgánica del suelo (Haynes y Naidu, 1998).

Todo ello nos da idea de la importancia de este macronutriente en el suelo. Las enmiendas orgánicas contienen nitrógeno en una amplia variedad de concentraciones (Lashermes y col., 2010). En la mayoría de los casos este N se encuentra en forma orgánica, y debe ser mineralizado para que la enmienda orgánica proporcione N asimilable (Larney y Angers, 2012).

A pesar de la mineralización sufrida por la materia orgánica en los 3 años transcurridos desde la incorporación de la enmienda al suelo, y a las posibles pérdidas de N por lixiviación, volatilización, y absorción por parte de la vegetación desarrollada espontáneamente en estos suelos, los suelos enmendados mostraban 3 años después de la enmienda, contenidos de nitrógeno significativamente ( $p \leq 0,05$ ) superiores a los del control en ambas en ambas zonas (Figura 4.1.12), presentando los suelos de la Zona 1 (Cartagena) mayores contenidos de N que los de la Zona 2 (Abarán).

Por otro lado, el fósforo también es considerado otro de los nutrientes más importantes para el crecimiento de las plantas. Las enmiendas orgánicas, tales como el compost de estiércol animal, pueden ser una fuente de este nutriente para las mismas (Faridullah y col., 2018).

En nuestro ensayo, su contenido aumentó en los suelos enmendados respecto a su control en ambas zonas y al igual que para el N, los suelos de Cartagena mostraban mayor contenido de fósforo que los de Abarán (Figura 4.1.12).



**Figura 4.1.12.**-Contenido de nitrógeno total y fósforo total en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Estos datos coinciden con los hallazgos de Calleja-Cervantes y col., (2015), quienes tras la aplicación de diferentes residuos orgánicos (entre ellos compost de estiércol de oveja), observaron que se producía un importante incremento en el contenido de N, P y K en los suelos enmendados respecto al suelo control. Asimismo, Das y col., (2017), tras aplicar compost de estiércol animal ( $5 \text{ t ha}^{-1}$ ) como enmienda, observaron un incremento significativo en los valores de N, P y K, respecto al suelo control.

Para el potasio total y el calcio (Tabla 4.1.9) no se observaron diferencias significativas entre los suelos enmendados y control.

**Tabla 4.1.9.**-Contenido de potasio (K) y calcio (Ca) en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán

	Zona 1		Zona 2	
	SN-3-Z1	SN-3-Z1(CP)	SN-3-Z2	SN-3-Z2(CP)
K, g 100g <sup>-1</sup>	0,944 (0,114)	1,142 (0,077)	0,513 (0,105)	0,610 (0,019)
Ca, g 100g <sup>-1</sup>	9,3 (0,5)	9,1 (0,6)	18,2 (1,5)	16,4 (0,7)

SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. Cada valor representa la media de 3 valores ( $n=3$ ), entre paréntesis: desviación standard

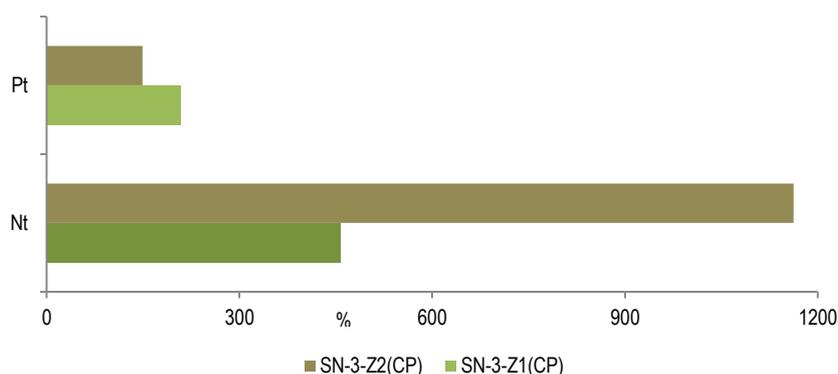
Tampoco se observaron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre los suelos enmendados y control de ambas zonas en relación al contenido de otros macro y micronutrientes (Mg, Mn, Al, S, Fe) 3 años después de la adición de la enmienda (Tabla 4.1.10).

**Tabla 4.1.10.**-Contenido de magnesio (Mg), manganeso (Mn), aluminio (Al) azufre (S) y hierro (Fe) en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán

	Zona 1		Zona 2	
	SN-3-Z1	SN-3-Z1(CP)	SN-3-Z2	SN-3-Z2(CP)
Mg, mg kg <sup>-1</sup>	1,40(0,01)	1,30 (0,08)	1,30 (0,13)	1,40 (0,10)
Mn, mg kg <sup>-1</sup>	722 (82)	631 (83)	187 (10)	240 (16)
Al, mg kg <sup>-1</sup>	3,2 (0,4)	3,0 (0,1)	1,5 (0,3)	1,4 (0,1)
S, mg kg <sup>-1</sup>	0,16 (0,02)	<b>0,27</b> (0,01)	0,21 (0,02)	0,37(0,02)
Fe, mg kg <sup>-1</sup>	33339 (5293)	28304 (1585)	8079 (1416)	8799 (431)

SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos, para cada parámetro y zona, de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

El incremento con respecto al control fue mayor en el suelo de Cartagena que en el de Abarán respecto a la concentración de fósforo, mientras que el incremento de la concentración de N provocado por la enmienda en relación al suelo control sin enmendar, fue mayor en el suelo de Abarán (Zona 2) que en el de Cartagena (Zona 1) (Figura 4.1.13).



**Figura 4.1.13.**-Porcentaje de variación de nitrógeno total y fósforo total en los suelos enmendados respecto a los suelos control de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal

## PARÁMETROS AMBIENTALES

La aplicación de enmiendas orgánicas a los suelos degradados puede proporcionar múltiples beneficios, pero, por otro lado, también puede causar posibles riesgos sobre la salud y el medio ambiente.

Una de las principales limitaciones que tiene la aplicación de residuos orgánicos cuando se emplean como enmiendas en el suelo, es el incremento de la conductividad eléctrica del mismo, que puede tener efectos negativos sobre sus propiedades físicas, microbiológicas y bioquímicas (Tejada y col., 2006), ya que las enmiendas orgánicas suelen presentar un contenido elevado en sales, especialmente los compost.

Asimismo, las enmiendas contienen metales pesados como níquel, plomo cadmio, etc..., los cuales pueden lixiviar en el suelo y suministros de aguas y acumularse en plantas, animales y seres humanos (Goss y col., 2013; Manzetti y Van der Spoel, 2015). Igualmente, la adición de los nutrientes presentes en las enmiendas, particularmente los nitratos y fosfatos, pueden ser transportados al agua subterránea y superficial, donde

pueden tener un impacto negativo sobre la vida acuática, así como en la calidad del agua para consumo humano (Stout y col., 2000; Tejada y González, 2008). De ahí la importancia de realizar análisis previos de las enmiendas antes de su aplicación al suelo, que nos permitan minimizar el riesgo de contaminación.

Como se observa en la Tabla 4.1.11, la conductividad eléctrica aumentó con la aplicación de la enmienda en los suelos de ambas zonas, siendo dicho aumento mayor en el suelo enmendado de Abarán (Zona 2).

El suelo de Abarán es un suelo con una conductividad eléctrica inicial (Tabla 4.1.6) mucho mayor que la del suelo de Cartagena (Tabla 4.1.4), por lo que la adición de la enmienda hace que los niveles de CE que alcanza este suelo a los 3 años de la enmienda sea más elevada. Diferentes autores (Díaz, 1992; Ros, 2000), han observado en ensayos de recuperación de suelos degradados que, aunque la CE aumenta inmediatamente después de la enmienda, el contenido en sales tiende a disminuir con el tiempo, gracias al lavado de sales producido por la lluvia, así como por la absorción de nutrientes por las plantas.

Al tratarse de un ensayo a corto plazo no podemos llegar a observar el efecto de la lluvia, por otra parte escasa en estas zonas, sobre la dilución de las sales aportadas por la enmienda. En cuanto al aporte de Na<sup>+</sup> al suelo, podemos observar que al cabo de 3 años no existen diferencias significativas con sus respectivos suelos control (Tabla 4.1.11).

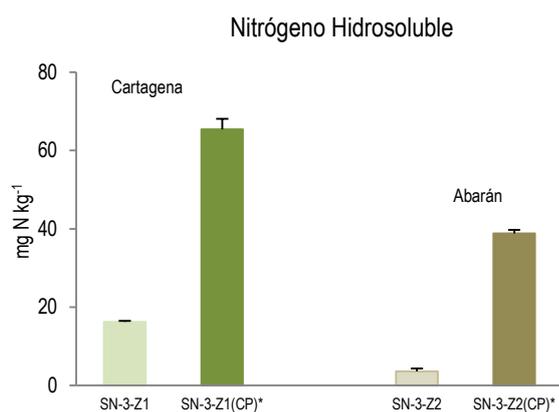
El nitrógeno contenido en los residuos orgánicos se encuentra principalmente en forma orgánica (Larney y Angers, 2012). A medida que la materia orgánica aportada con el compost se ha ido mineralizando, el nitrógeno orgánico que contiene se ha transformado en formas inorgánicas de N, con lo que el contenido en nitratos de los suelos enmendados ha incrementado a los 3 años de la adición de la enmienda (Tabla 4.1.11), presentando diferencias significativas respecto de los suelos sin enmendar ( $p \leq 0,05$ ). En el suelo enmendado de la Zona 1 se alcanzaron valores de 694,4 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> Kg<sup>-1</sup>, frente a los 242 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> Kg<sup>-1</sup> del suelo enmendado de la Zona 2.

**Tabla 4.1.11.** Valores de conductividad eléctrica (CE), sodio (Na<sup>+</sup>) y nitratos en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán

	Zona 1		Zona 2	
	SN-3-Z1	SN-3-Z1(CP)	SN-3-Z2	SN-3-Z2(CP)
CE, dS m <sup>-1</sup>	0,407 (0,022)	<b>0,758</b> (0,122)	1,748 (0,241)	<b>4,118</b> (0,553)
Na <sup>+</sup> , g 100g <sup>-1</sup>	0,083 (0,004)	0,100 (0,015)	0,026 (0,004)	0,067 (0,012)
Nitratos, mg NO <sub>3</sub> kg <sup>-1</sup>	162,8 (10,9)	<b>694,4</b> (51,8)	9,6 (2,2)	<b>242,3</b> (8,9)

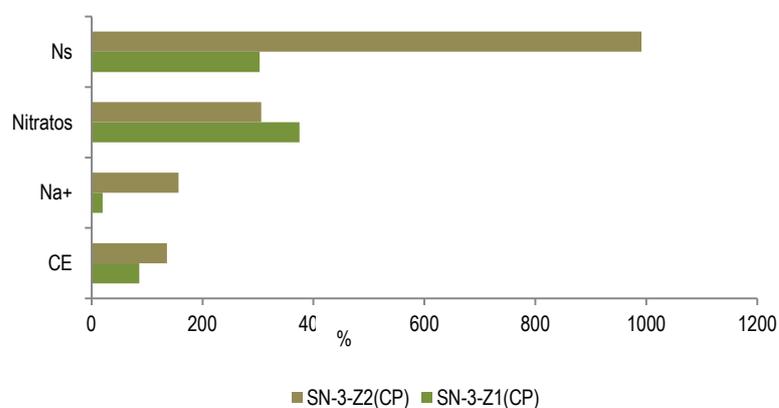
SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos, para cada parámetro y zona, de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

La fracción soluble del N (Ns) aumentó, alcanzando diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en los suelos enmendados respecto al control tanto en la Zona 1 como en la Zona 2 (Figura 4.1.14). El que se haya producido un aumento de la fracción soluble de N nos da idea del proceso de mineralización sufrido por la materia orgánica que se incorporó 3 años antes, y de la materia orgánica aportada por los restos vegetales y exudados radiculares de la vegetación desarrollada en estos suelos tras la aplicación de la enmienda.



**Figura 4.1.14.**-Contenido de nitrógeno hidrosoluble en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Sin embargo, como podemos observar en la Figura 4.1.15, donde se muestran los cambios relativos respecto al control, observados para cada uno de los diferentes parámetros en los suelos enmendados de cada zona, el incremento de Ns en el suelo enmendado de Abarán es mayor que en el de Cartagena. Este hecho podría explicarse por la presencia de una cobertura vegetal más desarrollada en los suelos de la Zona 1 (Cartagena) que compita por estas formas de nitrógeno, así como por la diferente textura de los suelos de ambas zonas (Tabla 4.1.4 y 4.1.6) siendo areno-arcillo-limosa en la Zona 2 (Abarán) y franco-arenosa en la Zona 1 (Cartagena), y que afecta también a los procesos de mineralización que allí se desarrollan.



**Figura 4.1.15.**-Porcentaje de variación de conductividad eléctrica (CE), sodio ( $\text{Na}^+$ ), nitratos y nitrógeno hidrosoluble (Ns) en los suelos enmendados respecto a los suelos control de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal

El contenido en metales pesados en los suelos enmendados no presentaba diferencias significativas respecto a su control 3 años después de la adición de la enmienda, (Tabla 4.1.12) ni en la Zona 1 ni en la Zona 2. Cabe señalar el caso particular de los suelos de Cartagena, donde hace años se desarrollaba actividad minera. Este es el motivo por el que tanto el suelo control como el enmendado presentan concentraciones de metales pesados más elevadas que las del suelo de Abarán.

La adición de la enmienda no ha incrementado estos valores, ya que, como se observa en la Tabla 4.1.12, en el suelo control de la Zona 1 son, incluso, ligeramente más elevados que en el suelo enmendado. A pesar de su historial minero, el contenido de metales pesados de los suelos de la Zona 1 se mantenía por debajo de los niveles máximos permitidos por la directiva europea (European Directive 86/278/EEC), excediendo tan sólo el límite establecido para el plomo (1200 mg kg<sup>-1</sup>). Las enmiendas orgánicas han sido empleadas con propósito de restauración de zonas de actividad minera ya que mejoran las propiedades físico-químicas del suelo, proporcionando sustratos orgánicos para la proliferación de la microflora del suelo, la cual es la base del éxito de la restauración (Wang y col., 2008).

**Tabla 4.1.12.**-Contenido de metales pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán

	Zona 1		Zona 2	
	SN-3-Z1	SN-3-Z1(CP)	SN-3-Z2	SN-3-Z2(CP)
Cd, mg kg <sup>-1</sup>	2,13 (0,42)	1,94 (0,12)	0,20 (0,02)	0,19 (0,00)
Cr, mg kg <sup>-1</sup>	37,3 (4,9)	35,5 (0,7)	23,8 (2,1)	17,7 (0,6)
Cu, mg kg <sup>-1</sup>	41,8 (10,8)	39,2 (2,7)	13,6 (1,3)	15,0 (1,1)
Ni, mg kg <sup>-1</sup>	20,6 (1,3)	16,7 (1,8)	9,1 (1,1)	10,1 (1,2)
Pb, mgkg <sup>-1</sup>	1825 (171)	1534 (103)	8,9 (1,1)	8,6 (1,4)
Zn, mg kg <sup>-1</sup>	698 (59)	<b>760</b> (100)	23,3 (2,0)	<b>33,1</b> (4,1)

SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos, para cada parámetro y zona, de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

## PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA

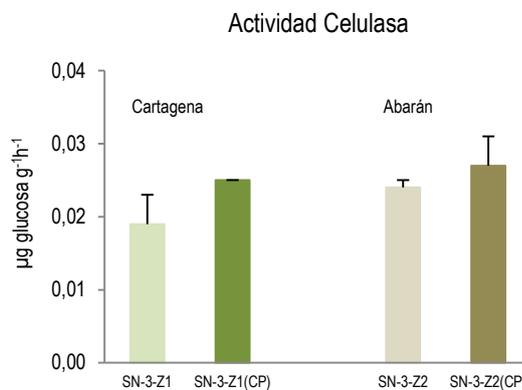
### Actividades enzimáticas

Los microorganismos del suelo, a través de las enzimas que sintetizan, juegan un papel clave en la funcionalidad del mismo, interviniendo en los procesos de degradación de la materia orgánica, en los ciclos biogeoquímicos de nutrientes, y en la estabilización de la estructura del suelo. La escasa actividad microbiana en los suelos degradados influye negativamente en su calidad, fertilidad, y productividad natural, ya que los ciclos biogeoquímicos de los elementos importantes en el suelo se desarrollan en los sistemas degradados con enorme dificultad, según se manifiesta por los escasos valores de actividades enzimáticas detectados en ellos (García y col., 2017).

El efecto de las enmiendas orgánicas sobre los procesos microbiológicos del suelo está bien ilustrado por las actividades enzimáticas (Larney y Angers, 2012). Entre ellas, aquellas relacionadas con los ciclos de los elementos en el suelo, como es el caso actividades de enzimas hidrolasas, tales como ureasas, fosfatasas y  $\beta$ -glucosidasas, relacionadas respectivamente con el ciclo del nitrógeno, del fósforo y del carbono (García y col., 2002; Bastida y col., 2007) nos dan información sobre el estado nutricional del suelo.

La celulosa es el compuesto orgánico más abundante en la biosfera, siendo la celulosa presente en el suelo la principal fuente de carbono para el crecimiento y supervivencia de los microorganismos presentes en él (Eriksson y col., 1990; Deng y Tabatabai, 1994). Las celulasas del suelo proceden principalmente de los restos vegetales incorporados al suelo, si bien, una pequeña proporción puede proceder de hongos y bacterias del suelo (Richmond, 1991).

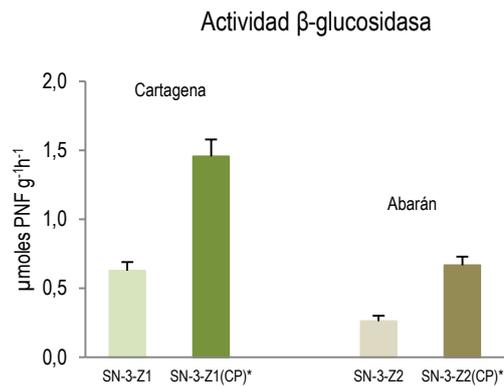
La actividad enzimática celulasa comienza el proceso de la degradación de la celulosa. Cómo se puede observar en la Figura 4.1.16 la actividad de esta enzima aumentó tan solo ligeramente en los suelos enmendados al tratarse de una enmienda de origen animal, no existiendo diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) para esta actividad entre los suelos enmendados y sus respectivos controles.



**Figura 4.1.16.**-Actividad enzimática celulasa en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal

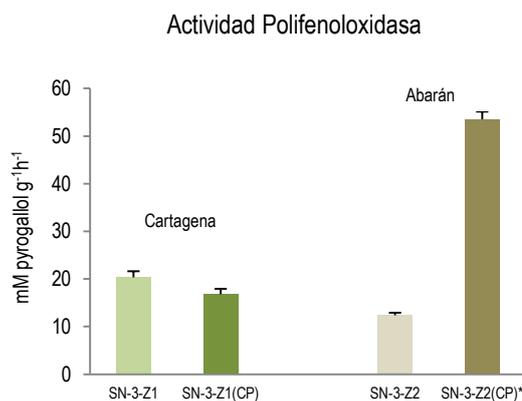
La actividad  $\beta$ -glucosidasa cataliza el último paso de la degradación de la celulosa, que consiste en la hidrólisis de celobiosa a glucosa además de otros glucopiranosidos. El incremento de esta actividad está relacionado con la energía liberada por los microorganismos como atributo al tipo de materia orgánica añadida al suelo (Albiach y col., 2001; García-Ruiz y col., 2008). La adición de compost de estiércol animal incrementó la actividad  $\beta$ -glucosidasa en ambas zonas observándose diferencias significativas entre los suelos control y enmendados (Figura 4.1.17).

Scotti y col., (2016) obtuvieron resultados similares al observar cómo la incorporación de compost de granja produjo un incremento en la actividad  $\beta$ -glucosidasa después de 1, 4, 8, 12 y 19 meses de su incorporación a un suelo degradado. Por su parte, Das y col., (2017) también observaron un importante incremento de esta actividad con respecto al suelo control en suelos enmendados con  $5 \text{ t ha}^{-1}$  de compost de estiércol animal.



**Figura 4.1.17.**-Actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Las enzimas polifenoloxidasas intervienen en funciones clave de los ecosistemas ya que se relacionan con la mineralización de la materia orgánica más estable del suelo (lignina, celulosa, compuestos fenólicos, etc.). De este modo, las enzimas fenoloxidasas ponen a disposición de otras enzimas y/o microorganismos formas de C más lábiles, las cuales pueden ser utilizadas más fácilmente por los microorganismos como fuente de energía en sus procesos metabólicos. Del mismo modo, este tipo de enzimas oxidoreductasas pueden actuar inversamente, facilitando la polimerización de moléculas orgánicas presentes en el suelo hacia la formación de sustancias húmicas (Sinsabaugh, 2010; Ondoño, 2015). Esta actividad disminuyó ligeramente en los suelos enmendados respecto al control de la zona de Cartagena (Figura 4.1.18), mientras que incrementó significativamente en el suelo de Abarán, debido posiblemente al mayor incremento en sustancias húmicas en esta zona (Figura 4.1.18).



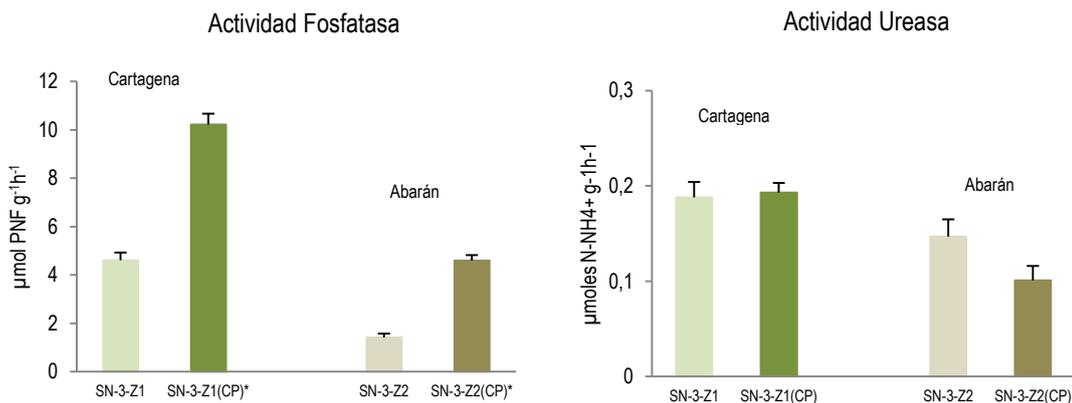
**Figura 4.1.18.**-Actividad enzimática polifenoloxidasa en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Las enzimas fosfatasa son las responsables de la transformación de diferentes formas de fósforo orgánico a fósforo inorgánico asimilable por las plantas, jugando un papel crítico en el ciclo del P, como se deduce de su correlación con el estrés de P y el crecimiento de las plantas (Liu y col., 2004).

En los suelos de Cartagena (Zona 1) la actividad fosfatasa incrementó significativamente ( $p \leq 0,05$ ) con la adición de la enmienda, así como en el suelo de Abarán (Zona 2) (Figura 4.1.19), presentando mayores valores de actividad fosfatasa los suelos de la Zona 1 que los de la Zona 2. Sin embargo, el incremento de actividad fosfatasa en los suelos enmendados con relación al control, era mayor en el suelo de Abarán que en el de Cartagena (Figura 4.1.21).

La actividad enzimática ureasa se encarga de hidrolizar la urea a amonio y  $\text{CO}_2$ , lo que puede dar lugar a una rápida pérdida de N a la atmósfera por volatilización del amonio, por ello, esta enzima juega un papel fundamental en la regulación del N suministrado a las plantas en forma de urea. La ureasa del suelo procede principalmente de las plantas y microorganismos, encontrándose tanto como enzima intracelular como extracelular (Burns y Davies, 1986).

En la zona de Cartagena (Zona 1) no se observaron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre el suelo enmendado y el control 3 años después de la incorporación de la enmienda, mientras que en el suelo de Abarán (Zona 2) se observó una ligera disminución de la actividad de esta enzima, si bien la diferencia con el control no era estadísticamente significativa (Figura. 4.1.19).



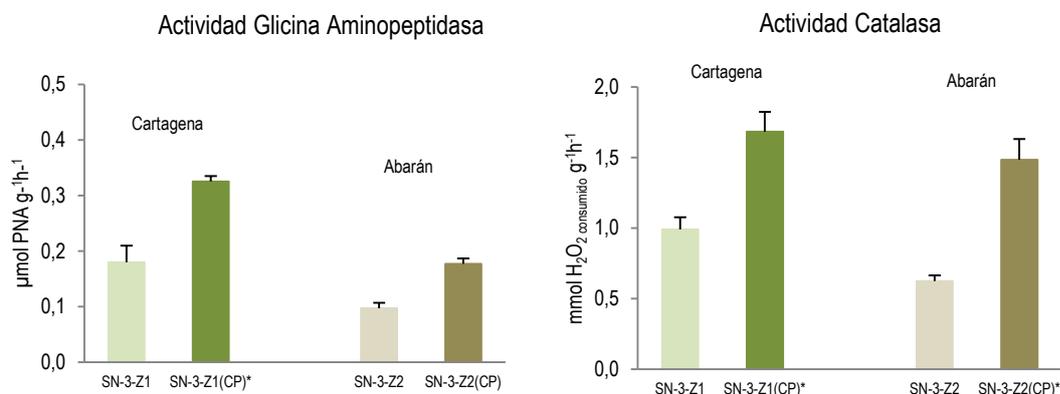
**Figura 4.1.19.**-Actividades enzimáticas fosfatasa y ureasa en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

La actividad enzimática glicina aminopeptidasa interviene en la degradación de las proteínas, jugando un importante papel en la mineralización del N, regulando así la cantidad de N disponible para el desarrollo vegetal. En el suelo esta enzima se encuentra principalmente asociada a los coloides orgánicos e inorgánicos del mismo (Nannipieri y col., 1996; García y col., 2018).

Tanto el suelo enmendado de la zona de Cartagena (Zona 1) como el de Abarán (Zona 2) mostraban mayor actividad glicina aminopeptidasa que sus respectivos controles siendo este incremento estadísticamente significativo en los suelos de ambas zonas (Figura. 4.1.20).

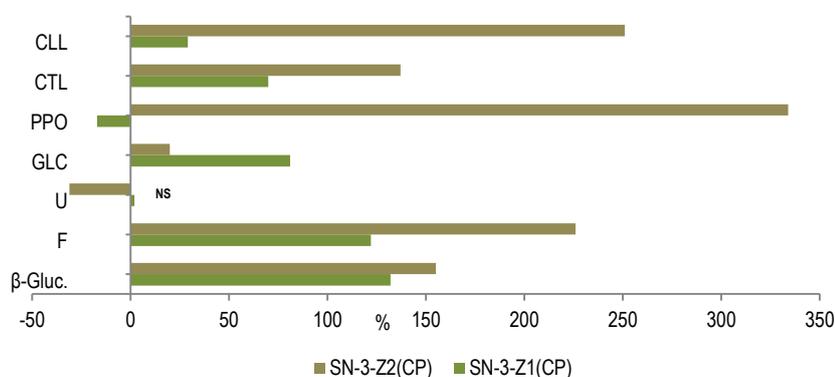
La catalasa es una enzima considerada como indicador global de los microorganismos del suelo. Tres años después de la aplicación de la enmienda se puede observar cómo la actividad de esta enzima es mayor en los suelos enmendados que en el control (Figura 4.1.20), siendo el incremento de esta actividad en los suelos

enmendados respecto de sus controles significativo ( $p \leq 0,05$ ) tanto en la zona de Cartagena (Zona 1), cómo en la de Abarán (Zona 2).



**Figura 4.1.20.** -Actividades enzimáticas glicina aminopeptidasa y catalasa en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Como podemos observar en la Figura 4.1.21, en general, continúa la respuesta positiva de la actividad microbiana en los suelos enmendados respecto a su control 3 años después de la aplicación de la enmienda, gracias al aumento en la cantidad de materia orgánica en estos suelos degradados de zonas semiáridas. El mayor incremento en estas actividades enzimáticas en los suelos de la Zona 2 puede deberse a que se trata de suelos muy frágiles que responden de manera importante al aumento de materia orgánica.



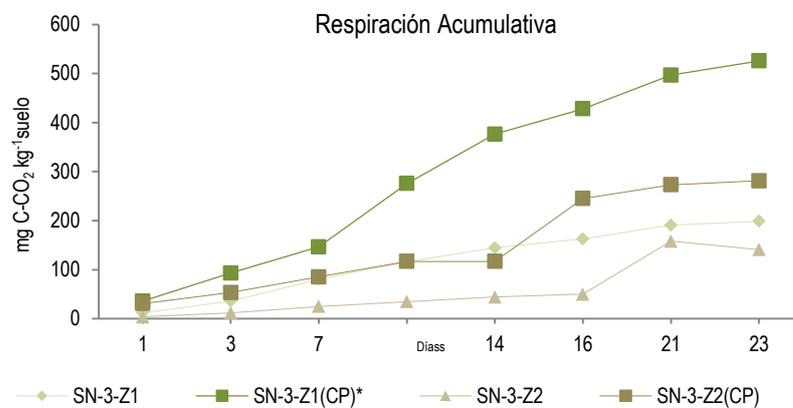
**Figura 4.1.21.** Porcentaje de variación de las actividades enzimáticas β-glucosidasa (β-Gluc.), fosfatasa (F), ureasa (U), glicina aminopeptidasa (GLC), polifenoloxidas (PPO), catalasa (CTL) y celulasa (CLL) en los suelos enmendados respecto a los suelos control de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal NS: diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

## Respiración microbiana

La respiración microbiana, estimada mediante el desprendimiento de CO<sub>2</sub> o el consumo de oxígeno, es un parámetro ampliamente utilizado para medir la actividad microbiana en los suelos, y ha sido empleada para estimar la biomasa microbiana del suelo que realmente es activa (West y col., 1988). Utilizando modelos de mineralización de C basados en la estabilidad de la tasa de respiración (desprendimiento de CO<sub>2</sub>), se

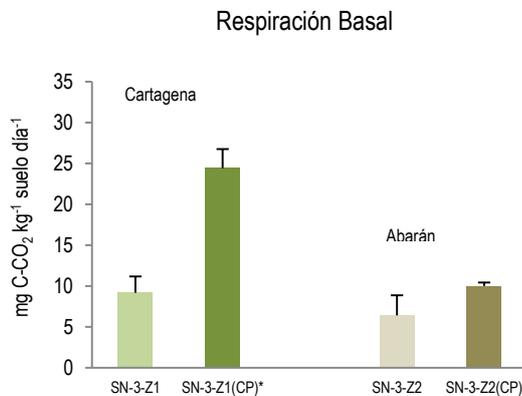
puede predecir la mineralización de C en suelos enmendados con compost (Zhang y col., 2017 b). La mineralización de la materia orgánica en el suelo depende del tipo de suelo, de la cantidad de materia orgánica incorporada y del clima, existiendo una estrecha relación entre la tasa de mineralización de la materia orgánica y la naturaleza de sus interacciones con la matriz del suelo (Saviozzi y col., 1993).

Como se observa en la Figura 4.1.22, los suelos enmendados de ambas zonas (Z1 y Z2) transcurridos 3 años de la adición del compost de estiércol animal, presentaban una mayor tasa de desprendimiento de CO<sub>2</sub> que sus respectivos suelos control. Las curvas de desprendimiento acumulativo de CO<sub>2</sub> presentaban un perfil similar en todos los suelos (Figura 4.1.22), sugiriendo una cinética de mineralización de la materia orgánica semejante.



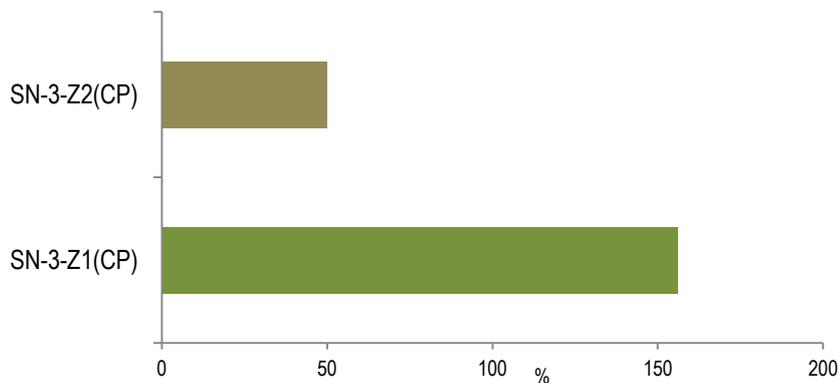
**Figura 4.1.22.**-Curvas acumulativas de desprendimiento de CO<sub>2</sub> en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Los mayores valores de respiración (mg C-CO<sub>2</sub> kg suelo<sup>-1</sup>) se alcanzaron para el suelo enmendado de la Zona 1, con una tasa de respiración que casi duplicaba a la del suelo enmendado de la Zona 2. Esto concuerda con el mayor contenido de C orgánico total e hidrosoluble detectado en el suelo enmendado de la Zona 1 en comparación con el suelo enmendado de la Zona 2.



**Figura 4.1.23.**-Respiración basal en los suelos control y en los suelos enmendados de la Zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Así, con el incremento de respiración provocado por la enmienda en relación al suelo control (Figura 4.1.24) verificamos que es en la Zona de Cartagena (Zona 1) donde se produce una mayor reactivación de la respiración (actividad microbiana) con la aplicación de la enmienda. Teniendo en cuenta que ambos suelos han recibido una enmienda orgánica de la misma naturaleza y en la misma cantidad ( $150 \text{ t ha}^{-1}$ ), cabe explicar tales diferencias entre zonas basándonos en la diferente naturaleza de ambos suelos.



**Figura 4.1.24.**-Porcentaje de variación de la respiración basal en los suelos enmendados respecto a los suelos control de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal

#### **Análisis de la estructura de la comunidad microbiana**

El impacto de las enmiendas orgánicas sobre la composición de la comunidad microbiana original es un aspecto importante en la recuperación de suelos degradados, que podemos determinar mediante el análisis de ácidos grasos de membrana (PLFAs). La evaluación de la biomasa microbiana mediante análisis de ácidos grasos de membrana (PLFAs) en suelos de zonas áridas y semiáridas ha indicado un rango de valores para este parámetro entre 2,2 y  $100 \text{ nmol PLFAs g}^{-1}$  (Bastida y col., 2008 a; Drenovsky y col., 2010; Ben-David y col., 2011; Cotton y col., 2012; Hortal y col., 2013). En nuestro estudio, estos valores oscilan entre  $1,66 \text{ nmol PLFAs g}^{-1}$  determinados en el suelo control de Abarán y  $6,30 \text{ nmol PLFAs g}^{-1}$  como valor máximo en el suelo enmendado de Cartagena, no siendo este último un valor muy elevado, pero debemos considerar que partimos de unos suelos degradados muy pobres. Se asume que la actividad microbiana intrínseca del compost se incorpora a la actividad de la población original del suelo con un impacto mínimo sobre la comunidad microbiana de éste (Saison y col., 2006).

Una de las mayores diferencias entre la composición de los PLFA para los diferentes grupos orgánicos se produce entre las eucariotas y las eubacterias. Es conocido que los PLFA 18:2w6,9 y 18:1w9 son comunes en organismos eucariotas tales como hongos, pero raros en bacterias (Harwood y col., 1984). Por este motivo, los PLFA 18:2w6,9 han sido usados como indicadores de biomasa fúngica del suelo (Frostegård y Baath, 1996). Por otro lado, otros PLFA son predominantemente de origen bacteriano, como los ácidos grasos cy17:0 y cy19:0 (Zelles, 1999).

El análisis de ácidos grasos de membrana (PLFAs) puso de relieve que los suelos enmendados, mostraban, en general, una mayor cantidad de la mayoría de los ácidos grasos detectados, en comparación con sus respectivos suelos control a los 3 años de la adición de la enmienda (Tabla 4.1.13). En los suelos enmendados de la zona de Cartagena (Z1) la adición de la enmienda produjo un mayor aumento de los PLFA indicadores de biomasa fúngica (18:2w6,9 y 18:1w9) y bacteriana (cy17:0) que en el suelo enmendado de la zona de Abarán (Z2).

**Tabla 4.1.13.**-Abundancia de PLFAs (nmol g<sup>-1</sup>) en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán

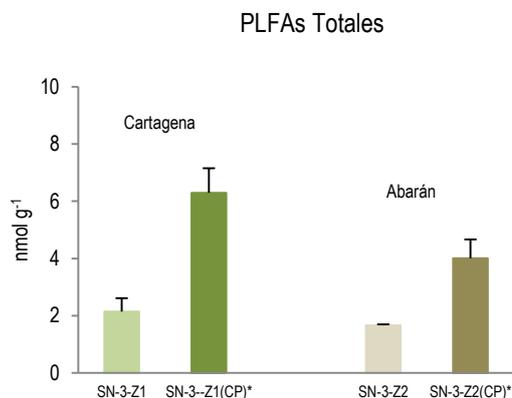
PLFA (nmol g <sup>-1</sup> )	SN-3-Z1	SN-3-Z1(CP)	SN-3-Z2	SN-3-Z2(CP)
c14:0	0,09 (0,01)	<b>0,17</b> (0,03)	0,10 (0,02)	0,12 (0,01)
i15:0	0,36 (0,10)	<b>1,23</b> (0,12)	0,22 (0,03)	<b>0,76</b> (0,18)
a15:0	0,34 (0,12)	<b>1,18</b> (0,17)	0,31 (0,14)	0,65 (0,09)
c15:0	0,00 (0,00)	<b>0,08</b> (0,02)	0,00 (0,00)	<b>0,06</b> (0,00)
c16:0	0,41 (0,15)	<b>0,80</b> (0,10)	0,40 (0,07)	0,53 (0,14)
10Me16:0	0,03 (0,01)	<b>0,08</b> (0,01)	0,07 (0,03)	0,05 (0,02)
c16:1w9	0,26 (0,10)	<b>0,59</b> (0,08)	0,20 (0,02)	<b>0,37</b> (0,10)
i17:0	0,27 (0,09)	<b>1,07</b> (0,22)	0,13 (0,04)	<b>0,77</b> (0,07)
cy17:0	0,00 (0,00)	<b>0,19</b> (0,01)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
c17:0	0,07 (0,00)	0,11 (0,04)	0,00 (0,00)	<b>0,07</b> (0,01)
c18:0	0,10 (0,02)	0,20 (0,05)	0,11 (0,02)	0,13 (0,05)
10Me18:0	0,01 (0,00)	<b>0,03</b> (0,00)	0,02 (0,01)	0,02 (0,01)
c18:1w9c	0,11 (0,04)	<b>0,32</b> (0,07)	0,19 (0,13)	0,25 (0,06)
c18:2w6,9c	0,09 (0,01)	<b>0,19</b> (0,07)	0,11 (0,05)	0,11 (0,03)
c18:3w3	0,00 (0,00)	<b>0,06</b> (0,01)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
c20:1w9	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	<b>0,11</b> (0,02)
C22:1 w9	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	<b>0,04</b> (0,00)	0,00 (0,00)

SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos, para cada parámetro y zona, de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Este análisis de PLFAs pone de manifiesto que la adición de la enmienda produce cambios en la abundancia de las poblaciones microbianas del suelo, presentando los suelos enmendados una concentración de ácidos grasos totales (PLFAs totales) mayor que la de sus respectivos controles (Figura 4.1.25), alcanzando valores para PLFAs totales (nmol g<sup>-1</sup>) de más del doble del encontrado para el control tanto en la Zona 1 como en la Zona 2. Incrementos similares en la biomasa microbiana (de 1,6-3 veces) fueron observados por Bastida y col., (2008 a) en la restauración de suelos degradados con residuos orgánicos. Estos resultados reflejan la capacidad que tiene la enmienda orgánica de estimular la proliferación bacteriana y fúngica, siendo esta estimulación mayor en el suelo de Cartagena que en el de Abarán, con menor contenido de materia orgánica.

Las bacterias y hongos son los organismos más importantes de la comunidad microbiana ya que son los responsables de la mayoría de los procesos de descomposición. Entre ellos, las bacterias suelen ser el grupo de microorganismos más abundantes en el suelo. Los PLFAs 15:0 y 17:0 son comúnmente usados como indicadores de bacterias (Frostergård y col., 1993). Tres años después de la incorporación de la enmienda, la

abundancia de estos PLFAs era mayor en los suelos enmendados que en el control tanto en el suelo de Cartagena (Zona 1) como en el de Abarán (Zona 2) (Figura 4.1.25).



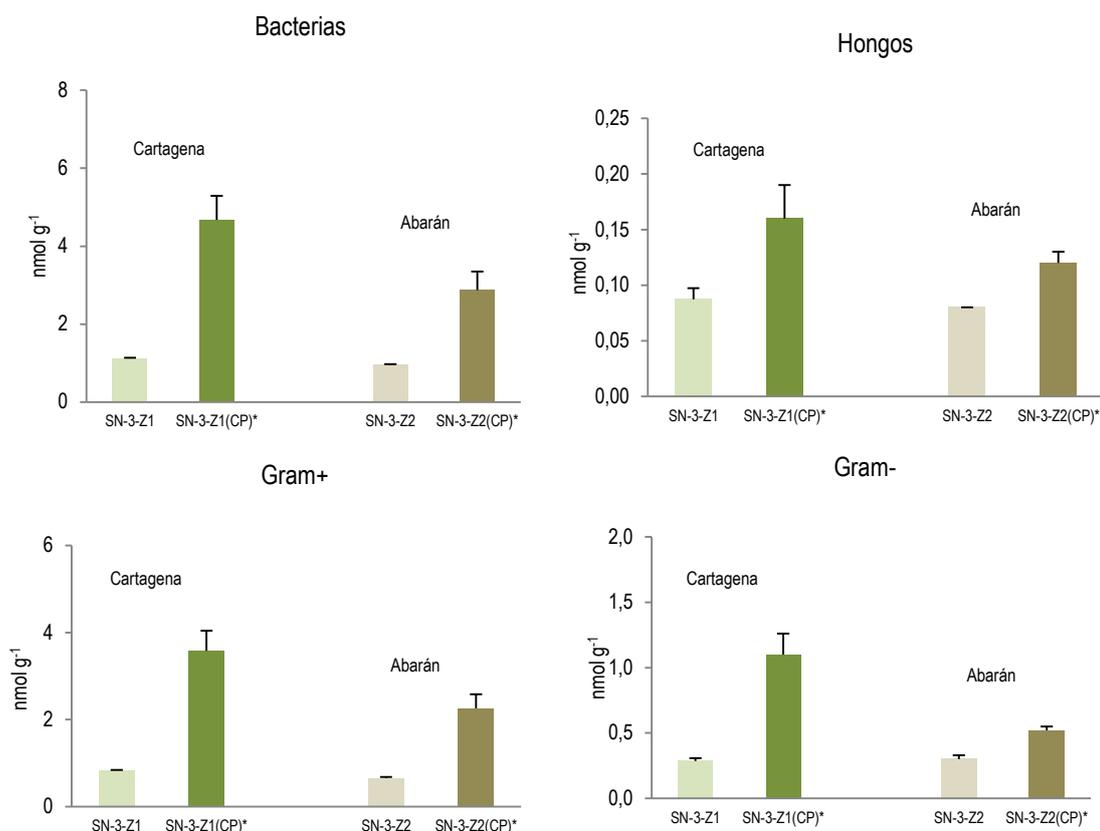
**Figura 4.1.25.**-PLFAs totales en los suelos control y en los suelos enmendados en la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Dentro de las bacterias, la abundancia de PLFAs de bacterias Gram+ (i15:0, a15:0, i16:0, i17:0) era también mayor en los suelos enmendados, siendo el suelo enmendado de la Zona 1 (Cartagena) el que presentaba la mayor abundancia de este tipo de bacterias (Tabla 4.1.13 y Figura 4.1.26). La presencia de bacterias Gram- en los suelos control era muy baja tanto en la Zona 1 como en la Zona 2, incrementando sensiblemente la abundancia de estas bacterias con la incorporación de la enmienda 3 años después de su incorporación al suelo.

Las reservas de carbono suelen ser un factor limitante en el crecimiento de la comunidad bacteriana. Dichas reservas son ligeramente mayores en los suelos de Cartagena (Figura 4.1.8), lo cual puede explicar el crecimiento sensiblemente menor de la comunidad microbiana en los suelos de Abarán.

Cabe destacar que se produce un incremento de la abundancia de bacteria y hongos para las dos áreas donde se aportó la enmienda respecto de sus controles, siendo más significativo en bacterias Gram+ que en bacterias Gram- y hongos. Algunos autores (Rethemeyer y col., 2005; Kramer y Gleixner 2008; Börjesson y col., 2012) han indicado que las bacteria Gram+ tienen preferencia para usar el carbono más viejo, mientras que las bacterias Gram- prefieren usar el material fresco de las plantas.

Los hongos son los principales degradadores de los compuestos ligno-celulósicos en el suelo y juegan un importante papel en la degradación inicial de la materia orgánica y en el proceso de formación de agregados en el suelo. Como puede observarse en la Figura 4.1.26, la adición de la enmienda ha dado lugar a una mayor abundancia de poblaciones fúngicas en los suelos de ambas zonas.



**Figura 4.1.26.**-Bacterias, Hongos, Bacterias Gram+ y Bacterias Gram- en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro y zona, de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

La presencia de actinobacterias era prácticamente nula tanto en los suelos control como enmendados de ambas zonas, si bien, el suelo enmendado de la Zona 1, presentaba un contenido de actinobacterias significativamente superior al del suelo control (Tabla 4.1.14). Se ha observado, asimismo, un incremento de ácidos grasos saturados y monoinsaturados con la adición de la enmienda en ambas zonas, siendo este efecto más acusado en la Zona 1.

El cociente entre los PLFAs de ácidos grasos saturados y monoinsaturados era mayor, en ambas zonas, en los suelos enmendados que en el control, indicando que con la enmienda se ha estimulado en mayor medida la abundancia de ácidos grasos saturados. Algo similar ocurre en cuanto al cociente Gram<sup>+</sup>/Gram<sup>-</sup>, indicativo de un mayor efecto positivo de la enmienda sobre el desarrollo de las bacterias Gram<sup>+</sup> que sobre las bacterias Gram<sup>-</sup>.

Por el contrario, la razón hongos/bacterias era menor en los suelos enmendados que en sus respectivos controles (Tablas 4.1.14 y 4.1.15).

**Tabla 4.1.14.**-Relaciones bacterias Gram+/Gram-, hongos/bacterias y de PLFAs saturados/monoinsaturados (Sat/Monoinstat) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Cartagena

nmol g <sup>-1</sup>	Saturados	Monoinstat.	Actinobac.	Gram+/Gram-	Hongos/Bac.	Sat/Monoinstat.
SN-3-Z1	1,68 (0,34)	0,29 (0,02)	0,03 (0,00)	2,81 (0,29)	0,06 (0,01)	4,16 (0,29)
SN-3-Z1(CP)	<b>5,14</b> (0,65)	<b>0,91</b> (0,15)	<b>0,11</b> (0,02)	3,27 (0,22)	0,04 (0,00)	<b>5,68</b> (0,38)

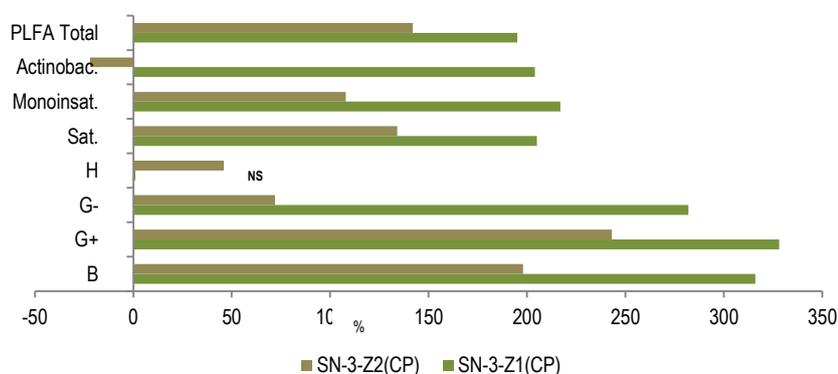
SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, CP: compost estiércol animal. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos, para cada parámetro y zona, de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

**Tabla 4.1.15.**-Relaciones bacterias Gram+/Gram-, hongos/bacterias y de PLFAs saturados/monoinsaturados (Sat/Monoinstat) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Abarán

nmol g <sup>-1</sup>	Saturados	Monoinstat.	Actinobac.	Gram+/Gram-	Hongos/Bac.	Sat/Monosat.
SN-3-Z2	1,36 (0,23)	0,35 (0,03)	0,07 (0,02)	2,18 (0,29)	0,09 (0,01)	3,96 (0,80)
SN-3-Z2(CP)	<b>3,17</b> (0,50)	<b>0,63</b> (0,00)	0,05 (0,00)	<b>4,32</b> (0,67)	<b>0,04</b> (0,01)	<b>4,44</b> (0,37)

SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos, para cada parámetro y zona, de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Si consideramos los incrementos en comparación con el control de los diferentes grupos de poblaciones microbianas detectados en los suelos enmendados (Figura 4.1.27), observamos que la incorporación de enmiendas orgánicas al suelo produce cambios en la estructura de su comunidad bacteriana y fúngica, estando la magnitud de dichos cambios afectados por las características de los suelos donde se aplicó.



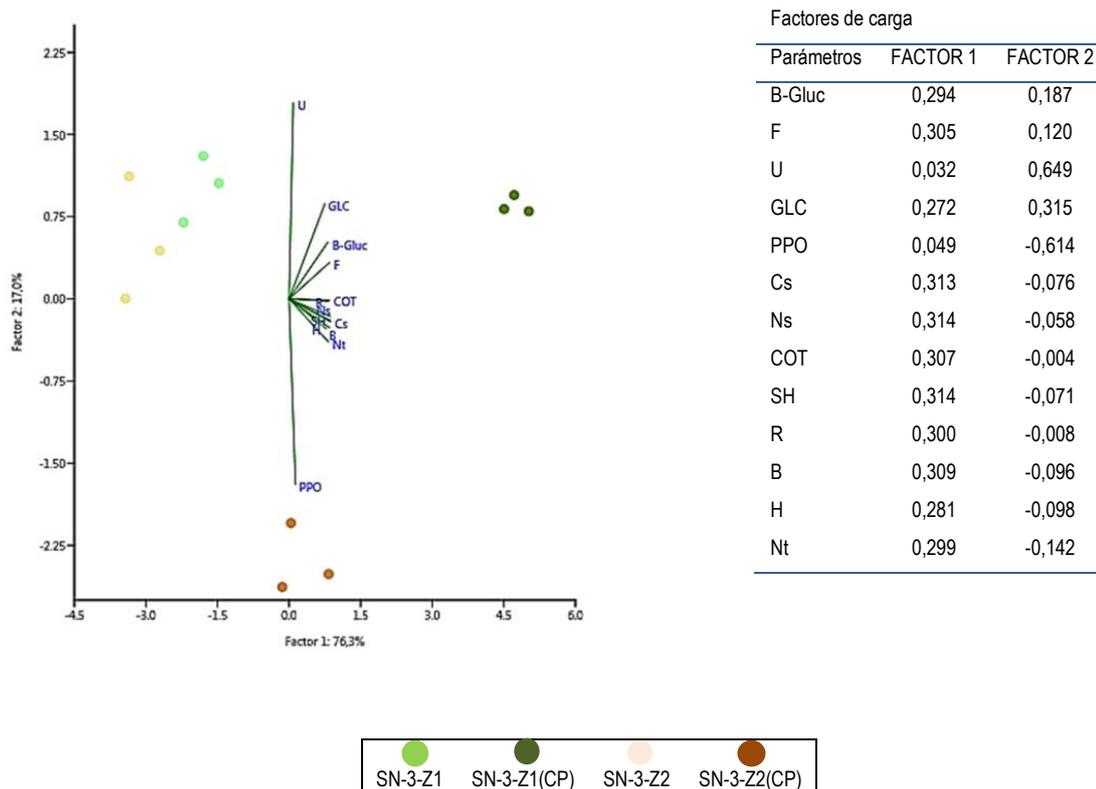
**Figura 4.1.27.**-Porcentaje de variación de los ácidos grasos de membrana de los diferentes grupos de microorganismos respecto a los suelos control de la zona de Cartagena y de Abarán. H: Hongos, B: Bacterias, G+: Gram+, G: Gram-, Actinobac.: Actinobacterias, Monoinstat.: Monoin saturados, Sat.: Saturados. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Así, el efecto de la enmienda, 3 años después de su incorporación al suelo, sobre la abundancia de las poblaciones bacterianas y fúngicas del suelo al que se añadió, es mayor en el suelo de la Zona 1 (Cartagena) con mayor contenido de C y menor contenido de arcilla que en el suelo de la Zona 2 (Figura. 4.1.27). Numerosos estudios han constatado una relación directa entre la biomasa microbiana de un suelo y su contenido de carbono orgánico (Hao y col., 2008; Jacobs y Keller., 2011; Kallenbach y Grandy., 2011; Luo y col., 2015). Asimismo, Müller y Höper (2004) indicaron la existencia de una correlación negativa entre el contenido de arcilla del suelo y su biomasa microbiana después de la adición de enmienda.

## ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN

A la luz de los resultados obtenidos, y con el fin de agrupar la información, se realizó un análisis multivariante, relacionando los parámetros implicados en la creación de un pool de C en suelo con aquellos relacionados con la actividad y comunidad microbiana. Este último aspecto es importante ya que los microorganismos son los principales responsables de la descomposición de la materia orgánica, y del turn-over de COT y nutrientes para las plantas en el suelo (Lupwayi y col., 2018).

El análisis de componentes principales explicaba el 93% de la varianza, encontrando un patrón adecuado, capaz de diferenciar los tratamientos estudiados. El Factor 1 explicaba el 75,38% de la varianza, estando relacionado positivamente con: parámetros asociados a la comunidad microbiana (bacterias y hongos), parámetros relacionados con el pool de C en el suelo (Cs, SH, COT), Ns, Nt y actividades enzimáticas, excepto para la actividad ureasa y polifenoloxidasas. El Factor 1 discriminó los suelos estudiados en tres grupos: suelos enmendados de la zona de Cartagena (Z1), suelos enmendados de la zona de Abarán (Z2) y los suelos control, que no habían recibido enmienda (Figura 4.1.28).



**Figura 4.1.28.** -Análisis de componentes principales de la actividad  $\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ -Gluc), actividad fosfatasa (F), actividad glicina aminopeptidasa (GLC), actividad polifenoloxidasas (PPO), ureasa (U) carbono soluble en agua (Cs), nitrógeno soluble en agua (Ns), nitrógeno total (Nt), carbono orgánico total (COT), carbono de las sustancias húmicas (SH), respiración acumulativa (R), bacterias (B) y hongos (H) en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de Cartagena y de Abarán. SN: suelo no agrícola, 3: años desde la enmienda, Z1: zona Cartagena, Z2: zona Abarán, CP: compost estiércol animal

El Factor 2 por su parte, explicaba tan solo el 18,07% de la varianza y separó la respuesta de los suelos en dos grupos: un grupo con los suelos control de ambas zonas junto al suelo enmendado de la Z1 y otro grupo formado por los suelos enmendados de la Z2 (Figura 4.1.28). En este factor, las actividades enzimáticas polifenoloxidasas (PPO) y ureasa (U) tenían un alto porcentaje de carga en el Factor 2.

El análisis de componente principal mostró que la incorporación del compost de estiércol animal a los suelos degradados tanto de la zona de Cartagena (Z1) como de Abarán (Z2), consigue mejorar en un plazo de tiempo corto (3 años) las propiedades de estos suelos, siendo el efecto más patente en el suelo de Cartagena (Z1) que en el de Abarán (Z2).

Estos resultados coinciden con los trabajos desarrollados por diversos autores (Li y col., 2015; Francioli y col., 2016; Lupwayi y col., 2018), quienes observaron que la incorporación de estiércol animal al suelo producía un incremento en la biomasa, diversidad microbiana y actividad enzimática de los microorganismos del suelo.

Por último, se generó una matriz de correlación para evaluar las relaciones entre las variables estudiadas (Tabla 4.1.16). La cantidad de COT se correlaciona positivamente con las actividades enzimáticas estudiadas excepto para polifenoloxidasas y ureasa. Por otro lado, se observaron coeficientes de correlación significativamente positivos entre el contenido de COT y el contenido de los grupos microbianos estudiados (bacterias totales, Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup>, hongos y actinobacterias) ( $p < 0,01$ ).

Asimismo, se observaron coeficientes de correlación positivos entre las fracciones de carbono hidrosoluble Cs y sustancias húmicas (SH), y de ambas con el contenido de bacterias Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup>, actinobacterias y poblaciones totales de bacterias y hongos. Por otra parte, se observaron coeficientes de correlación negativos entre la CE y las actividades enzimáticas, la respiración, bacterias Gram<sup>-</sup> y actinobacterias (Tabla 4.1.16). La respiración (R) estaba correlacionada positivamente con el TOC y con las poblaciones microbianas ( $p < 0,01$ ).

**Tabla 4.1.16.**-Correlaciones entre variables en los suelos de las zonas de Cartagena y de Abarán. \*significación p<0,05 \*\*significación p<0,01

	CE	CRH	EA	D	CL	β-G	PPO	F	U	GLC	COT	Cs	SH	Pt	Nt	Ns	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	R	Gram <sup>+</sup>	Gram <sup>-</sup>	B	H	
CE																							
CRH	0,59*																						
EA	0,65*	0,50																					
D	0,17	-0,28	-0,12																				
CL	-0,02	-0,07	0,16	0,14																			
β-G	-0,36	0,44	-0,13	-0,73**	-0,26																		
PPO	0,83**	0,61*	0,26	-0,05	-0,20	-0,03																	
F	-0,28	0,52	-0,10	-0,65*	-0,18	0,97**	0,02																
U	-0,88**	-0,42	-0,44	-0,18	0,05	0,38	-0,80**	0,27															
GLC	-0,54	0,28	-0,22	-0,64*	-0,17	0,95**	-0,26	0,93**	0,52														
COT	-0,06	0,06*	0,23	-0,74**	0,00	0,87**	0,12	0,90**	0,07	0,80**													
Cs	0,05	0,77**	0,22	-0,68*	-0,18	0,88**	0,24	0,92**	-0,01	0,78**	0,95**												
SH	0,019	0,74**	0,16	-0,64*	-0,12	0,89**	0,25	0,94**	-0,00	0,80**	0,95**	0,99**											
Pt	-0,18	0,58*	0,08	-0,71**	-0,20	0,96**	0,06	0,96**	0,22	0,90**	0,93**	0,95**	0,95**										
Nt	0,12	0,79**	0,26	-0,67*	-0,04	0,80**	0,33	0,84**	-0,09	0,68*	0,95**	0,94**	0,94**	0,88**									
Ns	0,01	0,75**	0,19	-0,65*	-0,15	0,88**	0,22	0,93**	0,00	0,80**	0,95**	0,99**	0,99**	0,94**	0,93**								
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-0,21	0,56	0,05	-0,75**	-0,17	0,96**	0,05	0,98**	0,21	0,91**	0,95**	0,96**	0,96**	0,98**	0,88**	0,96**							
R	-0,09	0,64*	0,16	-0,72**	-0,02	0,85**	0,13	0,87**	0,08	0,78**	0,96**	0,92**	0,91**	0,88**	0,95**	0,93**	0,91**						
Gram <sup>+</sup>	0,10	0,80**	0,26	-0,56	-0,06	0,82**	0,26	0,89**	-0,07	0,73**	0,93**	0,98**	0,98**	0,91**	0,94**	0,97**	0,91**	0,91**					
Gram <sup>-</sup>	-0,100	0,67*	0,25	-0,59*	-0,03	0,86**	0,00	0,91**	0,15	0,84**	0,94**	0,95**	0,95**	0,95**	0,89**	0,95**	0,94**	0,89**	0,95**				
B	0,07	0,79**	0,26	-0,57	-0,04	0,82**	0,23	0,90**	-0,05	0,74**	0,94**	0,98**	0,98**	0,91**	0,94**	0,97**	0,92**	0,92**	0,99**	0,96**			
H	0,10	0,79**	0,21	-0,41	-0,21	0,74**	0,20	0,83**	-0,08	0,68*	0,80**	0,92**	0,90**	0,84**	0,80**	0,90**	0,83**	0,75**	0,92**	0,89**	0,92**		
ACT	-0,15	0,41	0,41	-0,41	-0,01	0,54	-0,27	0,60*	0,10	0,59*	0,72**	0,68*	0,65*	0,68*	0,63*	0,66*	0,66*	0,70*	0,70*	0,80**	0,72**	0,70*	

CE: conductividad eléctrica; CRH: capacidad de retención hídrica; EA: estabilidad de agregados; β-G: β-glucosidasa, F: fosfatasa; U: ureasa; GLC: glicina-aminopeptidasa; PPO: polifenoloxidasas, Cs: carbono hidrosoluble; Ns: nitrógeno hidrosoluble; COT: carbono orgánico total; SH: sustancias húmicas; R: desprendimiento acumulativo de CO<sub>2</sub>; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitratos; B: bacterias; Gram<sup>+</sup>: Gram positiva; Gram<sup>-</sup>: Gram negativa; H: hongos; ACT: actinobacterias

## **CONCLUSIONES PARCIALES**

*El estudio realizado ha puesto de manifiesto que el efecto positivo de la adición de enmienda a suelos degradados semiáridos, no es puntual, sino que persiste en el tiempo, presentando los suelos 3 años después de la incorporación de la enmienda mayor porosidad, capacidad de retención hídrica y agregados estables, así como un mayor contenido de materia orgánica y nutrientes. Asimismo, persiste la reactivación de la vida microbiana promovida por la adición de la enmienda, mostrando los suelos enmendados, a pesar del tiempo transcurrido desde la adición de la enmienda, un mayor tamaño y actividad de las poblaciones microbianas del suelo.*

*La respuesta a la enmienda se espera que varíe con el grado inicial de degradación del suelo, las características de la enmienda y la climatología del lugar. La fragilidad de los suelos de Cartagena y Abarán contrasta con la intensa respuesta que han tenido estos suelos a la incorporación de compost de estiércol animal en una única aplicación de 150 t ha<sup>-1</sup> y su capacidad para secuestrar carbono, como demuestra el incremento en las fracciones de carbono orgánico total y de sustancias húmicas.*

*En todo lo expuesto, hay evidencias de que la aplicación de enmienda orgánica a suelos degradados de diferente naturaleza produce de manera general una clara mejora en la calidad de estos, que persiste 3 años después de la enmienda, y que la magnitud del efecto de la enmienda sobre las propiedades del suelo depende de las características del mismo. Asimismo, se pone de manifiesto la capacidad de estos suelos para secuestrar carbono gracias el incremento del input de C procedente de la vegetación desarrollada espontáneamente en estos suelos por efecto de la enmienda.*

## **B. EXPERIMENTOS A MEDIO PLAZO**

### **B.1. ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS DE DIFERENTE NATURALEZA**

Las parcelas muestreadas para este estudio corresponden a un ensayo de recuperación de suelos degradados mediante la adición de enmiendas orgánicas de diferente naturaleza, llevado a cabo 7 años antes, y situadas en la Finca Experimental "Tres Caminos" del CEBAS-CSIC, ubicada en el paraje "La Matanza" en el término municipal de Santomera, Murcia: 38°06'32,9"N; 1°02'16,8"W. La finca tiene una pendiente del 5,49% y está convenientemente aterrizada. El clima en esta zona es cálido semiárido, con una temperatura media anual de 18,1°C y una pluviometría media de 291 mm/año, con una distribución muy irregular.

El suelo de la zona experimental (Santomera-1) (Tabla 4.1.17) posee textura franco-arcillo-limosa y puede ser clasificado como Calcisol háplico (FAO, 2006). El terreno donde se desarrolló el ensayo estaba prácticamente desnudo al inicio del experimento y había sido explotado para uso agrícola con anterioridad (20 años antes).

Se trata por tanto de un suelo pobre en materia orgánica que se puede considerar como un “suelo abandonado”.

**Tabla 4.1.17.-**Características del suelo control de la zona de Santomera-1

Parámetros	Suelo control
pH*	8,30
Conductividad Eléctrica* (25°C), dS m <sup>-1</sup>	0,27
Carbono Orgánico Total, g 100g <sup>-1</sup>	0,33
Nitrógeno total, g 100g <sup>-1</sup>	0,11
Fósforo total, g 100g <sup>-1</sup>	353
Potasio total, g 100g <sup>-1</sup>	0,72
Carbonatos, g 100g <sup>-1</sup>	36,9
Cloruros, g 100g <sup>-1</sup>	0,36
Textura	Franco-arcillo-arenosa

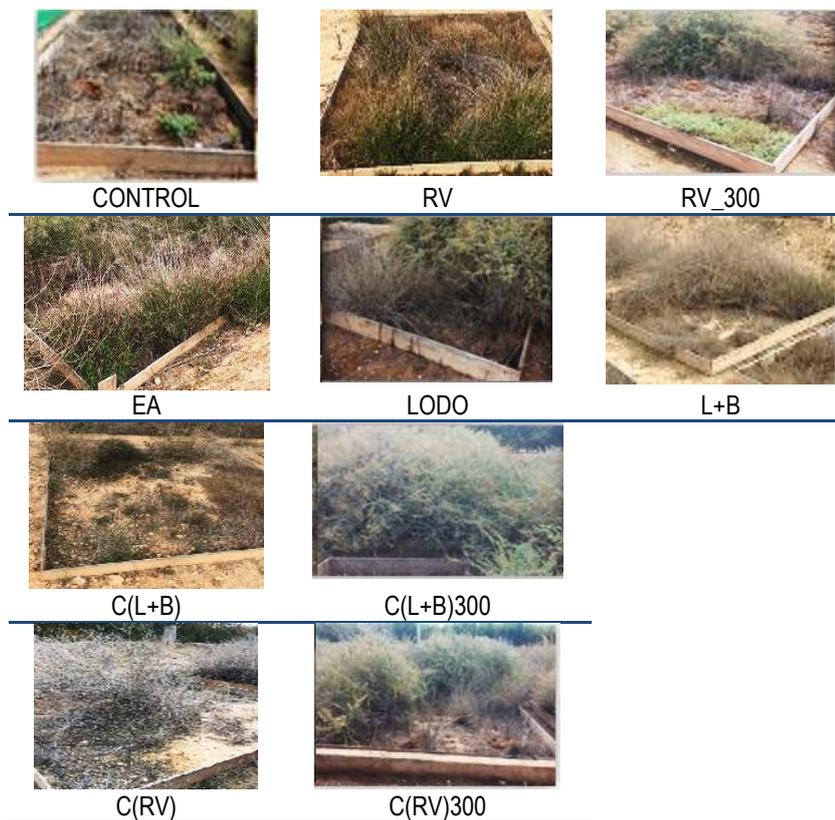
\*Determinados en extracto acuoso (1:5)

Sin embargo, tras unos meses de la adición de las diferentes enmiendas comenzó a desarrollarse una cubierta vegetal formada por vegetación espontánea cuya evolución y diversidad ha ido cambiando a lo largo de estos años. Las enmiendas orgánicas proporcionan un alto contenido en micro y macronutrientes que pueden ser beneficiosos para el desarrollo vegetal (O'Dell y col., 2007), así como unas condiciones físicas más adecuadas para el desarrollo radicular y el intercambio de agua y oxígeno en el suelo. Así, en el momento del muestreo del suelo 7 años después de la incorporación de la enmienda, todas las parcelas presentaban una cubierta vegetal (Figura 4.1.29) que variaba dependiendo de la naturaleza y estabilidad de la enmienda y de la dosis aplicada.

Tanto en las parcelas control (sin enmienda), como en las parcelas enmendadas con residuos orgánicos frescos (tanto de origen animal como vegetal) la cubierta vegetal presentaba una densidad baja-media frente a una cubierta vegetal de densidad elevada en las parcelas a las que se aplicaron las enmiendas estabilizadas (compostadas) a dosis alta. (Figura 4.1.29).

En general, todas las parcelas enmendadas presentaban en el momento del muestreo una mayor cobertura vegetal que el suelo control. Este hecho, provoca que se produzca un mayor aporte a estos suelos de restos vegetales y exudados radiculares, incorporando por ende, mayores cantidades de carbono al suelo.

En este ensayo experimental se habían adicionado al suelo, con fines de recuperación del mismo, enmiendas orgánicas de diferente origen (animal, vegetal y urbano), grado de estabilización (enmiendas frescas y compostadas) y diferentes dosis de aplicación (150 y 300 t ha<sup>-1</sup>). Las enmiendas utilizadas fueron: Residuo Vegetal (RV), Estiércol Animal (EA), Lodo (L), mezcla de Lodo+fracción orgánica de Basura doméstica, sin compostar (L+B), Compost de lodo+fracción orgánica de Basura doméstica C(L+B), y Compost de residuos vegetales humectados con purín C(RV).



**Figura 4.1.29.**-Cubierta vegetal desarrollada en las parcelas de la zona de Santomera-1, 7 años después de la aplicación de las enmiendas al suelo

Las características principales de estas enmiendas se describen en la Tabla 4.1.18.

**Tabla 4.1.18.**-Principales características de los materiales orgánicos empleados como enmiendas orgánicas (m.s.)

Parámetros	RV	EA	L	L+B	C(L+B)	C(RV)
pH	7,90	8,78	8,10	7,38	7,88	8,88
Conductividad Eléctrica, dS m <sup>-1</sup>	718,3	3,7	2,1	4,21	4,1	787,7
Carbono hidrosoluble, mg kg <sup>-1</sup>	9601	25392	19490	26947	6564	2659
Carbohidratos, mg kg <sup>-1</sup>	1672	2515	1450	3331	984	309
Carbono Orgánico Total, g 100g <sup>-1</sup>	34,22	38,51	32,84	26,07	20,95	19,32
Ácidos húmicos, mg kg <sup>-1</sup>	1617	8017	5648	8396	6020	5242
Fósforo asimilable, mg kg <sup>-1</sup>	135,9	614,60	773,60	284	264,20	141,40
Fósforo total, g 100g <sup>-1</sup>	0,06	0,29	1,24	0,74	0,74	0,13
Nitratos, mg kg <sup>-1</sup>	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	653	<5,0
Nitrógeno total, g 100g <sup>-1</sup>	0,87	2,54	3,67	1,41	1,68	1,31
Potasio total, g 100g <sup>-1</sup>	0,38	2,91	0,35	0,89	0,84	0,75
Cadmio total, mg kg <sup>-1</sup>	<0,5	<5,0	3,5	3,3	3,6	0,5
Cobre total, mg kg <sup>-1</sup>	14	21	234	316	344	60
Cromo total, mg kg <sup>-1</sup>	2,7	7,2	48	82	86	17
Níquel total, mg kg <sup>-1</sup>	1	4	62	40	43	7
Plomo total, mg kg <sup>-1</sup>	2	6	160	153	83	31
Zinc total, mg kg <sup>-1</sup>	71	99	1711	707	738	150
Relación C/N	39	15,16	8,95	18,50	12,47	14,75

RV: residuo vegetal, EA: estiércol animal, L: Lodo, L+B: lodo+basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(RV): compost de residuo vegetal. m.s: materia seca

Todas las enmiendas orgánicas fueron aplicadas, en su momento, a dosis de 150 t ha<sup>-1</sup>. Esta tasa de aplicación fue seleccionada en función de estudios previos (Ros y col., 2003; Hernández y col., 2015), que demostraron su utilidad en la restauración de suelos degradados en zonas semiáridas. Incorporando dicha dosis se asegura una concentración de carbono en el suelo de al menos 1,5%. Además, se ensayó una dosis elevada (300 t ha<sup>-1</sup>) tanto de residuos orgánicos frescos (RV) cómo compostados (C(L+B) y C(RV)) (Tabla 4.1.19), con el fin de conocer cómo afectan a las propiedades del suelo estas enmiendas a dosis altas (posible efecto acumulativo), y poder aportar al suelo la mayor cantidad posible de materia orgánica.

Para la realización de este experimento, hace 7 años, se distribuyeron al azar, y por triplicado, las diferentes enmiendas orgánicas, tal y como se muestran en la Figura 4.1.30. La enmienda se extendió, en su momento, de forma homogénea sobre la superficie de la parcela, incorporándola a continuación en la denominada capa arable del suelo (15-20 cm) con la ayuda de un rotovator. El suelo de las parcelas sin enmienda también fue removido con el rotovator, con el fin de que este aspecto no fuese un factor diferencial a la hora de estudiar el efecto de las diferentes enmiendas sobre las propiedades del suelo. Para el estudio realizado en este trabajo de Tesis Doctoral, la toma de muestras de suelo en las diferentes parcelas de esta zona (Santomera-1) se realizó a los 7 años de la adición de la enmienda y se llevó a cabo en la capa arable. Para ello, las parcelas se dividieron en dos subparcelas, tomando cuatro muestras dentro de cada una de ellas, y posteriormente se mezclaron y homogenizaron, obteniéndose una muestra de cada parcela. En todos los casos las muestras se tamizaron a través de un tamiz de 2 mm de luz para todos los parámetros, excepto para la estabilidad de agregados. A continuación, se conservaron las muestras a 4 °C ó -18 °C, en función de los parámetros que se iban a estudiar.



**Figura 4.1.30.-Distribución de las parcelas experimentales de la zona de Santomera-1**

**Tabla 4.1.19.-**Nomenclatura y descripción de los tratamientos aplicados en los suelos de la zona de Santomera-1

TRATAMIENTO	DESCRIPCION	DOSIS (t ha <sup>-1</sup> )	
SN-7-RV	Residuo vegetal de restos de poda y césped	150	300
SN-7-EA	Estiércol Animal	150	
SN-7-L	Lodo de estación depuradora de aguas residuales (EDAR)	150	
SN-7-L+B	Lodo de EDAR+Basura (almacenada 21 días)	150	
SN-7-C(L+B)	Compost maduro (4 meses) de lodo de EDAR+Basura	150	300
SN-7-C(RV)	Compost maduro de Residuo Vegetal (restos leñosos regados con purín)	150	300
SN-7-C	Control		

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### PARÁMETROS AGRONÓMICOS

#### Parámetros físicos y físicoquímicos

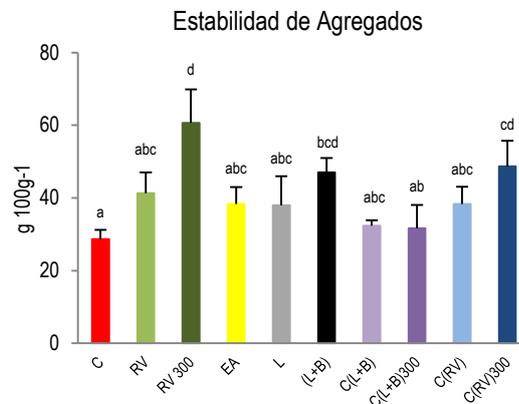
Los suelos degradados presentan un deterioro de su estructura, mostrando una deficiente agregación de sus partículas, pobre aireación y capacidad de infiltración, elevada compactación y reducido movimiento de nutrientes, todo lo cual restringe el crecimiento y la capacidad de exploración de las raíces (Durán Zuazo y Rodríguez Pleguezuelo, 2008). Como se puede observar en la Tabla 4.1.20, la aplicación de enmiendas orgánicas al suelo influye sobre las propiedades físicas y físicoquímicas de éste. Siete años después de la incorporación de la enmienda, los suelos enmendados, en particular los enmendados con la dosis alta de compost, C(L+B)300 y C(RV)300, mostraban valores de pH significativamente inferiores ( $p \leq 0,05$ ) al del suelo control. Contrariamente, no se observaron variaciones significativas en los valores de densidad y capacidad de retención hídrica.

**Tabla 4.1.20.-**Valores de pH, densidad y capacidad de retención hídrica (CRH) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-1

	pH	Densidad g cm <sup>-3</sup>	CRH g 100g <sup>-1</sup>
SN-7-C	8,70 (0,03) g	0,98 (0,03) a	47,00 (1,00) a
SN-7-RV	8,81 (0,02) fg	0,86 (0,06) a	49,33( 2,52) a
SN-7-RV300	8,72 (0,06) de	0,91 (0,02) a	44,67 (2,52) a
SN-7-EA	8,67 (0,09) cd	0,86 (0,01) a	49,67 (2,08) a
SN-7-L	8,66 (0,06) cd	0,93 (0,06) a	48,33 (1,53) a
SN-7-(L+B)	8,71 (0,07) de	0,94 (0,03) a	47,67 (1,53) a
SN-7-C(L+B)	8,63 (0,01) c	0,87 (0,03) a	46,67 (0,58) a
SN-7-C(L+B)300	8,46 (0,08) a	0,87 (0,08) a	49,67 (2,89) a
SN-7-C(RV)	8,76 (0,09) ef	0,95 (0,06) a	44,00 (3,00) a
SN-7-C(RV)300	8,55 (0,07) b	0,86 (0,02) a	49,33 (5,51) a

SN: suelo no agrícola, 7: años desde la enmienda, C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Sin embargo, como puede observarse en la Figura 4.1.31, 7 años después de la adición de las diferentes enmiendas persiste, en todos los casos, el efecto positivo de las mismas sobre la agregación del suelo, presentando los suelos enmendados mayor porcentaje de agregados estables que el suelo control.



**Figura 4.1.31.**-Porcentaje de agregados estables en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Los mayores porcentajes de agregados estables se observaron en los suelos que recibieron enmienda de origen vegetal, tanto compostada como fresca, en dosis alta (300 t ha<sup>-1</sup>), con incrementos estadísticamente significativos en relación al control ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 4.1.31), poniéndose de manifiesto la influencia del tipo de enmienda y de la dosis de aplicación sobre este parámetro.

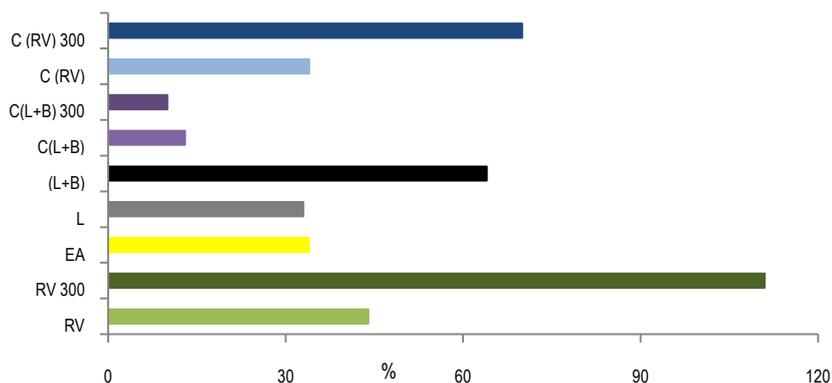
Entre las enmiendas adicionadas a igual dosis (150 t ha<sup>-1</sup>), destaca por su efecto positivo sobre la agregación del suelo la mezcla de lodo y basura sin comportar (L+B), con valores superiores a los del resto de enmiendas empleadas, si bien las diferencias entre el resto de tratamientos no llegan a ser estadísticamente significativas debido a la dispersión de los datos obtenidos para este parámetro. Este mejor comportamiento podría atribuirse al mayor contenido de sustancias húmicas y de carbohidratos que presenta esta enmienda (Tabla 4.1.18) en comparación con el resto, ya que algunos autores han indicado que la estabilidad de agregados está correlacionada positivamente tanto con la concentración de ácidos húmicos (Piccolo y col., 1997; Whalen y col., 2003) como con la cantidad de carbohidratos aportados por las enmiendas (Ros, 2000).

Abiven y col., (2009), indicaron que el efecto de las enmiendas fácilmente biodegradables sobre los agregados del suelo es intenso pero transitorio, mientras que las enmiendas más resistentes a la degradación, como son las de carácter ligno-celulósico, tienen un efecto menos intenso pero más duradero.

No obstante, como puede observarse en la Figura 4.1.32, en la que se muestra el incremento de agregados estables en los suelos enmendados respecto al control con cada uno de los tratamientos, 7 años después de la aplicación de la enmienda todos los suelos tratados mostraban porcentajes de agregados estables superiores al control, variando estos incrementos en función de las características de la enmienda (origen, estado y concentración), en el siguiente orden decreciente:

**RV300** > C(RV)300 > (L+B) > RV > C(RV) = EA > L > C(L+B) > C(L+B)300

Según Wu y col., (2012) la incorporación de la enmienda orgánica al suelo tiene un efecto sobre la estabilidad de los agregados debido a los polisacáridos que contienen y a la reactivación de las poblaciones microbianas. En nuestro experimento a medio plazo, los residuos frescos, a igualdad de dosis, favorecen en mayor medida que los compostados la agregación del suelo, posiblemente gracias al mayor desarrollo de poblaciones microbianas en los suelos enmendados con estos residuos frescos (Figura 4.1.32).



**Figura 4.1.32.**-Porcentaje de variación en los agregados estables de los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Santomera-1. RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>

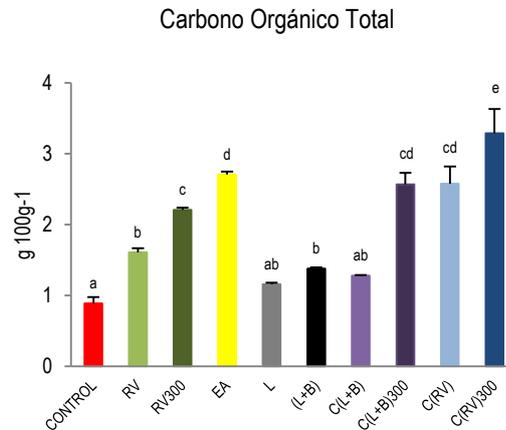
## Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales

### Materia orgánica

Las enmiendas orgánicas afectan a las propiedades del suelo de diferentes modos, pudiendo ser estos efectos directos, debido a las propiedades intrínsecas de la enmienda, o indirectos, a través de las modificaciones que causan en las propiedades físicas, biológicas y químicas del suelo, así como en su capacidad de desarrollar una cubierta vegetal. Existen una amplia variedad de fuentes de materia orgánica que pueden ser empleadas para corregir la ausencia de materia orgánica en el suelo, especialmente en zonas semiáridas (García y col., 2017). En este ensayo se estudió el efecto de un amplio rango de residuos orgánicos de diferente naturaleza, grado de estabilización y concentración (Tabla 4.1.18) con el fin de conocer la capacidad de generar nueva materia orgánica en suelos degradados en ambientes semiáridos. Para ello, se cuantificó tanto el contenido en carbono orgánico total (COT), como el de una de las fracciones más mineralizables del carbono, el carbono hidrosoluble (Cs), y el de la fracción más resiliente de éste, como son las sustancias húmicas (SH).

De forma general, se puede observar (Figura 4.1.33) que el contenido en carbono orgánico total en todos los suelos enmendados era superior al del suelo control, siendo las diferencias con este último estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ). El suelo enmendado con la dosis alta de compost de residuo vegetal a (300 t ha<sup>-1</sup>) era

el que presentaba mayor concentración en carbono orgánico total seguido por el enmendado con estiércol animal (EA) y los tratamientos C(RV) y C (L+B)300.

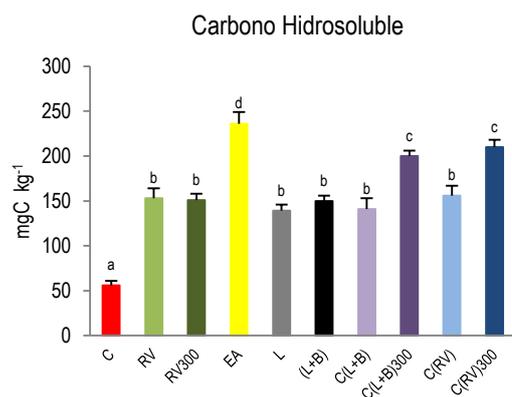


**Figura 4.1.33.-**Contenido de carbono orgánico total en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. : CONTROL, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Diversos estudios de recuperación de suelos degradados enmendados mediante la adición de residuos orgánicos de distinta naturaleza y grado de estabilidad (García-Gil y col., 2000; Kizilkaya y Bayraklim, 2005; O'Connor y col., 2005; Nicolás y col., 2012), han puesto de manifiesto que las enmiendas orgánicas ensayadas producían un aumento significativo, no sólo en el contenido en COT del suelo, sino de las diversas fracciones de carbono orgánico. A pesar de la mineralización que sufren estas fracciones con el tiempo, varios años después de la aplicación de las enmiendas, su contenido en los suelos enmendados era significativamente superior al del suelo control. Por otro lado, según estos autores los materiales orgánicos compostados eran más eficaces que los frescos en el mantenimiento en el suelo de las sustancias húmicas aportadas por la enmienda.

Hernández y col., (2015) también observaron incremento en la fracción de COT en suelos enmendados con compost de residuos urbanos tras cinco años de su aplicación. El incremento en nutrientes del suelo y en SH fue mayor en las enmiendas aplicadas a mayor dosis (3%), que a menor dosis (1%).

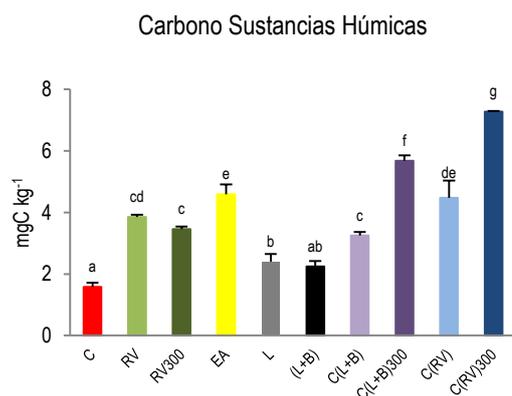
En cuanto al contenido de carbono fácilmente mineralizable (Cs), se observa que son los tratamientos con estiércol animal, C(L+B)300 y C(RV)300 los que dan lugar a las mayores concentraciones de carbono soluble en el suelo (Figura 4.1.34). Estos resultados sugieren que la dinámica seguida en el suelo por la materia orgánica está influenciada por la distinta naturaleza de las enmiendas empleadas (Tabla 4.1.18) y la dosis de aplicación.



**Figura 4.1.34.-**Contenido de carbono hidrosoluble en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

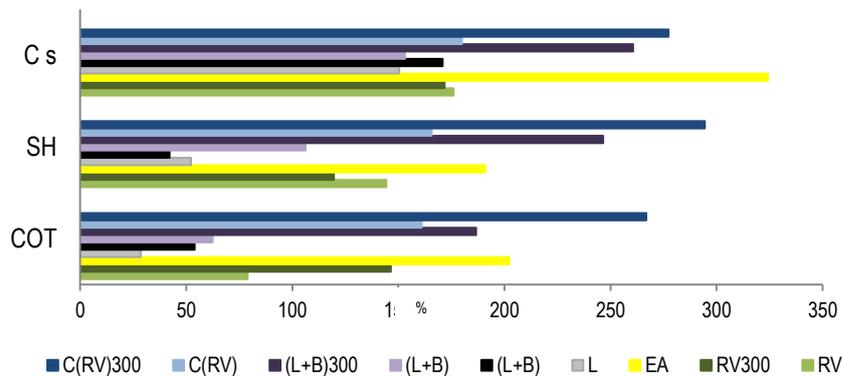
En cuanto al contenido en C de sustancias húmicas (SH) (Figura 4.1.35), los suelos enmendados siguen una tendencia respecto del control similar a la del carbono orgánico total. Las mayores concentraciones de SH se observaron en los suelos enmendados con materiales orgánicos estabilizados (composts) a elevada concentración, tales como el compost de residuo vegetal C(RV)300 y de lodo con basura C(L+B)300, seguidos del suelo tratado con 150 t ha<sup>-1</sup> de compost de residuo vegetal (C(RV)) y con estiércol animal.

Estos resultados coinciden con las observaciones de Calleja-Cervantes y col., (2015), que en suelos degradados donde se habían aplicado enmiendas orgánicas de diferente naturaleza (compost vegetal, estiércol animal, lodos de depuradora, compost de lodos y compost de estiércol de oveja) observaron un incremento en la concentración de materia orgánica en todos los suelos enmendados respecto al suelo control.



**Figura 4.1.35.-**Contenido de carbono de sustancias húmicas en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Como puede apreciarse en la Figura 4.1.36, la adición de las enmiendas orgánicas incrementó considerablemente el contenido en las diferentes fracciones del carbono en el suelo respecto del suelo control. Asimismo, se puede observar que a igual dosis de aplicación, el estiércol animal es la enmienda que produce los mayores incrementos con el tiempo (7 años), en los contenidos de las diferentes fracciones de carbono consideradas, mostrándose como una enmienda muy efectiva en la creación de materia orgánica en el suelo. Los composts a dosis alta, C(RV)300 y C(L+B)300, producían mayores incrementos que a dosis más baja, poniéndose así de relieve la incidencia de la dosis de aplicación en la retención y dinámica del C en el suelo. Por otro lado, las enmiendas estabilizadas de origen vegetal C(RV) tienen mayor capacidad de incrementar las diferentes fracciones de carbono en el suelo que las de origen urbano C (L+B).



**Figura 4.1.36.**-Porcentaje de variación de las diferentes fracciones de carbono: carbono hidrosoluble (Cs), sustancias húmicas (SH) y carbono orgánico total (COT) en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona Santomera-1. RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>

En orden decreciente, los incrementos con respecto al control, producidos por los diferentes tratamientos varían del siguiente modo:

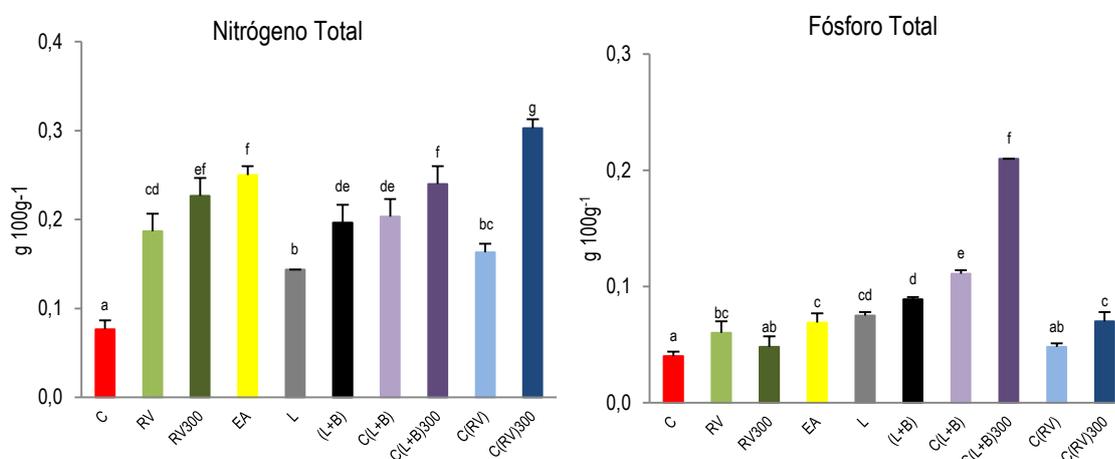
- COT    **C(RV)300**> EA> C(L+B)300> C(RV)> RV300> RV> C(L+B)> (L+B)> L  
SH     **C(RV)300**> C(L+B)300> EA> C(RV)> RV> RV300> C(L+B)> L>(L+B)  
Cs     **EA**> C(RV)300> C(L+B)300> C(RV)> RV> RV300> (L+B)> C(L+B)> L

Resumiendo, podemos afirmar que la incorporación de enmiendas orgánicas al suelo ha producido a medio plazo un incremento en las diferentes fracciones de carbono estudiadas, tanto de las fracciones más lábiles que actúan como fuente de energía por los microorganismos, cómo de las más estables (SH). El hecho de que la fracción hidrosoluble continúe siendo significativamente superior al suelo control en todos los tratamientos puede estar estrechamente relacionada con el desarrollo de una cubierta vegetal estable.

## Parámetros nutricionales

Con la incorporación de enmiendas orgánicas a suelos degradados de zonas semiáridas no solo pretendemos incrementar su contenido en materia orgánica, sino que también esperamos mejorar la calidad nutricional de éste, gracias al efecto fertilizante que dichas enmiendas pueden desarrollar, favoreciendo un posible desarrollo vegetal.

La incorporación de las diferentes enmiendas orgánicas al suelo, dio lugar a contenidos de nitrógeno total significativamente superiores ( $p \leq 0,05$ ) a los del control, aún después de 7 años de la incorporación de la enmienda (Figura 4.1.37). Este hecho es atribuible a la incorporación al suelo de los restos vegetales y exudados radiculares procedentes de la cubierta vegetal desarrollada de modo espontáneo en estos suelos a los 4-6 meses de la incorporación de la enmienda, mayor en los suelos enmendados que en el control.



**Figura 4.1.37.**-Contenido de nitrógeno total y fósforo total en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C(RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

El hecho de que la concentración de nitrógeno total continúe siendo más elevada en los suelos enmendados que el suelo control siete años después de la aplicación de la enmienda, es especialmente positivo, ya que el nitrógeno es el macronutriente de mayor importancia en la producción vegetal, y es requerido por las plantas en cantidades relativamente altas.

El fósforo también es un macronutriente esencial para el crecimiento de las plantas y como se puede comprobar en la Figura 4.1.37 los valores en los suelos enmendados son significativamente mayores que en el suelo control, siendo las enmiendas que contienen lodos de EDAR las que dan lugar a unos mayores contenidos de P en el suelo 7 años después de la incorporación de la enmienda.

Estas diferencias se atenúan en el contenido de potasio total (Tabla 4.1.21), presentando el suelo enmendado con estiércol animal contenidos de potasio significativamente superiores al del control. En relación al

contenido de calcio de los suelos, no se apreciaron diferencias significativas con el control en ninguno de los tratamientos (Tabla 4.1.21).

**Tabla 4.1.21.**-Contenido de potasio (K) y calcio (Ca) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1

	K g 100g <sup>-1</sup>	Ca g 100g <sup>-1</sup>
SN-7-C	0,786 (0,004) ab	16,2 (0,7) a
SN-7-RV	0,833 (0,032) abc	16,4 (1,0) a
SN-7-RV300	0,735 (0,070) a	14,4 (1,2) a
SN-7-EA	0,919 (0,011) c	16,3 (0,4) a
SN-7-L	0,760 (0,059) a	15,8 (1,5) a
SN-7-(L+B)	0,886 (0,013) bc	16,3 (0,9) a
SN-7-C(L+B)	0,784 (0,009) ab	15,7 (0,5) a
SN-7-C(L+B)300	0,758 (0,014) a	14,8 (0,3) a
SN-7-C(RV)	0,767 (0,089) ab	16,1 (1,8) a
SN-7-C(RV)300	0,803 (0,022) abc	15,6 (0,7) a

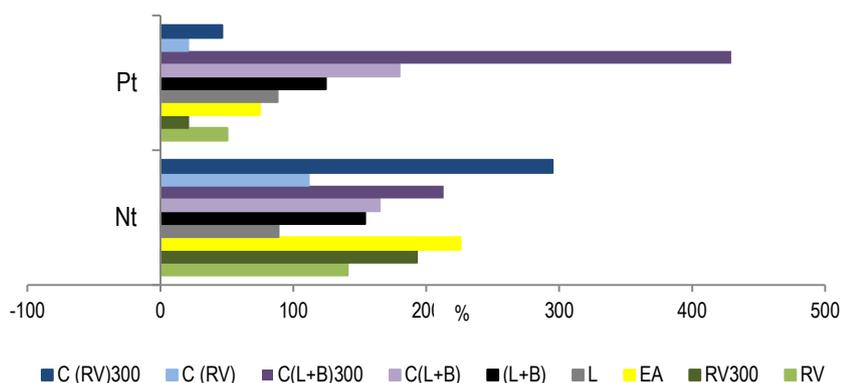
SN: suelo no agrícola, 7: años desde la enmienda, C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Considerando el porcentaje de incremento de los contenidos de nutrientes en los suelos enmendados con respecto al suelo control (Figura 4.1.38), podemos observar que el mayor incremento de fósforo total se alcanza con el tratamiento C(L+B)300, observándose que las enmiendas que contienen lodo incrementan en mayor proporción la cantidad de este macronutriente en sus formas compostadas y no compostadas, hecho que está relacionado con que tanto el lodo empleado como enmienda como su mezcla con basura presentaban las concentraciones más elevadas de fósforo total.

En el caso del nitrógeno, el mayor incremento con respecto al control se observaba con el tratamiento C(RV)300, el estiércol animal (EA) y C(L+B)300, seguido por C(RV). El incremento con respecto al control decrecía en el siguiente orden para los distintos tratamientos:

N<sub>T</sub>: **C(RV)300**> EA> C(L+B)300> RV300> C(L+B)> (L+B)> RV> C(RV)> L

P<sub>T</sub>: **C(L+B)300**> C(L+B)> (L+B)> L> EA> RV> C(RV)300> RV300= C(RV)



**Figura 4.1.38.**-Porcentaje de variación de nitrógeno total y fósforo total en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Santomera-1. RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>

Respecto al contenido en microelementos se encontraron escasas diferencias entre los suelos enmendados y el control (Tabla 4.1.22).

**Tabla 4.1.22.**-Contenido de magnesio (Mg), manganeso (Mn), aluminio (Al) azufre (S) y hierro (Fe) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1

TRATAMIENTO	Mg mg kg <sup>-1</sup>	Mn mg kg <sup>-1</sup>	Al mg kg <sup>-1</sup>	S mg kg <sup>-1</sup>	Fe mg kg <sup>-1</sup>
SN-7-C	1,1 (0,0) ab	309 (4) ab	2,6 (0,0) ab	0,16 (0,00) abc	15858 (230) bcd
SN-7-RV	1,1 (0,1) b	305 (10) ab	2,5 (0,2) ab	0,17 (0,01) bcd	15306(845) abcd
SN-7-RV300	0,9 (0,0) a	277 (9) a	2,2 (0,2) a	0,15 (0,01) a	13512 (1083) a
SN-7-EA	1,1 (0,0) b	320 (7) b	2,7 (0,1) b	0,18 (0,01) d	16352 (252) bcd
SN-7-L	1,0 (0,0) ab	279 (27) a	2,4 (0,2) ab	0,15 (0,00) ab	14709 (1504) ab
SN-7-(L+B)	1,1 (0,0) b	318 (2) b	2,7 (0,0) b	0,18 (0,01) cd	17152 (348) cd
SN-7-C(L+B)	1,0 (0,0) ab	301 (3) ab	2,5 (0,0) ab	0,18 (0,01) d	17541 (9) d
SN-7-C(L+B)300	1,1 (0,0) ab	295 (10) ab	2,4 (0,1) ab	0,22 (0,00) e	20817 (575) e
SN-7-C(RV)	1,0 (0,1) ab	289 (14) ab	2,4 (0,2) ab	0,17 (0,00) abcd	14779 (1042) ab
SN-7-C(RV)300	1,1 (0,1) ab	297 (2) ab	2,4 (0,0) ab	0,19 (0,01) d	15056 (255) abc

SN: suelo no agrícola, 7: años desde la enmienda; C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo; (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

## PARÁMETROS AMBIENTALES

Cuando se emplean residuos orgánicos como enmiendas en el suelo se corre el riesgo de incrementar la conductividad eléctrica del suelo donde se aplican debido a la elevada conductividad eléctrica inicial que presentan algunos de ellos (Tabla 4.1.23). Un aumento de dicha salinidad en el suelo puede tener efectos negativos sobre las propiedades físicas, microbiológicas y bioquímicas de los mismos (Liang y col., 2005; Tejada y col., 2006).

El efecto de la salinización del suelo es muy importante en ambientes semiáridos debido al bajo nivel de precipitaciones en estas zonas (<300 mm/año), las cuales son responsables del lavado de sales en el suelo

(Gracia, 2012). Se admite que a partir de una conductividad eléctrica del suelo de  $2 \text{ dS m}^{-1}$  puede disminuir el rendimiento de las plantas más sensibles. Por ello, es importante controlar tanto la procedencia del residuo como la dosis a aplicar. Como se observa en la Tabla 4.1.23, tras 7 años de la aplicación de las enmiendas orgánicas al suelo, excepto para los suelos enmendados con Lodo+Basura, en forma fresca y compostada, y compost de residuo vegetal, los suelos enmendados presentaron valores de conductividad eléctrica superiores al del suelo control, alcanzando el suelo enmendado con estiércol animal el valor más elevado de conductividad, pero aun así, este valor de CE,  $0,360 \text{ dS m}^{-1}$ , es bajo. Por lo tanto, podemos indicar que la aplicación de las enmiendas en las condiciones ensayadas no supone un riesgo de aumento de la conductividad eléctrica. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en la concentración de ion  $\text{Na}^+$  entre el suelo control y los suelos enmendados.

El problema ambiental más importante relativo al ciclo del N, es la acumulación de nitratos en el subsuelo, que por lixiviación, pueden incorporarse a las aguas subterráneas, o bien, ser arrastrados hacia los cauces y reservorios superficiales. La mayor parte del nitrógeno contenido en los residuos orgánicos empleados como enmiendas se encuentra en forma orgánica (Ayuso, 1995). A lo largo del tiempo, este nitrógeno es sometido a procesos de mineralización, siendo en un primer paso transformado en ion amonio, que bien, se volatiliza, o bien, por efecto de las bacterias nitrificantes es transformado en nitratos. La concentración de nitrógeno orgánico es muy elevada inicialmente en el Lodo (L) y mezcla Lodo+Basura (L+B), con un elevado contenido en amonio, seguido por la forma compostada de la mezcla C(L+B) y estiércol animal (EA) (Tabla 1.4.18).

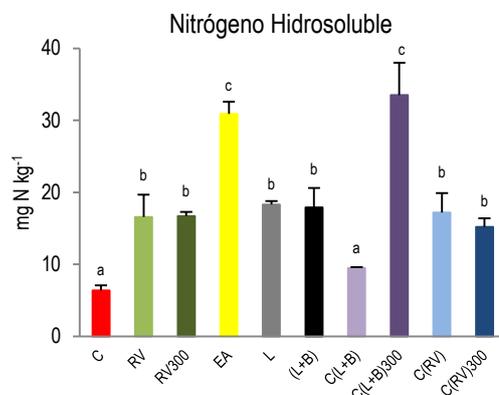
**Tabla 4.1.23.**-Valores de conductividad eléctrica (CE), sodio ( $\text{Na}^+$ ) y nitratos en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1

	CE $\text{dS m}^{-1}$	$\text{Na}^+$ $\text{g } 100\text{g}^{-1}$	Nitratos $\text{mg NO}_3 \text{ kg}^{-1}$
SN-7-C	0,228 (0,009) a	0,033 (0,000) a	120 (19) a
SN-7-RV	0,330 (0,004) c	0,038 (0,005) a	322 (26) bc
SN-7-RV300	0,281 (0,005) b	0,031 (0,003) a	272 (38) b
SN-7-EA	0,360 (0,001) d	0,037 (0,000) a	474 (69) d
SN-7-L	0,339 (0,019) c	0,033 (0,004) a	267 (21) b
SN-7-(L+B)	0,229 (0,018) a	0,039 (0,001) a	262 (12) b
SN-7-C(L+B)	0,206 (0,019) a	0,031 (0,004) a	299 (15) b
SN-7-C(L+B)300	0,262 (0,009) b	0,037 (0,002) a	394 (65) c
SN-7-C(RV)	0,207 (0,003) a	0,033 (0,003) a	248 (15) b
SN-7-C(RV)300	0,323 (0,017) c	0,036 (0,005) a	321 (27) bc

SN: suelo no agrícola, 7: años desde la enmienda; C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal  $300 \text{ t ha}^{-1}$ , EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura  $300 \text{ t ha}^{-1}$ , C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal  $300 \text{ t ha}^{-1}$ . Entre paréntesis: error estándar,  $n=3$ . Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

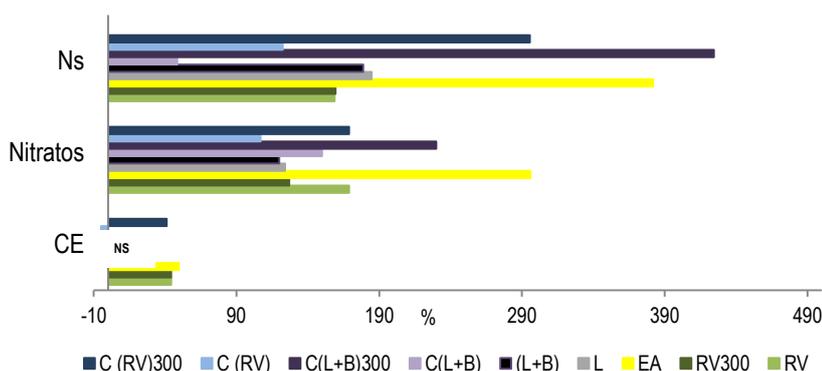
Así, los valores en nitratos a los siete años de la aplicación de la enmienda aumentaron significativamente ( $p \leq 0,05$ ) en todos los tratamientos respecto al suelo control (Tabla 4.1.23), siendo el suelo enmendado con estiércol animal (EA) el que presentaba los mayores contenidos de nitratos ( $474 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

Como se puede observar en la Figura 4.1.38, todos los suelos enmendados presentaron asimismo, concentraciones de nitrógeno hidrosoluble significativamente más elevadas que el suelo control. La mayor concentración en nitrógeno hidrosoluble se detectó en los suelos enmendados con EA y C(L+B)300, coincidiendo con los resultados obtenidos en la determinación de nitratos.



**Figura 4.1.38.**-Contenido de nitrógeno hidrosoluble en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test deTukey ( $p \leq 0,05$ )

Como se puede observar en la Figura 4.1.39, todas las enmiendas empleadas modificaron las características del suelo en cuanto a Ns, Nitratos y CE respecto al suelo control. El incremento en el contenido de Ns oscilaba entre 49 y 425%; el de Nitratos de 107 a 296% y la CE incrementó hasta 50% respecto al suelo control.



**Figura 4.1.39.**-Porcentaje de variación de conductividad eléctrica (CE), nitratos y nitrógeno hidrosoluble (Ns) en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Santomera-1. RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En general, la adición de estiércol animal fue la que tuvo mayor efecto directo sobre el suelo presentando los mayores porcentajes de variación en CE y nitratos respecto al control.

El efecto de las diferentes enmiendas sobre estos dos parámetros decrecía en el siguiente orden:

CE: **EA**> RV= RV300C> C(RV)300> C(L+B)300> L>(L+B)> C(L+B)> C(RV)

Nitratos: **EA**> C(L+B)300> C(RV)300= RV> C(RV)> C(L+B)> RV300> (L+B)> C(RV)

Ns: **C(L+B)300**> EA> C(RV)300> L>(L+B)> RV300> RV> C(RV)> C(L+B)

Por otro lado, una de las mayores limitaciones en la aplicación de residuos orgánicos a los suelos, reside en los aportes de algunos contaminantes que pueden formar parte de su composición, presentando especial relevancia los metales pesados por su toxicidad y persistencia en el medio ambiente. Dentro de este grupo podemos destacar el Cu y el Zn, que son elementos imprescindibles para las plantas y para los animales en baja concentración, pero que pueden volverse tóxicos al alcanzar determinados niveles. En general, por tener un carácter tóxico para el medio ambiente a pequeñas concentraciones y tener efecto persistente y acumulativo estudiamos el contenido en Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn.

Las enmiendas orgánicas utilizadas aportaban metales pesados al suelo, sobre todo el lodo, el compost de lodo+basura y la mezcla lodo+basura fresca. El Cd tan solo se vio incrementado de modo significativo con respecto al control en los suelos donde se aplicó L, (L+B), C(L+B) y C(L+B)300, al igual que el Cr, Cu, Ni, Pb y Zn, existiendo en todos ellos mayor efecto acumulativo en los suelos enmendados con la elevada dosis de 300 t ha<sup>-1</sup> (Tabla 4.1.24). No obstante, el contenido en metales pesados en los suelos enmendados estaba en todos los casos por debajo de los límites establecidos para suelos por la legislación de la Unión Europea (European directive 86/278/EEC).

**Tabla 4.1.24.**-Contenido de metales pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1

	Cd mg kg <sup>-1</sup>	Cr mg kg <sup>-1</sup>	Cu mg kg <sup>-1</sup>	Ni mg kg <sup>-1</sup>	Pb mg kg <sup>-1</sup>	Zn mg kg <sup>-1</sup>
SN-7-C	0,20 (0,00)a	23,8 (0,3)ab	20,4 (0,8)a	14,9 (0,0)ab	14,0 (0,7)ab	34,5 (0,2)a
SN-7-RV	0,22 (0,02)a	30,7 (1,5)abc	26,2 (2,1)a	14,3 (0,8)ab	13,5 (0,3)ab	39,7 (3,7)a
SN-7-RV300	0,19 (0,03)a	25,6 (2,3)a	20,3 (2,2)a	12,5 (0,9)ab	12,1 (0,7)a	33,6 (4,0)a
SN-7-EA	0,22 (0,01)a	30,4 (0,3)abc	21,5 (1,7)a	14,9 (0,5)ab	14,1 (0,6)ab	41,4 (3,1)a
SN-7-L	0,60 (0,08)b	27,9 (2,8)ab	25,4 (0,4)a	15,3 (2,3)ab	17,2 (2,0)ab	79,7 (6,0)b
SN-7-(L+B)	0,41 (0,06)ab	36,2 (1,3)c	36,4 (1,8)a	16,7 (1,3)b	19,8 (1,5)b	71,3 (6,79)b
SN-7-C(L+B)	0,49 (0,02)b	34,2 (0,1)bc	37,2 (4,6)a	17,1 (0,1)b	18,0 (3,2)ab	76,6 (11,0)b
SN-7-C(L+B)300	1,48 (0,22)c	59,2 (5,5)d	100,6(19,7)b	23,5 (3,5)c	33,8 (6,2)c	282,4 (22,9)c
SN-7-C(RV)	0,20 (0,02)a	27,8 (2,7)ab	18,5 (3,6)a	13,3 (0,8)ab	14,8 (2,6)ab	33,0 (5,4)a
SN-7-C(RV)300	0,24 (0,05)a	28,5 (0,3)ab	27,0 (2,8)a	13,1 (0,4)ab	17,8 (2,1)ab	46,7 (5,7)a

SN: suelo no agrícola, 7: años desde la enmienda, C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

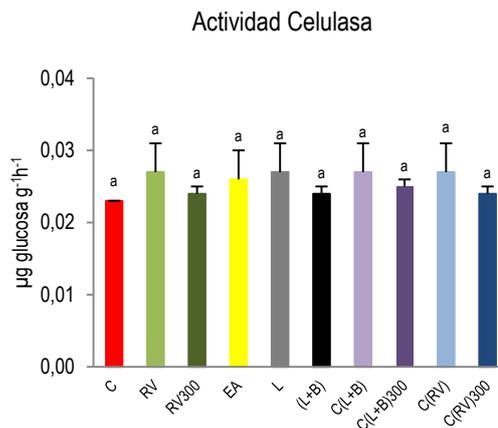
## PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA

### Actividades enzimáticas

Los microorganismos son en gran parte responsables de los ciclos de los elementos en el suelo y están involucrados en la descomposición de la materia orgánica a nivel de ecosistema, siendo muy sensibles a cualquier cambio que se produzca en el medio. La medida de las diferentes actividades enzimáticas en suelos se considera como un método sensible propuesto como indicador potencial de la calidad del suelo, que integra características químicas, físicas y biológicas (Bhattacharya y col., 2016).

La adición de materia orgánica al suelo conduce a un cambio significativo en la actividad microbiana debido a cambios en las propiedades del suelo y disponibilidad de sustratos. Así, el incremento de las poblaciones microbianas, es debido a la mejora de las propiedades físicas y a la disponibilidad de una fuente de carbono fácilmente biodegradable y de nutrientes (Ros y col., 2003; Tejada y col., 2006, 2007). Por ello, es importante determinar estas actividades en materias orgánicas de diferente naturaleza. Un incremento en la actividad de ciertas enzimas como puede ser la  $\beta$ -glucosidasa indica la liberación de energía para los microorganismos, como un atributo del tipo de la materia orgánica añadida al suelo.

La celulosa en los suelos procede fundamentalmente de los residuos de las plantas incorporadas en el mismo y una cantidad limitada proviene de hongos y bacterias (Richmond, 1991). En cuanto a esta actividad, si bien todos los suelos presentaban valores sensiblemente superiores al del suelo control, las diferencias no llegaban a ser estadísticamente significativas, y tampoco se observaban diferencias significativas entre tratamientos en relación a la actividad de esta enzima (Figura 4.1.40).

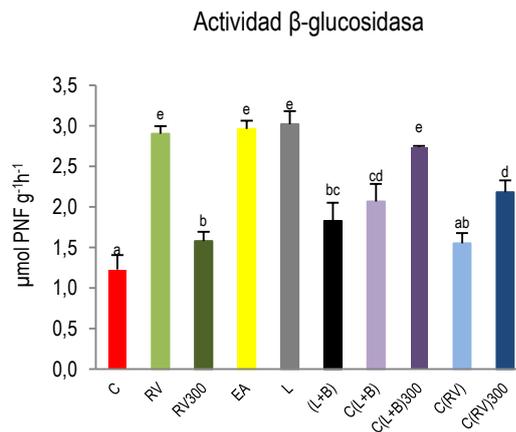


**Figura 4.1.40.**-Actividad enzimática celulasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C(RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En cuanto a la actividad  $\beta$ -glucosidasa, 7 años después de la aplicación de las diferentes fuentes de materia orgánica, todos los suelos enmendados presentaban mayor actividad que el suelo control (Figura 4.1.41). Existe una relación directa entre la actividad  $\beta$ -glucosidasa y la naturaleza de la enmienda, ya que los

residuos frescos (RV, EA y L) presentaban mayor actividad hidrolítica que los compostados, necesitándose en estos últimos altas dosis para alcanzar valores elevados de actividad  $\beta$ -glucosidasa (C(L+B)300).

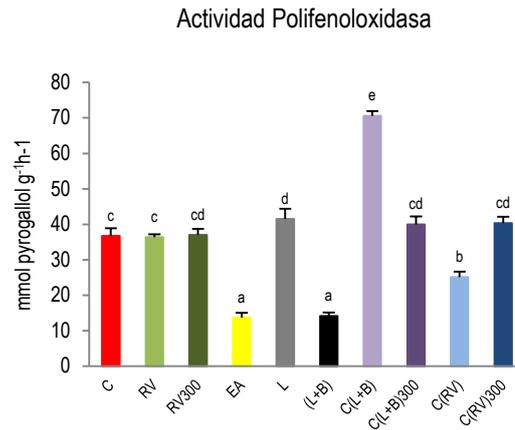
Las enzimas celulasa y  $\beta$ -glucosidasa participan juntas en el proceso de degradación de la materia orgánica, particularmente en el proceso de degradación de la celulosa. Los productos de la enzima celulasa sirven como sustrato para la  $\beta$ -glucosidasa, por lo que se relacionan y potencian sus actividades (Alvear y col., 2007).



**Figura 4.1.41.-**Actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C(RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En general, como se puede observar en la Figura 4.1.42, la actividad polifenoloxidasa (PPO) resultó mayor al incrementar el grado de estabilidad de la enmienda. Por otra parte, la actividad de esta enzima disminuyó significativamente en los suelos enmendados con EA y (L+B) respecto del suelo control, alcanzando el valor más elevado en el suelo enmendado con C(L+B). Algunos autores han indicado que la actividad polifenoloxidasa disminuye con el incremento en la concentración de materia orgánica (Sinsabaugh y col., 2005; Stursova y Sinsabaugh, 2008). Por otro lado, bajas concentraciones en esta actividad podrían indicar el desarrollo de procesos de condensación de la materia orgánica, y por tanto, de humificación (Freeman y col., 2004; Burns y col., 2013).

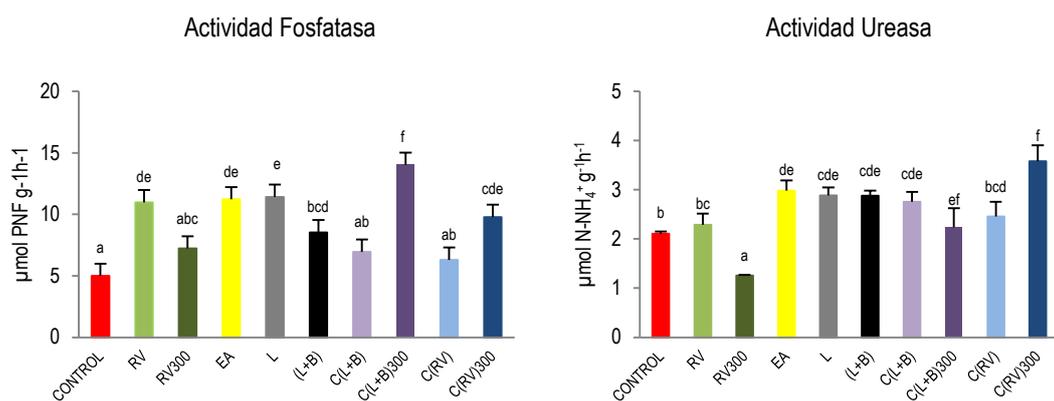
Los suelos enmendados con C(RV)300, EA, C(L+B)300 y C(RV) presentan las mayores concentraciones de COT, mientras que la actividad polifenoloxidasa es igual que en el suelo control, lo que indica que se siguen dando procesos de humificación y estabilización de la materia orgánica en el suelo (Sinsabaugh, 2010), lo cual es positivo para el mantenimiento de las reservas de C orgánico en suelos semiáridos.



**Figura 4.1.42.-**Actividad enzimática polifenoloxidasas en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

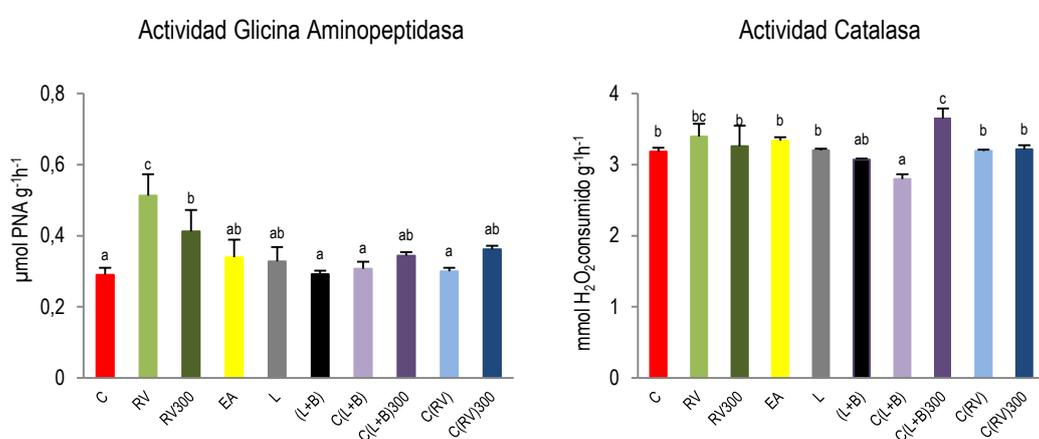
Todos los suelos enmendados presentaron valores de actividad fosfatasa (Figura 4.1.43) superiores a los del suelo control 7 años después de la aplicación de la enmienda. Esta enzima está estrechamente relacionada con la naturaleza del residuo que se aplica ya que, por un lado, numerosos estudios han mostrado que esta enzima aumenta cuando mejora el contenido en materia orgánica del suelo (García-Gil y col., 2004; Antolín y col., 2005), y por otro lado, su actividad también está estrechamente ligada a la forma en que dicho residuo aporta el fósforo, ya que será mayor en residuos con fósforo orgánico. Así el suelo enmendado con C(L+B)300 presentó el mayor cambio relativo respecto al suelo control, seguido de los suelos enmendados con L, EA y RV que son las enmiendas que aportan mayor contenido de COT al suelo.

La actividad ureasa era también significativamente mayor en los suelos enmendados que en el suelo control, excepto en el suelo enmendado con alta cantidad de residuo vegetal (RV300) (Figura 4.1.43). Este hecho ha sido anteriormente constatado por diversos autores que coinciden en que el empleo de enmiendas orgánicas incrementa la actividad ureasa en los suelos (Kandeler y col., 1999 a; Lalande y col., 2000; Fernandes y col., 2005), especialmente cuando la enmienda se realiza con materiales compostados (Pascual y col., 2002). La baja actividad ureasa desarrollada en los suelos enmendados con RV300 puede ser debida al hecho de que el residuo RV presenta la mayor relación C/N de todas las enmiendas empleadas (39, Tabla 4.1.18), ya que algunos investigadores han indicado que la actividad ureasa es mayor en aquellos suelos a los que se aplican enmiendas orgánicas con baja relación C/N (Singh y Agrawal, 2008). Así, esta actividad parece estar más asociada al tipo de materia orgánica que a la dosis a la que se aplica.



**Figura 4.1.43.-Actividades enzimáticas fosfatasa y ureasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1.** CONTROL, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C(RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

El mayor aumento en la actividad glicina aminopeptidasa se encontró en los suelos con adición de residuos vegetales, sobre todo frescos tales como RV y RV300 (Figura 4.1.44), gracias al aporte por parte de este tipo de residuo de N de naturaleza proteica, metabolizable por los microorganismos del suelo. Esta fuente de N sirve de sustrato para esta enzima al tratarse de una peptidasa. La enzima Catalasa (Figura 4.1.44) aumentó ligeramente en suelos enmendados con C(L+B)300, pero en general, no se observaron para el resto de enmiendas diferencias significativas con el control, ya que 7 años después de la adición de las enmiendas el contenido en materia orgánica oxidable es bajo.



**Figura 4.1.44.-Actividades enzimáticas glicina aminopeptidasa y catalasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1.** C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C(RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Estudiando los cambios relativos de los suelos enmendados con respecto al suelo control 7 años después de la aplicación de las enmiendas, podemos observar que, en general, los suelos enmendados presentaban mayor actividad enzimática que el control, con algunas excepciones (Figuras 4.1.45-47), resultados que coinciden con los hallazgos de otros investigadores. Así, Pascual y col., (2000) observaron un incremento de las actividades hidrolasas relacionadas con los ciclos del C, N y P siete años después de la aplicación de

lodos de depuradora a suelos degradados semiáridos. Tejada y col., (2006) estudiaron seis actividades enzimáticas en suelos enmendados con gallinaza y compost de algodón, encontrando valores superiores en los suelos enmendados.

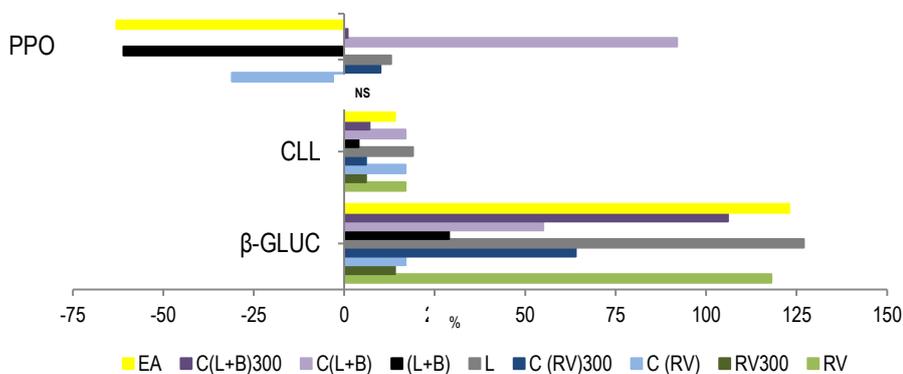
Bastida y col., (2007) estudiaron la recuperación de un suelo degradado semiárido mediante la adición única de fracción orgánica de basura fresca en un ensayo a largo plazo (17 años) y observaron que los valores de actividad de diferentes hidrolasas relacionadas con los ciclos de macronutrientes, tales como ureasa,  $\beta$ -glucosidasa y fosfatasa, entre otras, eran superiores en los suelos enmendados que en el suelo control, mejorando la calidad microbiológica de éste. En un ensayo posterior, Bastida y col., (2015) observaron que todas las actividades enzimáticas eran mayores en suelos enmendados con lodo y compost de lodo a los diez años de su aplicación que en el suelo control.

En la Figura 4.1.45 se muestran las variaciones en las actividades enzimáticas relacionadas con el ciclo carbono:  $\beta$ -glucosidasa, celulasa y polifenoloxidasa, en los suelos enmendados con respecto al suelo control. Los incrementos con respecto al control de las actividades  $\beta$ -glucosidasa y celulasa decrecían en el siguiente orden:

$\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ -GLUC): L > EA > RV > C(L+B)300 > C(RV)300 > C(L+B) > (L+B) > C(RV) > RV300

Celulasa (CLL): L > RV = C(RV) = C(L+B) > EA > C(L+B)300 > RV300 = C(RV)300 > C(L+B)

Polifenoloxidasa (PPO), incrementaba con los siguientes tratamientos: C(L+B) > L > C(RV)300 > RV300 = C(L+B)300 > C(RV); y decrecía en los siguientes tratamientos en orden decreciente: EA > (L+B) > C(RV)

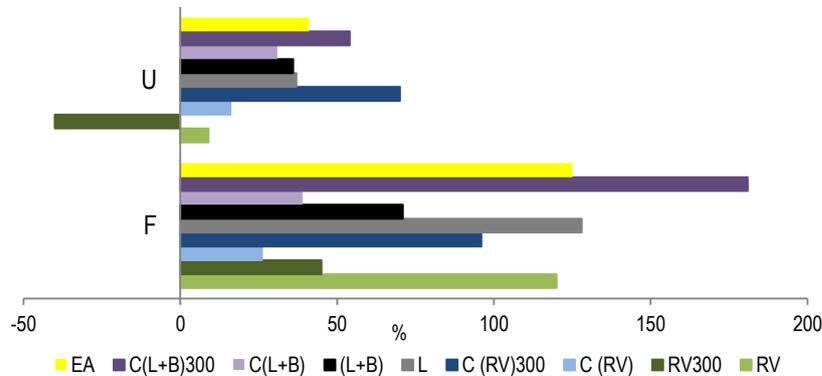


**Figura 4.1.45.**-Porcentaje de variación de las actividades enzimáticas celulasa (CLL),  $\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ -GLUC) y polifenoloxidasa (PPO) en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Santomera-1. RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C(RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. NS: diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En la Figura 4.1.46 se muestran las variaciones en los suelos enmendados, con respecto al control, de las actividades enzimáticas relacionadas con el ciclo del nitrógeno (ureasa) y el fósforo (fosfatasa). La magnitud de estas variaciones (incrementos) decrecía en el siguiente orden:

Fosfatasa (F): **C(L+B)300**> L> EA> RV> C(RV)300> (L+B)> RV300> C(L+B)> C(RV)

Ureasa (U): **C(RV)300**> C(L+B)300> EA> L> (L+B)> C(L+B)> C(RV)> RV, el tratamiento RV300 era el único que hacía decrecer la actividad ureasa del suelo con respecto al control.

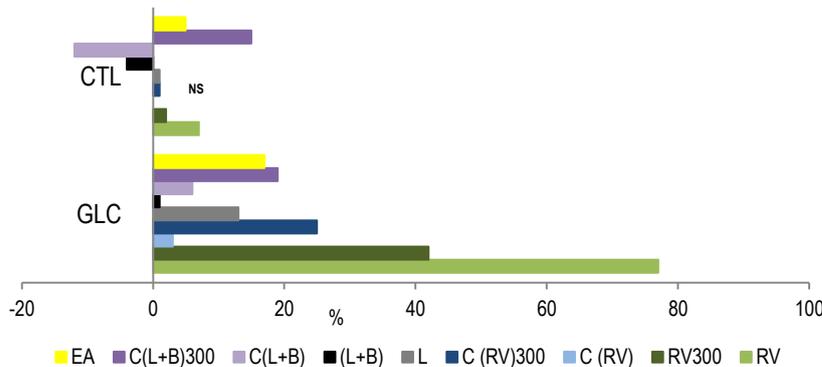


**Figura 4.1.46.**-Porcentaje de variación de las actividades enzimáticas ureasa (U) y fosfatasa (F) en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Santomera-1. RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C(RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>

En cuanto a las variaciones de las actividades enzimáticas glicina aminopeptidasa y catalasa (Figura 4.1.47), respecto al suelo control, se observaba el siguiente comportamiento:

Glicina aminopeptidasa: **RV**> RV300> C(RV)300> C(L+B)300> EA> L> C(L+B)> C(RV)> (L+B)

Catalasa, incrementos: **C(L+B)300**> RV> EA> RV300> L=C(RV)300> C(RV); disminuciones: C(L+B)≥ L+B



**Figura 4.1.47.**-Porcentaje de variación de las actividades enzimáticas glicina aminopeptidasa (GLC) y catalasa (CTL) en los enmendados respecto al suelo control de la zona de Santomera-1. RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C(RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

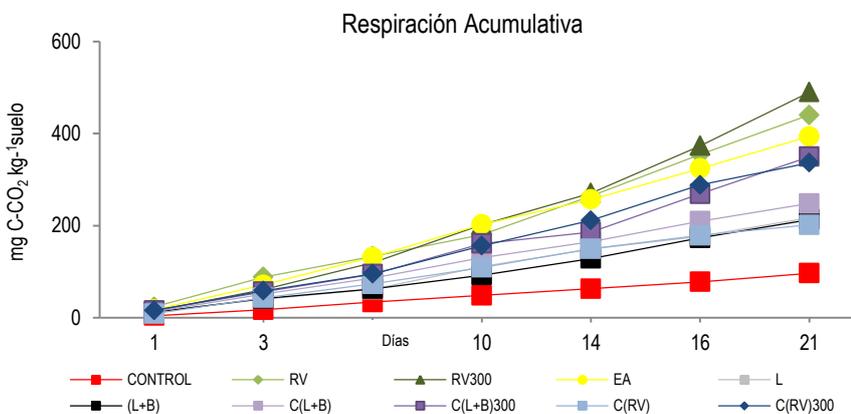
Podemos concluir, que el efecto de las enmiendas orgánicas sobre los procesos microbiológicos del suelo queda bien reflejado mediante el estudio de las diferentes actividades enzimáticas. Diversos trabajos (Pascual y col., 2000; Albiach y col., 2001; García-Ruiz y col., 2008; Carlson y col., 2015; Heidari y col., 2016; Bhattacharya y col., 2016) sobre la influencia de la enmienda de suelos con materia orgánica sobre las actividades enzimáticas corroboran los resultados obtenidos en este estudio.

## Respiración microbiana

La respiración microbiana es un parámetro que refleja la dinámica de descomposición (mineralización) de la materia orgánica y la actividad de los microorganismos existentes en el medio. Dado el importante papel que juegan los microorganismos en la construcción de la estructura del suelo y en su fertilidad, es de gran interés conocer cómo se ve afectado este parámetro por el empleo de enmiendas orgánicas de diferente naturaleza.

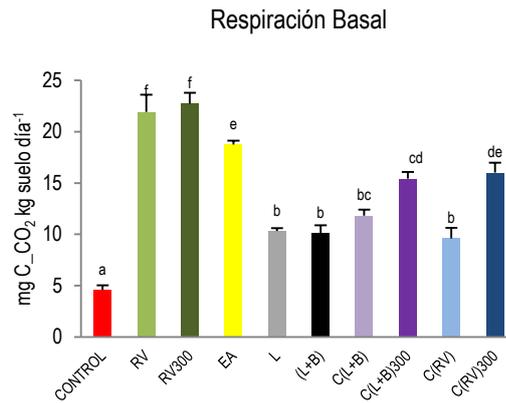
En la Figura 4.1.48, se muestra la gráfica de desprendimiento acumulativo de CO<sub>2</sub> (respiración) y en la Figura 4.1.49, se muestran los valores de respiración basal, los cuales se obtienen dividiendo el CO<sub>2</sub> desprendido del suelo durante un periodo de incubación, por la duración en días de dicha incubación, y se expresa como mg C-CO<sub>2</sub> kg suelo<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>.

Todos los suelos enmendados presentaron mayores valores de respiración microbiana que el suelo control (Figuras 4.1.48 y 4.1.49), estando las curvas acumulativas de desprendimiento de CO<sub>2</sub> por encima de la del control desde el inicio del ensayo de respiración en todos los casos. Este mayor desprendimiento de CO<sub>2</sub> en los suelos enmendados sugiere una mayor actividad microbiana en los mismos. La mayor tasa de desprendimiento de CO<sub>2</sub> siete años después de la incorporación de las enmiendas se alcanzó en los suelos con residuos frescos: residuo vegetal a ambas dosis de aplicación (150 y 300 t ha<sup>-1</sup>) y estiércol animal (EA), seguidos por los compostados a elevada dosis: C(L+B)300 y C(RV)300. Los valores inferiores de respiración microbiana se alcanzaron en las muestras frescas de L y L+B y el compost de residuo vegetal a 150 t ha<sup>-1</sup>, posiblemente debido al menor contenido de C hidrosoluble de estos suelos (Figura 4.1.48).



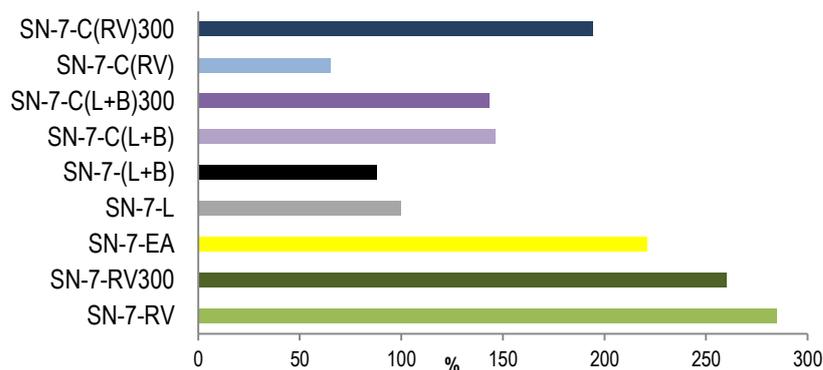
**Figura 4.1.48.-**Curvas acumulativas de desprendimiento de CO<sub>2</sub> en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C(RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>

Los datos de respiración basal, es decir, la cantidad de CO<sub>2</sub> desprendido por día (Figura 4.1.49), ponen, asimismo de relieve una mayor actividad microbiana (respiración) en los suelos enmendados con residuos frescos que en los enmendados con residuos compostados, así como una escasa influencia de la dosis sobre este parámetro en los materiales frescos, mientras que sí parece influir en los composts.



**Figura 4.1.49.-Respiración basal en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1.** C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test deTukey (p≤0,05)

Así, no se observan diferencias significativas entre los valores de respiración basal de los tratamientos RV y RV300, pero sí entre los valores de respiración basal de los tratamientos C(RV) y C(RV)3000. Los suelos tratados con C(L+B)300 muestran también mayor respiración basal que los tratados a dosis más baja C(L+B), si bien, en este caso, las diferencias no llegan a ser estadísticamente significativas.



**Figura 4.1.50.-Porcentaje de variación de la respiración microbiana en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Santomera-1.** SN: suelo no agrícola 7: años desde la enmienda, C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>.

En función de los datos de respiración microbiana obtenidos en los suelos enmendados podemos decir que no existen efectos ecotóxicos derivados de la aplicación de las diferentes enmiendas al suelo degradado, pudiéndose aplicar a elevadas concentraciones y en diferentes grados de estabilización (frescas ó compostadas), ya que como se puede observar en la Figura 4.1.50 todos los suelos enmendados presenta un incremento positivo significativo respecto al suelo control.

## Análisis de la estructura de la comunidad microbiana

Las poblaciones microbianas del suelo son las principales responsables del ciclo del carbono y de la mayoría de procesos que tienen lugar en el suelo. En suelos semiáridos la biomasa microbiana está limitada fundamentalmente por el escaso desarrollo vegetal y la baja disponibilidad de agua (García y col., 2017). La biomasa microbiana del suelo puede ser evaluada mediante el análisis de los ácidos grasos que son obtenidos de las membranas celulares de los microorganismos, y su concentración en el suelo es por tanto un indicador de la abundancia de la biomasa viable presente en el mismo.

En general, la incorporación de las diferentes enmiendas orgánicas estimuló el desarrollo de la comunidad microbiana del suelo. Esta respuesta positiva de los microorganismos del suelo se debe al incremento en C orgánico aportado por la enmienda, ya que éste es el principal sustrato para los microorganismos (Li y col., 2015; Pu y col., 2016; Tian y col., 2017). El carbono orgánico es el principal sustrato metabolizado por bacterias heterótrofas del suelo para la obtención de energía y crecimiento celular (Sylvia y col., 2005).

Los incrementos más significativos de los suelos enmendados 7 años antes respecto al suelo control se obtuvieron para bacterias Gram<sup>+</sup>, más concretamente en los ácidos grasos i15:0; a15:0; e i17:0 (Tabla 4.1.25), mientras que dichas diferencias se atenuaron para Bacterias Gram<sup>-</sup> (C18:1w9c) y Hongos (C18:2w 6,9c).

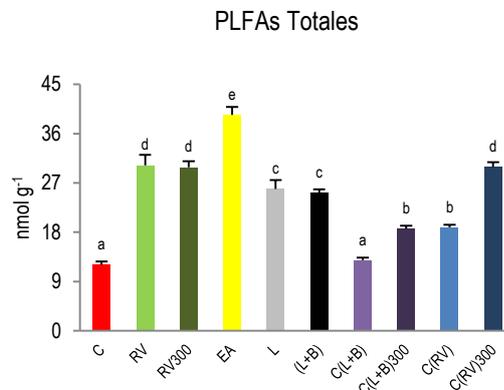
**Tabla 4.1.25.**-Abundancia de PLFAs (nmol g<sup>-1</sup>) en suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1

PLFAs (nmol g <sup>-1</sup> )	C	RV	RV300	EA	L	L+B	C(L+B)	C(L+B)300	C(RV)	C(RV)300
c14:0	0,4(0,0)a	1,0(0,2)bc	1,1(0,1)cd	0,9(0,0)bc	0,8(0,1)ab	0,8(0,1)bc	0,6(0,0)ab	0,9(0,2)bc	0,6(0,0)ab	1,3(0,3)d
i15:0	2,3(0,1)b	5,0(0,4)d	7,0(0,2)f	8,3(0,1)g	6,3(0,2)e	5,5(0,2)d	1,6(0,1)a	4,1(0,1)c	3,8(0,2)c	6,5(0,3)ef
a15:0	1,8(0,2)a	6,3(0,7)f	4,3(0,4)d	5,9(0,1)f	4,4(0,4)de	5,4(0,5)ef	3,2(0,3)bc	2,9(0,1)b	2,9(0,5)b	4,2(0,1)cd
c15:0	0,3(0,0)b	1,2(0,2)d	0,0(0,0)a	0,6(0,0)c	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a
c16:0	1,5(0,1)a	3,8(0,1)d	4,4(0,4)e	6,3(0,2)f	4,6(0,1)e	3,7(0,1)d	1,2(0,2)a	3,2(0,2)c	2,7(0,2)b	4,6(0,3)e
10Me16:0	0,30(0,0)a	0,6(0,1)cd	0,8(0,1)de	0,8(0,0)e	0,5(0,2)bc	0,5(0,0)bc	0,3(0,0)ab	0,3(0,0)ab	0,3(0,0)ab	0,7(0,1)cde
c16:1w9	1,3(0,0)a	4,9(0,4)f	3,2(0,1)e	4,3(0,2)f	2,9(0,6)de	2,4(0,0)bcd	2,0(0,2)abc	1,8(0,2)ab	2,6(0,1)cde	3,0(0,2)de
i17:0	1,1(0,0)a	3,0(0,5)bc	4,5(0,4)d	5,1(0,5)d	3,5(0,3)c	2,8(0,1)bc	2,3(0,1)b	2,5(0,2)b	2,4(0,0)b	5,1(0,6)d
c17:0	0,4(0,1)b	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,8(0,2)c	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a
c18:0	0,4(0,1)a	1,2(0,2)cd	1,2(0,0)cd	1,8(0,1)e	0,8(0,2)b	1,0(0,1)bcd	0,9(0,1)bc	0,9(0,1)bc	0,9(0,2)bc	1,3(0,2)d
c18:1w9c	1,6(0,3)b	2,3(0,2)c	2,5(0,1)c	3,4(0,0)d	1,5(0,1)b	2,4(0,2)c	0,5(0,0)a	1,7(0,2)b	1,4(0,1)b	2,5(0,1)c
c18:2w6,9t	0,3(0,0)b	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,0(0,0)a	0,5(0,1)c	0,0(0,0)a
c18:2w6,9c	0,4(0,1)a	0,8(0,2)b	0,9(0,1)b	1,2(0,3)c	0,8(0,2)b	0,7(0,1)ab	0,4(0,1)a	0,4(0,0)a	0,8(0,1)b	0,6(0,1)ab

C: control, RV: Residuo vegetal, RV300: Residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: Estiércol animal, L: Lodo, L+B: Lodo+ Basura doméstica, C(L+B): Compost de Lodo+Basura doméstica, C(L+B)300: Compost de Lodo+Basura doméstica 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): Compost de Residuo Vegetal, C(RV)300: Compost de Residuo Vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

Cabe destacar que el suelo enmendado con EA presentó los contenidos más elevados de ácidos grasos, seguido por el suelo enmendado con RV300. Los valores inferiores se detectaron en los suelos enmendados con composts: C(L+B), C(L+B)300 y C (RV).

Los únicos ácidos grasos cuya proporción no incrementó respecto al suelo control, no llegando a detectarse en la mayoría de los suelos enmendados, fueron, C18:2w6,9t característico de poblaciones fúngicas, C15 y C17.



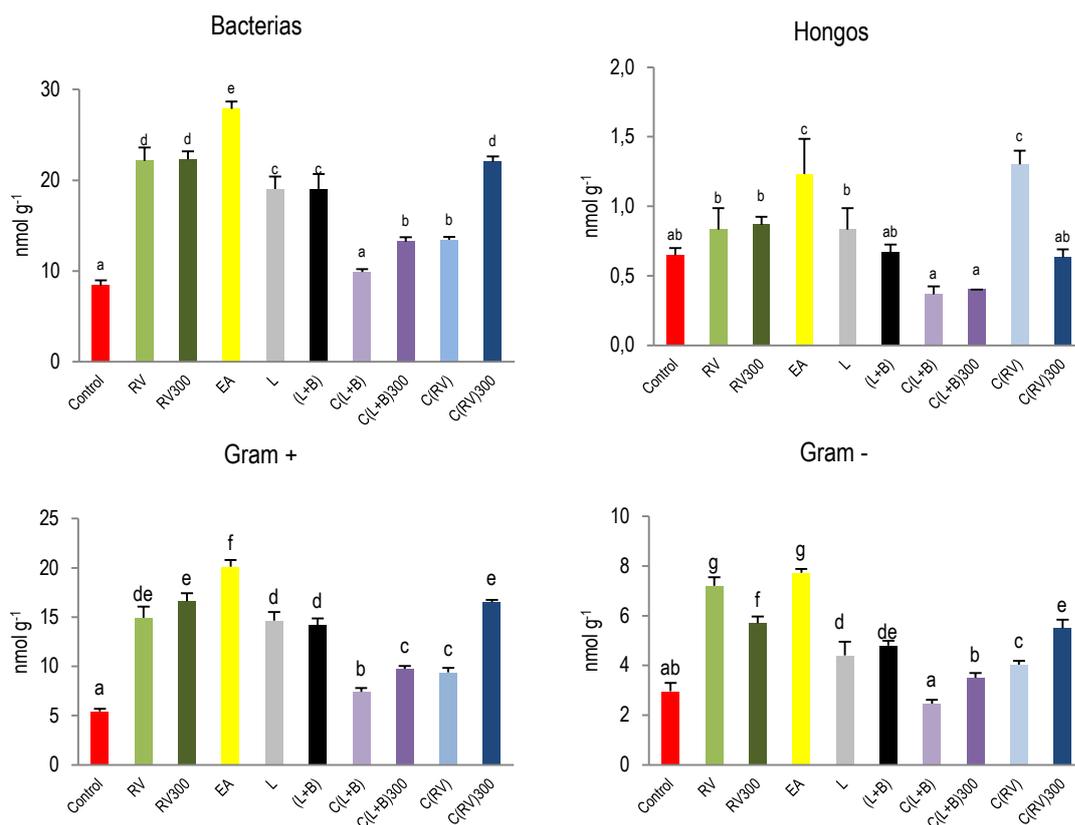
**Figura 4.1.51.**-PLFAs totales en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. C: control, RV: Residuo vegetal, RV300: Residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: Estiércol animal, L: Lodo, L+B: Lodo+ Basura doméstica, C(L+B): Compost de Lodo+Basura doméstica, C(L+B)300: Compost de Lodo+Basura doméstica 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): Compost de Residuo Vegetal, C(RV)300: Compost de Residuo Vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Se asume de manera general que al incorporar la enmienda orgánica en el suelo se estimula a la comunidad microbiana por el aporte de nueva materia orgánica. El análisis de PLFAs en los suelos estudiados (Figura 4.1.51) puso de relieve que los suelos enmendados presentaban en general (excepto para el tratamiento con C(L+B)), una mayor cantidad de ácidos grasos de membrana que el suelo control, y en cantidades significativamente superiores ( $p \leq 0.05$ ).

El suelo con EA alcanzó el contenido más elevado de PLFAs totales seguido por los residuos vegetales frescos (RV y RV300). Estos resultados manifiestan la capacidad de las enmiendas orgánicas para estimular la proliferación de la comunidad microbiana a medio plazo.

Los valores de PLFA de bacterias presentaron un patrón similar al de los PLFAs totales, mostrando todos los suelos enmendados mayor abundancia de bacteria totales, Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup> que el suelo control, a excepción el suelo con C(L+B) que sólo mostró diferencias significativas con el control para bacterias Gram<sup>+</sup> (Figura 4.1.52).

Respecto a los contenidos de PLFAs de poblaciones fúngicas, el suelo control presentó mayor contenido que los suelos enmendados con C(L+B) y C(L+B)300 y valores similares a los suelos con (L+B) y C(RV)300.



**Figura 4.1.52.** -Bacterias, Hongos, Bacterias Gram+ y Bacterias Gram- en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1: C: control, RV: Residuo vegetal, RV300: Residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: Estiércol animal, L: Lodo, L+B: Lodo+ Basura doméstica, C(L+B): Compost de Lodo+Basura doméstica, C(L+B)300: Compost de Lodo+Basura doméstica 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): Compost de Residuo Vegetal, C(RV)300: Compost de Residuo Vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En cuanto a las poblaciones bacterianas, los mayores incrementos en la población se presentaron en los suelos enmendados con EA y residuo vegetal fresco. Generalmente, en el suelo, los compuestos fácilmente degradables se transforman en ácidos orgánicos, favoreciendo el desarrollo de la población de bacterias Gram<sup>-</sup>, mientras que la presencia de compuestos más recalcitrantes estimula el desarrollo de bacterias Gram<sup>+</sup> con capacidad para adaptarse a suelos con difícil disponibilidad de sustrato.

Siete años después de la incorporación de las enmiendas al suelo se observó un incremento significativo en la abundancia de la población de bacterias Gram<sup>+</sup> en todos los suelos enmendados respecto al suelo control, al igual que para la población de bacterias Gram<sup>-</sup>, si bien, en este caso, los suelos enmendados con C(L+B) presentaban una abundancia de bacterias Gram<sup>-</sup> similar a la del suelo control.

En general, se produjo un incremento en la relación entre bacterias Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup> (Gram<sup>+</sup>/Gram<sup>-</sup>) en los suelos enmendados, existiendo diferencias significativas respecto al control, debido al mayor aumento de la población Gram<sup>+</sup> en relación a la Gram<sup>-</sup> producida por la adición de la enmienda.

Por otro lado, se apreciaban diferencias significativas en el cociente Hongos/Bacterias entre los suelos enmendados y control (Tabla 4.1.26). También es importante señalar el incremento en los suelos enmendados de la abundancia relativa de la población de actinobacterias que alcanzó valores

significativamente superiores al control para todos los suelos enmendados, especialmente en los enmendados con EA y RV 300.

**Tabla 4.1.26.**-Relaciones bacterias, Gram<sup>+</sup>/Gram<sup>-</sup>, Hongos/Bacterias y PLFAs saturados/monoinsaturados (Sat/Monoinstat.) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1

nmol g <sup>-1</sup>	Saturados	Monoinstat.	Actinobac.	Gram <sup>+</sup> /Gram <sup>-</sup>	Hongos/Bac.	Sat/Monoinstat.
SN-7-C	8,1 (0,2)a	3,0 (0,3)ab	0,2 (0,01)a	1,8 (0,13)a	0,08 (0,00)b	2,7 (0,25)a
SN-7-RV	21,2 (1,4)cde	7,2 (0,3)g	0,60 (0,10)cd	2,07 (0,07)ab	0,04 (0,01)a	2,94 (0,06)a
SN-7-RV300	22,2 (1,1)de	5,7 (0,3)f	0,80 (0,10)de	2,91 (0,19)de	0,04 (0,00)a	3,90 (0,25)bc
SN-7-EA	29,6 (1,1)f	7,7 (0,2)g	0,83 (0,06)e	2,60 (0,05)bcd	0,04 (0,01)a	3,82 (0,08)bc
SN-7-L	20,0 (1,0)cd	4,4 (0,6)d	0,50 (0,17)bc	3,34 (0,30)e	0,04 (0,01)a	4,58 (0,44)c
SN-7-L+B	18,9 (0,7)c	4,8 (0,2)de	0,50 (0,00)bc	2,97 (0,20)de	0,04 (0,01)a	3,95 (0,27)bc
SN-7-C(L+B)	9,46 (0,5)a	2,5 (0,1)a	0,30 (0,00)ab	3,01 (0,33)de	0,04 (0,00)a	3,85 (0,43)bc
SN-7-C(L+B)300	13,8 (0,4)b	3,5 (0,2)bc	0,30 (0,00)ab	2,78 (0,07)cd	0,03 (0,00)a	3,95 (0,10)bc
SN-7-C(RV)	12,9 (0,6)b	4,0 (0,1)cd	0,30 (0,00)ab	2,33 (0,19)abc	0,10 (0,01)c	3,21 (0,24)ab
SN-7-C(RV)300	22,5 (0,2)e	5,5 (0,3)ef	0,70 (0,10)cde	3,01 (0,14)de	0,03 (0,00)a	4,10 (0,22)c

SN: suelo no agrícola, 7: años desde la enmienda, C: control, RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C(RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

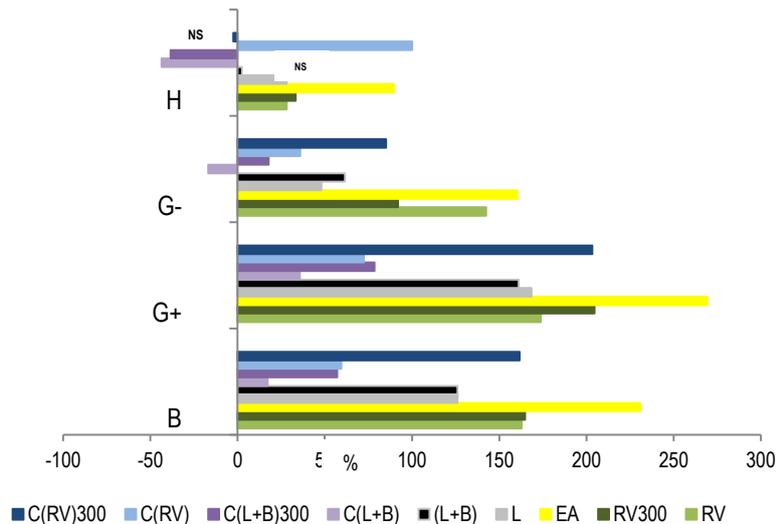
Las diferencias en la naturaleza de la materia orgánica, y por tanto de la disponibilidad de sustrato, en las distintas enmiendas orgánicas empleadas, es probablemente la principal razón que explica las diferencias en la abundancia de los grupos microbianos específicos y en la composición de la comunidad microbiana observadas en este estudio. La presencia de residuos vegetales y raíces vivas es un factor crítico para las colonias microbianas y el crecimiento dentro de la matriz del suelo (Kuzyakov y Blagodatskaya, 2015). Por tanto, el crecimiento de raíces gracias al desarrollo de la cobertura vegetal, puede estimular la actividad microbiana, produciendo una descomposición más rápida de la materia orgánica más antigua, así como también puede dar lugar a un cambio de la composición de la comunidad (Schimdt y col., 2011).

Así, se ha indicado que la incorporación de estiércol animal al suelo, usualmente conduce al incremento de la biomasa microbiana del mismo, su diversidad y su actividad (Lupwayi y col., 2015; Li y col., 2015; Francioli y col., 2016). En nuestro ensayo, una única aplicación de enmienda orgánica condujo, en general, a un mayor incremento de las diferentes poblaciones microbianas respecto del suelo control. Lupwayi y col., (2018), en un ensayo a largo plazo (37 años) con adiciones anuales de estiércol animal también detectó un incremento en la biomasa microbiana del suelo. Por otro lado, Tian y col., (2017), observaron que la abundancia de PLFAs y grupos microbianos específicos, así como la composición de la comunidad microbiana fue significativamente alterada en el suelo con estiércol animal respecto al suelo control en un ensayo a largo plazo (35 años).

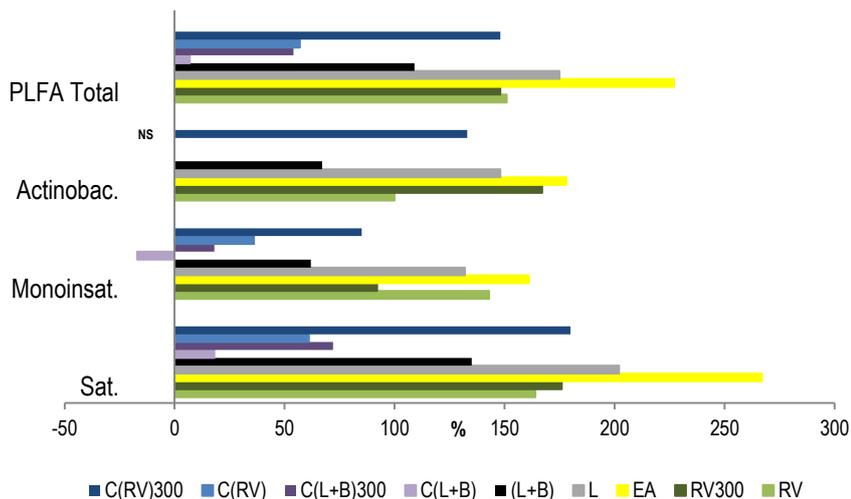
Diversos autores (Cusack y col., 2011; Bowles y col., 2014; Ng y col., 2014) han indicado que los cambios en la composición de la comunidad microbiana pueden ser impulsados por la disponibilidad del carbono liberado de las fracciones del carbono orgánico del suelo. Tian y col., (2016) observaron que las fracciones

relativamente lábiles de la materia orgánica del suelo estaban más estrechamente relacionadas con la composición de la comunidad microbiana que la materia orgánica total.

Como se puede observar en las Figuras (4.1.53-54), todos los tratamientos afectaban en mayor proporción a las poblaciones bacterianas, sobre todo las Gram<sup>+</sup> (hasta un 250% de incremento con respecto al control en el suelo enmendado con EA), que a las fúngicas (hasta un 100% de incremento con EA y C(RV), variando estos cambios con respecto al control en función de la enmienda.



**Figura 4.1.53.**-Porcentaje de variación de los ácidos grasos de membrana de H: hongos, G<sup>+</sup>: Gram<sup>+</sup>; G<sup>-</sup>: Gram<sup>-</sup> y B: bacterias en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Santomera-1. RV: Residuo vegetal, RV300: Residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: Estiércol animal, L: Lodo, L+B: Lodo+ Basura doméstica, C(L+B): Compost de Lodo+Basura doméstica, C(L+B)300: Compost de Lodo+Basura doméstica 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): Compost de Residuo Vegetal, C(RV)300: Compost de Residuo Vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. **NS**: diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)



**Figura 4.1.54.**-Porcentaje de variación de las poblaciones microbianas de PLFAs totales, Actinobac.: Actinobacterias, Monoinsat.: Monoinsaturados y Sat.: Saturados en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Santomera-1. RV: Residuo vegetal, RV300: Residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: Estiércol animal, L: Lodo, L+B: Lodo+ Basura doméstica, C(L+B): Compost de Lodo+Basura doméstica, C(L+B)300: Compost de Lodo+Basura doméstica 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): Compost de Residuo Vegetal, C(RV)300: Compost de Residuo Vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>. **NS**: diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

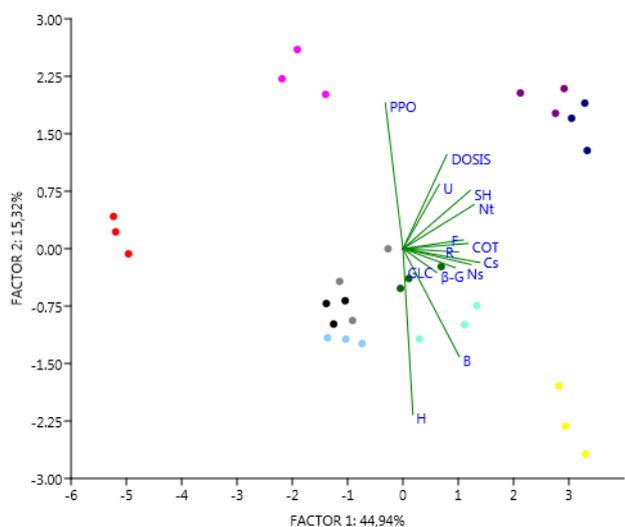
Así pues, se pone de manifiesto que el efecto de las diferentes enmiendas orgánicas sobre las comunidades microbianas del suelo está mediado por las características de la propia enmienda, así como por su grado de estabilización, ya que los mayores incrementos en las poblaciones respecto del suelo control se observaron en los suelos con enmiendas frescas, principalmente EA, RV y RV300.

## **ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN**

Con el fin de agrupar la información, se ha llevado a cabo un análisis multivariante basado en parámetros agronómicos relacionados con la creación de pool de C, parámetros nutricionales, y parámetros relacionados con la diversidad microbiana (actividades enzimáticas, respiración y abundancia relativa de ácidos grasos de membrana microbiana) al final del periodo experimental. Mediante esta técnica de reducción de dimensiones se consigue describir la información del conjunto de variables observadas (componentes principales) en un conjunto de variables más pequeño que son combinaciones lineales de las variables de partida. El objetivo es poner de relieve los factores que permitan diferenciar al máximo los tratamientos estudiados entre sí.

El análisis de componentes principales explicaba el 60,3% de la varianza y ha sido capaz de encontrar un patrón que nos permita diferenciar los tratamientos estudiados. El Factor 1, explicaba el 44,98% de la varianza y está relacionado positivamente con todos los parámetros sometidos a este análisis excepto con la actividad polifenol oxidasa (PPO). El Factor 1 discrimina claramente los suelos enmendados del suelo control, pero también establece diferencias entre los diferentes tratamientos, pudiéndose establecer un primer grupo con los tratamientos EA, C(L+B)300 y C(RV)300; un segundo grupo con los suelos tratados con el residuo vegetal fresco (RV y RV300); un tercer grupo con los tratamientos L, L+B y C(RV) y un cuarto grupo con C(L+B). El Factor 2 explicaba tan solo el 15,32% de la varianza y discriminaba las muestras de suelos en tres grupos; un grupo con control, Lodo, RV, RV300 y C(RV)300; un segundo grupo con L+B, C (RV) y EA, y un tercer grupo con C(L+B) y C(L+B)300. Las diferentes fracciones de carbonos como son COT, Cs y SH así como Nt y Ns tuvieron un alto porcentaje de carga sobre el Factor 1, mientras que por otro lado, la dosis, la actividad PPO y ureasa, y los hongos tenían un alto porcentaje de carga en el Factor 2. El análisis de componentes principales (Figura 4.1.55) evidencia que el efecto de las enmiendas está todavía patente en el suelo, en todos los casos, después de 7 años de adición de la enmienda, siendo los suelos tratados con EA y con C(L+B)300 y C(RV)300 los que más diferían del suelo control, seguidos por los tratamientos con RV (a ambas dosis).

En coincidencia con nuestros resultados, diversos estudios de recuperación de suelos degradados mediante la adición de residuos orgánicos de distinta naturaleza y grados de estabilidad (García-Gil, 2000; Ros y col., 2003; Tejada y col., 2008; Calleja-Cervantes, 2015 ) han puesto de manifiesto que los materiales orgánicos ensayados producían un aumento significativo, no sólo en el contenido en COT del suelo, sino de las diversas fracciones de carbono orgánico, observando que, a pesar de la mineralización que sufren estas fracciones con el tiempo, varios años después de la aplicación de las enmiendas, su contenido en los suelos enmendados era significativamente superior al del suelo control.



Factores de carga

Parámetros	Factor 1	Factor 2
DOSIS	0,215	0,332
$\beta$ -G	0,255	-0,067
PPO	-0,086	0,515
F	0,295	0,031
U	0,178	0,227
GLC	0,165	-0,084
COT	0,319	0,019
Cs	0,376	-0,049
SH	0,330	0,206
Nt	0,348	0,156
Ns	0,333	-0,056
R	0,272	-0,012
B	0,275	-0,381
H	0,049	-0,586



**Figura 4.1.55.**-Análisis de componentes principales de la dosis aplicada, actividad  $\beta$ -Glucosidasa ( $\beta$ -G), actividad fosfatasa (F), actividad glicina aminopeptidasa (GLC), actividad polifenoloxidasa (PPO), ureasa (U), carbono soluble en agua (Cs), nitrógeno soluble en agua (Ns), nitrógeno total (Nt), carbono orgánico total (COT), carbono de las sustancias húmicas (SH), respiración acumulativa (R), bacterias (B) y hongos (H) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-1. RV: residuo vegetal, RV300: residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>, EA: estiércol animal, L: lodo, (L+B): lodo+ basura, C(L+B): compost de lodo+basura, C(L+B)300: compost de lodo+basura 300 t ha<sup>-1</sup>, C(RV): compost de residuo vegetal, C (RV)300: compost de residuo vegetal 300 t ha<sup>-1</sup>.

Por otro lado, diversos autores (Senesi y Plaza, 2007; Singh y Kalamdhad, 2012; Park y col., 2011), han indicado que los materiales orgánicos compostados son más eficaces que los frescos en el mantenimiento en el suelo de las sustancias húmicas aportadas por la enmienda. Hernández y col., (2015) también observaron un incremento en la fracción de COT en suelos enmendados con compost de residuos urbanos, tras cinco años de su aplicación y que el incremento en nutrientes del suelo y SH era mayor en las enmiendas aplicadas a mayor dosis (3%), que a menor dosis (1%).

En nuestro ensayo, la fracción de COT y de SH eran mayores en todos los suelos enmendados que en el suelo control 7 años después de la aplicación de la enmienda, como hemos visto anteriormente. Para una misma enmienda este incremento era mayor cuando se aplicaban, a dosis alta, que cuando se aplicaban a dosis inferior. Asimismo, el incremento era mayor para la enmienda compostada en comparación con la enmienda fresca.

La tabla de correlación entre las variables (Tabla 4.1.27) confirmó el efecto de la dosis aplicada sobre la creación de un pool de carbono en el suelo de esta zona, existiendo una correlación positiva entre la adición a diferentes dosis de enmienda y el contenido de las diferentes fracciones de carbono (Cs, SH, COT), así como con la estabilidad de agregados y nutrientes (Pt y Nt). Llama la atención el hecho de que la estabilidad de agregados correlacionó positivamente con diferentes grupos de la comunidad microbiana como bacterias totales y bacterias Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup>, y actinobacterias, sin embargo, este parámetro no mostró correlación con

las poblaciones fúngicas, las cuales mostraban una correlación positiva ( $p \leq 0,01$ ) con las población total de bacterias y bacterias Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup> y negativa con la actividad polifenoloxidasa con significación alta ( $p < 0,01$ ). Otro hecho significativo es la correlación negativa entre la densidad del suelo y la mayoría de los parámetros estudiados. También se observó correlación positiva entre la actividad  $\beta$ -glucosidasa y la actividad fosfatasa y ureasa con un nivel de significación ( $p < 0,01$ ) y glicina aminopeptidasa ( $p < 0,05$ ), mientras que la actividad de esta enzima no mostraba correlación con la actividad la actividad polifenoloxidasa ni con la actividad celulasa. La respiración mostraba correlación positiva ( $p \leq 0,01$ ) con las poblaciones bacterianas (B, Gram<sup>+</sup>, Gram<sup>-</sup> y actinobacterias) pero no se correlacionaba con las poblaciones fúngicas; sin embargo, si se encontró una correlación positiva entre las poblaciones bacterianas y fúngicas.

## CONCLUSIONES PARCIALES

*Los resultados obtenidos sugieren que la incorporación de las enmiendas al suelo produce cambios en las propiedades físicas, físico-químicas, químicas y microbiológicas del suelo, y que estos cambios están influenciados por la naturaleza de la enmienda aplicada, grado de estabilidad y dosis de aplicación, siendo los mecanismos a través de los cuales estas enmiendas afectan a las propiedades del suelo diferentes. Así, se ha observado que, los residuos de origen vegetal, tanto frescos como compostados, a dosis alta ( $300 \text{ t ha}^{-1}$ ) consiguen mejorar las propiedades físicas del suelo en mayor medida que a dosis más baja ( $150 \text{ t ha}^{-1}$ ) o que la mezcla lodo+basura. Las enmiendas con materia orgánica fresca, tanto de origen urbano (L) cómo vegetal (RV) estimularon en mayor medida tanto la actividad enzimática como la respiración. Asimismo, la incorporación de estiércol animal promovió en mayor medida el desarrollo de la biota del suelo.*

*Esta mejora en la calidad del suelo no solamente es generada gracias a la acción directa de la enmienda sobre el suelo, sino también, a la acción indirecta producida gracias al desarrollo de una cobertura vegetal.*

*Precisamente esta cobertura vegetal puede ser la causa de que tanto la respiración basal cómo la mayoría de las actividades enzimáticas sean significativamente mayores en los suelos enmendados que en el suelo control 7 años después de la incorporación de la enmienda.*

*En resumen, de este estudio podemos concluir que la incorporación de materia orgánica exógena al suelo degradado mejoró su calidad, consiguiendo generar un pool de C a medio plazo (7 años) gracias al incremento de las diferentes fracciones de C, siendo por tanto considerada como una buena estrategia en la lucha contra la degradación del suelo en ambientes semiáridos, a medio plazo, contribuyendo a la sostenibilidad de estos ecosistemas. Este efecto positivo se ve mediado, como ya se ha indicado, por la naturaleza y estabilidad de la enmienda y por la dosis de aplicación.*

**Tabla 4.1.27.**-Correlaciones entre variables de los suelos de la zona de Santomera-1. \*significación p<0,05, \*\*significación p<0,01

	DOSIS	CE	CRH	D	EA	CL	β-G	PPO	F	U	GLC	COT	Cs	SH	Pt	Nt	Ns	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	R	Gram <sup>+</sup>	Gram <sup>-</sup>	B	H	
DOSIS																								
CE	0,12																							
CRH	0,06	0,08																						
D	-0,30	-0,19	-0,60**																					
EA	0,46**	0,20	-0,11	-0,11																				
CL	-0,25	0,12	-0,06	-0,22	0,04																			
β-G	-0,04	0,32	0,50**	-0,52**	-0,15	0,28																		
PPO	0,12	-0,37*	-0,05	-0,20	-0,11	0,13	-0,02																	
F	0,28	0,30	0,55**	-0,51**	-0,11	0,13	0,85**	-0,14																
U	0,05	-0,11	0,37*	-0,31	-0,35	0,04	0,48**	-0,03	0,47**															
GLC	0,22	0,36	0,21	-0,43*	0,31	0,08	0,37*	0,06	0,34	-0,28														
COT	0,61**	0,22	0,03	-0,37*	0,39*	-0,05	0,16	-0,28	0,30	0,36	0,14													
Cs	0,40*	0,31	0,35	-0,60**	0,27	0,12	0,59**	-0,28	0,64**	0,50**	0,18	0,79**												
SH	0,64**	0,13	0,26	-0,56**	0,24	-0,01	0,29	-0,00	0,45*	0,52**	0,22	0,90**	0,77**											
Pt	0,38*	-0,127	0,32	-0,33	-0,30	-0,033	0,38*	0,20	0,61**	0,47**	-0,10	0,16	0,37*	0,33										
Nt	0,62**	0,31	0,24	-0,62**	0,41*	0,00	0,34	-0,04	0,46*	0,43*	0,24	0,78**	0,86**	0,81**	0,33									
Ns	0,41*	0,37*	0,57**	-0,59**	0,12	0,09	0,65**	-0,32	0,82**	0,33	0,30	0,55**	0,81**	0,56**	0,53**	0,60**								
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,22	0,28	0,36	-0,61**	0,13	0,25	0,69**	0,00	0,64**	0,44*	0,23	0,57**	0,88**	0,57**	0,44*	0,72**	0,76**							
R	0,35	0,37*	0,09	-0,61**	0,46*	0,16	0,42*	0,15	0,37*	-0,09	0,71**	0,46**	0,59**	0,51**	0,06	0,65**	0,40*	0,56**						
Gram <sup>+</sup>	0,20	0,60**	0,22	-0,34	0,51**	0,08	0,49**	-0,47**	0,44*	0,10	0,37*	0,46*	0,67**	0,33	-0,21	0,60**	0,53**	0,59**	0,55**					
Gram <sup>-</sup>	0,03	0,59**	0,24	-0,31	0,45*	0,11	0,46*	-0,55**	0,36	-0,05	0,56**	0,40*	0,55**	0,27	-0,33	0,43*	0,44*	0,53**	0,59**	0,88**				
B	0,16	0,61**	0,23	-0,34	0,50**	0,09	0,50**	-0,50**	0,43*	0,06	0,44*	0,45*	0,65**	0,32	-0,25	0,57**	0,51**	0,58**	0,57**	0,99**	0,94**			
H	-0,31	0,29	-0,17	0,16	0,25	0,24	0,02	-0,60**	-0,11	-0,23	0,01	0,28	0,21	0,02	-0,55**	-0,07	0,08	0,18	0,10	0,44*	0,55**	0,48**		
ACT	0,27	0,55**	0,08	-0,30	0,66**	0,10	0,30	-0,34	0,22	-0,09	0,36*	0,43*	0,53**	0,28	-0,33	0,55**	0,33	0,48**	0,57**	0,92**	0,84**	0,92**	0,42*	

CE: conductividad eléctrica, CRH: capacidad de retención hídrica, D: densidad; EA: estabilidad de agregados; CL: celulosa, β-G: β-glucosidasa, F: fosfatasa; U: ureasa; GLC: glicina-aminopeptidasa; PPO: polifenoloxidasa, COT: carbono orgánico total, Cs: carbono hidrosoluble, SH: sustancias húmicas;Pt: fósforo total, Nt: nitrógeno total, Ns: nitrógeno hidrosoluble; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitratos, -; R: desprendimiento acumulativo de CO<sub>2</sub>; Gram<sup>+</sup>: Gram-positiva, Gram<sup>-</sup>: Gram-negativa, B: bacterias; H: hongos ACT: actinobacterias

## **B.2. ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA ESTABILIDAD DE LA ENMIENDA**

El tratamiento de las aguas residuales municipales produce una gran cantidad de biosólidos que requieren ser eliminados. Por ello, es esencial agregar valor a los productos de desecho, de los cuales los lodos procedentes de la depuración de aguas residuales son los más importantes, debido a las grandes cantidades que se producen en Europa (Mosquera-Losada y col., 2017). Estos lodos son una mezcla crítica biológicamente activa de agua, materia orgánica (procedente de restos humanos, alimenticios,...) microorganismos vivos y muertos (incluyendo patógenos) y contaminantes tóxicos orgánicos e inorgánicos (elementos metálicos traza, PAHs) (Kacprzak y col., 2017).

El uso de lodos de depuradora como fertilizante para el suelo es una vía económica y práctica para su reciclaje (Rauch y Becker, 2000), aunque existe una gran variedad de métodos para eliminarlos, tales como su aplicación en suelos agrícolas, vertederos, o incineración (Petersen y col., 2003; Sánchez-Monedero y col, 2004; Singh y Agrawal, 2008). Los lodos de depuradora han sido utilizados como enmienda con fines de rehabilitación de suelos degradados por ser fuente de nutrientes y de materia orgánica, así como activadores de las actividades microbiológicas del suelo al que se añaden (Coors y col., 2016; Tarrasón y col., 2010).

Con la intención de estabilizar la materia orgánica contenida en estos lodos y de reducir algunos contaminantes, contenido en agua y patógenos, estos lodos son sometidos a diferentes post-tratamientos. Entre ellos, destacamos el compostaje como una estrategia efectiva para estabilizar los residuos orgánicos brutos antes de su aplicación al suelo, ya que este proceso evita la rápida liberación de nutrientes de los residuos frescos, reduciendo por tanto el impacto ambiental negativo, como la contaminación de aguas subterráneas a través de la lixiviación de nitratos (Cooperband, 2000).

Los suelos degradados de zonas semiáridas requieren del aporte de una fuente de materia orgánica exógena para la mejora de sus propiedades físicas, químicas y biológicas. De este modo, consideramos que el empleo de lodos de depuradora, así como del lodo de depuradora compostado, puede ser una buena estrategia para la mejora de la calidad de suelos degradados de zonas semiáridas, mejorando sus propiedades y estimulando el desarrollo de una cubierta vegetal.

Con objeto de mejorar la calidad del suelo, así como de reducir la cantidad de residuos, mitigar el cambio climático, etc., es necesario conocer el balance entre la acumulación de carbono orgánico y su agotamiento en suelos enmendados con lodos de depuradora frescos y compostados.

El propósito de este estudio es evaluar el efecto de la estabilidad de la materia orgánica aportada con la enmienda (adición de lodos de EDAR compostados y sin compostar) sobre la calidad de suelos degradados de zonas semiáridas, a través del estudio de sus propiedades físicas y fisico-químicas, ambientales y biológicas, en un ensayo a medio-largo plazo (10 años) con el fin de determinar la capacidad de estas enmiendas para crear un pool de carbono estable en el suelo.

El estudio se llevó a cabo en la Finca Experimental “Tres Caminos” del CEBAS-CSIC, ubicada en el paraje de La Matanza (Santomera), en un área altamente afectada por procesos de degradación del suelo y con clima semiárido. La temperatura media anual de la zona durante el periodo experimental fue de 18,1<sup>o</sup>C y la pluviometría media de 291 mm/año, con una distribución muy irregular a lo largo del año. El suelo en esta zona puede ser clasificado como Calcisol arídico (FAO, 2006) que se caracteriza por tener una textura franco-arenosa. Es un suelo pobre en tanto en materia orgánica como en nutrientes, dedicado años antes del comienzo de la experimentación a la agricultura, siendo, por tanto, considerado como un suelo abandonado con escasa vegetación. Las características principales de este suelo se muestran en la Tabla 4.1.28.

**Tabla 4.1.28.**-Características del suelo control de la zona Santomera-2

Parámetros	Suelo Control
pH*	7,55
Conductividad Eléctrica* (25°C), dS m <sup>-1</sup>	0,34
Carbono Orgánico Total, g kg <sup>-1</sup>	14,90
Nitrógeno total, g kg <sup>-1</sup>	2,0
Fósforo total, g kg <sup>-1</sup>	0,5
Potasio total, mg kg <sup>-1</sup>	5,68
Carbonatos, g 100g <sup>-1</sup>	58,53
Cloruros, meq 100g <sup>-1</sup>	0,02
Textura	Franco-arenosa

\*Determinado en extracto acuoso (1:5)

En esta zona (Santomera-2) se dispusieron, 10 años antes de la toma de muestras realizada para el estudio llevado a cabo en este trabajo de Tesis Doctoral, 9 parcelas experimentales en las que se establecieron por triplicado tres tratamientos distribuidos al azar (Figura 4.1.56): 1) adición de lodos procedentes de una planta de depuración de aguas residuales urbanas situada en Murcia, a razón de 120 t ha<sup>-1</sup> (peso fresco, 70% humedad); 2) adición de la misma dosis de un compost obtenido a partir de dicho lodo utilizando como agente estructurante paja de cereal (humedad 25%); y 3) suelo control sin enmienda alguna (Tabla 4.1.29). Estos materiales en la dosis indicada, se distribuyeron homogéneamente sobre la superficie del suelo de la correspondiente parcela, mezclándolos a continuación con la ayuda de un rotovator en la considerada como capa arable (primeros 15-20 cm de suelo). Las parcelas control, sin enmienda, recibieron el mismo tratamiento que las enmendadas, ya que fueron labradas con el rotovator con el fin de que fuesen aireadas como el resto de parcelas enmendadas. Las parcelas se mantuvieron en condiciones ambientales, sin ningún aporte adicional de agua.



**Figura 4.1.56.**-Distribución de las parcelas experimentales de la zona de Santomera-2

**Tabla 4.1.29.**-Nomenclatura y descripción de los tratamientos aplicados en los suelos de la zona de Santomera-2

TRATAMIENTO	DESCRIPCION	DOSIS (t ha <sup>-1</sup> )
SN-10_C	Parcela sin enmienda	0 <span style="color: red;">■</span>
SN-10_L	LODO EDAR	120 <span style="color: lightblue;">■</span>
SN-10_C(L)	COMPOST LODO EDAR	120 <span style="color: darkblue;">■</span>

En el momento del muestreo, 10 años después de la incorporación de las enmiendas, se había desarrollado una cubierta vegetal con diferente densidad, dependiendo del grado de estabilidad de la materia orgánica incorporada. Así, tanto en las parcelas control (sin enmienda), como en las parcelas enmendadas con lodos frescos, la cubierta vegetal presentaba un densidad de cobertura baja-media, frente a una cubierta vegetal de densidad elevada en las parcelas a las que se aplicó la enmienda estabilizada (compost), Figura 4.1.57. En general, todas las parcelas con enmienda presentaban en el momento del muestreo una mayor cobertura vegetal que el suelo control.

Este aumento en la cobertura vegetal de los suelos enmendados con lodos y compost de lodo, puede ser atribuido al aporte de materia orgánica que proporcionan estos materiales. Las enmiendas orgánicas proporcionan un alto contenido en micro y macronutrientes que pueden ser beneficiosos para el desarrollo vegetal (O'Dell y col., 2007).



**SN-10-C**



**SN-10-L**



**SN-10-C(L)**

**Figura 4.1.57.**-Cubierta vegetal desarrollada en las parcelas de la zona de Santomera-2, 10 años después de la aplicación de la enmienda al suelo

Por ello, diez años después de la adición de las enmiendas al suelo, resulta interesante contrastar el efecto de estos dos tipos de materia orgánica: una sin estabilizar que aporta sustratos fácilmente accesibles para plantas y microorganismos, y otra estabilizada cuyos sustratos son más difíciles de degradar. La propia naturaleza de las enmiendas explica las diferencias en la densidad de la cubierta vegetal transcurrido el tiempo.

En cualquier caso, la cubierta vegetal habrá aportado a los suelos estudiados restos vegetales y exudados radiculares a lo largo de 10 años, consiguiendo incorporar mayor cantidad de carbono al suelo, el cual habrá actuado a su vez, como sumidero de este elemento. Las características principales de los materiales orgánicos utilizados se muestran en la Tabla 4.1.30.

**Tabla 4.1.30.**-Principales características de los materiales empleados como enmiendas orgánicas (m.s.)

	Lodo	Compost	Valores límites UE <sup>1</sup>
pH	6,6	6,8	
Conductividad Eléctrica (25°C)dS m <sup>-1</sup>	2,85	2,46	
Carbono Orgánico Total, g kg <sup>-1</sup>	378	406	
Nitrógeno total, mg kg <sup>-1</sup>	43000	30300	
Fósforo total, mg kg <sup>-1</sup>	1600	1700	
Potasio total, mg kg <sup>-1</sup>	3900	4000	
Cadmio total, mg kg <sup>-1</sup>	<2,5	<2,5	40
Niquel total, mg kg <sup>-1</sup>	14,82	11,95	400
Cromo total, mg kg <sup>-1</sup>	14,01	11,03	1500
Zinc total, mg kg <sup>-1</sup>	718	510	4000
Cobre total, mg kg <sup>-1</sup>	247	187	1750
Plomo total, mg kg <sup>-1</sup>	80,82	54,88	1200
C/N	8,73	13,47	

m.s.: materia seca

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### PARÁMETROS AGRONÓMICOS

#### Parámetros físicos y físicoquímicos

Las propiedades físicas del suelo pueden verse afectadas en función de la naturaleza de la enmienda empleada, de su tasa de aplicación, grado de estabilización de la enmienda, etc... Son numerosos los estudios que han constatado que la aplicación de enmiendas orgánicas mejora las propiedades físicas de los suelos enmendados, incrementando la densidad y la porosidad del suelo (Marinari y col., 2000; Zeytin y Baran, 2003), la capacidad de retención hídrica (Rawls y col., 2003; Celik y col., 2004) y la estabilidad de agregados (Angers y col., 1999; Chenu y col., 2000; Hernández y col. 2016).

**Tabla 4.1.31.**-Valores de pH, densidad, capacidad de retención hídrica (CRH) y estabilidad de agregados en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2

	pH	Densidad g cm <sup>-3</sup>	CRH g 100g <sup>-1</sup>
SN-10-C	8,61 (0,09) b	0,99 (0,12) a	42,67 (6,43) a
SN-10-L	8,38 (0,07) ab	0,93 (0,10) a	45,67 (6,66) a
SN-10-C(L)	8,33 (0,11) a	0,88 (0,03) a	45,00 (2,00) a

SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

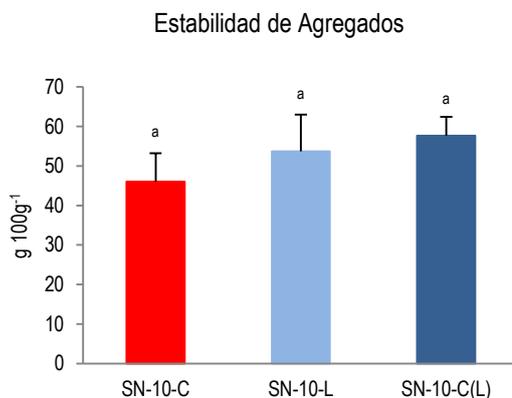
Diez años después de la aplicación de las enmiendas orgánicas (lodo de depuradora fresco o compostado) no se observan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre los valores de densidad, CRH y estabilidad de agregados de los suelos enmendados y suelo control, mientras que sí existen diferencias significativas en los valores de pH, que han disminuido sensiblemente en los suelos enmendados respecto del suelo control (Tabla 4.1.31).

No obstante, la estabilidad de agregados, es ligeramente superior en los suelos enmendados SN-10-L: 53,67 y SN-10-C(L): 57,67 g 100g<sup>-1</sup>, que en el suelo control (46,00 g 100g<sup>-1</sup>) como se muestra en la Figura 4.1.58, si bien las diferencias no llegan a ser estadísticamente significativas.

Teniendo en cuenta el tiempo transcurrido desde la incorporación de la materia orgánica (10 años) es muy posible que el efecto de las enmiendas sobre estos parámetros se haya ido atenuando. Diversos autores han indicado que si bien las enmiendas orgánicas mejoran las características físicas de los suelos a los que se incorporan, estos efectos disminuyen con el tiempo (Bendfeldt y col., 2001; Larney y Angers., 2012).

Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Fernández-Getino y col., (2012) en suelos similares de textura franco-arenosa y alta concentración de carbonatos, donde a los 3 años de la adición de compost de lodo de depuradora en diferentes concentraciones (30, 60 y 90 t N ha<sup>-1</sup>) se observaron ligeros incrementos en los valores de estabilidad de agregados sin llegar a resultar en diferencias significativas. También hay que considerar la naturaleza calcárea del suelo estudiado, con un elevado contenido en carbono inorgánico, carbonatos (Tabla 4.1.28), los cuales juegan un importante papel en los procesos de agregación.

De esta manera, la adición de materia orgánica pudo tener un menor efecto en los procesos de agregación debido al elevado contenido inicial de macroagregados solubles (Boix-Fayos y col., 2001).



**Figura 4.1.58.**-Porcentaje de agregados estables en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

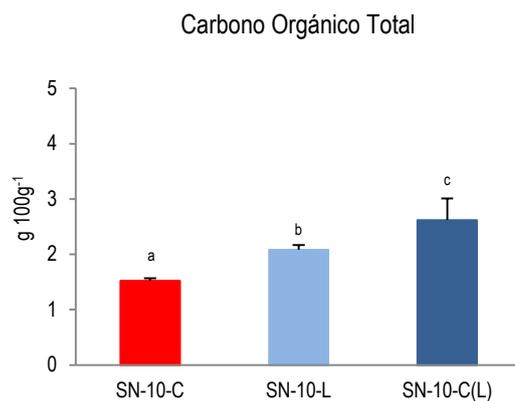
## Contenido de materia orgánica y Parámetros nutricionales

### **Materia orgánica**

En general, es de esperar que la aplicación de una enmienda menos estable como es el lodo produzca una mayor respuesta en las propiedades del suelo que la adición de enmiendas más estabilizadas como las compostadas, activando rápidamente su funcionalidad, pero probablemente su efecto será más transitorio a largo plazo, y su contribución al pool de carbono será menor que las enmiendas más recalcitrantes como el compost de lodo.

Como se observa en la Figura 4.1.59, 10 años después de la adición de las enmiendas, el suelo enmendado con compost de lodo presentaba un contenido de carbono orgánico total (COT) significativamente superior ( $p \leq 0,05$ ) al del suelo control y el suelo enmendado con lodo (L). Numerosos trabajos de rehabilitación de suelos mediante la adición de lodos o compost de lodos (Kowaljow y Mazzarino, 2007; Tarrasón y col., 2010; Fernández-Getino y col., 2012; Luna y col., 2016) han descrito un aumento de la concentración de COT en estos suelos tras la adición de la enmienda.

La menor concentración de COT encontrada en el suelo enmendado con lodo fresco en comparación con el suelo enmendado con compost, podría explicarse por la naturaleza menos estable de la materia orgánica procedente del lodo de depuradora que mineraliza más rápido que la del material compostado, el cual, posee una materia orgánica más estable debido a la transformación sufrida por la misma durante el proceso de compostaje. Estos resultados coinciden con los reportados por Busby y col., (2007), quienes observaron que las enmiendas no compostadas eran degradadas más rápidamente por los microorganismos, debido a su alto contenido en formas más lábiles de carbono, mientras que las enmiendas compostadas, con mayor cantidad de compuestos químicamente recalcitrantes, se descomponían más lentamente en el suelo.

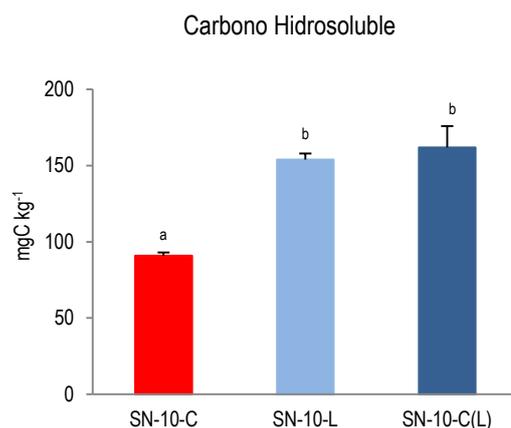


**Figura 4.1.59.**-Contenido de carbono orgánico total en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En nuestro estudio, observamos que, para un mismo tipo de enmienda (lodo en este caso), las enmiendas compostadas son más eficaces que las frescas para mantener un incremento del pool de C en el suelo en el medio-largo plazo (10 años). Sin embargo, hemos de tener en cuenta que, aunque se ha aplicado la misma dosis de lodo y compost ( $120 \text{ t ha}^{-1}$ ), con el compost se incorporó mayor cantidad de carbono orgánico ( $36,5 \text{ kg COT ha}^{-1}$  frente a los  $11,4 \text{ kg COT ha}^{-1}$  incorporados con el lodo): La diferencia en humedad de ambas enmiendas (70% lodo, 25% compost de lodo), también influirá en la dinámica seguida en el suelo por la materia orgánica exógena.

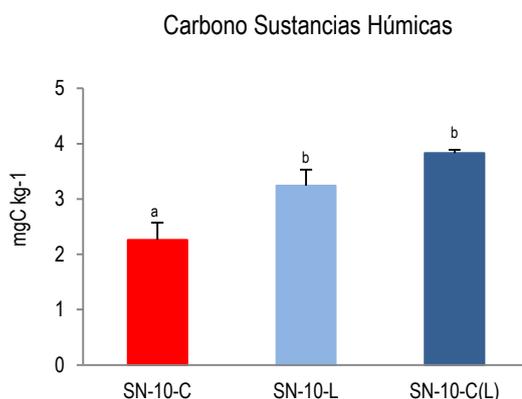
Hay que señalar que, tan sólo una parte del carbono orgánico detectado en los suelos enmendados procederá de la enmienda añadida inicialmente, ya que una gran parte de este carbono se habrá mineralizado con el tiempo. Sin embargo, la mejora de las características del suelo producida por incorporación de las enmiendas al suelo, da lugar en los suelos enmendados, y en menor medida en el control, al desarrollo, pocos meses después de la enmienda, de una cubierta vegetal (Figura 4.1.57), cuyos restos y exudados radiculares irán reponiendo la materia orgánica perdida por mineralización, manteniendo activos los ciclos de C y nutrientes en el suelo.

En cuanto a una de las formas más lábiles de carbono como es el C soluble en agua, se obtuvieron valores significativamente superiores ( $p \leq 0,05$ ) en los suelos enmendados (L, y C(L)) respecto a el suelo control (Figura 4.1.60), lo que nos da una idea de que, 10 años después de la enmienda, continúan más activos los procesos de transformación de la materia orgánica en estos suelos.



**Figura 4.1.60.**-Concentración de carbono hidrosoluble en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

El lodo de depuradora fresco es una enmienda orgánica más rápidamente biodegradable que el compost, así que tiene menos probabilidad de ser retenido durante largos periodos de tiempo en el suelo, contribuyendo algo menos al almacenamiento de carbono estable (sustancias húmicas) en el suelo a largo plazo. Como se muestra en la Figura 4.1.61, existen diferencias significativas en el contenido de sustancias húmicas entre los suelos enmendados y el suelo control.

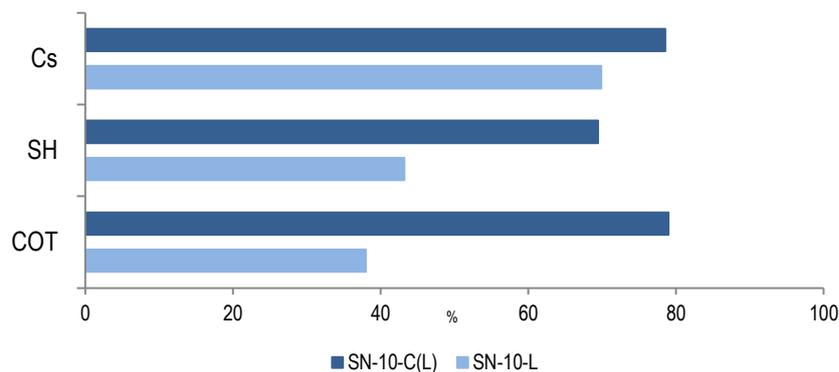


**Figura 4.1.61.**-Concentración de carbono de sustancias húmicas en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Los suelos enmendados mostraron valores significativamente superiores a los del suelo control, al igual que ocurre con el Cs y COT. El suelo tratado con compost de lodo alcanzó una concentración de sustancias húmicas ( $3,83 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ) ligeramente superior a la del suelo tratado con lodo ( $3,24 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ).

En general, podemos afirmar que la incorporación de materia orgánica exógena de la naturaleza del lodo y compost de lodo de depuradora consigue incrementar el pool de C en el suelo a medio-largo plazo (10 años), ya que, cómo se puede observar en la Figura 4.1.62, se produce un incremento significativo respecto al suelo control en todas las fracciones de carbono (COT, Cs, SH), siendo este incremento más acentuado en el tratamiento con compost de lodo, debido al carácter más estable de la materia orgánica de esta enmienda y a la mayor cantidad de materia orgánica aportada con la misma (Tabla 4.1.30).

Hay que tener en cuenta que, el hecho de que 10 años después de la incorporación de las enmiendas al suelo, continúen los niveles de carbono más elevados en los suelos enmendados que en el control, posiblemente no se deba solamente a la incorporación inicial de gran cantidad de materia orgánica y nutrientes, sino también, a la cubierta vegetal que se desarrolló a los pocos meses de la incorporación de la enmienda, y que posteriormente también irá contribuyendo con nuevos aportes de materia orgánica. Así, la presencia de una cobertura vegetal estable puede tener un papel vital para mejorar las entradas de carbono al suelo y para el desarrollo de las comunidades microbianas en el mismo, lo que influye positivamente en una buena fertilidad de los suelos (García y col., 2002; Tejada y col., 2006).



**Figura 4.1.62.**-Porcentaje de variación de las diferentes fracciones de carbono: carbono hidrosoluble (Cs), sustancias húmicas (SH) y carbono orgánico total (COT) en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, L: lodo, C(L): compost de lodo

### **Parámetros nutricionales**

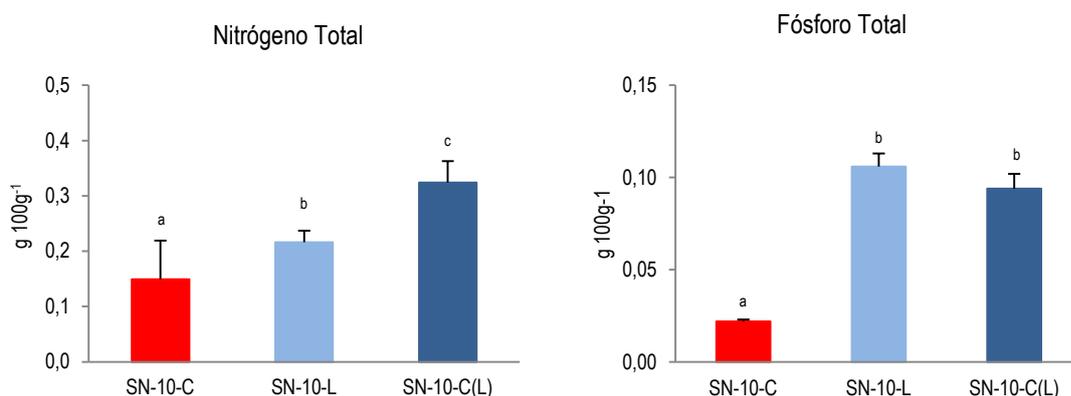
Los lodos de depuradora son empleados con frecuencia como enmiendas orgánicas en iniciativas de restauración de suelos, ya que contienen macro y micronutrientes, especialmente N y P, los cuales son una buena fuente de nutrientes para las plantas y los microorganismos del suelo, que utilizarán estos nutrientes para construir sus propias estructuras, estimulándose así, con la enmienda, el desarrollo de las poblaciones microbianas del suelo.

Por otro lado, el uso de compost de lodos de depuradora en la restauración de suelos degradados es una práctica común, y numerosos estudios han sido dirigidos a conocer el efecto de este tipo de residuo sobre el estado nutricional del suelo al ser aplicado como enmienda orgánica (Fernández-Getino y col., 2012).

En nuestro estudio, los suelos de las parcelas tratadas con lodo y compost de lodo presentaban, 10 años después de la enmienda, contenidos de nitrógeno (Nt) y fósforo total (Pt) significativamente superiores al del suelo control (Figura 4.1.63). No se observaban diferencias entre los suelos tratados con lodo o con compost en cuanto a la concentración de Pt, mientras que el contenido de Nt era significativamente inferior en el tratamiento con L que en el suelo tratado con C(L). Teniendo en cuenta que la enmienda orgánica empleada (lodo de depuradora) es la misma y sólo cambia el grado de estabilidad (fresca o compostada), las diferencias en el suelo en cuanto a concentración de N total 10 años después, se podrían atribuir a los cambios que sufre

la materia orgánica durante el proceso de compostaje y/o a la diferente cantidad de materia orgánica aportada con cada enmienda.

Así, el hecho de que la incorporación de materia orgánica lábil procedente del lodo, causa un rápido incremento en la actividad microbiana heterotrófica del suelo (Brebdecke y col. 1993; Kuzyakov y col., 2000), junto a que, en un corto espacio de tiempo la mineralización de los compuestos orgánicos causa la producción de gran cantidad de nitrógeno mineral, que puede ser liberado o inmovilizado en el suelo (Kuzyakov y Bo, 2006), pueden ayudarnos a entender las diferencias entre ambas enmiendas en la concentración de Nt en este ensayo a medio-largo plazo.



**Figura 4.1.63.**-Contenido de nitrógeno total y fósforo total en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

No se observaron diferencias significativas entre los suelos de las parcelas control y los suelos enmendados en cuanto al contenido de potasio y de calcio (Tabla 4.1.32).

**Tabla 4.1.32.**-Contenido de potasio (K) y calcio (Ca) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2

	K g 100g <sup>-1</sup>	Ca g 100g <sup>-1</sup>
Control	0,494 (0,051) a	23,0 (2,7) a
SN-10-L	0,532 (0,077) a	21,7 (2,0) a
SN-10-C(L)	0,530 (0,039) a	20,3 (1,9) a

SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En relación a los micronutrientes analizados, sólo se detectaron diferencias significativas en la concentración de Mn, detectándose el máximo valor (240 mg kg<sup>-1</sup>) en los suelos enmendados con lodo, y en la concentración de Mg, donde también se detectaron diferencias significativas entre los suelos enmendados (0,5 mg kg<sup>-1</sup>) y el suelo control (Tabla 4.1.33).

**Tabla 4.1.33.**-Contenido de magnesio (Mg), manganeso (Mn), aluminio (Al) azufre (S) y hierro (Fe) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2

	Mg mg kg <sup>-1</sup>	Mn mg kg <sup>-1</sup>	Al mg kg <sup>-1</sup>	S mg kg <sup>-1</sup>	Fe mg kg <sup>-1</sup>
Control	0,4 (0,0) a	193 (24) a	1,7 (0,0) a	0,22 (0,02) a	10773 (1529) a
SN-10-L	0,5 (0,0) b	240 (14) b	1,9 (0,1) a	0,23 (0,01) a	12162 (775) a
SN-10-C(L)	0,5 (0,0) b	208 (15) ab	1,6 (0,2) a	0,23 (0,03) a	11324 (1051) a

SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

### PARÁMETROS AMBIENTALES

El uso de compost y lodos de depuradora puede tener algunos efectos negativos sobre el medio ambiente (Navarro-Pedreño y col., 2004; Eldridge y col., 2009). Las sales como el cloruro de sodio presentes sobre todo en el compost de lodo, pueden ocasionar problemas a nivel de la germinación de plantas, pudiendo dificultar el desarrollo de la cobertura vegetal y de la rehabilitación del suelo (Cai y col., 2010; Lag-Brotons y col., 2013). La presencia de metales pesados es otro problema asociado al uso de estos residuos en la recuperación de suelos.

A priori, en ecosistemas frágiles como los de las zonas degradadas semiáridas, la incorporación de lodos de depuradora (frescos y compostados) puede contribuir al incremento de la conductividad eléctrica en el suelo, lo que junto con factores de stress específicos característicos de estas zonas, como sequías intensas, podría afectar negativamente a la disponibilidad de agua para la, por otra parte, escasa vegetación.

**Tabla 4.1.34.**-Valores de conductividad eléctrica (CE), sodio (Na<sup>+</sup>) y nitratos en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2

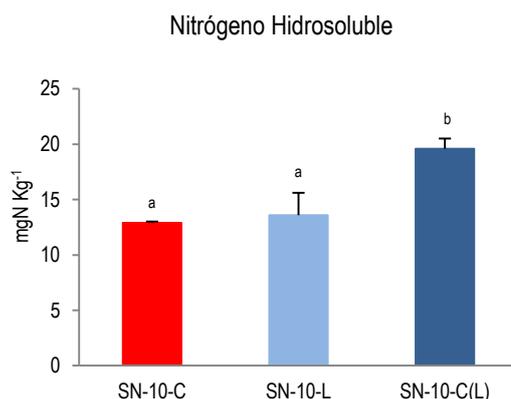
	CE dS m <sup>-1</sup>	Na <sup>+</sup> g 100g <sup>-1</sup>	Nitratos mg NO <sub>3</sub> kg <sup>-1</sup>
SN-10-C	0,176 (0,034) a	0,022 (0,002) a	186 (14) a
SN-10-L	0,186 (0,020) a	0,029 (0,001) b	224 (12) b
SN-10-C (L)	0,209 (0,024) a	0,025 (0,002) a	246 (10) b

SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Sin embargo, como se muestra en la Tabla 4.1.34, no existen diferencias significativas entre los valores de CE del suelo control y los enmendados, que presentan valores incluso inferiores en CE a los del suelo control al comienzo del ensayo (Tabla 4.1.28).

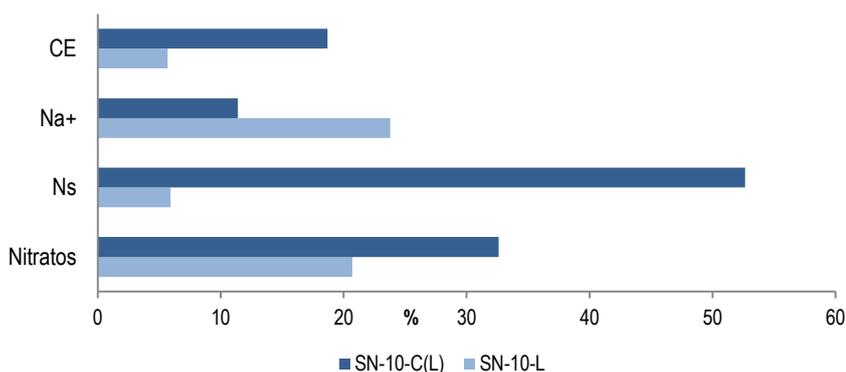
Este hecho puede ser debido a la extracción de sales por parte de la vegetación desarrollada de modo espontáneo en estos suelos pocos meses después de la adición de la enmienda. El contenido en Na<sup>+</sup> solamente presentaba diferencias significativas con el suelo control en los suelos enmendados con lodo (L), mientras que el contenido de nitratos era significativamente mayor que el del control en ambos suelos enmendados.

El contenido en Ns (Figura 4.1.64) era significativamente superior en el suelo enmendado con C(L), que en el suelo control y en el enmendado con lodo fresco (L). Este parámetro nos proporciona información del contenido en nitrógeno mineral (amonio y nitratos) soluble en agua. Las diferencias en Ns entre el suelo enmendado con lodo y el enmendado con compost de lodo, pueden estar relacionadas con el mayor aporte en materia orgánica realizado con el compost (humedad 25 %), y con el hecho de que la materia orgánica del compost sea más estable, y por tanto, sea mineralizada más lentamente, y consecuentemente, los nutrientes son liberados de forma más gradual.



**Figura 4.1.64.**-Contenido de nitrógeno hidrosoluble en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Los efectos de las enmiendas sobre los parámetros ambientales se siguen manteniendo a medio-largo plazo (10 años). CE, Na<sup>+</sup>, Nitratos y Nitrógeno hidrosoluble presentan un porcentaje de variación significativo respecto al suelo control (Figura 4.1.65).



**Figura 4.1.65.**-Porcentaje de variación de la conductividad eléctrica (CE), sodio (Na<sup>+</sup>), nitrógeno hidrosoluble (Ns) y nitratos en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, L: lodo, C(L): compost de lodo

Las concentraciones de todos los metales pesados estudiados (Tabla 4.1.35), permanecían por debajo de los niveles considerados como tóxicos, y tan solo se encontraron diferencias significativas con el control en los contenidos de Cu y Zn.

**Tabla 4.1.35.** Contenido en metales pesados en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2

	Cd mg kg <sup>-1</sup>	Cr mg kg <sup>-1</sup>	Cu mg kg <sup>-1</sup>	Ni mg kg <sup>-1</sup>	Pb mg kg <sup>-1</sup>	Zn mg kg <sup>-1</sup>
SN-10-C	0,122 (0,014) a	18,5 (0,6) a	14,8 (0,5) a	8,6 (1,3) a	9,0 (1,4) a	26,3 (3,2) a
SN-10-L	0,124 (0,008) a	17,0 (1,7) a	20,8 (0,6) b	8,7 (1,5) a	11,6 (2,0) a	35,5 (4,0) b
SN-10-C(L)	0,154 (0,016) a	18,7 (1,9) a	26,0 (0,7) c	8,7 (0,7) a	11,6(1,1) a	39,0 (0,9) b

SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Cheng y col., (2007), encontraron que tras la adición de compost de lodo a niveles de 10-20%, mejoraba enormemente el suministro de nutrientes al suelo para el crecimiento de plantas de césped, sin afectar significativamente a los contenidos en el suelo de metales pesados y sales solubles. El P y el K fueron liberados rápidamente, mientras que para el N, el compost funcionó como una fuente de este nutriente a largo plazo.

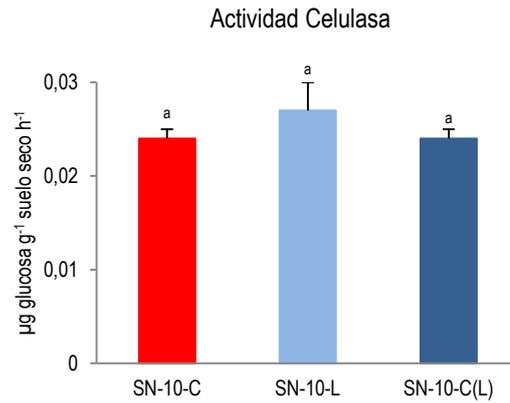
Todos estos resultados ponen de manifiesto que para que el uso del lodo de depuradora y compost de lodo de depuradora sea adecuado en la restauración de suelos degradados, no sólo hay que tener en cuenta la naturaleza de los mismos, sino también el llevar a cabo un manejo adecuado que sea respetuoso con el medio ambiente.

## **PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA**

### **Actividades enzimáticas**

Se ha observado que 10 años después de la adición de la enmienda, tanto fresca como compostada, continúa el proceso de degradación de la materia orgánica en general, traducida en una mayor actividad enzimática para la mayoría de las actividades hidrolíticas estudiadas en los suelos enmendados respecto del suelo control.

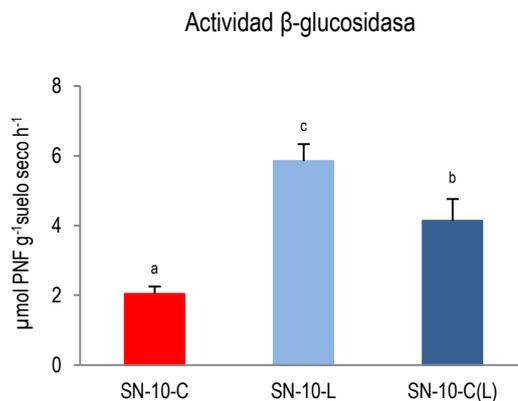
La celulosa en los suelos procede principalmente de los residuos de las plantas incorporadas en el mismo, y una cantidad limitada proviene de hongos y bacterias (Richmond, 1991). Para que el carbón contenido en la celulosa pueda ser utilizado por los microorganismos este compuesto debe ser degradado a glucosa. Las celulasas son un grupo de enzimas que catalizan la degradación de la celulosa a glucosa. En nuestro estudio, no se han observado, 10 años después de la enmienda, diferencias significativas entre la actividad celulasa del suelo control y la de los suelos enmendados (Figura 4.1.66).



**Figura 4.1.66.-**Actividad enzimática celulasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

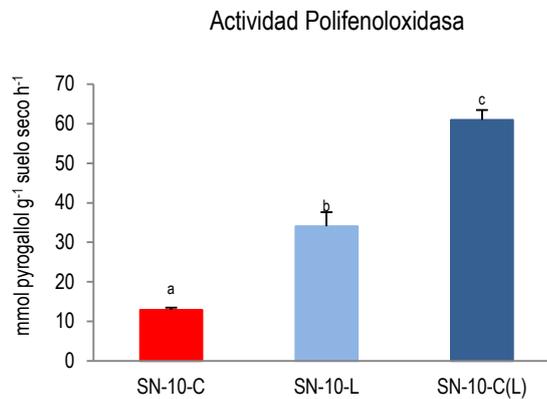
Este hecho sugiere que después de 10 años de incorporación de la enmienda, ya se ha producido la degradación del sustrato de esta enzima, y se ha transformado en compuestos más lábiles de carbono dentro de la cadena de degradación de la celulosa.

Mediante la actividad  $\beta$ -glucosidasa se produce la degradación de diferentes glucopiranosidos hasta moléculas más sencillas como la glucosa, utilizada como fuente de energía. Esta actividad nos aporta una valiosa información sobre el estado de la materia orgánica del suelo y de los procesos de degradación de la misma (García y col., 1994). Como podemos observar en la Figura 4.1.67, parece existir una relación directa entre la actividad  $\beta$ -glucosidasa y la naturaleza de la enmienda. Así, la aplicación de enmiendas frescas, como el lodo de depuradora, desarrolla una mayor actividad de esta enzima hidrolítica que la aplicación de la misma enmienda compostada, sugiriendo la presencia en los suelos tratados con lodo de sustratos más simples, procedentes de la degradación de la celulosa, sobre los que puede actuar esta enzima (Brookes y col., 2008).



**Figura 4.1.67.-**Actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En el caso de la enzima polifenoloxidasas, se observa un incremento en su actividad con el aumento del grado de estabilización de la enmienda, presentando los suelos enmendados diferencias significativas entre ellos y con el control (Figura 4.1.68). Esto indica que se siguen manteniendo diferencias en los procesos de oxidación y degradación de la materia orgánica de estos suelos 10 años después de la aplicación de la enmienda al suelo.



**Figura 4.1.68.**-Actividad enzimática polifenoloxidasas en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Las polifenoloxidasas son enzimas que oxidan grupos fenoles y consumen oxígeno; la actividad de esta enzima interviene en la transformación de compuestos recalcitrantes como la lignina, en la formación de sustancias húmicas y en la mineralización del carbono. El hecho de observar una elevada actividad polifenoloxidasas en los suelos con compost, se relaciona con una mayor mineralización de la materia orgánica estable del suelo, mientras que en suelos con baja actividad polifenoloxidasas, se suelen desencadenar procesos de condensación de la materia orgánica y, por tanto, de humificación (Freeman y col., 2004; Burns y col., 2013). Mosko y col., (1992) detectaron actividad polifenoloxidasas en extractos de humus del suelo, sugiriendo que la enzima se encontraba formando un complejo con las sustancias húmicas mediante uniones de diverso tipo (enzima inmovilizada).

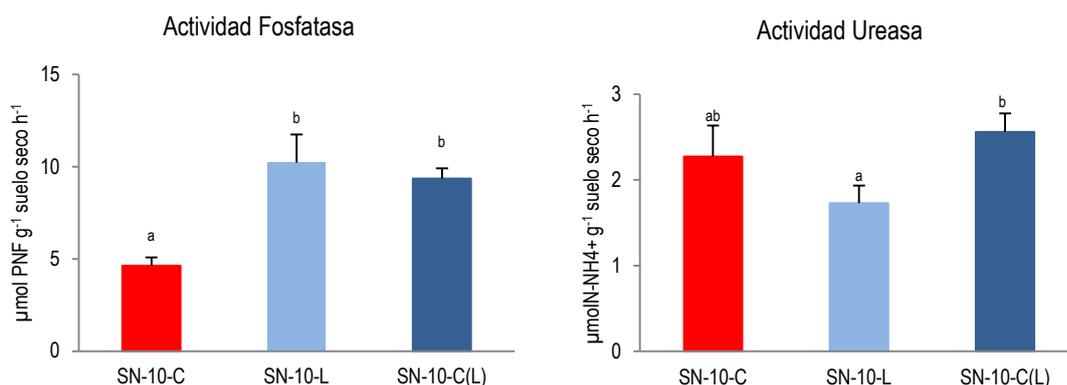
Esto nos lleva a pensar que la mayor actividad polifenoloxidasas detectada en el tratamiento con compost pueda también ser debida a la estabilización de esta enzima en el complejo húmico, ya que los suelos de este tratamiento mostraban también un mayor contenido de sustancias húmicas que los suelos tratados con lodo y el control.

Las enmiendas orgánicas proporcionan al suelo ciertas cantidades de fósforo, pero según el origen de la enmienda, este macroelemento se encontrará en forma orgánica o inorgánica. Las fosfatasa son enzimas que transforman el P orgánico del suelo en formas inorgánicas de P asimilables para las plantas (fosfatos).

El P es un elemento limitante en el suelo, el cual participa en numerosas rutas metabólicas, ya que se utiliza en la síntesis de moléculas transportadoras de energía (ATP y ADP), siendo de suma importancia para llevar a cabo las numerosas reacciones bioquímicas que se dan en el suelo (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Cómo se detalla en la Figura 4.1.63, ambas enmiendas (lodo fresco y compostado) aportan gran cantidad de fósforo total al suelo fundamentalmente en forma orgánica, debido a la naturaleza de las mismas. Así, hay un aumento significativo en la actividad de la fosfatasa alcalina en los suelos enmendados (tanto con lodo como con compost de lodo) respecto al suelo control (Figura 4.1.69).

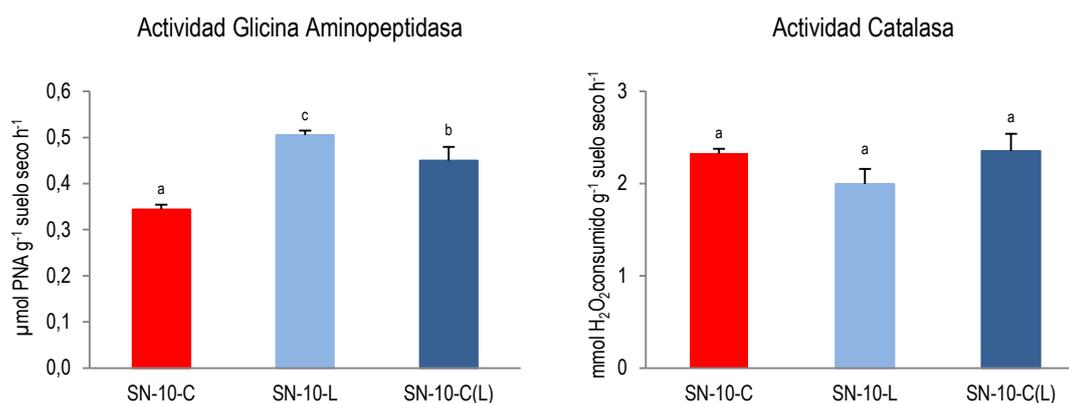
En general, se ha observado que el empleo de enmiendas orgánicas incrementa la actividad ureasa en los suelos (Kandeler y col., 1999 a; Lalande y col., 2000; Fernandes y col., 2005), especialmente cuando se emplea compost como enmienda (Pascual y col., 2002). Normalmente, esta enzima se asocia al tipo de materia orgánica por lo que dependerá de la calidad de la misma. Como se puede observar en la Figura 4.1.69, el mayor valor de esta actividad fue detectado en el suelo enmendado con compost, mientras que el suelo enmendado con lodo presentó niveles para esta actividad sensiblemente inferiores al propio suelo control, aunque no de forma estadísticamente significativa.



**Figura 4.1.69.-** Actividades enzimáticas fosfatasa y ureasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

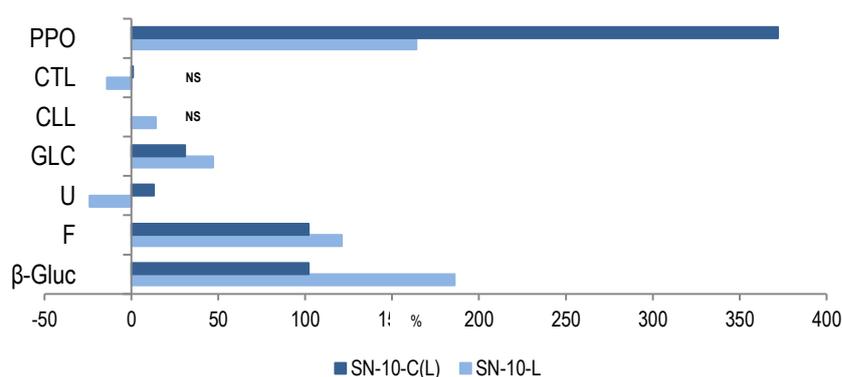
Las aminopeptidasas están ampliamente distribuidas en bacterias, hongos, plantas y animales (Ito y col., 2003; Mauri y col., 2012). Estas enzimas están implicadas en la degradación de péptidos intracelulares y extracelulares hasta aminoácidos para la síntesis de nuevas proteínas, y desarrollan un papel fundamental en el ciclo del N (Ito y col., 2003; Sinsabaugh y col., 2008; Mauri y col., 2012).

Los suelos enmendados tanto con lodo como con compost de lodos presentaban mayor actividad glicina aminopeptidasa que el suelo control, siendo las diferencias entre tratamientos estadísticamente significativas. En cuanto a la actividad enzimática catalasa, no se observaron diferencias significativas entre los suelos enmendados y el control. (Figura 4.1.70).



**Figura 4.1.70.**-Actividades enzimáticas glicina aminopeptidasa y catalasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En general, 10 años después de la incorporación de las enmiendas al suelo, podemos afirmar que estas han producido cambios significativos en el ecosistema, lo suficientemente importantes como para desarrollar una mayor actividad de las poblaciones microbianas en los suelos enmendados respecto al control (Figura 4.1.71), permitiendo la recuperación de la calidad microbiológica del suelo.



**Figura 4.1.71.**-Porcentaje de variación de las actividades enzimáticas celulasa (CLL), β-glicosidasa (β-Gluc), polifenoloxidas (PPO), ureasa (U), fosfatasa (F), glicina aminopeptidasa (GLC), catalasa (CTL), en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, L: lodo, C(L): compost de lodo. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

## Respiración Microbiana

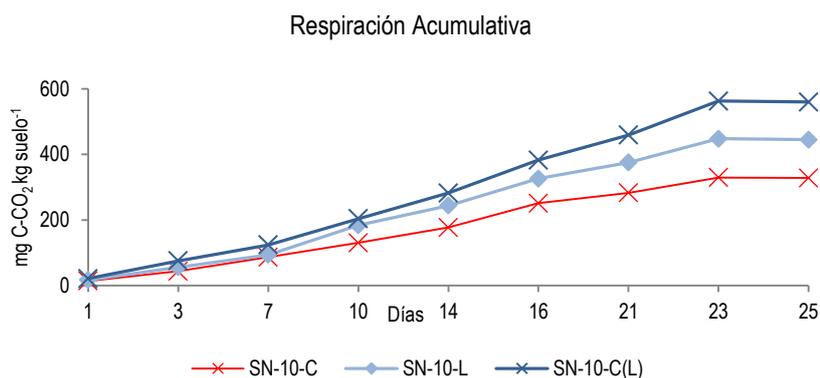
La mineralización de la materia orgánica determina la disminución de su contenido en el suelo y el incremento de nutrientes en forma asimilable, los cuales estaban previamente inmovilizados en forma orgánica (Masunga y col., 2016). La mineralización del carbono, determina la velocidad de degradación de la materia orgánica del suelo hasta  $\text{CO}_2$ . Esta velocidad de mineralización depende principalmente de las interacciones de la materia orgánica con la matriz suelo. Por tanto, utilizando los modelos de mineralización del C, basados en la estabilidad de la tasa de respiración (desprendimiento de  $\text{CO}_2$ ), se puede predecir, como ya se ha indicado anteriormente, la mineralización de los suelos enmendados (Zhang y col., 2017 b).

Así, el estudio de la cinética de mineralización de la materia orgánica puede resultar muy útil para dilucidar el comportamiento funcional de la comunidad microbiana edáfica ante la presencia de distintas fuentes de materia orgánica (Bastida, 2008 b).

Como se muestra en la Figura 4.1.72, los valores de respiración acumulativa eran significativamente mayores en los suelos enmendados (L y C(L)) que en el suelo control, indicando que el proceso de mineralización del carbono continúa siendo mayor en los suelos enmendados, en relación al control, 10 años después de la incorporación de la materia orgánica exógena al suelo.

Las enmiendas, al ser introducidas en el suelo, aportan compuestos capaces de ser usados como sustrato por los microorganismos (como el Cs) generando una mayor actividad de las poblaciones microbianas. No obstante, a medida que pasa el tiempo, estos sustratos se van agotando. A la vista de los resultados expuestos, relativos a las diferentes fracciones de C (COT, Cs, SH, Figuras 4.1.59-61), y de la propia respiración (Figura 4.1.72), estos valores de desprendimiento de CO<sub>2</sub> en nuestro estudio a medio-largo plazo (10 años), se mantienen gracias al desarrollo de la cubierta vegetal que a lo largo de estos años va aportando nuevas fuentes de materia orgánica que se va incorporando al suelo.

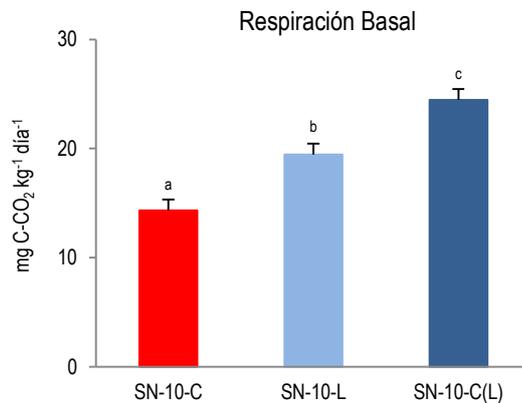
Así, como se observa en la Figura 4.1.57, en el momento del muestreo, las parcelas enmendadas con compost de lodo, que son las que muestran los mayores valores de respiración, presentaban mayor densidad de cubierta vegetal que las enmendadas con lodo fresco, siendo las parcelas control las que presentaron una densidad menor de cubierta vegetal. Por tanto, el hecho de introducir en los suelos degradados enmiendas más o menos estabilizadas (lodo fresco o compostado), no solamente consigue introducir una fuente de materia orgánica, sino también, generar una cubierta vegetal capaz de aportar nuevos sustratos accesibles por la poblaciones microbianas a lo largo del tiempo.



**Figura 4.1.72.**-Curvas acumulativas de desprendimiento de CO<sub>2</sub> en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo

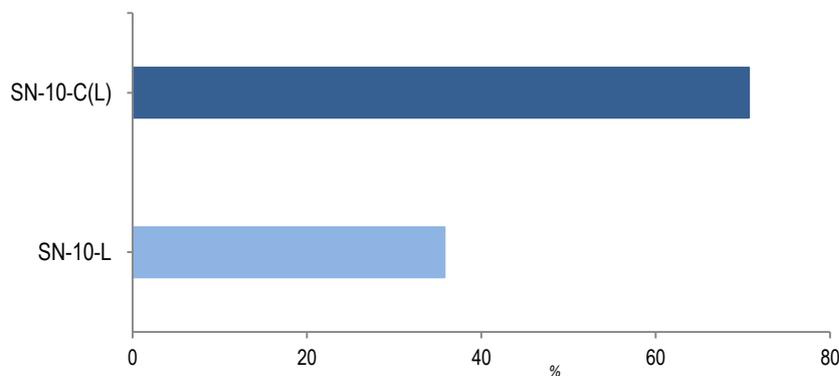
Considerando, la respiración microbiana de forma global a través de la respiración basal (Figura 4.1.73), se observó un comportamiento en la tasa de respiración por día similar al desprendimiento de CO<sub>2</sub> acumulativo. Se observaron valores significativamente mayores en las tasas de respiración de los suelos enmendados (L y

C(L)) que en los suelos control, y mayor en los suelos enmendados con compost respecto a los suelos que recibieron lodo fresco.



**Figura 4.1.73.**-Respiración basal en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Así, como podemos observar en la Figura 4.1.74, este un ensayo a medio-largo plazo (10 años) ha puesto de relieve que la adición a un suelo degradado semiárido de materia orgánica exógena, como son el lodo de depuradora y su compost, mejora las propiedades biológicas del mismo con efecto duradero en el tiempo. Estos resultados coinciden con los obtenidos en experimentos llevados a cabo a largo plazo con la adición de compost de diferente origen a suelos degradados, donde se observaron mejoras en las propiedades biológicas del suelo, con incrementos en la respiración basal (Ros y col., 2006; Tejada y col., 2006, 2009).



**Figura 4.1.74.** Porcentaje de variación de la respiración microbiana en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, L: lodo, C(L): compost de lodo

### Análisis de la estructura de la comunidad microbiana

En suelos semiáridos es frecuente que la biomasa microbiana se encuentre limitada por las reducidas entradas de residuos vegetales y la baja disponibilidad de agua (García y col., 2017). Generalmente, el nivel de biomasa correlaciona bien con la cantidad de carbono orgánico y también está estrechamente relacionado con el contenido en humedad en suelos de zonas secas.

Así, Bastida y col., (2008 a) en un ensayo de restauración de la calidad de un suelo semiárido degradado mediante la adición de residuos orgánicos, observaron un aumento de la biomasa microbiana de 1,6-3 veces en los suelos enmendados con respecto al control. En nuestro ensayo a medio-largo plazo (10 años) este incremento en la biomasa microbiana cuantificada como PLFAs totales (Figura 4.1.75) resultó en 0,92 y 1,82 veces en los suelos enmendados con lodo y compost de lodo respectivamente con respecto al control.

En cualquier caso, la comunidad microbiana no se ve influenciada solamente por la cantidad de COT, que es importante para la organización de la estructura de las comunidades bacterianas, sino también por su composición (Davinic y col., 2012). Este aspecto se corrobora en nuestro ensayo, ya que no se observa un mismo comportamiento de la comunidad microbiana en los suelos enmendados con lodo y en los enmendados con compost de lodo 10 años después de la incorporación de la enmienda.

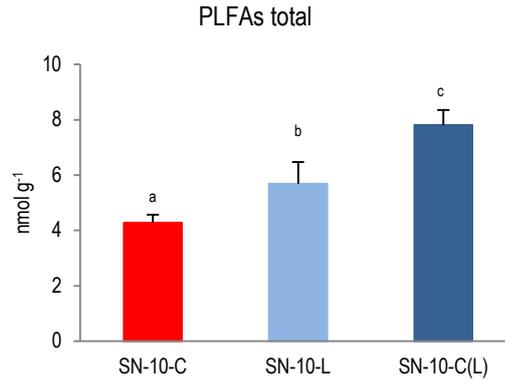
En general, se encontraron mayores diferencias significativas con respecto al control en la abundancia de los diferentes ácidos grasos estudiados, en los suelos enmendados con compost de lodo que en los enmendados con lodo fresco (Tabla 4.1.36). En concreto, no se observaron diferencias significativas entre los suelos enmendados y el control para los ácidos grasos C15, C16, y para uno de los ácidos grasos indicadores de actinobacterias 10Me18:0.

**Tabla 4.1.36.**-Abundancia de PLFAs (nmol g<sup>-1</sup>) en suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2

PLFAs (nmol g <sup>-1</sup> )	SN-10-C	SN-10-L	SN-10-C(L)
c14:0	0,11 (0,04) a	0,14 (0,02) ab	0,19 (0,01) b
i15:0	0,72 (0,08) a	1,30 (0,20) b	1,64 (0,16) b
a15:0	0,54 (0,05) a	0,60 (0,10) a	1,03 (0,15) b
c15:0	0,00 (0,00) a	0,03 (0,00) a	0,05 (0,00) a
c16:0	0,72 (0,06) a	1,00 (0,16) a	1,00 (0,23)a
10Me16:0	0,09 (0,02) a	0,09 (0,01) a	0,20 (0,00) b
c16:1w9	0,42 (0,09) a	0,66 (0,16) ab	0,92 (0,11) b
i17:0	0,52 (0,09) a	0,76 (0,16) a	1,11 (0,08) b
c17:0	0,08 (0,01) b	0,00 (0,00) a	0,00 (0,00) a
c18:0	0,30 (0,03) b	0,09 (0,01) a	0,24 (0,04) b
10Me18:0	0,02 (0,00) a	0,04 (0,00) a	0,02 (0,00) a
c18:1w9c	0,46 (0,00) a	0,61 (0,16) a	0,83 (0,10) b
c18:2w6,9t	0,07 (0,00) a	0,10 (0,00) b	0,10 (0,00) b
c18:2w6,9c	0,21 (0,02) a	0,19 (0,01) a	0,40 (0,02) b
c20:1w9	0,00 (0,00) a	0,06 (0,02) b	0,11 (0,01) c

SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

El suelo enmendado con lodo, además, tampoco mostraba diferencias significativas respecto al suelo control en la abundancia de los ácidos grasos a15:0, 10 Me16:0 (actinobacterias), i17:0 y C18:1w9c, ni para el ácido graso característico de poblaciones fúngicas (C18:2w6,9c), mientras que el suelo enmendado con compost mostraba una abundancia de todos estos ácidos grasos significativamente superior a la del suelo control. Por tanto, la diferencia en el desarrollo de la población microbiana causada por el aporte de la enmienda no es sólo cuantitativa sino también cualitativa.



**Figura 4.1.75.**-PLFAs totales en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: Lodo, C(L): compost lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

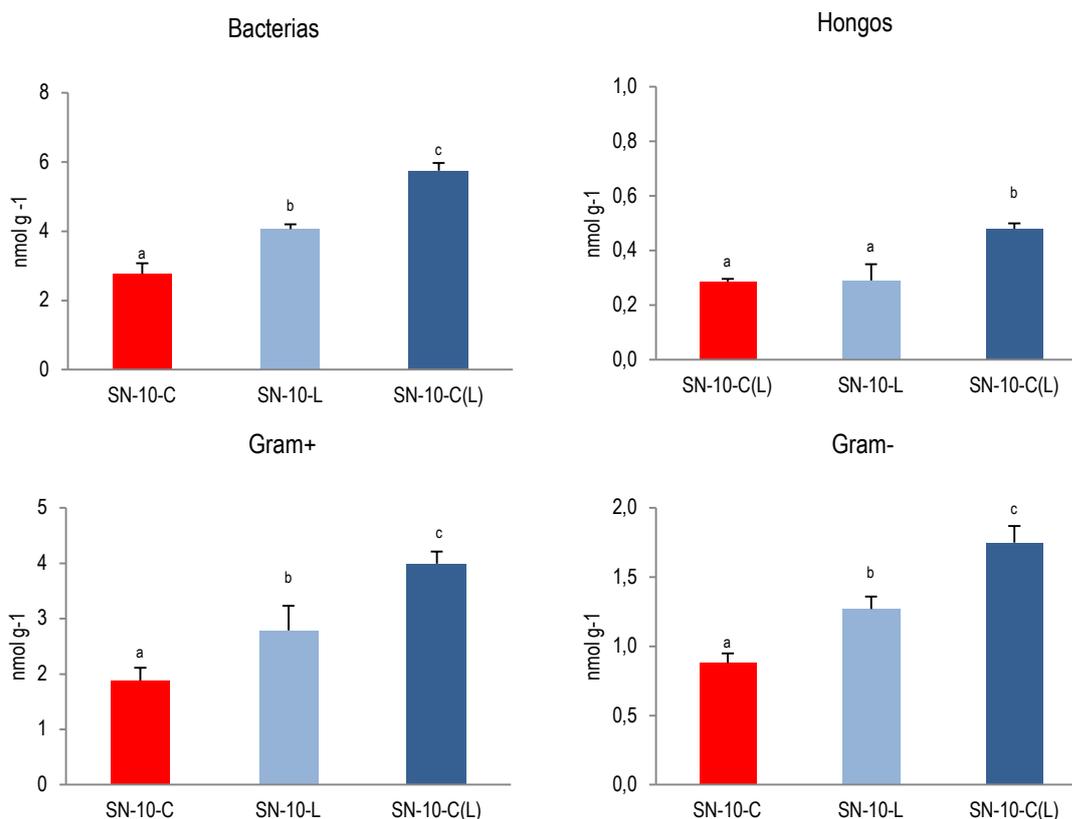
Como se puede observar en la Figura 4.1.75 existe una influencia positiva de las enmiendas orgánicas sobre la población microbiana en los suelos 10 años después de su incorporación, ya que se ha observado un incremento significativo en la cantidad de PLFAs totales respecto al suelo control en los suelos enmendados, particularmente en los suelos tratados con compost, posiblemente debido a la mayor cantidad de carbono aportada al suelo con esta enmienda.

Estos resultados coinciden con los indicados por Bastida y col., (2015), quienes en un ensayo a largo plazo en el que aplicaron lodo de depuradora compostado y sin compostar a un suelo degradado, observaron una mejora de las funciones del ecosistema junto al impacto en la funcionalidad celular de las poblaciones microbianas.

Así, estos resultados reflejan que las enmiendas orgánicas son capaces de seguir estimulando la población bacteriana y fúngica incluso 10 años después de la incorporación de la enmienda, ya que como se puede observar en la Figura 4.1.76, siguen presentándose mayor abundancia en Bacterias totales, Gram+ y Gram- tanto en el suelo enmendado con lodo como en el enmendado con compost de lodo.

Los suelos enmendados con C(L) presentaron un incremento significativo en la abundancia de población fúngica respecto al suelo control, al igual que observaron Montiel-Rozas y col. (2018), en un ensayo a largo plazo (13 años) de restauración de suelos con compost de biosólidos a dosis de 30 t ha<sup>-1</sup>.

Fioretto y col., (2000) en un estudio de descomposición de hojarasca en zonas mediterráneas de matorral, observaron que la actividad polifenoloxidasas estaba fuertemente correlacionada con la masa fúngica. En nuestro caso, el suelo tratado con compost que es el tratamiento que muestra mayor abundancia de poblaciones fúngicas es también el que muestra mayor actividad polifenol oxidasas.



**Figura 4.1.76.**-Bacterias, Hongos, Bacteria Gram<sup>+</sup> y Bacteria Gram<sup>-</sup> en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: Lodo, C(L): compost lodo. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Algunos autores han indicado que las bacterias Gram<sup>+</sup> tienen preferencia por el carbono más estable, mientras que las bacterias Gram<sup>-</sup> prefieren usar el material fresco de las plantas (Rethemeyer y col., 2005; Kramer y Gleixner 2008; Börjesson y col., 2012). Como podemos observar (Figura 4.1.76), 10 años después de la enmienda las concentraciones de Gram<sup>+</sup> eran significativamente superiores en los suelos enmendados que en el suelo control, siendo a su vez significativamente superior en los suelos enmendados con compost que en los enmendados con lodo.

Respecto a la abundancia de la población de bacterias Gram<sup>-</sup>, se observaron diferencias significativas tanto entre los suelos enmendados (tanto con lodo como con compost de lodo) y el suelo control, siendo a su vez la población de Gram<sup>-</sup> significativamente superior en los suelos enmendados con compost de lodo. Esta mayor abundancia de población de bacterias Gram<sup>-</sup> en los suelos enmendados con compost, puede estar relacionada con el mayor desarrollo de vegetación en estas parcelas.

Por otro lado, no se observaron cambios significativos entre el suelo control y los suelos enmendados en la relación Gram<sup>+</sup>/Gram<sup>-</sup>, si bien, los valores de este cociente mostraban una tendencia a un desarrollo preferencial de bacterias Gram<sup>+</sup> en los suelos enmendados. Sin embargo, si se apreciaron diferencias entre el

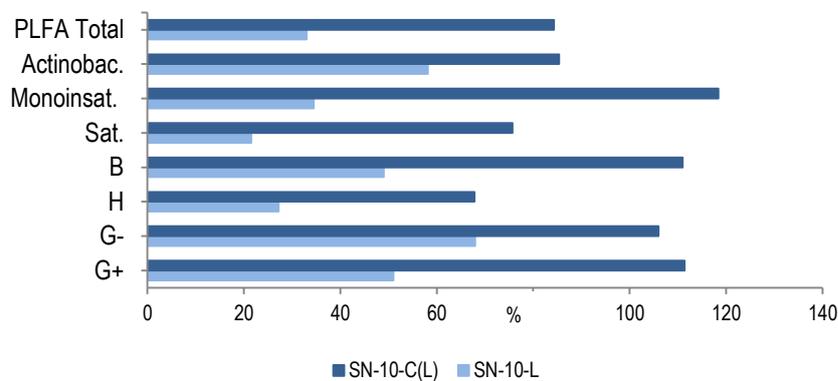
suelo control y los suelos enmendados para la relación Hongos/Bacterias y Saturados/Monoinsaturados (Tabla 4.1.37).

**Tabla 4.1.37** Relaciones bacterias, Gram+/ Gram-, Hongos/Bacterias y PLFAs saturados/monoinsaturados (Sat/Monoinsat.) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2

nmol g <sup>-1</sup>	Saturados	Monoinsat.	Actinobac.	Gram+/Gram-	Hongos/Bac.	Sat/Monoinsat.
SN-10-C	3,11 (0,20) a	0,88 (0,07) a	0,10 (0,03) a	2,13 (0,12) a	0,10 (0,00) b	3,53 (0,12) a
SN-10-L	4,05 (0,14) b	0,67 (0,05) a	0,12 (0,02) a	2,19 (0,25) a	0,07 (0,01) a	6,04 (0,84) b
SN-10-C(L)	5,47 (0,58) c	0,94 (0,07) a	0,21 (0,03) b	2,29 (0,25) a	0,08 (0,00) a	5,82 (0,41) b

SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Como se observa en la Figura 4.1.77, la adición de enmienda orgánica al suelo, tanto fresca (L), cómo estabilizada (C(L)) estimula el desarrollo y actividad de las poblaciones microbianas, manteniéndose este efecto positivo 10 años después de su incorporación, gracias a los cambios inducidos por la enmienda en las características y funcionalidad del suelo, que favorecen el desarrollo de una cubierta vegetal espontánea que asegura el aporte de nueva materia orgánica a este. Estos resultados sugieren la existencia de un “turnover” de nutrientes, incluso a largo plazo, que permite sostener una comunidad microbiana, incapaz de desarrollarse al mismo nivel en los suelos control sin ese aporte inicial de materia orgánica.



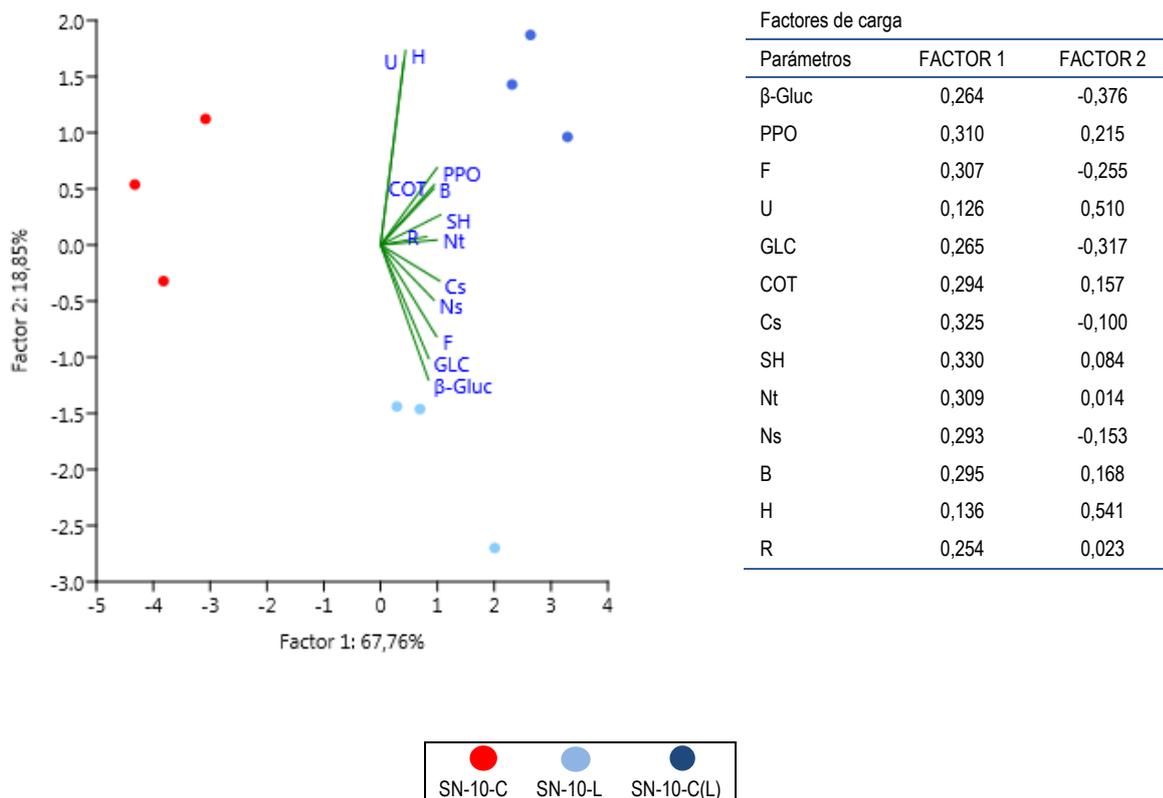
**Figura 4.1.77.** -Porcentaje de variación de los ácidos grasos de membrana de: hongos (H), bacterias (B), Gram+: G+ y Gram-: G-, PLFAs totales; Actinobacterias (Actinobac.); Monoinsaturados (Monoinsat.) y Saturados (Sat.) en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, L: lodo, C(L): compost de lodo

## ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN

La adición de enmiendas orgánicas a un suelo semiárido lleva asociado cambios en sus propiedades que estarán relacionados con la naturaleza y grado de estabilidad de estas. El análisis de componentes principales aplicado a diferentes características de los suelos enmendados y control, explicaba el 86,61% de la varianza, y ha sido capaz de encontrar un patrón que nos permita diferenciar los dos tratamientos estudiados respecto al suelo control.

El Factor 1, explicaba el 67,76% de la varianza y está relacionado positivamente con todos los parámetros sometidos a este análisis. El Factor 1 discriminó los suelos enmendados del suelo control, estableciendo

también diferencias entre el tratamiento con lodo y compost de lodo. El Factor 2 explicó el 18,85% de la varianza y discriminó las muestras de suelos en dos grupos; un grupo formado por el control y suelos enmendados con compost de lodo y un segundo grupo representado por los suelos enmendados con lodo fresco. Las diferentes fracciones de carbono como son COT, Cs y SH tuvieron un alto porcentaje de carga sobre el Factor 1 así como el Nt y Ns, mientras que por otro lado, la actividad ureasa y la población microbiana de hongos tenían un alto porcentaje de carga en el Factor 2.



**Figura 4.1.78.**-Análisis de componentes principales de actividad  $\beta$ -Glucosidasa ( $\beta$ -Gluc), actividad ureasa (U), actividad fosfatasa (F), actividad glicina aminopeptidasa (GLC), actividad polifenoloxidasas (PPO), carbono soluble en agua (Cs), carbono orgánico total (COT), carbono de las sustancias húmicas (SH), nitrógeno total (Nt), nitrógeno hidrosoluble (Ns), respiración acumulativa (R), bacterias (B) y hongos (H) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona Santomera-2. SN: suelo no agrícola, 10: años desde la enmienda, C: control, L: lodo, C(L): compost de lodo

Por tanto, cómo se muestra en la Figura 4.1.78, los suelos enmendados con compost de lodo, localizados en el cuadrante donde tanto el Factor 1 como el Factor 2 son positivos, presentan 10 años después de la incorporación de esta enmienda, una alta correlación con todas las variables consideradas. Por otra parte, los suelos enmendados con lodo fresco se localizan en el cuadrante donde los parámetros con mayor peso sobre el Factor 1 son positivos, pero F2 es negativo, de forma que los parámetros COT, SH, PPO, poblaciones fúngicas y bacterianas tienen menos peso en este suelo. Por último, el suelo control situado en el cuadrante donde el Factor 1 es negativo y el Factor 2 positivo, presenta valores muy bajos para todas las características consideradas y por tanto son los suelos con peor calidad.

Con el fin de conocer la interconexión existente entre los diferentes parámetros estudiados en estos suelos, se llevó a cabo un análisis de correlación cuyos resultados se muestran en la Tabla 4.1.38. Este análisis ha puesto de manifiesto la existencia de una correlación positiva con elevada significación ( $p < 0,01$ ), entre el contenido de carbono total del suelo y las fracciones de C, Cs y SH y actividad enzimática PPO, así como con las poblaciones de bacterias totales y Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup>. También se ha encontrado una correlación positiva pero con menor significación ( $p < 0,05$ ) entre el COT y los macronutrientes Pt y Nt así como con la actividad enzimática fosfatasa.

Por su parte, las actividades enzimáticas  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa, glicina aminopeptidasa y polifenoloxidasa presentan una elevada correlación con la concentración de Cs ( $p < 0,01$ ) que a su vez tiene elevadas correlaciones con las distintas fracciones del C (COT y SH) y con el nitrógeno soluble y nitratos. Llama la atención la correlación positiva con elevada significación ( $p < 0,01$ ) que presentan los nitratos con las propiedades físicas (CRH, CE) y con menor significación ( $p < 0,05$ ) con la EA y actividades enzimáticas  $\beta$ -glucosidasa y fosfatasa. Por su parte, la respiración microbiana está correlacionada ( $p < 0,05$ ) con las sustancias húmicas, carbono hidrosoluble, actividad fosfatasa y macronutrientes (Nt y Pt), así como con la estabilidad de agregados. Así, la interrelación entre la población microbiana del suelo y su capacidad fisiológica, queda reflejada por los coeficientes de correlación positivos entre las diferentes fracciones de carbono estudiadas (COT, Cs, SH) y los diferentes grupos de la población bacteriana (B, Gram<sup>+</sup>, Gram<sup>-</sup>, ACT) y la respiración.

Por su parte, la estabilidad de agregados correlacionó de manera positiva con la actividad hidrolítica fosfatasa, sustancias húmicas, Nt y NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; respiración microbiana ( $p < 0,05$ ) y nitrógeno soluble ( $p < 0,01$ ).

## **CONCLUSIONES PARCIALES**

*De este estudio podemos concluir que la mayor disponibilidad de nutrientes y de carbono orgánico gracias a la incorporación de las enmiendas orgánicas tanto frescas (lodo de depuradora) como estabilizadas (compost) al suelo degradado de zonas semiáridas, consiguió incrementar la actividad enzimática extracelular que media la adquisición de estos nutrientes desde la materia orgánica.*

*La aplicación de una enmienda menos estable (lodo de depuradora), produjo, en general, un menor efecto sobre las características del suelo a medio-largo plazo (10 años) que la aplicación de una enmienda más estabilizada como es el compost, que al contener mayor cantidad de compuestos menos biodegradables ofreció efectos más duraderos sobre la calidad del suelo.*

**Tabla 4.1.38.**-Correlaciones entre variables en los suelos de la zona Santomera-2. \*significación p<0,05, \*\*significación p<0,01

	CE	CRH	EA	D	CL	BG	PPO	F	U	GLC	COT	Cs	SH	Pt	Nt	Ns	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	R	Gram <sup>+</sup>	Gram <sup>-</sup>	B	H	
CE																							
CRH	0,86**																						
EA	0,90**	0,70*																					
D	-0,36	-0,37	-0,42																				
CL	-0,20	-0,27	-0,17	0,62																			
BG	0,60	0,44	0,58	-0,38	-0,47																		
PPO	0,26	0,17	0,59	-0,61	-0,22	0,51																	
F	0,65	0,55	0,70*	-0,56	-0,43	0,95**	0,69*																
U	0,04	0,03	0,26	-0,65	-0,12	-0,18	0,56	0,04															
GLC	0,55	0,37	0,58	-0,36	-0,13	0,88**	0,58	0,91**	-0,14														
COT	0,27	0,21	0,59	-0,59	-0,26	0,51	0,93**	0,69*	0,36	0,63													
Cs	0,42	0,32	0,59	-0,60	-0,41	0,84**	0,86**	0,94**	0,20	0,83**	0,83**												
SH	0,55	0,46	0,76*	-0,76*	-0,40	0,68*	0,92**	0,85**	0,50	0,70*	0,88**	0,90**											
Pt	0,38	0,27	0,57	-0,56	-0,58	0,80**	0,82**	0,84**	0,30	0,63	0,72*	0,91**	0,86**										
Nt	0,62	0,61	0,77*	-0,69*	-0,51	0,70*	0,82**	0,85**	0,42	0,59	0,75*	0,87**	0,92**	0,88**									
Ns	0,75*	0,52	0,82**	-0,50	-0,10	0,79*	0,70*	0,88**	0,25	0,85**	0,62	0,82**	0,84**	0,71*	0,78*								
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,86**	0,90**	0,69*	-0,24	-0,32	0,73*	0,20	0,73*	-0,20	0,60	0,22	0,49	0,49	0,46	0,63	0,65							
R	0,61	0,51	0,71*	-0,64	-0,63	0,61	0,63	0,69*	0,47	0,36	0,49	0,68*	0,76*	0,84**	0,90**	0,66	0,55						
Gram <sup>+</sup>	0,09	-0,03	0,39	-0,58	-0,31	0,60	0,93**	0,70*	0,43	0,64	0,87**	0,88**	0,85**	0,85**	0,70*	0,64	0,12	0,53					
Gram <sup>-</sup>	0,04	-0,02	0,38	-0,55	-0,25	0,48	0,94**	0,63	0,42	0,59	0,93**	0,82**	0,83**	0,76*	0,65	0,55	0,06	0,42	0,97**				
B	0,08	-0,02	0,40	-0,58	-0,28	0,56	0,94**	0,68*	0,44	0,63	0,90**	0,86**	0,85**	0,82**	0,69*	0,62	0,10	0,50	0,99**	0,99**			
H	-0,12	-0,15	0,27	-0,36	0,03	-0,17	0,67*	0,02	0,71*	-0,02	0,65	0,24	0,50	0,30	0,31	0,14	-0,29	0,20	0,58	0,70*	0,63		
ACT	0,10	0,00	0,24	-0,51	-0,30	0,73*	0,71*	0,76*	0,11	0,81**	0,73*	0,84**	0,72*	0,71*	0,53	0,62	0,22	0,30	0,88**	0,84**	0,87**	0,28	

CE: conductividad eléctrica; CRH: capacidad de retención hídrica, EA: estabilidad de agregados; D: densidad, CL: celulosa β-G: β-glucosidasa, F: fosfatasa; U: ureasa; GLC: glicina-aminopeptidasa; PPO: polifenoloxidasa, Cs: carbono hidrosoluble; Nt: nitrógeno total, Ns: nitrógeno hidrosoluble; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitratos; COT: carbono orgánico total; SH: sustancias húmicas; Pt: fósforo total, R: desprendimiento acumulativo de CO<sub>2</sub>; B: bacterias; H: hongos Gram<sup>+</sup>: Gram-positiva; Gram<sup>-</sup>: Gram-negativa; ACT: actinobacterias

*Cabe destacar por tanto, la capacidad que tienen estos suelos degradados para responder positivamente a programas de restauración que incluyen la adición de materia orgánica de diferente grado de estabilidad y su potencial capacidad para secuestrar carbono mediante el desarrollo de formas complejas de lenta descomposición que a su vez permiten desarrollar una significativa población microbiana.*

*Por tanto, a la luz de estos resultados podemos afirmar que estas enmiendas orgánicas ayudan a preservar y a mejorar la calidad y fertilidad de los suelos degradados de estas áreas y que a largo plazo la enmienda estabilizada es más efectiva que la fresca.*

## **C. EXPERIMENTOS A LARGO PLAZO**

### **ESTUDIO DEL EFECTO DE LA DOSIS DE ENMIENDA APLICADA**

De entre todos los tipos de residuos orgánicos que se generan, las basuras domiciliarias presentan una de las incidencias más significativas. Se producen diariamente y su vertido incontrolado da lugar a la agresión estética del entorno y la ocupación desordenada del terreno, inutilizándolo para otros usos (García, 1990).

El objetivo principal de usar la fracción orgánica de las basuras domiciliarias como fuente de materia orgánica, es mejorar la fertilidad del suelo, al tiempo que con ello se consigue eliminar dichos residuos de una manera racional y respetuosa con el medio ambiente. Así, la adición de esta fracción orgánica al suelo es considerada como una posible estrategia en la rehabilitación de suelos degradados. Con ello, también se busca favorecer el secuestro de carbono, mediante el aumento del *pool* de carbono estable en el suelo, ayudando a mitigar los efectos negativos derivados de las emisiones de CO<sub>2</sub> a la atmósfera (Swift, 2001).

Con este fin, hace más de 28 años, dentro del Proyecto LUCDEME (Lucha Contra la Desertificación del Mediterráneo) financiado por ICONA, se establecieron cinco parcelas experimentales (3×5 m), situadas en pendiente, que no habían sido usadas nunca con fines agrícolas. A estas parcelas se adicionó la fracción orgánica de basuras domiciliarias, estabilizadas durante unos 20 días, en diferentes concentraciones (65, 130, 195 y 260 t ha<sup>-1</sup>), con el fin de aumentar la materia orgánica del suelo en un 0,5, 1, 1,5 y 2 % respectivamente, en comparación con el suelo control sin enmendar.

Las parcelas experimentales (Figura 4.1.79) están localizadas en Abanilla (Murcia), en un área duramente afectada por procesos de degradación. El clima de esta zona es cálido semiárido, con una baja media anual de precipitaciones (300 mm), temperatura media de unos 17°C y elevada tasa de evapotranspiración de 1000 mm año<sup>-1</sup>. El suelo estudiado está pobremente desarrollado a partir de margas y se clasifica como Regosol cálcico (FAO, 2006). La vegetación en esta área es un matorral abierto (2%-4%) de apariencia desértica (Albadalejo y col., 2000). Las características del suelo control se detallan en la Tabla 4.1.39.

**Tabla 4.1.39.**-Características del suelo control de la zona de Abanilla

Parámetros	Suelo control
pH*	7,82
Conductividad Eléctrica* (25°C), dS m <sup>-1</sup>	0,64
Carbono Orgánico Total, g kg <sup>-1</sup>	5,20
Nitrógeno total, g 100g <sup>-1</sup>	0,16
Fósforo total, mg kg <sup>-1</sup>	637
Potasio total, g 100g <sup>-1</sup>	0,90
Carbonatos, g 100g <sup>-1</sup>	54,8
Sulfatos, meq g <sup>-1</sup>	0,27
Cloruros, meq g <sup>-1</sup>	0,05
Textura	Arcillo-arenosa

\*Determinados en extracto acuoso (1:5)

**Figura 4.1.79.**-Distribución de las parcelas experimentales de la zona de Abanilla

La fracción orgánica de las basuras domiciliarias, usada como enmienda orgánica en estas parcelas hace 28 años, no sufrió compostaje o molienda, tan solo 20 días de maduración natural. Los inertes de esta fracción orgánica de basuras fueron eliminados previamente mediante tamizado antes de ser incorporados al suelo. La enmienda orgánica se incorporó a la capa arable del suelo (15-20 cm) con la ayuda de un rotovator. Las dosis utilizadas (65, 130, 195 y 260 t ha<sup>-1</sup>), eran mayores que las empleadas habitualmente en ensayos agrícolas, ya que el fin último era la recuperación de un suelo altamente degradado (Tabla 4.1.40).

**Tabla 4.1.40.**-Nomenclatura y descripción de los tratamientos aplicados en los suelos de la zona de Abanilla

TRATAMIENTO	DESCRIPCION	DOSIS (t ha <sup>-1</sup> )	
SN-28-C	Parcela sin enmienda	0	■
SN-28-Bd1	Fracción orgánica de basuras domiciliarias	65	■
SN-28-Bd2	Fracción orgánica de basuras domiciliarias	130	■
SN-28-Bd3	Fracción orgánica de basuras domiciliarias	195	■
SN-28-Bd4	Fracción orgánica de basuras domiciliarias	260	■

Todos los tratamientos se realizaron por triplicado. La capa arable de las parcelas sin enmienda también fue removida con el rotovator, con el fin de que no existiesen diferencias en el manejo entre los diferentes tratamientos. La enmienda fue incorporada en su totalidad en una única aplicación al comienzo del experimento.

Los resultados que se presentan en este trabajo de Tesis Doctoral corresponden a los valores medios obtenidos de los triplicados de las parcelas de cada tratamiento y parcelas control a los 28 años de la incorporación de la enmienda al suelo. Veintiocho años después de la adición de la enmienda, en cada parcela se tomaron 8 submuestras recogidas en los 15-20 cm superficiales donde el desarrollo y actividad microbiana es más representativa, recorriendo la parcela en zig-zag. Estas 8 submuestras posteriormente fueron mezcladas y homogeneizadas para constituir una única muestra final por parcela. Las muestras, finalmente, tras retirar restos vegetales, fueron tamizadas por tamiz <2mm y almacenadas a 4°C y -18°C hasta realización, respectivamente, de sus correspondientes análisis físicos, físico-químicos, químicos y bioquímicos, y microbiológicos.

Como ya se ha comentado anteriormente, el residuo orgánico empleado consistió en un material mínimamente compostado, con el fin de que esta enmienda ejerciese una rápida respuesta en el suelo, que presentaba un elevado grado de degradación. Las características del residuo empleado se detallan en la Tabla 4.1.41.

**Tabla 4.1.41.-**Principales características de la enmienda orgánica aplicada en los suelos de la zona de Abanilla <sup>1</sup>

Parámetro	Valores límites UE <sup>2</sup>	
pH	6,5	
Conductividad Eléctrica, dS m <sup>-1</sup>	4,0	
Carbono Orgánico Total, g kg <sup>-1</sup>	242,0	
Carbono Sustancias Húmicas, g kg <sup>-1</sup>	26,0	
Nitrógeno total, g kg <sup>-1</sup>	13,0	
Fósforo total, g kg <sup>-1</sup>	5,5	
Potasio total, g kg <sup>-1</sup>	4,2	
Níquel total, mg kg <sup>-1</sup>	328,21	400
Cromo total, mg kg <sup>-1</sup>	365,29	1500
Zinc total, mg kg <sup>-1</sup>	650,17	4000
Cobre total, mg kg <sup>-1</sup>	237,21	1750
Cadmio total, mg kg <sup>-1</sup>	2,0	40
Plomo total, mg kg <sup>-1</sup>	235,87	1200

<sup>1</sup>Fuente: García y col. (1992); <sup>2</sup>Directiva Europea 86/278/CEE

Tanto en las parcelas de suelo control como en las enmendadas se desarrolló de forma espontánea una cubierta vegetal (Figura 4.1.80). Precisamente el desarrollo de vegetación propicia que se vayan incorporando restos orgánicos al suelo, favoreciendo la actividad y el desarrollo microbiano, y mejorando la estructura del suelo, consiguiendo un “*feed-back*” positivo incluso a largo plazo. Con el desarrollo de plantas no se conseguiría teóricamente solo mejorar la estructura del suelo a nivel edáfico, sino que se mejorarían las condiciones físicas y biológicas en estos suelos tan “*frágiles*”, contribuyendo globalmente a la mejora del ecosistema, actuando como sumidero de carbono.



CONTROL

SN-28-Bd1

SN-28-Bd2

SN-28-Bd3

SN-28-Bd4

**Figura 4.1.80.**-Cubierta vegetal desarrollada en las parcelas de la zona de Abanilla, 28 años después de la aplicación de las enmiendas al suelo

En el momento del muestreo 28 años después de la aplicación de las enmiendas, la densidad de cobertura vegetal en los suelos enmendados era, en general, ligeramente superior a la del suelo control, y si bien no se observaban grandes diferencias entre tratamientos, la densidad de cobertura vegetal tendía a incrementar con el incremento de la dosis aplicada (Figura 4.1.80).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### PARÁMETROS AGRONÓMICOS

#### Parámetros físicos y fisicoquímicos

La aplicación de materiales orgánicos al suelo, mejora sus propiedades físicas gracias al incremento en su porosidad y retención de agua, entre otros factores. El uso de enmiendas orgánicas para mejorar la calidad del suelo y restaurar zonas degradadas ha sido ampliamente estudiado (García y col., 1992; Tejada y col., 2006; Bastida y col., 2007). La aplicación de estas enmiendas mejora generalmente la agregación del suelo (Albiach, 2001) y por lo tanto su estructura física (Caravaca, 2002).

La materia orgánica amortigua el suelo contra grandes cambios en el pH, bien tomando o liberando  $H^+$ , haciendo la concentración de  $H^+$  en el suelo más constante. El resultado es un pH más próximo a la neutralidad (Cooperband, 2002). El pH del suelo control, que al inicio del ensayo era 7,82 (Tabla 4.1.39) ha incrementado con el tiempo, pasando a ser después de 28 años 8,87.

El pH del suelo tratado con la dosis más baja de enmienda era similar al del suelo control, mientras que los suelos del resto de los tratamientos mostraban valores de pH inferiores a los del control y la dosis baja de enmienda (Bd1), siendo las diferencias estadísticamente significativas para los suelos tratados con las dosis más elevadas de enmienda (Bd3 y Bd4) (Tabla 4.1.42).

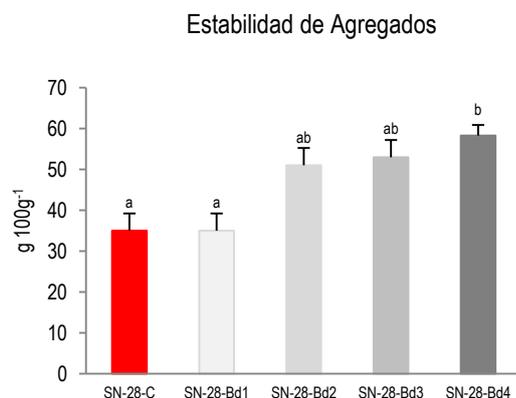
**Tabla 4.1.42.**-Valores de pH, densidad y capacidad de retención hídrica (CRH) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla

	pH	Densidad g cm <sup>-3</sup>	CRH g 100g <sup>-1</sup>
SN-28-C	8,87 (0,12) b	0,94 (0,02) b	40,00(0,00) a
SN-28-Bd1	8,96 (0,12) b	0,94 (0,06) b	46,33 (2,89) b
SN-28-Bd2	8,40 (0,52) ab	0,95(0,03) b	49,00 (0,00) b
SN-28-Bd3	8,07 (0,02) a	0,87(0,02) a	51,33 (2,89) b
SN-28-Bd4	8,06 (0,02) a	0,87(0,04) a	51,67 (0,04) b

SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria; d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>; d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Por tanto, durante este periodo largo de tiempo, la materia orgánica incorporada a través de la enmienda ha sido capaz de amortiguar esta tendencia natural del suelo de esta zona a incrementar su pH, siendo el efecto significativamente mayor en el caso de las dosis más altas Bd3 y Bd4. Asimismo, estas dosis altas (Bd3 y Bd4) han sido capaces de mantener una densidad del suelo significativamente inferior a la del suelo control y una capacidad de retención hídrica (CRH) significativamente superior para todas las dosis estudiadas (Bd1-Bd4) (Tabla 4.1.42).

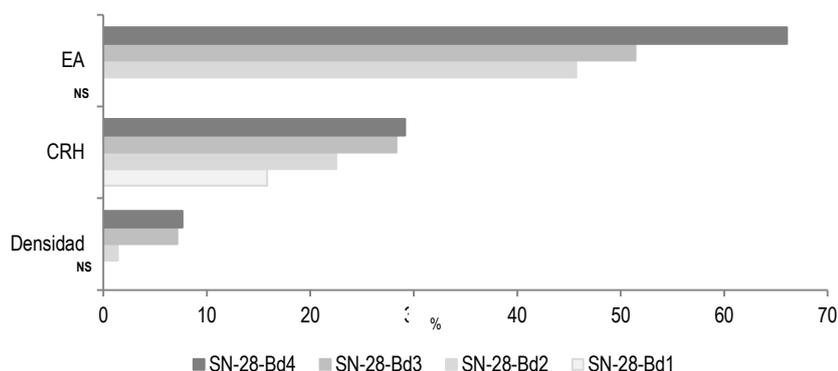
La estabilidad de agregados también aumentó con la dosis. En este caso en el tratamiento con dosis alta (Bd4) fue donde se observaron los valores significativamente más altos (Figura 4.1.81). Las dosis Bd3 y Bd2 también alcanzaron valores significativamente superiores al suelo control y al tratamiento con dosis baja (Bd1) que no mostraron diferencias significativas entre ellos. Cuando la materia orgánica fresca es incorporada al suelo, los microorganismos liberan azúcares de cadena larga o polisacáridos rápidamente. Estos polisacáridos, a su vez, favorecen la formación de macro-agregados. Como la materia orgánica se descompone a largo plazo, se forman agregados de diferente tamaño y favorecen la resistencia a la rotura física (Cooperband, 2002; Lamey y col., 2009).



**Figura 4.1.81.**-Porcentaje de agregados estables en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Estos resultados concuerdan con las observaciones de Albadalejo y col., (2008), quienes 16 años después de la realización de la enmienda observaron, en estos mismos suelos, valores superiores de capacidad de retención hídrica y estabilidad de agregados y valores inferiores de densidad en las parcelas restauradas que en las parcelas control.

Así, se pone de manifiesto con este experimento a largo plazo (28 años), cómo una sola aplicación de esta enmienda orgánica ha conseguido mejorar las propiedades físicas del suelo, siendo los porcentajes de variación de estabilidad de agregados y capacidad de retención hídrica significativos respecto al suelo control (Figura 4.1.82).



**Figura 4.1.82.**-Porcentaje de variación en los agregados estables (EA), capacidad de retención hídrica (CRH) y densidad de los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. NS: diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

## Contenido en materia orgánica y parámetros nutricionales

### Materia orgánica

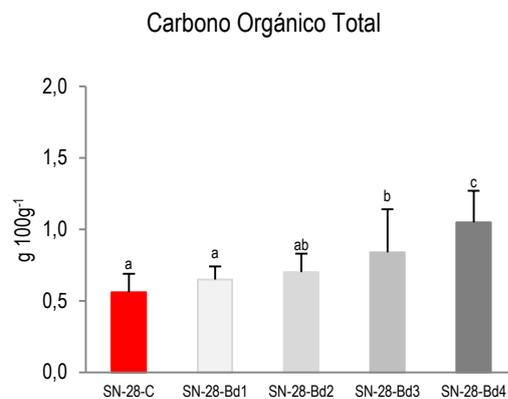
En general, la respuesta a las enmiendas aplicadas se espera que varíe con el nivel de degradación inicial del suelo. En principio, los suelos con muy bajo contenido en materia orgánica, como el suelo de Abanilla, se podrían beneficiar más de la enmienda orgánica, que aquellos que presentan un contenido en carbono mayor. Así, de acuerdo con Six y col., (2002), los suelos con bajo contenido en carbono orgánico deberían tener una mayor eficiencia en la estabilización de carbono que aquellos con mayor contenido.

Aunque hay un límite en la cantidad de carbono que puede ser almacenado en el suelo, las elevadas pérdidas de C de muchos suelos degradados indican que estos suelos potencialmente pueden almacenar C orgánico. Para conseguirlo, los suelos degradados retienen parte del C incorporado como enmienda, al transformarlo en metabolitos por la microflora del suelo, de esta manera, es capaz de asociarse con la fracción mineral de este y así, consigue protegerse contra la descomposición microbiana (Larney y col., 2009; García y col., 2012 a; Nicolás y col., 2012).

Para que perdure el efecto de la enmienda en el suelo a largo plazo, esta materia orgánica exógena debe ser protegida como ya hemos comentado, contra la degradación microbiana, bien mediante mecanismos físico-químicos gracias a la formación de agregados o bien mediante la estabilización bioquímica, a través de la transformación de los compuestos orgánicos en otros compuestos químico más resistentes, como el proceso de formación de sustancias húmicas (Stevenson ,1994; Fernández y col., 2009).

En cuanto al contenido de carbono orgánico total (COT) (Figura 4.1.83), se observó, 28 años después de la adición de la enmienda, un incremento en los suelos enmendados con respecto al suelo control a todas las dosis aplicadas, siendo este aumento significativo a partir de la dosis de enmienda Bd2 (130 t ha<sup>-1</sup>), ya que para la dosis inferior de enmienda (65 t ha<sup>-1</sup>) aunque se observó un ligero aumento (0,65 g 100g<sup>-1</sup>) respecto al suelo control (0,56 g 100 g<sup>-1</sup>), éste no llegó a ser significativo. Estos resultados coinciden con los obtenidos para la estabilidad de agregados (Figura 4.1.81), por lo que esta protección física podría ayudar a explicar, que tras un largo periodo de tiempo (28 años) de la aplicación de las enmiendas, las concentraciones en COT continúen siendo superiores a la del suelo sin enmendar.

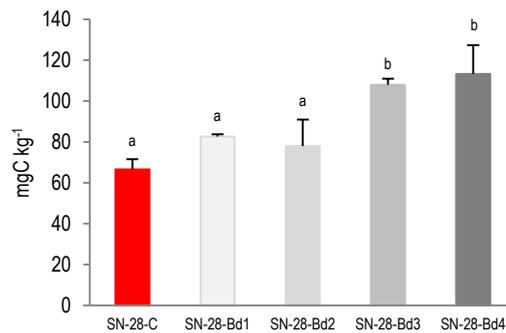
Por otro lado, la incorporación de residuo orgánico, también permitió el desarrollo de una cubierta vegetal estable (Figura 4.1.80), que si bien, no presentaba una elevada densidad en el momento del muestreo, fue superior en las parcelas enmendadas que en las parcelas control sin enmienda. Este hecho deriva en un incremento de las entradas de carbono al suelo, gracias a la incorporación de restos vegetales y exudados radiculares (Campbell y Zentner, 1993), favoreciendo la formación de materia orgánica en el suelo (García y col., 1992).



**Figura 4.1.83.-**Contenido de carbono orgánico total en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria; d1: 65 t ha<sup>-1</sup>; d2: 130 t ha<sup>-1</sup>; d3: 195 t ha<sup>-1</sup>; d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En la fracción de carbono hidrosoluble (Figura 4.1.84), se observaron diferencias significativas con el suelo control en los suelos enmendados con las dosis más elevadas de enmienda (195 y 260 t ha<sup>-1</sup>) mientras que no se observaron diferencias con las dosis inferiores (65 y 130 t ha<sup>-1</sup>).

### Carbono Hidrosoluble

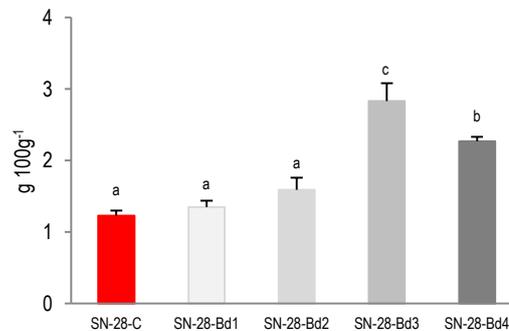


**Figura 4.1.84.**-Contenido de carbono hidrosoluble en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basuras domiciliarias, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En todos los casos, los incrementos no fueron proporcionales a las dosis aplicadas. La fracción de carbono hidrosoluble, contiene compuestos fácilmente metabolizables que actúan como fuente de energía para los microorganismos, degradándose rápidamente.

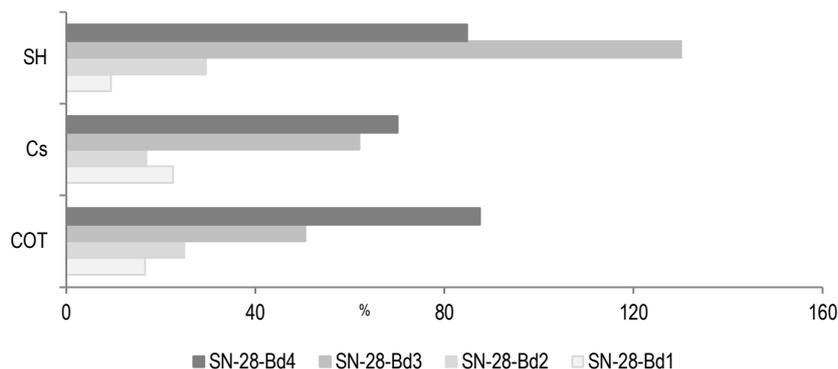
Por último, en cuanto a la fracción de carbono correspondiente a las sustancias húmicas (SH) (Figura 4.1.85), solamente se observaron concentraciones significativamente superiores al suelo control para las dosis más elevadas Bd3-Bd4, con la particularidad de que la mayor concentración en SH se detectó en los suelos enmendados con la dosis de 195 t ha<sup>-1</sup> (Bd3).

### Carbono Sustancias Húmicas



**Figura 4.1.85.**-Contenido de carbono de sustancias húmicas en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basuras domiciliarias, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Finalmente, en cuanto a las diferentes fracciones de carbono estudiadas, se observó, en general, un incremento en todas ellas con la adición de la enmienda respecto al suelo control, 28 años después de su incorporación (Figura 4.1.86). Este incremento fue evidente para las dosis más elevadas (195 y 260 t ha<sup>-1</sup>) para todas las fracciones (COT, Cs y SH).



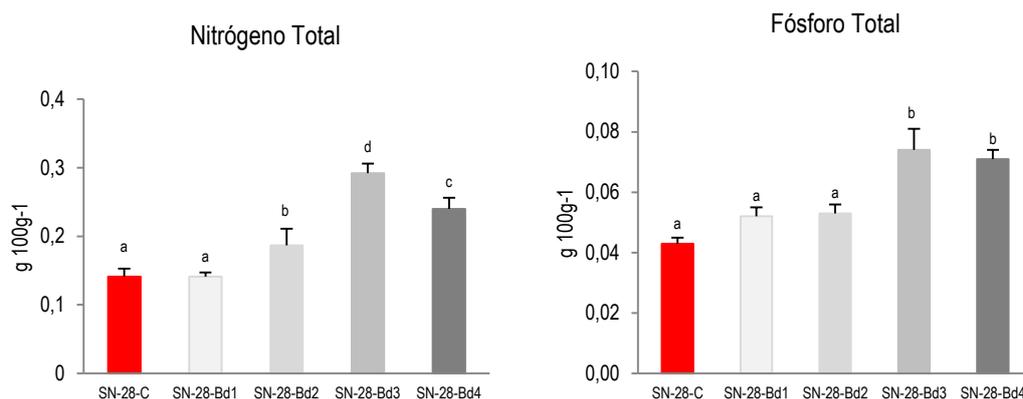
**Figura 4.1.86.**-Porcentaje de variación de las diferentes fracciones de carbono, carbono hidrosoluble (Cs), sustancias húmicas (SH) y carbono orgánico total (COT), en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, B: fracción orgánica basuras domiciliarias, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>

Estos resultados nos confirman la capacidad de estos suelos degradados para secuestrar o almacenar carbono, contribuyendo a mantener mayores concentraciones de materia orgánica, y por tanto, a mejorar su calidad. Sin embargo, aunque todas las fracciones de C fueron mayores en los suelos enmendados a dosis altas (Bd3 y Bd4), los incrementos no fueron proporcionales a las dosis aplicadas, lo que nos hace pensar en la posible existencia de un umbral, por encima del cual el suelo no es capaz de almacenar más carbono aunque se incremente la dosis aplicada. La mayor concentración de N se encontró en el tratamiento Bd3 (0,29 g 100g<sup>-1</sup>) seguido de Bd4 (0,24 g 100g<sup>-1</sup>) y Bd2 (0,18 g 100g<sup>-1</sup>).

### **Parámetros nutricionales**

Las enmiendas orgánicas contienen nitrógeno en un amplio rango de concentraciones (Lashermes y col., 2010). Diversos autores han indicado que la fracción orgánica de las basuras domiciliarias aumenta los contenidos en macro y micronutrientes del suelo, debido a que estos se presentan en cantidades importantes en el mencionado residuo (Ayuso y col., 1996; Tejada y col., 2006; O'Dell y col., 2007). Estos materiales aportan el nitrógeno y fósforo mayoritariamente en forma orgánica, mientras que el resto de macronutrientes son aportados en forma inorgánica.

La fracción orgánica de basura empleada como enmienda orgánica en este ensayo presentaba un contenido inicial de Nt de 13 g kg<sup>-1</sup> y de fósforo total de 0,6 g kg<sup>-1</sup>. A excepción del suelo enmendado a la dosis más baja, todos los suelos enmendados presentaban contenidos de N total significativamente superiores al del suelo control (Figura 4.1.87). La mayor concentración de N se encontró en el tratamiento Bd3 (0,29 g 100g<sup>-1</sup>) seguido de Bd4 (0,24 g 100g<sup>-1</sup>) y Bd2 (0,18 g 100g<sup>-1</sup>).



**Figura 4.1.87** -Contenido de nitrógeno total y fósforo total en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Por su parte, el contenido de fósforo total era significativamente mayor en los suelos tratados a dosis altas (Bd3 y Bd4) que en el suelo control y suelos enmendados con Bd1 y Bd2, los cuales, no mostraron diferencias significativas con el control.

En cuanto al contenido en K y calcio (Tabla 4.1.43), se observaron diferencias significativas en el contenido en potasio entre el suelo control y los suelos enmendados, pero las concentraciones determinadas no presentaron relación directa con la dosis de enmienda aplicada, alcanzando el valor más elevado (1,011 g 100g<sup>-1</sup>) en el tratamiento Bd2. En cambio, no se observaron diferencias significativas entre los suelos enmendados y el control en cuanto al contenido de calcio.

**Tabla 4.1.43.**-Contenido de potasio (K) y calcio (Ca) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla

	K g 100g <sup>-1</sup>	Ca g 100g <sup>-1</sup>
SN-28-C	0,762 (0,069) a	18,6 (2,8) a
SN-28-Bd1	0,904 (0,065) ab	18,3 (1,7) a
SN-28-Bd2	1,011 (0,062) b	18,9 (2,3) a
SN-28-Bd3	0,921 (0,069) ab	16,6 (2,8) a
SN-28-Bd4	0,982 (0,075) b	17,1 (0,8) a

SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Entre los micronutrientes estudiados (Tabla 4.1.44), los suelos enmendados con dosis medias altas (Bd2-Bd4), presentaron valores significativamente más elevados en Mn y S, no existiendo diferencias entre tratamientos en el resto de elementos.

**Tabla 4.1.44.**-Contenido de magnesio (Mg), manganeso (Mn), aluminio (Al) azufre (S) y hierro (Fe) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla

	Mg g 100g <sup>-1</sup>	Mn g 100g <sup>-1</sup>	Al g 100g <sup>-1</sup>	S g 100g <sup>-1</sup>	Fe g 100g <sup>-1</sup>
SN-28-C	1,5 (0,3) a	210 (39) a	2,4 (0,5) a	0,18 (0,02) a	16795 (6474) a
SN-28-Bd1	1,4 (0,4) a	220 (21) a	2,5 (0,2) a	0,18 (0,01) a	14949 (1527) a
SN-28-Bd2	1,9 (0,5) a	276 (34) ab	2,7 (0,2) a	0,45 (0,20) ab	18146 (983) a
SN-28-Bd3	1,8 (0,4) a	287 (58) ab	2,6 (0,4) a	0,43 (0,05) ab	15310 (2093) a
SN-28-Bd4	2,8 (0,3) a	339 (35) b	2,7 (0,2) a	0,63 (0,21) b	17619 (253) a

SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basuras domiciliarias, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Así, a pesar de la mineralización que sufre la materia orgánica con el tiempo, 28 años después de la aplicación de la enmienda, el contenido en Nt y Pt era significativamente superior al suelo al del control en los suelos tratados con las dosis más elevadas de enmienda. Tenemos que considerar que, tras una mineralización inicial rápida, la enmienda se habrá ido mineralizando más lentamente a lo largo del tiempo, y que la cubierta vegetal creada ha supuesto un aporte continuado de materia orgánica y de nutrientes en estos suelos.

### PARÁMETROS AMBIENTALES

Cómo hemos visto hasta el momento a lo largo del este capítulo, el empleo de la fracción orgánica de las basuras domiciliarias como enmienda orgánica, aplicada en suelos degradados en una única adición, 28 años antes, a diferentes dosis (Bd1-Bd4), consigue mejorar las propiedades físicas, físico-químicas y químicas de estos suelos. Pero, a pesar de sus beneficios potenciales, estas enmiendas deben ser empleadas con cautela, ya que debido a su naturaleza no siempre supone una mejora en la calidad del suelo.

Así, como se muestra en la Tabla 4.1.45, la incorporación de esta enmienda al suelo ha producido un incremento significativo en los valores de CE a partir de la dosis Bd2 respecto al suelo control y el suelo enmendado con dosis baja (Bd1), contribuyendo por tanto a la salinización del suelo, ya que la enmienda presenta una elevada conductividad eléctrica (4 dS m<sup>-1</sup>), y las escasas lluvias características de estas zonas semiáridas, no consiguen lavar las sales aportadas por la enmienda, incluso en largos periodos de tiempo (28 años). La concentración en Na<sup>+</sup> así como de nitratos, era también significativamente superior en todos los suelos enmendados que en el suelo control.

En el caso de los nitratos, no existe una relación directa entre su concentración y la dosis de enmienda aplicada al suelo ya que el suelo enmendado con la dosis más baja (Bd1) presentaba una concentración de nitratos superior a la del suelo enmendado a dosis d2 (Bd2). Por otro lado, la mayor concentración se detectó en el tratamiento Bd3, coincidiendo con los valores de Nt en estos suelos (Figura 4.1.87), pudiendo existir por tanto, un umbral en la tasa de mineralización.

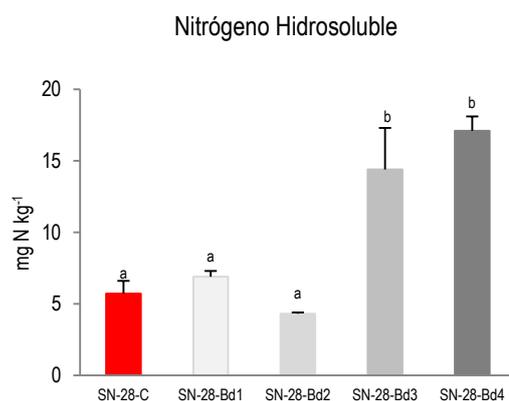
**Tabla 4.1.45.**-Valores de conductividad eléctrica (CE), sodio (Na<sup>+</sup>) y nitratos en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla

	CE μS cm <sup>-1</sup>	Na <sup>+</sup> g 100g <sup>-1</sup>	Nitratos mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> kg <sup>-1</sup>
SN-28-C	162 (6) a	0,038 (0,001) a	67,8 (6,4) a
SN-28-Bd1	200 (19) a	0,046 (0,004) b	113,9 (12,7) c
SN-28-Bd2	2290 (124) b	0,055 (0,003) c	84,2 (3,1) b
SN-28-Bd3	2403 (147) b	0,060 (0,004) c	226,6 (0,9) d
SN-28-Bd4	2523 (87) b	0,061 (0,001) c	189,1 (1,0) e

SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

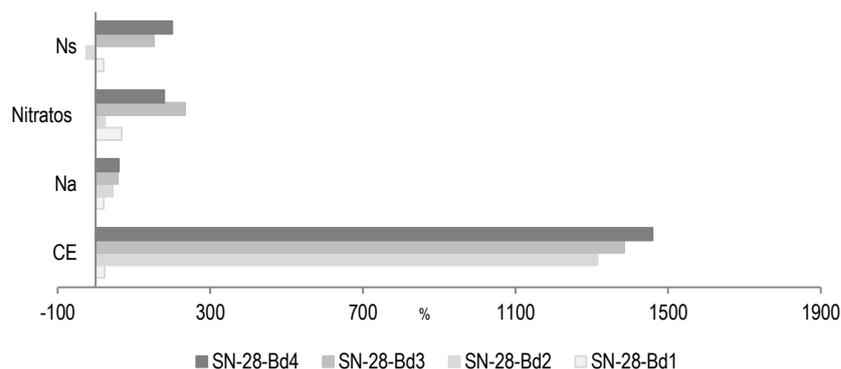
La concentración de N hidrosoluble (Ns) (Figura 4.1.88), era significativamente superior en los suelos enmendados a dosis altas (Bd3-Bd4), no existiendo diferencias entre los suelos enmendados Bd1 y Bd2 y el suelo control.

Mediante este parámetro estamos determinado la concentración de N mineral soluble en agua y por tanto disponible para las plantas, coincidiendo los mayores valores con las parcelas con un mayor desarrollo de cobertura vegetal.



**Figura 4.1.88.**-Contenido de nitrógeno hidrosoluble en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

Finalmente, como se puede observar en la Figura 4.1.89, existe en los suelos enmendados un gran incremento, en relación al control, en cuanto a los valores de CE. Para el resto de parámetros Na<sup>+</sup>, nitratos y Ns estos incrementos, aun siendo significativos respecto al control, son bastante inferiores a los observados para la CE. Por otro lado, también podemos observar cómo para las dosis más altas de residuo (Bd3 y Bd4), no siempre existe una relación directa entre el parámetro y la dosis aplicada.



**Figura 4.1.89.**-Porcentaje de variación de la conductividad eléctrica (CE), sodio (Na<sup>+</sup>), nitrógeno hidrosoluble (Ns) y nitratos en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, B: fracción orgánica basura domiciliaria; d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>

El contenido en metales pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn) fue significativamente superior en los suelos enmendados a todas las dosis (Bd1-Bd4) respecto al suelo control (Tabla 4.1.46). No obstante, su concentración se presenta por debajo de los límites marcados por la legislación de la Unión Europea (Directiva Europea 86/278/CEE), no suponiendo ningún perjuicio para el desarrollo microbiano.

**Tabla 4.1.46.**-Contenido en metales pesados en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla

	Cd mg kg <sup>-1</sup>	Cr mg kg <sup>-1</sup>	Cu mg kg <sup>-1</sup>	Ni mg kg <sup>-1</sup>	Pb mg kg <sup>-1</sup>	Zn mg kg <sup>-1</sup>
SN-28-C	0,017 (0,013) a	26,2 (1,8) a	12,1 (1,1) a	13,9 (1,1) a	10,4 (0,7) a	36,7 (1,5) a
SN-28-Bd1	0,249 (0,031) b	30,8 (1,8) ab	16,6 (1,8) b	17,0 (1,6) b	16,7 (0,6) b	58,5 (3,9) b
SN-28-Bd2	0,311 (0,036) bc	35,3 (1,2) b	22,0 (1,8) c	18,9 (0,4) b	19,5 (1,2) c	90,7 (15,7) c
SN-28-Bd3	0,356 (0,050) cd	44,3 (3,6) c	26,0 (2,0) d	22,5 (0,8) c	22,0 (1,5) d	131,3 (8,1) d
SN-28-Bd4	0,398 (0,020) d	35,0 (0,6) b	26,4 (0,7) d	19,1 (1,7) b	28,2 (1,0) e	135,9 (9,3) d

SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

## PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA

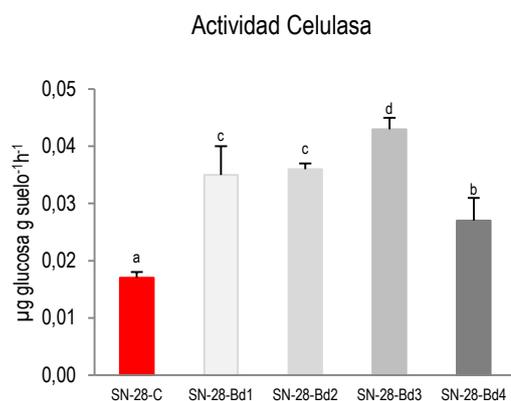
### Actividades enzimáticas

Las enzimas son responsables de la mayor parte de las reacciones que intervienen en los procesos de mineralización e inmovilización de los nutrientes en el suelo, y por tanto, están en relación con la disponibilidad de los mismos para las plantas. Algunos de los metabolitos liberados por los microorganismos (vitaminas, aminoácidos,...) o moléculas de bajo peso molecular procedentes de la mineralización de la materia orgánica (Albuzio y col., 1989), pueden influir de forma positiva y directa sobre el crecimiento vegetal. La actividad enzimática del suelo, por tanto, es responsable de la formación de moléculas orgánicas estables que contribuyen a la conservación del ecosistema del suelo, y esta actividad también está implicada en las reacciones relacionadas con los ciclos de los nutrientes del suelo (Nannipieri y col., 1990).

Por tanto, en este estudio de recuperación de un suelo semiárido degradado mediante una única aplicación de enmienda (fracción orgánica de basura domiciliar estabilizada de manera natural durante 20 días) a diferentes dosis, es importante conocer el efecto de la enmienda sobre diferentes actividades enzimáticas, proporcionándonos información sobre la capacidad de mejorar a lo largo del tiempo la calidad microbiológica de estos suelos.

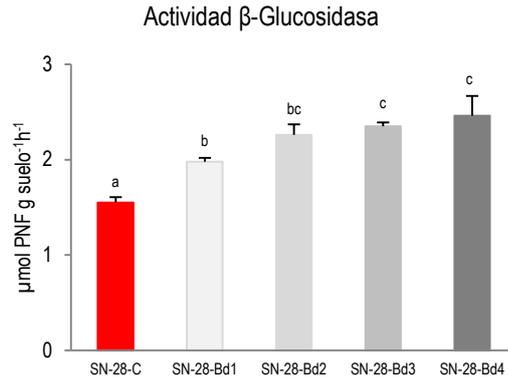
La actividad enzimática celulasa (Figura 4.1.90) era significativamente superior en todos los suelos enmendados respecto al suelo control. La máxima actividad de esta enzima se observó en el suelo enmendado con dosis d3 (tratamiento Bd3, 195 t ha<sup>-1</sup>), seguido por los tratamientos Bd1 y Bd2, mientras que el valor inferior se observó en el suelo enmendado con la dosis más elevada (Bd4). La elevada actividad en todos los suelos enmendados respecto al control transcurridos 28 años, está relacionada con la naturaleza de la enmienda orgánica empleada, rica en compuestos celulósicos.

Por otro lado, las diferencias de actividad entre el suelo control y enmendados podría estar ocasionada por el desarrollo de cobertura vegetal en estos últimos. La cobertura vegetal podría liberar gran cantidad de restos vegetales al suelo, que a su vez aportan de nuevo celulosa, sustrato de esta enzima (García y col., 1994). No obstante, cabe señalar que no existe una relación dosis dependiente entre la cantidad de residuo aplicado y la actividad celulasa.



**Figura 4.1.90.**-Actividad enzimática celulasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliar, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

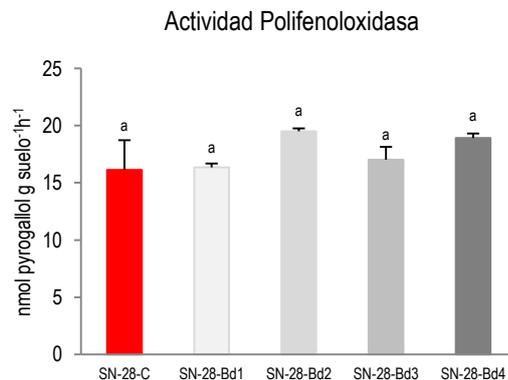
La actividad β-glucosidasa (Figura 4.1.91) era también superior en los suelos enmendados que en el suelo control, sin que existiesen diferencias entre las dosis más elevadas (Bd3, Bd4), tal como se observó en el caso del carbono hidrosoluble (Figura 4.1.84). En un estudio anterior sobre el efecto de esta enmienda en estos mismos suelos de Abanilla, Bastida y col., (2007), encontraron mayores niveles de actividad β-glucosidasa en los suelos enmendados que en el suelo control, observando mayores niveles de actividad a medida que incrementaba la dosis de enmienda aplicada. En nuestro ensayo, años después, ya no se observa una relación dosis dependiente, debido posiblemente a la menor tasa de mineralización de la materia orgánica y/o a un posible umbral de actividad para la adición de grandes cantidades de materia orgánica (Bastida y col., 2008 b).



**Figura 4.1.91.**-Actividad enzimática β-glucosidasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

La polifenoloxidasa (PPO), es una enzima que se relaciona con la mineralización de la materia orgánica estable del suelo. Una baja actividad en esta enzima está relacionada con procesos de condensación y por tanto humificación y estabilización de la materia orgánica del suelo, lo que favorece el desarrollo de reservas de COT (Sinsabaugh, 2010).

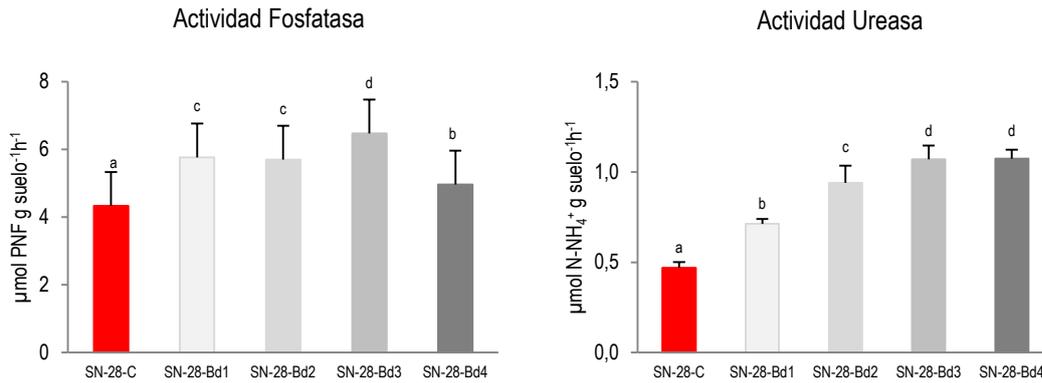
Sin embargo, no está claro si el decremento en la actividad de esta enzima es debido a una disminución de la cantidad de enzima o a una inhibición causada por el alto contenido en COT en los suelos restaurados (Torres, 2015). En nuestro ensayo, no se encontraron diferencias significativas en la actividad polifenoloxidasa entre los suelos enmendados a diferentes dosis y el suelo control (Figura 4.1.92). Como se ha visto, las actividades enzimáticas relacionadas con el ciclo del carbono, a excepción de la actividad PPO, aumentaron, debido al incremento de materia orgánica en el suelo, tras un largo periodo de tiempo (28 años), bien por el efecto directo de la propia enmienda sobre el suelo o bien, gracias al desarrollo de la cobertura vegetal en las parcelas enmendadas.



**Figura 4.1.92.**-Actividad enzimática polifenoloxidasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

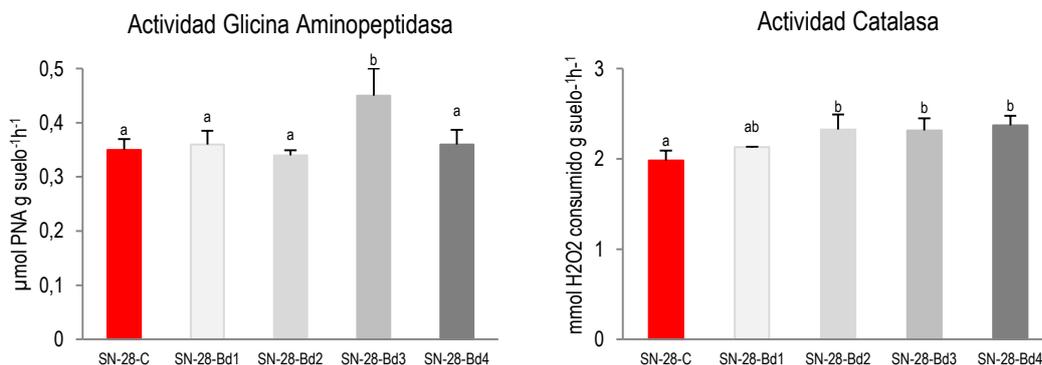
Otros ciclos de los elementos importantes en el suelo, son el ciclo del N y del P, donde las enzimas hidrolasas fosfatasa (P) y ureasa (N) consiguen también transformar partículas complejas en otras más simples que puedan ser asimilables por microorganismos y plantas. Las actividades de estas dos enzimas eran significativamente superiores en los suelos enmendados que en el suelo control (Figura 4.1.93).

En el caso de fosfatasa no existió una relación entre la dosis y nivel de actividad ya que entre los suelos enmendados Bd4 presentó los niveles más bajos, mientras que en el caso de la actividad ureasa sí que se observó una mayor actividad enzimática a mayor dosis de enmienda (Bd3 y Bd4).



**Figura 4.1.93.**-Actividades enzimáticas fosfatasa y ureasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria; d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

La actividad glicina aminopeptidasa utiliza el N-proteico como sustrato. Precisamente, éste se encuentra de forma abundante en los restos vegetales. La actividad glicina aminopeptidasa (Figura 4.1.94) era significativamente superior en el suelo enmendado con dosis de 195 t ha<sup>-1</sup> (Bd3) que para el resto de suelos, tanto enmendados (Bd1, Bd2, Bd4) como control, que no presentaron diferencias significativas entre ellos.

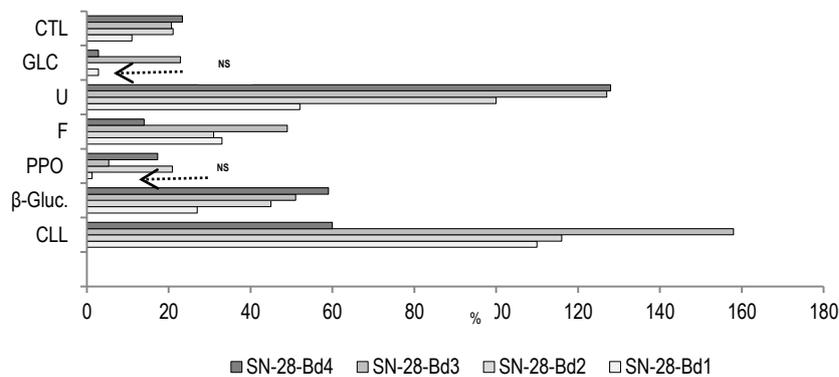


**Figura 4.1.94.**-Actividades enzimáticas glicina aminopeptidasa y catalasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

Por otro lado, la actividad catalasa, que se ha relacionado con el contenido en COT y la actividad microbiana del suelo, presentaba en nuestro ensayo, valores significativamente mayores en los suelos enmendados con dosis medias y altas (Bd2-Bd4) que en el control y el suelo enmendado con dosis baja (Bd1).

La actividad microbiana era, en general, mayor en las parcelas enmendadas hace 28 años a diferentes dosis (Bd1-Bd4) que en el control (Figura 4.1.95). Además de otros factores, la dinámica de la materia orgánica está estrechamente relacionada con la regulación de las actividades enzimáticas (García y col., 2017). La influencia del COT sobre la actividad microbiana es importante ya que los microorganismos pueden emplear las diferentes fracciones de C como sustrato (Figura 4.1.86).

Estas actividades enzimáticas extracelulares, que miden la adquisición de nutrientes por parte de los microorganismos desde la materia orgánica, son comúnmente interpretadas como indicadores de la demanda de nutrientes por los microorganismos y de la calidad del suelo (Nannipieri y col., 1990; Bastida y col., 2006; Sinsabaugh y col., 2008).

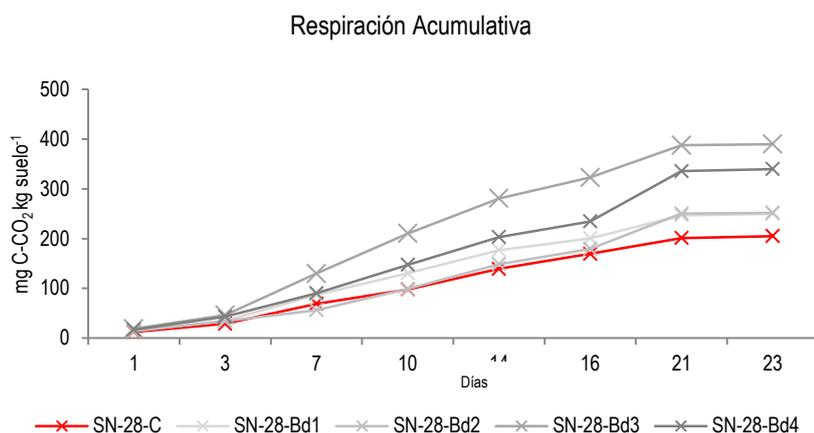


**Figura 4.1.95.**-Porcentaje de variación de las actividades enzimáticas celulasa (CLL), β-glucosidasa (β-gluc.), polifenoloxidasas (PPO), ureasa (U), fosfatasa (F), glicina aminopeptidasa (GLC) y catalasa (CTL), en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. NS: diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05).

## Respiración Microbiana

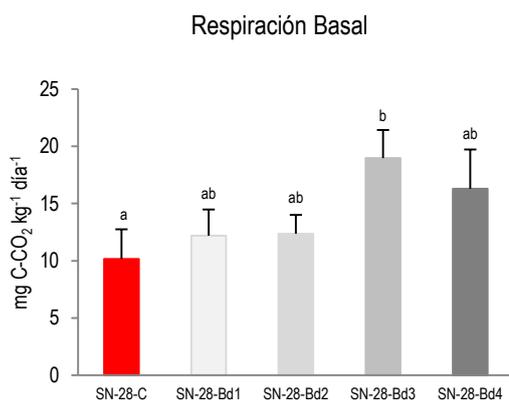
La medida de la respiración microbiana nos proporciona información sobre la cinética de mineralización de la materia orgánica.

Cómo se puede observar en la Figura 4.1.96, la pendiente de mineralización de la materia orgánica no es muy pronunciada, lo que nos da idea de que 28 años después de la aplicación de la enmienda orgánica esta respiración corresponderá fundamentalmente a la mineralización de materia orgánica más estable correspondiente bien al pool de C en el suelo o bien a los restos vegetales proporcionados por la cobertura vegetal desarrollada a lo largo de los años.



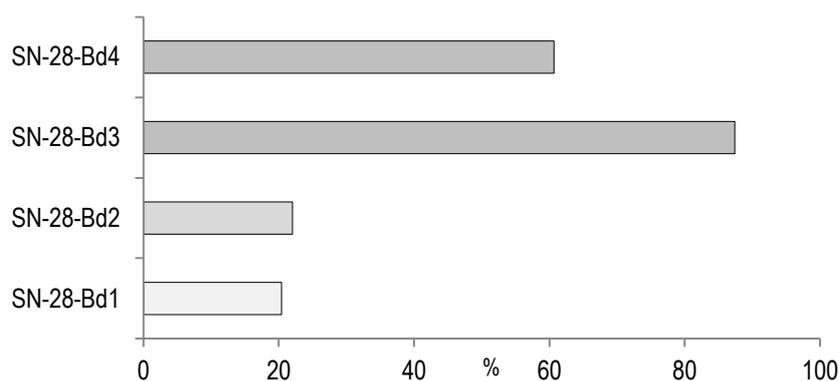
**Figura 4.1.96.**-Curvas acumulativas de desprendimiento de CO<sub>2</sub> en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>

La tasa de respiración es mayor en todos los suelos enmendados que en el suelo control, alcanzándose valores superiores y pendientes más pronunciadas para las parcelas enmendadas con dosis altas de enmienda (Bd3 y Bd4), coincidiendo esta mayor respiración tanto con los mayores valores en las diferentes fracciones de C (Figura 4.1.83-4.1.85), cómo con el mayor desarrollo de cobertura vegetal en estas parcelas.



**Figura 4.1.97.**-Respiración basal en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria; d1: 65 t ha<sup>-1</sup>; d2: 130 t ha<sup>-1</sup>; d3: 195 t ha<sup>-1</sup>; d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

La adición de la enmienda no induce a una respuesta proporcional en el incremento de la respiración microbiana respecto a la dosis aplicada, ya que, como se puede observar en la Figura 4.1.98, el mayor incremento en ambas determinaciones se produjo en los suelos con enmienda Bd3. No obstante, todos los suelos enmendados presentaban mayores valores de respiración que el control, si bien las diferencias con el control no siempre eran estadísticamente significativas.



**Figura 4.1.98.** Porcentaje de variación de la respiración microbiana en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>

### Análisis de la estructura de la comunidad microbiana

La biomasa microbiana de suelos semiáridos suele estar limitada por el escaso desarrollo vegetal y la baja disponibilidad de agua (García y col., 2017). La adición de la fracción orgánica de las basuras domiciliarias ha producido, en general, un incremento de la comunidad microbiana en los suelos degradados de estas zonas semiáridas 28 años después de la adición de la misma (Tabla 4.1.47).

**Tabla 4.1.47.**-Abundancia de PLFAs (nmol g<sup>-1</sup>) en suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla

PLFAs (nmol g <sup>-1</sup> )	SN-28-C	SN-28-Bd1	SN-28-Bd2	SN-28-Bd3	SN-28-Bd4
c14:0	0,10 (0,00) a	0,11 (0,01) a	0,18 (0,01) b	0,29 (0,01) c	0,31 (0,01) c
i15:0	0,64 (0,04) a	0,73 (0,05) a	1,20 (0,07) b	1,85 (0,11) c	2,17 (0,13) d
a15:0	0,82 (0,01) a	0,93 (0,02) a	1,52 (0,03) b	2,17 (0,32) c	2,75 (0,05) d
c15:0	0,10 (0,02) a	0,10 (0,02) a	0,17 (0,04) ab	0,28 (0,06) b	0,30 (0,07) b
c16:0	0,47 (0,04) a	0,51 (0,05) a	0,84 (0,08) b	1,35 (0,13) c	1,43 (0,13) c
10Me16:0	0,11 (0,01) a	0,13 (0,01) a	0,21 (0,02) b	0,33 (0,04) c	0,39 (0,04) c
c16:1w9	0,37 (0,03) a	0,48 (0,07) ab	0,67 (0,06) b	0,95 (0,08) c	1,18 (0,10) d
i17:0	0,38 (0,03) a	0,44 (0,03) a	0,72 (0,05) b	1,10 (0,08) c	1,30 (0,10) d
c18:0	0,13 (0,01) a	0,14 (0,01) a	0,23 (0,02) b	0,38 (0,04) c	0,40 (0,04) c
10Me18:0	0,03 (0,00) a	0,04 (0,00) ab	0,06 (0,01) b	0,09 (0,01) c	0,10 (0,01) c
c18:1w9c	0,42 (0,04) a	0,52 (0,06) a	0,76 (0,08) ab	1,08 (0,11) bc	1,28 (0,24) c
c18:2w6c	0,14 (0,03) a	0,12 (0,02) a	0,24 (0,05) ab	0,36 (0,07) bc	0,45 (0,09) c
c20:0	0,06 (0,01) a	0,06 (0,01) ab	0,10 (0,01) b	0,17 (0,02) c	0,18 (0,02) c

SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

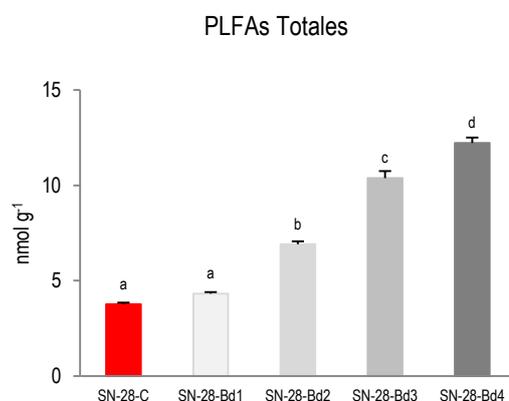
Los PLFAs biomarcadores de bacterias Gram<sup>-</sup>, sólo estaban representados, en este estudio, por el ácido graso C18:1w9c, cuyo incremento se observó a partir de la dosis Bd2 alcanzando su máximo valor en el suelo enmendado a la dosis más elevada (260 t ha<sup>-1</sup>). En cuanto a los ácidos grasos de la población de bacterias Gram<sup>+</sup> identificados (i15:0, a15:0, i17:0), mostraron un comportamiento similar al de bacterias Gram<sup>-</sup>,

alcanzando valores significativamente superiores al control en los suelos enmendados con dosis d2-d4, siendo la abundancia de estos proporcional a las dosis aplicadas.

En cuanto a la concentración de PLFAs de actinobacterias (18Me16:0 y 10Me18:0), también se observaron concentraciones significativamente superiores en los suelos enmendados con dosis altas (Bd3 y Bd4), aunque en este caso el incremento no era proporcional a la dosis aplicada. Diversos estudios de evaluación de biomasa microbiana en suelos áridos y semiáridos mediante análisis de PLFAs han indicado que el total de ácidos grasos en estos suelos se encuentra en un rango de 2,2-100 nmol g<sup>-1</sup> (García y col., 2017).

En general, en nuestro ensayo a largo plazo, la aplicación de enmienda orgánica supuso un incremento en el contenido total de PLFAs. Partimos de un suelo degradado muy pobre con una población de 3,76 nmol PLFAs g<sup>-1</sup> suelo y los suelos enmendados con dosis Bd2, Bd3 y Bd4, llegaron a mostrar unos contenidos en PLFAs totales de 6,91, 10,39 y 12,22 nmol PLFAs g<sup>-1</sup>, respectivamente, incrementando de 1,8 a 3 veces la biomasa microbiana por la acción de la enmienda (Figura 4.1.99).

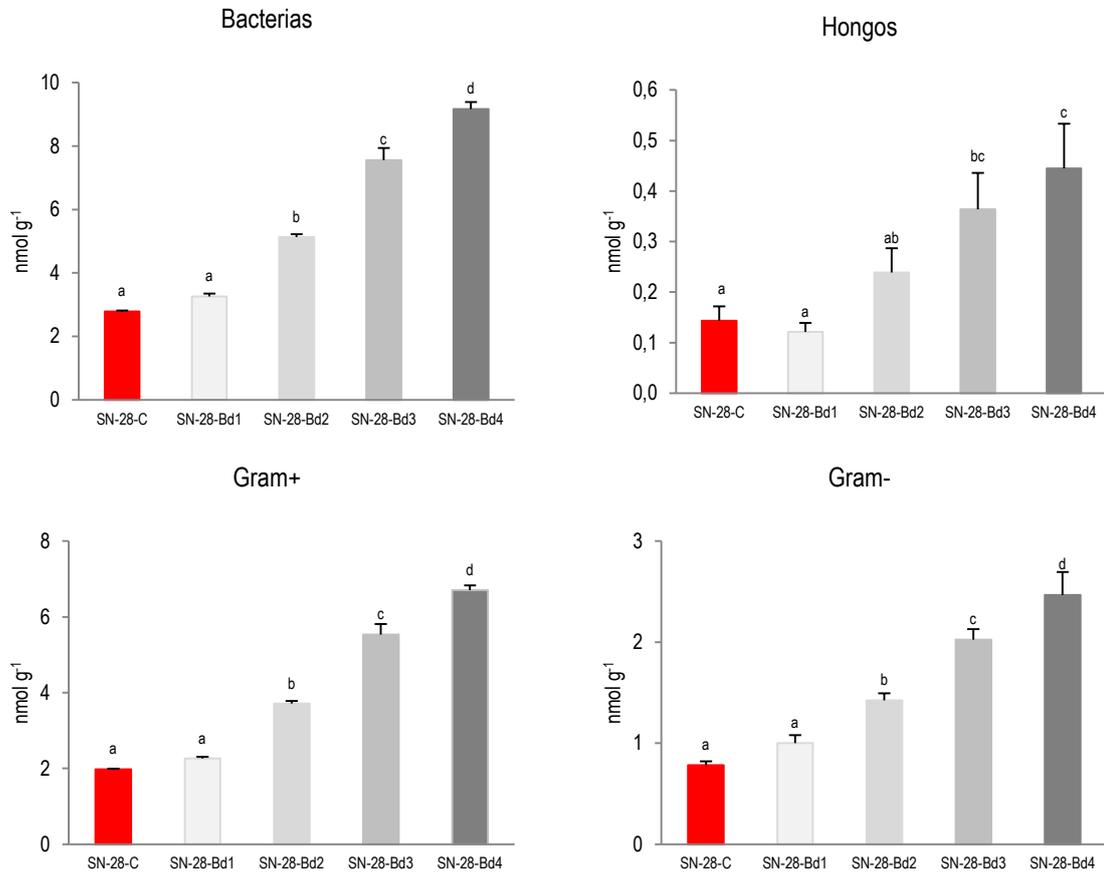
Bastida y col., (2008 b), en coincidencia con nuestros resultados, indicaron incrementos de la biomasa microbiana de 1,6 a 3 veces por efecto de la adición de enmiendas orgánicas en suelos restaurados de zonas semiáridas. El suelo control y el suelo enmendado con dosis baja (Bd1) no presentaron diferencias significativas entre ellos.



**Figura 4.1.99.**-PLFAs totales en suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

De manera sesgada, podemos observar cómo se produjo un incremento de la población de hongos, bacterias totales, Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup> (Figura 4.1.100). Este incremento fue de forma proporcional a la dosis de enmienda aplicada a partir de la dosis media Bd2, no existiendo diferencias significativas en estas poblaciones microbianas entre el suelo control y dosis baja Bd1. De acuerdo a Alguacil y col., (2009), la aplicación de la fracción orgánica de basura puede tener efecto positivo en la proliferación de hongos. Estos investigadores encontraron un efecto estimulativo de la adición de materia orgánica sobre el desarrollo de hongos micorrícicos. Después de 19 años de la aplicación de la enmienda, el incremento fue proporcional a la dosis aplicada.

Por otro lado, las concentraciones de PLFAs saturados, monoinsaturados y de actinobacterias, eran significativamente superiores en los suelos enmendados con dosis más altas (Bd2-Bd4) que en los suelos control y enmendados a dosis baja (Bd1) (Tabla 4.1.48). Diversos autores (Connon y col., 2007; Henry, 2012; Bastida y col., 2013) han indicado que las actinobacterias es uno de los grupos microbianos más dominantes en suelos de zonas áridas y semiáridas y se correlacionan negativamente con la cantidad carbono orgánico.



**Figura 4.1.100.**-Bacterias, Hongos, Bacterias Gram+ y Bacterias Gram- en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

**Tabla 4.1.48.**-Relaciones bacterias Gram+/Gram-, hongos/bacterias y PLFAs saturados/monoinsaturados (Sat/Monoinsat.) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla

nmol g <sup>-1</sup>	Saturados	Monoinsat.	Actinobac.	Gram+/Gram-	Hongos/Bac.	Sat/Monoinsat.
SN-28-C	2,83 (0,09) a	0,78 (0,04) a	0,14 (0,01) a	2,27 (0,16) a	0,04 (0,01) a	3,63 (0,28) a
SN-28-Bd1	3,18 (0,09) a	1,00 (0,08) a	0,16 (0,01) a	2,56 (0,19) a	0,05 (0,00) a	3,20 (0,30) a
SN-28-Bd2	5,24 (0,16) b	1,42 (0,07) b	0,27 (0,02) b	2,61 (0,16) a	0,05 (0,00) a	3,69 (0,28) a
SN-28-Bd3	7,99 (0,20) c	2,02 (0,10) c	0,41 (0,03) c	2,73 (0,02) a	0,05 (0,00) a	3,95 (0,15) a
SN-28-Bd4	9,31 (0,29) d	2,46 (0,23) d	0,50 (0,04) c	2,73 (0,29) a	0,05 (0,00) a	3,80 (0,48) a

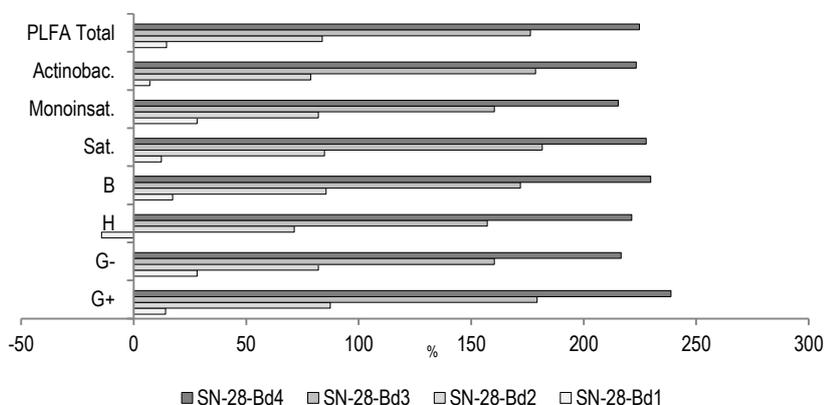
SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En nuestro caso, la población de actinobacterias incrementó significativamente con la dosis de enmienda aplicada y por tanto de carbono orgánico en el suelo. En algunos casos, no solamente la cantidad de carbono orgánico es importante para la organización de la estructura de la comunidad bacteriana sino también su composición (Davinic y col.,2012).

No se han observado diferencias significativas entre los suelos enmendados y control en relación al cociente bacterias Gram<sup>+</sup>/Gram<sup>-</sup>, indicativo de que la acción estimulante de la enmienda sobre ambos grupos de bacterias era similar, por lo que el cociente no se ve afectado. Este mismo patrón de comportamiento se observó para los cocientes hongos/bacterias y PLFAs saturados/monoinsaturados (Tabla 4.1.48).

Los incrementos en las diferentes poblaciones microbianas respecto al suelo control son muy significativos sobre todo en los suelos donde se incorporaron elevadas dosis de enmienda (Bd 3 y Bd4), considerando también la reducida población microbiana presente de manera natural en estos suelos degradados.

La influencia del carbono orgánico sobre la actividad de la comunidad microbiana y el tamaño de su población es muy importante, ya que los microorganismos pueden utilizar las diferentes fracciones de C como sustrato para la obtención de energía y su desarrollo. Así, las concentraciones de Cs y SH eran superiores en los suelos enmendados a elevadas dosis (Bd3 y Bd4), y los incrementos en las diferentes poblaciones microbianas respecto al control eran también significativamente superiores en en los suelos de estos tratamientos (Figura 4.1.101).



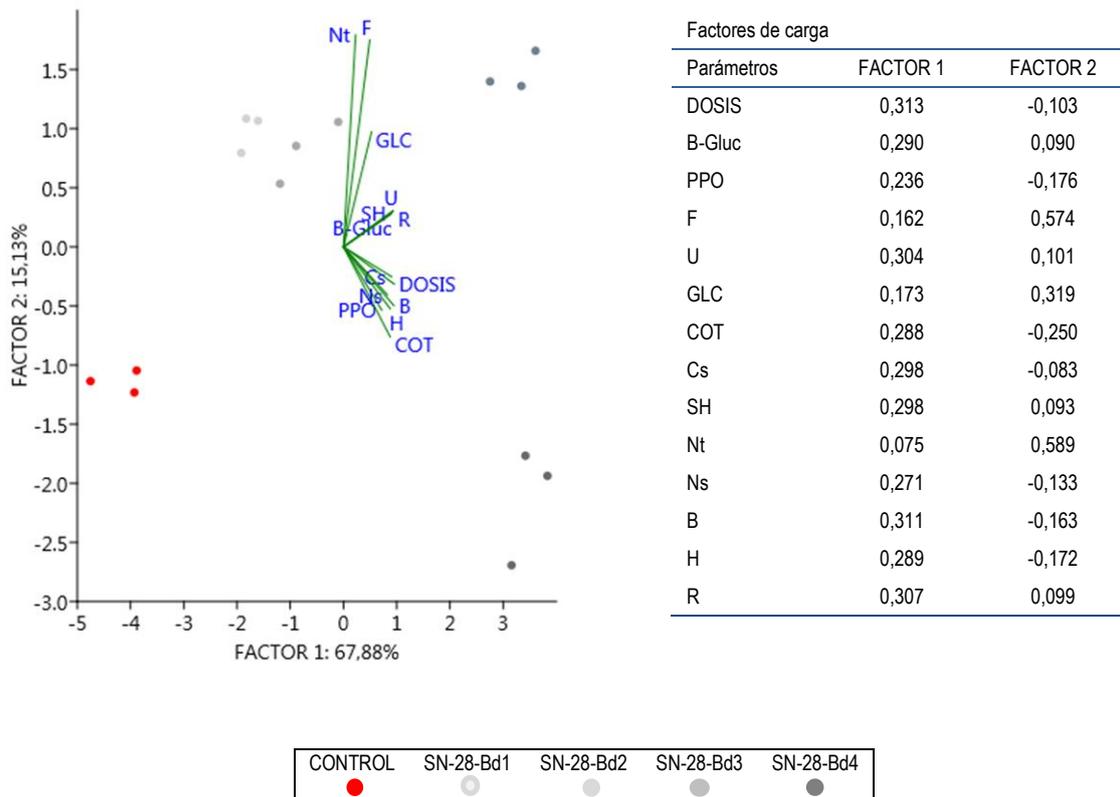
**Figura 4.1.101.** -Porcentaje de variación de los ácidos grasos de membrana de: hongos (H), bacterias (B), Gram<sup>+</sup> (G<sup>+</sup>) y Gram<sup>-</sup> (G<sup>-</sup>), PLFAs totales, actinobacterias (Actinobac.), monoinsaturados (Monoinsat.) y saturados (Sat.) en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>

## ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN

El análisis de componentes principales puede ayudar a entender las variaciones en el comportamiento de estos suelos enmendados hace 28 años con diferentes dosis de enmienda respecto a diferentes propiedades: β-Glucosidasa (β-Gluc), polifenoloxidasas (PPO), fosfatasa (FOSF), ureasa (U), glicina aminopeptidasa (GLC), carbono orgánico total (COT), carbono hidrosoluble (Cs), sustancias húmicas (SH), nitrógeno total (Nt),

nitrógeno soluble (Ns), respiración acumulativa (R), y poblaciones de hongos (H), bacterias (B) así como dosis aplicada de enmienda (DOSIS).

Dicho análisis de componentes principales (Figura 4.1.102) explicaba el 83,01 % de la varianza y ha sido capaz de diferenciar espacialmente los distintos tratamientos del suelo control. El Factor 1, explicaba el 67,88% de la varianza y discriminó los suelos enmendados del suelo control, estableciendo también diferencias entre los suelos enmendados.



**Figura 4.1.102.**-Análisis de componentes principales de la dosis aplicada, actividad  $\beta$ -Glucosidasa ( $\beta$ -Gluc), actividad fosfatasa (F), actividad glicina aminopeptidasa (GLC), actividad ureasa (U), actividad polifenoloxidasa (PPO), carbono soluble en agua (Cs), carbono orgánico total (COT), carbono de las sustancias húmicas (SH), nitrógeno soluble (Ns), nitrógeno total (Nt), respiración acumulativa (R), bacterias (B) y hongos (H) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Abanilla. SN: suelo no agrícola, 28: años desde la enmienda, C: control, B: fracción orgánica basura domiciliaria, d1: 65 t ha<sup>-1</sup>, d2: 130 t ha<sup>-1</sup>, d3: 195 t ha<sup>-1</sup>, d4: 260 t ha<sup>-1</sup>

El Factor 2 explicó el 15,3% de la varianza y discriminó las muestras de suelos en dos grupos; un grupo formado por el suelo control y suelos enmendados a dosis bajas (Bd1-2) y un segundo grupo con los suelos enmendados a dosis altas, (Bd 3-4). La mayor parte de las variables estudiadas tuvieron un alto porcentaje de carga sobre el Factor 1, a excepción de las actividades glicina aminopeptidasa y fosfatasa, así como el nitrógeno total que tenían un alto porcentaje de carga en el Factor 2.

Por tanto, cómo se muestra en la Figura 4.1.102, los suelos enmendados a dosis de 195 t ha<sup>-1</sup> (Bd3), situados espacialmente en el cuadrante donde tanto el Factor 1 como el Factor 2 son positivos, presentan 28 años

después de la incorporación de esta enmienda, una alta correlación con todas las variables consideradas. Por otra parte, los suelos enmendados con 260 t ha<sup>-1</sup> (Bd4) se localizan en el cuadrante donde los parámetros con mayor peso sobre el Factor 1 son positivos, pero F2 es negativo, de forma que las actividades enzimáticas fosfatasa y glicina aminopeptidasa junto a Nt presentan menos peso en este suelo enmendado. El análisis de componentes principales sitúa a los suelos enmendados a dosis bajas Bd1 y Bd2 en el cuadrante donde el factor 1 es negativo pero el factor 2 es positivo teniendo mayor peso las actividades F, GLC y Nt, mientras que el suelo control situado en el cuadrante donde tanto el Factor 1 es negativo como el Factor 2, se puede considerar que se trata de un suelo donde todas las características estudiadas tienen muy poco peso, mostrando una peor calidad.

A lo largo del presente capítulo se han ido exponiendo los resultados obtenidos en este estudio a largo plazo (28 años) del efecto de la aplicación de la fracción orgánica de basuras domiciliarias a diferentes dosis (Bd1-Bd4) sobre distintos parámetros, indicadores de calidad de un suelo degradado. Mediante la matriz de correlación (Tabla 4.1.49) se verifican las relaciones que existen entre dichos parámetros.

Se observaron coeficientes de correlación positivos y significativos ( $p < 0,05$ ) entre el COT y los parámetros físicos CRH y EA poniendo de manifiesto que la incorporación de esta enmienda orgánica en los suelos degradados resulta en la mejora de sus propiedades físicas, incrementando la formación y estabilidad de agregados del suelo (Caravaca y col., 2002; Tejada y col., 2007) y la capacidad de retención hídrica (Albadalejo y col., 2000; Rostagno y Sosebee, 2001). Las características de la enmienda aplicada, así como la cubierta vegetal desarrollada en los suelos, han contribuido a mantener un mayor nivel de materia orgánica, consiguiendo de esta forma que las mejoras producidas inicialmente por la enmienda en el suelo, se puedan detectar incluso 28 años después de su aplicación. Tanto la EA como CRH se encuentran a su vez correlacionadas significativamente ( $p < 0,01$ ) con la dosis aplicada.

Cabe destacar la elevada correlación positiva ( $p < 0,01$ ) entre el COT y la mayoría de los parámetros estudiados especialmente todos aquellos relacionados con la diversidad microbiana como, respiración y poblaciones microbianas (hongos y bacterias totales, bacterias Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup> y actinobacterias). Es importante señalar, que la transferencia del COT procedente de la enmienda hasta las plantas o pools de C en el suelo está mediado por las poblaciones microbianas del suelo. Entre las diferentes fracciones de C, el Cs es utilizado principalmente por la microbiota, ya que contiene fracciones de C fácilmente biodegradables (Cook y Allan, 1992), contribuyendo esta fracción lábil del C de manera importante al desarrollo de la comunidad microbiana (de ahí su elevada correlación ( $p < 0,01$ ) con la respiración y las diferentes poblaciones microbianas. Por otro lado, las fracciones más estables del C (SH) presentan una alta correlación ( $p < 0,01$ ) con todos los parámetros microbiológicos estudiados poniendo de relieve el papel clave jugado por los microorganismos en los procesos de formación de esta fracción de C (Tabla 4.1.49).

Este desarrollo de la población microbiana, como resultado de la adición de la enmienda, está a su vez mediado por las actividades enzimáticas implicadas en transformar los nutrientes aportados por la enmienda para hacerlos asimilables por plantas y microorganismos. Este hecho puede estar explicado por la correlación

positiva entre COT y la actividad  $\beta$ -glucosidasa, encargada del aporte de energía a estas poblaciones y con la actividad PPO. Por otro lado, ureasa también correlacionó positivamente con COT y la dosis de enmienda ( $p < 0,01$ ). Sin embargo, esta correlación no se observó en el resto de hidrolasas estudiadas (fosfatasa, celulasa y glicina aminopeptidasa) indicando por tanto que para estos parámetros podría existir un nivel de umbral por encima del cual, mayor adición de residuo, no resulta en un incremento del parámetro estudiado.

## CONCLUSIONES PARCIALES

*A la luz de los resultados expuestos a lo largo de este capítulo, podemos concluir que, la mejora en la calidad de un suelo degradado conseguida en ambiente semiárido con la aplicación de fracción orgánica de basuras domiciliarias, persiste 28 años después de la adición de la enmienda, particularmente cuando ésta se ha añadido a dosis elevadas. El aumento del nivel materia orgánica en el suelo producido con la adición de la enmienda ha dado lugar a los siguientes efectos beneficiosos sobre el suelo:*

*Se produce la mejora de las propiedades físicas y fisico-químicas del suelo, contribuyendo por tanto a la mejora de su estructura a largo plazo, sobre todo cuando la enmienda es aplicada a dosis elevadas (Bd3-Bd4).*

*Se demuestra la capacidad de estos suelos para funcionar como sumidero de C, siendo capaces de crear un pool de C estable cuando la enmienda es aplicada a dosis altas (Bd3-Bd4).*

*Las actividades enzimáticas se ven favorecidas por la acción de la enmienda. Este hecho resulta muy interesante ya que pone de manifiesto la capacidad de estas enzimas para resistir en condiciones de stress como son los largos periodos de sequía, la elevada tasa de evapotranspiración, etc,...característicos de estas zonas, siendo capaces de contribuir a la recuperación de estos suelos a largo plazo. Precisamente, el resultado de la acción de estas actividades enzimáticas, se traduce en un incremento de la población microbiana determinada gracias al estudio de los PLFAs.*

*Todo ello, ha contribuido a su vez, al desarrollo de una cobertura vegetal que en el momento del muestreo no era muy elevada, pero que, al tratarse de una cobertura estable, consigue contribuir al pool de C a lo largo del tiempo lo suficiente como para alcanzar un equilibrio dinámico que ayude a mantener la calidad del suelo. No obstante, hay que señalar que tras 28 años, todas estas mejoras en la calidad del suelo se detectaron en los suelos que habían recibido elevadas dosis de residuo (Bd3 y Bd4), y no siempre fueron proporcionales a la dosis aplicada, existiendo un umbral por encima del cual el incremento en COT no se tradujo en una mejora proporcional de todos los parámetros estudiados.*

**Tabla 4.1.49.**-Correlaciones entre variables en los suelos de la zona de Abanilla. \*significación p<0,05, \*\*significación p<0,01

	DOSIS	CE	CRH	EA	D	CL	β-G	PPO	F	U	GLC	COT	Cs	SH	Pt	Nt	Ns	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	R	Gram <sup>+</sup>	Gram <sup>-</sup>	B	H	
DOSIS																								
CE	0,89**																							
CRH	0,70**	0,52*																						
EA	0,81**	0,71**	0,67**																					
D	-0,38	-0,31	-0,41	-0,40																				
CL	0,42	0,47	0,46	0,27	-0,76**																			
β-G	0,91**	0,86**	0,71**	0,81**	-0,58*	0,62*																		
PPO	0,78**	0,49	0,69**	0,70**	-0,53*	0,24	0,74**																	
F	0,36	0,40	0,44	0,16	-0,68**	0,92**	0,54*	0,18																
U	0,94**	0,92**	0,67**	0,79**	-0,55*	0,64**	0,96**	0,67**	0,58*															
GLC	0,34	0,33	0,45	0,26	-0,18	0,59*	0,40	0,03	0,59*	0,47														
COT	0,94**	0,76**	0,67**	0,78**	-0,28	0,22	0,76**	0,80**	0,15	0,80**	0,21													
Cs	0,87**	0,67**	0,74**	0,66**	-0,27	0,42	0,71**	0,69**	0,35	0,78**	0,45	0,87**												
SH	0,82**	0,76**	0,70**	0,55*	-0,18	0,55*	0,71**	0,46	0,55*	0,82**	0,67**	0,73**	0,85**											
Pt	-0,98**	-0,90**	-0,69**	-0,75**	0,37	-0,45	-0,91**	-0,75**	-0,41	-0,94**	-0,29	-0,89**	-0,85**	-0,81**										
Nt	0,14	0,22	0,31	0,14	-0,75**	0,84**	0,41	0,15	0,84**	0,39	0,23	-0,05	0,12	0,23	-0,22									
Ns	0,75**	0,55*	0,70**	0,42	0,00	0,22	0,54*	0,56*	0,29	0,62*	0,44	0,77**	0,86**	0,86**	-0,75**	-0,04								
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,81**	0,64*	0,71**	0,60*	-0,28	0,51	0,71**	0,57*	0,53*	0,78**	0,71**	0,77**	0,87**	0,93**	-0,77**	0,15	0,85**							
R	0,85**	0,75**	0,76**	0,63*	-0,31	0,59*	0,78**	0,56*	0,58*	0,85**	0,70**	0,78**	0,88**	0,97**	-0,82**	0,25	0,84**	0,97**						
Gram <sup>+</sup>	0,98**	0,88**	0,67**	0,80**	-0,20	0,30	0,84**	0,70**	0,27	0,89**	0,38	0,93**	0,87**	0,85**	-0,95**	-0,00	0,81**	0,83**	0,87**					
Gram <sup>-</sup>	0,97**	0,86**	0,69**	0,78**	-0,23	0,33	0,88**	0,73**	0,30	0,90**	0,41	0,91**	0,87**	0,83**	-0,96**	0,03	0,80**	0,84**	0,86**	0,98**				
B	0,98**	0,88**	0,68**	0,77**	0,55	0,31	0,85**	0,71**	0,27	0,89**	0,38	0,93**	0,87**	0,85**	-0,95**	0,00	0,81**	0,84**	0,87**	0,99**	0,99**			
H	0,90*	0,81**	0,59*	0,71**	-0,06	0,23	0,80**	0,61*	0,20	0,82**	0,45	0,79**	0,79**	0,79**	-0,88**	-0,07	0,77**	0,76**	0,78**	0,94**	0,96**	0,95**		
ACT	0,95**	0,86**	0,67**	0,76**	-0,17	0,32	0,85**	0,66**	0,30	0,88**	0,50	0,87**	0,85**	0,85**	-0,93**	0,00	0,81**	0,84**	0,86**	0,98**	0,99**	0,98**	0,98**	

CE: Conductividad eléctrica, CRH: capacidad de retención hídrica, EA: estabilidad de agregados; D: densidad, CL: celulosa, PPO: polifenoloxidasas, β-G: β-glucosidasa, F: fosfatasa; U: ureasa; GLC: glicina-aminopeptidasa, COT: carbono orgánico total, Cs: carbono hidrosoluble; SH: sustancias húmicas, Pt: fósforo total, Nt: nitrógeno total, Ns: nitrógeno hidrosoluble; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitratos, R: desprendimiento acumulativo de CO<sub>2</sub>; B: bacteria; H: hongos G<sup>+</sup>: Gram-positiva; G<sup>-</sup>: Gram-negativa; ACT: actinobacterias.

## **4.2. CONSTRUCCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN SUELOS AGRÍCOLAS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS**



## 4.2. CONSTRUCCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN SUELOS AGRÍCOLAS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS

### INTRODUCCIÓN

El suelo es un sistema dinámico natural que se encuentra en la interfase tierra, aire, agua y vida, proporcionando un servicio crítico al ecosistema para el sustento de la humanidad (Needelman, 2013). La agricultura, que es el principal uso del suelo en todo el mundo, causa su degradación además de otros problemas medioambientales (contaminación, emisión de gases invernadero, disminución de la biodiversidad), pero con un manejo adecuado puede proporcionar un amplio rango de servicios ecosistémicos (producción de alimentos, regulación del agua, secuestro de carbono, adaptación y mitigación del cambio climático, biodiversidad, recreativos) (Howden y col., 2007; Lal, 2013 b). Así, mantener su calidad es uno de los principales retos al que tenemos que hacer frente en la actualidad.

La calidad del suelo puede deteriorarse rápidamente debido a un manejo intensivo, estabilizarse con el tiempo con un manejo adecuado, e incluso, mejorar a largo plazo mediante el suministro de materia orgánica. La pérdida de materia orgánica bajo sistemas de agricultura intensiva es una de las principales causas de pérdida de fertilidad del suelo (Scotti y col., 2015). La materia orgánica del suelo influye en la regulación del ciclo de nutrientes en el sistema suelo-planta, contribuyendo significativamente al mantenimiento de la fertilidad global del suelo (química, física y biológica). Está implicada de hecho, en el desarrollo vegetal y de microorganismos, como sustrato en el proceso de mineralización, y en la promoción de la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Rossi y Beni, 2018).

Las áreas agrícolas mediterráneas están caracterizadas por bajos contenidos en carbono orgánico en el suelo y con frecuencia son propensas a la degradación del suelo y al agotamiento del carbono orgánico en el mismo, debido a los cambios en el uso extensivo del terreno en las últimas décadas, siendo muy vulnerables a los cambios medioambientales (Celik, 2005; Muñoz-Rojas y col., 2015; Francaviglia y col., 2017). Por otro lado, las elevadas temperaturas durante el verano en el Mediterráneo, conducen a una rápida pérdida en el contenido de materia orgánica en suelos cultivados. Por tanto, el problema de pérdida de materia orgánica en suelos agrícolas se incrementa muy rápidamente por las características climáticas y el uso intensivo del terreno, lo que afecta al proceso de humificación-mineralización de la materia orgánica nativa del suelo (Rossi y Beni, 2018).

El uso sostenible del suelo y su salud son algunos de los aspectos clave para mantener y promover una producción agrícola sostenible. Esto implica la utilización más eficiente de los insumos y la reducción de los productos de desecho.

El marco de la Directiva Europea de Residuos (Directiva del Consejo 2008/98/EC), ha introducido un cambio en el paradigma de la gestión de residuos, según el cual se debería considerar la posibilidad de continuar el ciclo de vida de los materiales desde una perspectiva de economía circular. En este contexto, es importante considerar los beneficios de la aplicación de residuos ricos en materia orgánica en suelos agrícolas, cómo alternativa a su depósito en vertederos o incineración, lo que permitirá el reciclaje de la materia orgánica y nutrientes que contiene, contribuyendo a la política europea “End-of waste” (Alvarenga y col., 2017).

Así, las prácticas de fertilización con residuos orgánicos podrían tener una influencia positiva sobre la fertilidad y suministro de nutrientes al suelo (Dong y col., 2012; Latare y col., 2014). Por tanto, las prácticas agrícolas basadas en aportes periódicos de enmiendas orgánicas están muy recomendadas en los sistemas agrarios Mediterráneos (García-Ruiz y col., 2012).

## **OBJETIVO**

En este escenario de suelos agrícolas, surge la tarea de recuperar la materia orgánica perdida y mantenerla en unos niveles adecuados. Así, el objetivo de este capítulo ha sido la realización de un estudio comparativo sobre la eficacia de la aplicación de materiales orgánicos de diferente naturaleza y grado de estabilización, y de diferentes tipos de manejo, en la mejora y la recuperación de la calidad de suelos agrícolas de zonas semiáridas y en la construcción de materia orgánica en los mismos.

Para alcanzar estos objetivos se han monitorizado parámetros relacionados tanto con la posible construcción de nueva materia orgánica (ligados al C y su fijación), cómo parámetros del suelo asociados a la mejora de su sostenibilidad (agronómicos, ambientales, y relacionados con su diversidad biológica), todo ello con la finalidad de conocer si la aplicación de enmiendas orgánicas puede ser empleada como una herramienta eficaz de mantenimiento y mejora de la calidad de suelos agrícolas de zonas semiáridas y en la construcción de materia orgánica, a diferentes escalas de tiempo.

Para el desarrollo de este trabajo se seleccionaron diversos suelos agrícolas (SA), localizados en diferentes zona de la Región de Murcia, sometidos a condiciones de clima cálido semiárido (según clasificación climática de Köppen-Geiger, 2006). El tiempo transcurrido desde que se inició el manejo con aplicación de la enmienda hasta el muestreo de suelo realizado para el desarrollo de este trabajo de Tesis Doctoral, difería según la zona de muestreo considerada (Tabla 4.2.1).

En cada una de las áreas de estudio se muestrearon tanto los suelos enmendados cómo los suelos control sin enmendar. Las muestras de suelo se tomaron en los primeros 20 cm del suelo (capa arable). Cada muestra era el resultado de la mezcla y homogeneización de 3 submuestras tomadas recorriendo la parcela en zig-zag, obteniendo así una muestra representativa de cada parcela. Además, cada tratamiento se encontraba replicado 3 veces en el campo.

En el laboratorio, las muestras se tamizaron a 2 mm y, a continuación, se separaron en dos fracciones que se conservaron a 4°C hasta su análisis químico y bioquímico y a -18°C hasta su análisis microbiológico, respectivamente. Antes de tamizar, los restos vegetales fueron eliminados manualmente, con el fin de evitar la influencia de éstos sobre los parámetros a determinar. En la Tabla 4.2.1 se detallan los principales aspectos de los experimentos realizados.

**Tabla 4.2.1.-**Descripción de los experimentos y las zonas de estudio

<b>Tipo de estudio</b>	<b>Zona</b>	<b>Años desde enmienda</b>	<b>Materia orgánica exógena</b>	<b>Nomenclatura</b>	<b>OBJETIVO</b>
Corto plazo	JUMILLA	2	Lodo EDAR	SA-2-L	<b>Estudio del efecto a corto plazo de la aplicación de lodo de EDAR en cultivo de cereal</b>
Medio plazo	CIEZA	11	COMPOST OVEJA Y CABRA ANUAL (CPa)	SA-11-CPa	<b>Estudio del efecto de 11 años de aplicación de diferentes enmiendas en cultivo de ciruelo</b>
			COMPOST OVEJA Y CABRA BI-ANUAL (CPb)	SA-11-CPb	
			RESTOS DE PODA (RP)	SA-11-RP	
			ABONO VERDE (AV)	SA-11-AV	
Largo plazo	JUMILLA	16	COMPOST ALPERUJO (CP)	SA-16-CP	<b>Estudio del efecto de 16 años de aplicación de compost de alperujo</b>
	SAN PEDRO PINATAR	2/16	BIOSOLARIZACIÓN (BIO)	SA-16(SP)-BIO2 SA-16(SP)-BIO16	<b>Estudio del efecto de 2/16 años de aplicación de biosolarización</b>

## **A. EXPERIMENTOS A CORTO PLAZO**

### **ESTUDIO DEL EFECTO A CORTO PLAZO DE LA APLICACIÓN DE LODO EDAR EN CULTIVO DE CEREAL**

Las enmiendas orgánicas, como el lodo de depuradora, pueden enriquecer el suelo con macronutrientes como nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, calcio, magnesio y micronutrientes (Mtshali y col., 2014; Rossi y col., 2018) que reúnen los requerimientos de los cultivos y favorecen la restauración de la fertilidad del suelo.

Es esencial agregar valor a los productos de desecho, de los cuales los lodos procedentes de la depuración de aguas residuales son unos de los más importantes debido a las grandes cantidades que se producen en Europa tal y como ha reconocido la FAO en su documento Agricultura Climáticamente Inteligente (FAO, 2013).

La fertilización es una de las actividades de manejo más extendidas vinculadas a la agricultura (Mosquera-Losada y col., 2017). Una manera de eliminar residuos como son los lodos procedentes de la depuración de aguas residuales, es utilizándolos como fertilizante en agricultura. Esta práctica está también en sintonía con el concepto de Economía Circular ya que proporciona un valor adicional a un residuo. Tal “re-uso” del lodo de depuradora es económicamente viable y medioambientalmente sostenible comparado con el tratamiento de éste residuo o su eliminación en vertedero (Kacprzak y col., 2017).

Los lodos de depuradora son un subproducto obtenido en el proceso de tratamiento de las aguas residuales. Contienen compuestos orgánicos, macro y micronutrientes, elementos traza, incluyendo metales pesados, microorganismos y micro-contaminantes. Micro y macronutrientes sirven como fuente de nutrientes para las plantas, mientras que los compuestos orgánicos sirven como acondicionadores del suelo. El uso de lodo como enmienda mejora las propiedades físicas del suelo tales como la porosidad, la densidad aparente, la estabilidad de agregados y la capacidad de retención hídrica. Asimismo produce un incremento en las enzimas del suelo y de la actividad microbiana, debido a la biodisponibilidad de materia orgánica y nutrientes (Singh y Agrawal, 2008). El uso de lodos de depuradora como enmienda orgánica del suelo puede contribuir al aumento de la materia orgánica en este, la cual puede ser muy baja en países de influencia mediterránea (Alvarenga y col., 2015).

La aplicación de lodos procedentes de la depuración de aguas residuales en agricultura se ha incrementado en los últimos años, y es por tanto necesario asegurar el efecto de estos tratamientos sobre las propiedades del suelo y plantas (Bravo y col., 2016). Estos lodos están caracterizados por su elevada fluidez y composición heterogénea, la cual varía dependiendo del origen del agua residual a partir de la cual se obtienen y de las condiciones medioambientales (MMARM 2009).

#### **Lodos aplicados**

Los lodos empleados en los diferentes ensayos que se describen a continuación son lodos considerados estándares dentro de los producidos en la Región de Murcia, sometidos a tratamientos aerobios prolongados,

y que cuentan con macro y micronutrientes, así como con elevadas cantidades de materia orgánica. Los metales pesados están dentro de la norma (Directiva 86/278/EEC), así como los parámetros de contaminantes posibles de carbono orgánico volátil. También hay que señalar que los microorganismos patógenos pueden estar presentes en estos lodos.

Un aspecto importante dentro del estudio de las enmiendas orgánicas es la estabilización de su materia orgánica. Los lodos, por lo general, han sufrido ya una digestión en la planta de tratamiento. Este aspecto junto con la calidad propia de las aguas tratadas, determina la calidad de esta enmienda orgánica y la posibilidad de que puedan ser empleados de manera directa para ser reciclados en los suelos agrícolas.

El objetivo principal de este trabajo se basa en desarrollar alternativas para el manejo de los lodos, uno de los puntos clave junto con el control de la dosis a aplicar. Estos aspectos (manejo/dosis de lodo) resultan fundamentales para que los efectos de esta enmienda orgánica puedan ser evaluados de forma rigurosa.

### Zona de estudio

La zona experimental pertenece al ayuntamiento de Jumilla, y se encuentra bajo clima de estepa local. La temperatura media anual en Jumilla es de 15,6 °C y la precipitación media anual 369 mm. La precipitación varía 45 mm entre el mes más seco y el mes más húmedo. A lo largo del año, las temperaturas varían en 16,9 °C. Para este estudio se seleccionó, una finca agrícola con aplicación periódica de lodos de depuradora como enmienda orgánica con cultivo de cereal. La textura del suelo de la finca (38°39'27.4275"N, 1°20'37.2165"W) donde se realizó el ensayo (Figura 4.2.1) es franco arcillo arenosa, textura media clasificado como Regosol calcárico (FAO, 2006).



**Figura 4.2.1.** -Distribución de las parcelas experimentales de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

Las principales características del suelo de esta zona se muestran en la Tabla 4.2.2, y la nomenclatura y descripción de los tratamientos llevados a cabo se detallan en la Tabla 4.2.3.

**Tabla 4.2.2.**-Características del suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

Parámetros	Suelo Control
pH*	8,85
Conductividad Eléctrica*, $\mu\text{S cm}^{-1}$	134,2
Materia Orgánica Total, g $100\text{g}^{-1}$	2,20
Carbono Orgánico Total, g $100\text{g}^{-1}$	1,30
Nitrógeno total, g $100\text{g}^{-1}$	0,10
Fosforo total, mg $\text{kg}^{-1}$	0,02
Potasio total, g $100\text{g}^{-1}$	0,66

\*Determinado en extracto acuoso (1:5)

**Tabla 4.2.3.**-Nomenclatura y descripción de los tratamientos aplicados en los suelos de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

NOMENCLATURA	TRATAMIENTO	DOSIS (t N $\text{ha}^{-1}$ año $^{-1}$ )
SA-2(CR)-C	Parcela sin enmienda	0 
SA-2(CR)-L	Lodo Edar	170 

### Manejo y aplicación

Un aspecto muy importante es el manejo del lodo a la hora de aplicarlo al suelo (Figura 4.2.2). En el caso del cultivo de cereal, el lodo se aplicó de manera homogénea en la totalidad de la parcela mediante enterramiento y mezclado en la capa arable (15-20 cm), con una dosis de nitrógeno (máx.  $170 \text{ kg de N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ ) dentro de lo que marca el Real Decreto 1310/1990.

Esta forma de aplicación es la que se hace normalmente en agricultura, extendiéndolo primero de modo homogéneo sobre la superficie de la parcela y mezclándolo a continuación con la capa arable de los suelos. Esta forma de adición de lodos se incluye dentro de las buenas prácticas agrícolas que se consideran para este tipo de enmienda, consideramos que puede ser muy eficaz por la homogeneidad que se consigue.



**Figura 4.2.2.**-Distribución de lodo en la parcela de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

En esta zona de cultivo se establecieron 3 parcelas (Figura 4.2.1) diferentes donde se aplicó la enmienda con LODO EDAR durante dos cultivos sucesivos, dejando una zona adyacente con idéntico cultivo sin aplicación de dicho lodo (parcela control). De esta forma podremos establecer las diferencias entre las parcelas control y las parcelas con lodo.

Para nuestro estudio, cada una de las parcelas anteriormente señaladas se subdividió en tres subparcelas, de cada una de las cuales se cogió una muestra compuesta para análisis. Las principales características (agronómicas y medioambientales) de los lodos empleados en este ensayo se detallan en las Tablas 4.2.4, 4.2.5 y 4.2.6.

**Tabla 4.2.4.-**Parámetros agronómicos del lodo EDAR aplicado en las parcelas de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

Parámetros	Valores
Humedad	84,9
pH	6,49
Conductividad Eléctrica, mS cm <sup>-1</sup>	2,18
Materia Orgánica, g 100g <sup>-1</sup>	98,3
Carbono Orgánico Total, g 100g <sup>-1</sup>	40,24
Nitrógeno total, g100g <sup>-1</sup>	7,70
Nitrógeno orgánico total, g100g <sup>-1</sup>	7,06
Fosforo total, g100g <sup>-1</sup>	0,82
Potasio total, g100g <sup>-1</sup>	0,31

**Tabla 4.2.5.-**Parámetros medioambientales del lodo EDAR (metales pesados) aplicado en las parcelas de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

Metales pesados	Valores	Valore límite RD 1310/1990* (suelos PH>7)
Níquel, mg kg <sup>-1</sup>	18,53	400
Cobre, mg kg <sup>-1</sup>	62,79	1750
Cadmio, mg kg <sup>-1</sup>	0,14	40
Zinc, mg kg <sup>-1</sup>	292,1	4000
Mercurio, mg kg <sup>-1</sup>	<0,10	25
Arsénico, mg kg <sup>-1</sup>	1,60	--
Cromo, mg kg <sup>-1</sup>	40,95	1500
Plomo, mg kg <sup>-1</sup>	11,07	1200

\*Valor límite de concentración de metales pesados en los lodos destinados a su utilización agraria (mg kg<sup>-1</sup> de materia seca)

**Tabla 4.2.6.-**Parámetros medioambientales del lodo EDAR (Patógenos) aplicado en las parcelas de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

Patógenos	Valores
Salmonella, (en 25g)	Ausencia
E.coli, ufc g <sup>-1</sup>	1,7 x 10 <sup>4</sup>

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### PARÁMETROS AGRONÓMICOS

#### Parámetros físicos y físico-químicos

La adición de lodos al suelo puede producir una disminución del pH debido a la biodegradación del carbono orgánico abundante en los lodos (Singh y col., 2011). En nuestro caso, no se observaron diferencias significativas entre los valores de pH del suelo control y de los suelos enmendados con lodos EDAR (Tabla 4.2.7).

Este hecho es posiblemente debido a que, como se muestra en la Tabla 4.2.4, el lodo tiene un pH en un rango básico. El pH del lodo es un factor muy importante ya que determina la toxicidad potencial de los metales que contiene dicho lodo para las plantas (Lepp, 1981). Generalmente pH bajos conducen a un incremento en la biodisponibilidad de los metales pesados, favoreciendo su captación por las plantas.

Tampoco se observaron diferencias significativas en los valores de capacidad de retención hídrica (CRH) entre el suelo control y enmendado, pero sí que se produjo una variación significativa en la densidad, disminuyendo en el suelo enmendado respecto al control. Este aspecto resulta interesante, ya que favorece la penetración de las raíces en el suelo, así como la percolación del agua y el intercambio gaseoso.

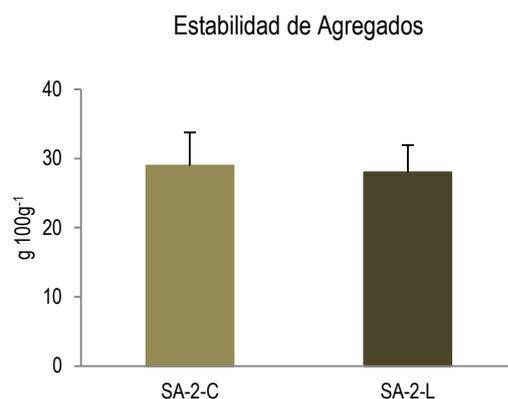
**Tabla 4.2.7.**-Valores de pH, densidad y capacidad de retención hídrica (CRH) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona Jumilla bajo cultivo de cereal

	pH	Densidad g cm <sup>-3</sup>	CRH g 100g <sup>-1</sup>
SA-2-C	8,65 (0,10)	1,15 (0,03)	40,83 (0,03)
SA-2-L	8,62 (0,04)	<b>1,06</b> (0,03)	43,00 (2,60)

SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Generalmente, gracias a la cantidad de materia orgánica contenida en el lodo, las propiedades físicas del suelo se ven mejoradas, disminuyendo la densidad, e incrementando tanto la capacidad de retención hídrica (Veeresh y col., 2003) como la estabilidad de agregados del suelo (Roca-Pérez y col., 2009).

En cuanto al porcentaje de agregados estables (Figura 4.2.3), los suelos con lodo no presentaron diferencias significativas con el suelo control.



**Figura 4.2.3.**-Porcentaje de agregados estables en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR

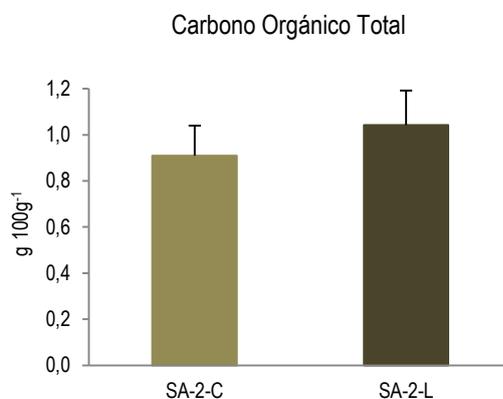
En nuestro experimento a corto plazo no somos capaces de detectar esta mejoría en todos estos parámetros, debido posiblemente a que ha transcurrido poco tiempo desde que comenzó a adicionarse lodo al suelo (2 años), así como a que la dosis de aplicación que no fue muy elevada (170 kg N ha<sup>-1</sup>).

### Contenido en materia orgánica y Parámetros nutricionales

La adición de enmiendas orgánicas a suelos deficientes en materia orgánica, como son los suelos cultivables de zonas semiáridas Mediterráneas en Europa, tiene gran importancia en la mejora de la fertilidad del suelo (Zdruli y col., 2004; Diacono y Montemurro, 2010; Mattana y col., 2014), ya que el mantenimiento de unos stocks adecuados de carbono orgánico en los suelos agrícolas es de vital importancia para asegurar el suministro de nutrientes (Tian y col., 1992).

### Materia orgánica

Después de dos años consecutivos de aplicación de lodo de depuradora en parcelas con cultivo de cereal se observó un ligero incremento en el contenido de carbono orgánico total (COT) en el suelo enmendado respecto al suelo control (Figura 4.2.4), no llegando a presentar diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).



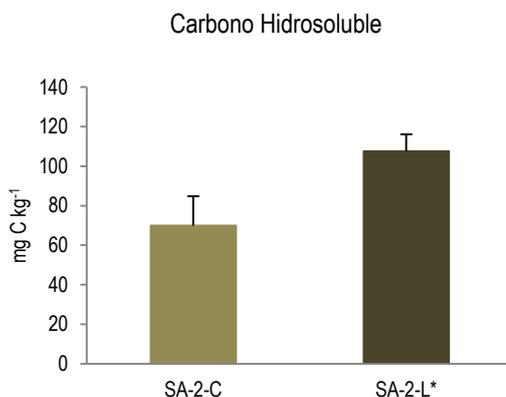
**Figura 4.2.4.**-Contenido de carbono orgánico total en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR

En estudios anteriores, Antolín y col., (2005), 3 años después de la aplicación de lodo de depuradora a suelos cultivados con cebada, observaron un incremento en el contenido de COT en el suelo enmendado respecto al suelo control.

Tenemos que tener en cuenta que la aplicación del lodo se realiza en función de la concentración de N ( $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ ), por lo que es posible que las aplicaciones realizadas durante estos dos años consecutivos, no sean suficientemente elevadas en términos de incorporación de carbono como para incrementar considerablemente su concentración a corto plazo.

Por otro lado, la naturaleza de la enmienda (lodo fresco), hace que todavía sufra procesos de mineralización activa, perdiéndose parte del carbono incorporado con la enmienda.

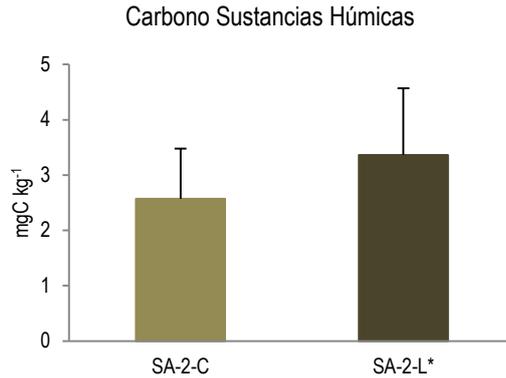
En cuanto a la fracción más lábil de carbono como es el carbono hidrosoluble (Cs), se observó un incremento en su contenido en el suelo enmendado respecto al suelo control (Figura 4.2.5).



**Figura 4.2.5.**-Contenido de carbono hidrosoluble en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

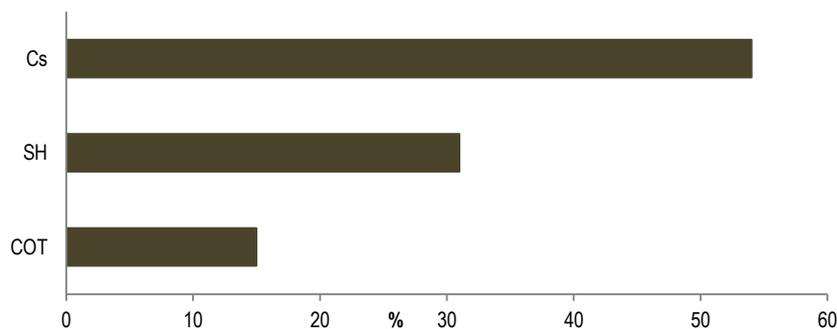
Este hecho puede deberse a que después de dos años de aplicación de lodo al suelo, se haya producido un aumento en la fertilidad del suelo con el consecuente incremento en el desarrollo vegetal, incrementándose así el aporte de residuos vegetales, siendo por tanto estos por sí mismos, junto con los exudados radiculares, una fuente adicional de C hidrosoluble en el suelo enmendado.

La fracción de materia orgánica más estable, representada por las sustancias húmicas (SH), incrementó ligeramente su contenido en el suelo enmendado respecto al suelo control (Figura 4.2.6).



**Figura 4.2.6.**-Contenido de carbono de sustancias húmicas en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Cómo se puede observar en la Figura 4.2.7, gracias a la incorporación del lodo de depuradora se produjo un incremento en todas las fracciones de carbono estudiadas respecto al suelo control. Cabe destacar el incremento respecto al suelo control en la fracción de SH, ya que esta fracción ejerce un reconocido efecto positivo tanto sobre el suelo como sobre el desarrollo vegetal (González Pérez, 2017). Por otra parte, esta fracción de la materia orgánica, debido a su alto poder complejante reduce la biodisponibilidad de los metales pesados y otros posibles contaminantes presentes en el lodo (Sharma y col., 2017).



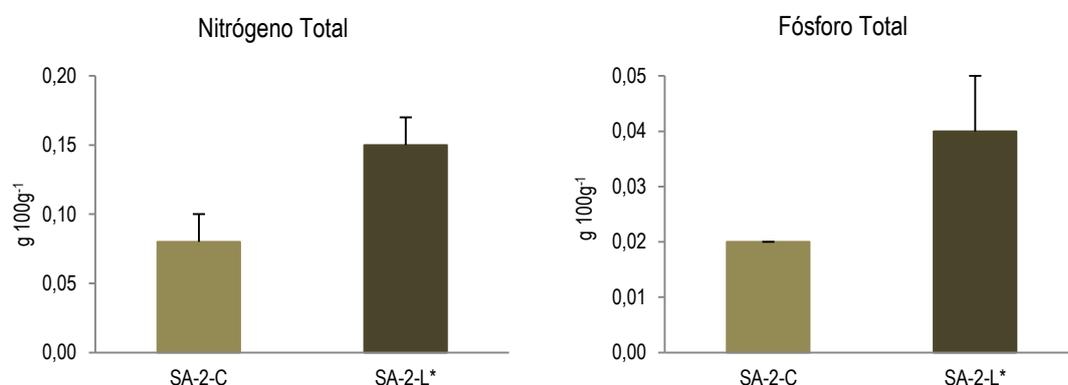
**Figura 4.2.7.**-Porcentaje de variación de las diferentes fracciones de carbono: carbono soluble (Cs), sustancias húmicas (SH) y carbono orgánico total (COT) en el suelo enmendado respecto al suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

### **Parámetros nutricionales**

Los dos nutrientes que más limitan la producción biológica tanto en ecosistemas naturales como agrícolas son el nitrógeno y el fósforo. La presencia en los lodos de depuradora de nutrientes beneficiosos para las plantas tales como N y P, los convierte en un buen agente para la mejora de la fertilidad del suelo (Latare y col., 2014). El N orgánico y N-NH<sub>4</sub> son las formas dominantes de N en estos residuos (Alvarenga y col., 2015).

La aplicación de lodo de depuradora tuvo un impacto sustancial sobre el contenido de estos nutrientes en el suelo enmendado (Figura 4.2.8), ya que tanto el nitrógeno como el fósforo alcanzaron en este suelo

contenidos significativamente superiores a los del suelo control, poniéndose así de manifiesto que la adición de lodo tiene un impacto positivo sobre la fertilidad del suelo.



**Figura 4.2.8.**-Contenido de nitrógeno total y fósforo total en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

La concentración de potasio también aumentó significativamente en el suelo enmendado con lodo respecto al control (Tabla 4.2.8), no observándose diferencias entre tratamientos en relación a la concentración de calcio.

**Tabla 4.2.8.**-Contenido de potasio (K) y calcio (Ca) en el suelo control y suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

	K, g 100g <sup>-1</sup>	Ca, g 100g <sup>-1</sup>
SA-2-C	0,45 (0,03)	12,23 (1,34)
SA-2-L	<b>0,55 (0,05)</b>	12,56 (1,74)

SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. Cada valor representa la media de 3 valores ( $n=3$ ); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

En cuanto a los micronutrientes (Tabla 4.2.9) no se observaron diferencias significativas entre el suelo enmendado con lodo y el suelo control después de dos cultivos sucesivos de cebada con adición de lodo.

**Tabla 4.2.9.**-Contenido de magnesio (Mg), manganeso (Mn), aluminio (Al) azufre (S) y hierro (Fe) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

	SA-2-C	SA-2-L
Mg, mg kg <sup>-1</sup>	1,74 (0,39)	1,45 (0,24)
Mn, mg kg <sup>-1</sup>	218,6 (27,6)	238,6 (35,8)
Al, mg kg <sup>-1</sup>	1,70 (0,12)	1,90 (0,19)
S, mg kg <sup>-1</sup>	0,20 (0,02)	0,11 (0,01)
Fe, mg kg <sup>-1</sup>	10984 (1079)	12672 (1341)

SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. Cada valor representa la media de 3 valores ( $n=3$ ); entre paréntesis: desviación standard

## PARÁMETROS AMBIENTALES

Existe siempre un riesgo medioambiental ligado a las enmiendas con lodos de depuradora, debido a la posible presencia en los lodos de compuestos potencialmente tóxicos (Mattana y col., 2014) que pueden bioacumularse o magnificarse (Mohapatra y col., 2016), al desequilibrio de nutrientes y a la acumulación de elementos tóxicos, y a su lixiviado (Singh y col., 2011). La incorporación de metales tóxicos procedentes del lodo adicionado al suelo y su eventual lixiviación a las aguas subterráneas, puede derivar en serios problemas de salud con implicaciones medioambientales (Mahdavi y Jafari, 2010). Por otro lado, la conductividad eléctrica es actualmente reconocida como índice de salinidad (Seilsepour y Rashidi, 2008), siendo el principal factor edáfico que podría limitar la producción del cultivo y causar degradación del suelo en regiones áridas y semi-áridas (Lakhdar y col. 2010). Además, este fenómeno se ve afectado por la escasa intensidad de lluvias o por la baja calidad del agua de riego (Pérez-Gimeno y col., 2016). De ahí la importancia de monitorizar estos parámetros, algunos de los cuales pueden tener carácter acumulativo.

La incorporación de lodo de depuradora al suelo produjo un incremento significativo ( $p \leq 0,05$ ) de la conductividad eléctrica (CE) (Tabla 4.2.10), en el suelo enmendado respecto al suelo control coincidiendo con los resultados obtenidos por Lloret y col., (2016) tras la adición de lodos de depuradora en suelos agrícolas de la Región de Murcia. No obstante, los valores alcanzados de CE en los suelos no sobrepasaron los  $300 \mu\text{S cm}^{-1}$ . Otro factor que podría afectar a la salinidad de los suelos es la concentración de  $\text{Na}^+$ . Como se indica en la Tabla 4.2.10 no se produce incremento en sodio en el suelo enmendado. Así, desde una perspectiva medioambiental no se observa problema de salinización de estos suelos debido a la enmienda. Sin embargo, como resultado de la mineralización del N sí que se observó un incremento significativo en nitratos (Tabla 4.2.10), que se refleja en un incremento significativo en el contenido de N hidrosoluble (Ns) de los suelos enmendados con lodo respecto al suelo control (Figura 4.2.9). No obstante, el contenido de nitratos observado en el suelo enmendado es bajo por lo que es poco probable que se produzcan problemas de lixiviación de nitratos en el suelo de esta zona.

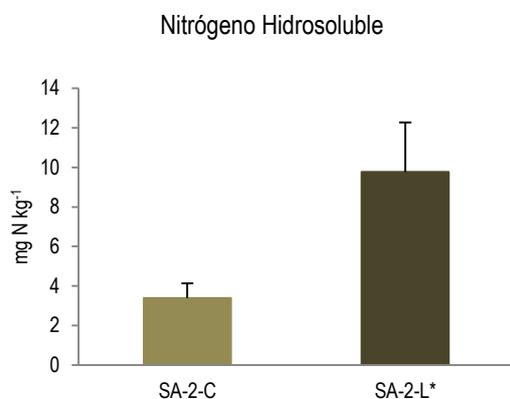
**Tabla 4.2.10.**-Valores de conductividad eléctrica (CE), sodio ( $\text{Na}^+$ ) y nitratos en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

	SA-2-C	SA-2-L
CE, $\mu\text{S cm}^{-1}$	255,8 (29,2)	<b>290,8</b> (26,2)
$\text{Na}^+$ , g $100\text{g}^{-1}$	0,02 (0,00)	0,02 (0,00)
Nitratos, mg $\text{NO}_3^- \text{kg}^{-1}$	25,52 (1,69)	<b>41,35</b> (10,60)

SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. Cada valor representa la media de 3 valores ( $n=3$ ); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de *t* de Student ( $p \leq 0,05$ )

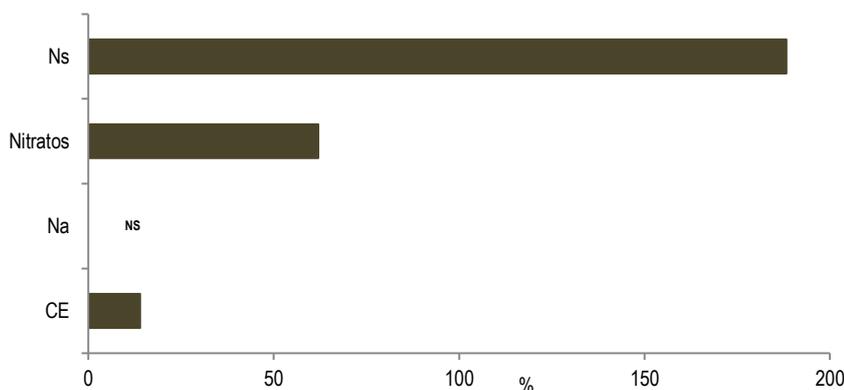
Como se detalla en la Tabla 4.2.4 el lodo de depuradora empleado como enmienda orgánica en este ensayo presentaba una elevada concentración de nitrógeno orgánico. La tasa de mineralización del nitrógeno orgánico del lodo varía en función de diversos factores tales como el tipo de suelo, condiciones ambientales, y el porcentaje de nitrógeno orgánico presente en el lodo (Sommer, 1977). Los lodos son considerados como

fertilizantes “lentos” frente al aporte de nutrientes a las plantas, esto, junto con el hecho de que la tasa de aplicación empleada ( $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ ) es la recomendada en zonas vulnerables, ha hecho posible que sea poco probable que se produzca lixiviación al suelo.



**Figura 4.2.9.**-Contenido de nitrógeno hidrosoluble en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. \* Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Como se indica en la Figura 4.2.10 a excepción de ion  $\text{Na}^+$ , los demás parámetros (CE, nitratos y Ns) incrementaron respecto al suelo control, siendo este incremento mayor en la fracción soluble de N (Ns). El N es móvil en el suelo y está sujeto a pérdidas por lixiviación, principalmente en forma de nitratos, si no es absorbido por las plantas y/o perdido por desnitrificación o por volatilización del amonio. El nitrógeno que es fijado en el interior de las plantas puede retornar de nuevo al suelo en forma de resto vegetal.



**Figura 4.2.10.**-Porcentaje de variación de conductividad eléctrica (CE), sodio ( $\text{Na}^+$ ), nitratos y nitrógeno hidrosoluble (Ns) en el suelo enmendado respecto al suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Las concentraciones de metales pesados en los suelos enmendados no presentaron diferencias significativas respecto al suelo control después de dos años de cultivo con dos aplicaciones de lodo (Tabla 4.2.11). Esto era de esperar ya que el lodo de depuradora empleado no presentaba concentraciones elevadas de metales pesados y la dosis de lodo aplicada no era elevada. No obstante, el experimento se ha realizado a corto plazo (2 años), con sólo dos aplicaciones de lodo, lo que dificulta que se pueda apreciar algún efecto acumulativo en metales pesados por efecto de la enmienda.

**Tabla 4.2.11.**-Contenido de metales pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

	SA-2-C	SA-2-L
Cd, mg kg <sup>-1</sup>	0,38 (0,03)	0,35 (0,06)
Cr, mg kg <sup>-1</sup>	23,25 (1,56)	28,03 (3,51)
Cu, mg kg <sup>-1</sup>	5,22 (0,32)	7,87 (0,61)
Ni, mg kg <sup>-1</sup>	7,93 (0,52)	10,82 (0,83)
Pb, mg kg <sup>-1</sup>	13,88 (2,16)	16,04 (2,44)
Zn, mg kg <sup>-1</sup>	20,79(2,50)	25,27 (2,86)

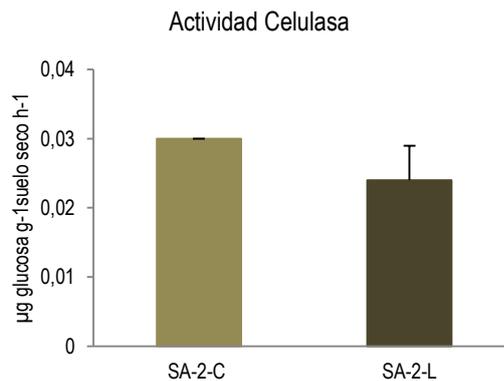
SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard

### PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA

Las propiedades biológicas del suelo tales como la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas desempeñan un importante papel en el *turnover* de nutrientes a través de la mineralización de la materia orgánica, así como en la transformación de los nutrientes y su almacenamiento (Tarrasón y col., 2010). Estos parámetros biológicos son buenos indicadores de la calidad y fertilidad del suelo ya que responden de inmediato a cualquier perturbación que se produzca en el suelo (Hamdi y col., 2019).

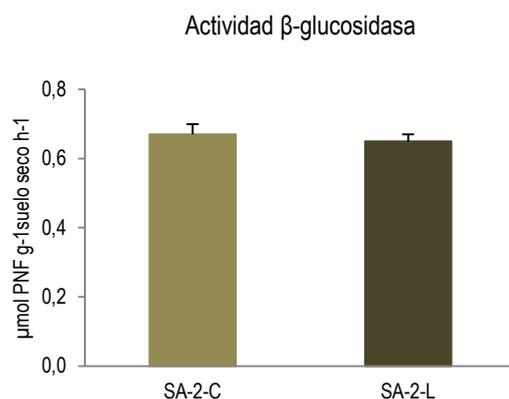
#### Actividades enzimáticas

Tras la adición consecutiva durante dos años de lodo de depuradora al suelo con cultivo de cereal, no se observó incremento en la actividad celulasa en el suelo enmendado respecto a los suelos control (Figura 4.2.11).



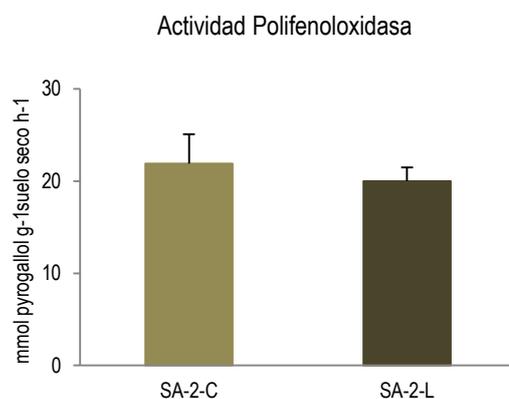
**Figura 4.2.11.**-Actividad enzimática celulasa en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR

Tampoco se observaron diferencias significativas en la actividad β-glucosidasa entre el suelo enmendado y el suelo control, coincidiendo con los resultados obtenidos para el contenido en COT (Figura 4.2.4), ya que esta enzima generalmente está correlacionada con el contenido en COT. Tras el tiempo transcurrido, es posible que los sustratos carbonados específicos de esta enzima aportados por el lodo hayan sido degradados.



**Figura 4.1.12.**-Actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR

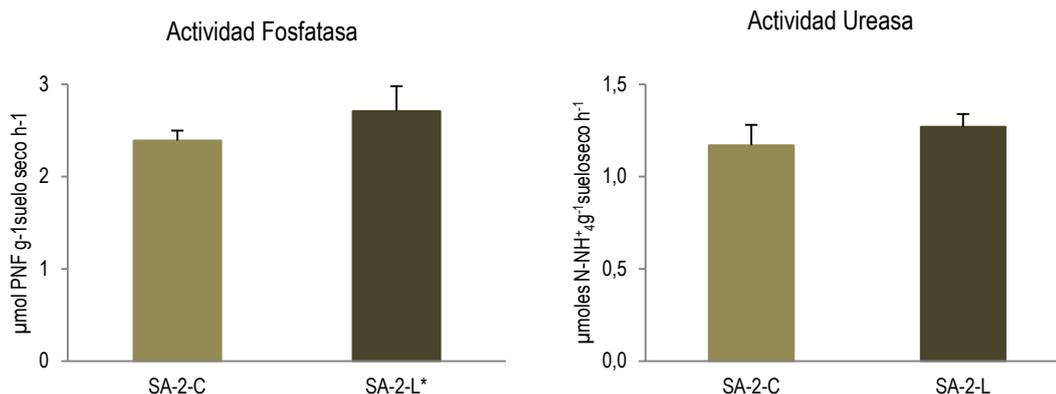
Con la misma tendencia que las anteriores actividades enzimáticas implicadas en el ciclo del C, la actividad polifenoloxidasa no presentó diferencias significativas entre los suelos control y enmendados (Figura 4.2.13).



**Figura 4.2.13.**-Actividad enzimática polifenoloxidasa en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR

El lodo de depuradora empleado como enmienda proporciona tanto fósforo como nitrógeno en forma orgánica que tiene que ser transformado hasta forma mineral para que pueda ser asimilable por las plantas.

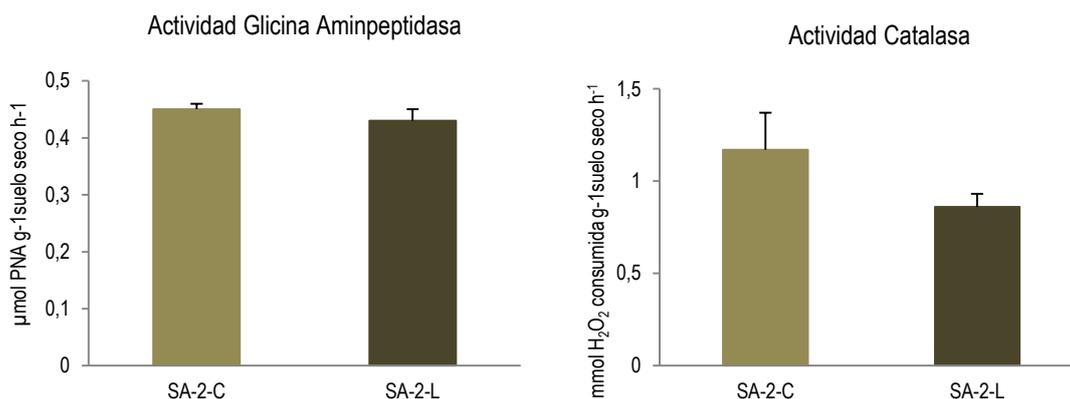
Tras dos cultivos sucesivos de cebada con aporte anual de lodo, el suelo enmendado con lodo presentó un incremento significativo en la actividad fosfatasa respecto al suelo control, mientras que para la actividad ureasa no se observaron diferencias significativas aunque si un ligero aumento de la actividad en el suelo enmendado con lodo (Figura 4.2.14).



**Figura 4.2.14.**-Actividades enzimáticas fosfatasa y ureasa en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

La actividad glicina aminopeptidasa está implicada en la degradación de las proteínas, catalizando la hidrólisis de péptidos, dando lugar a péptidos más pequeños y aminoácidos libres. Como se muestra en la Figura 4.2.15, no se observaron diferencias significativas entre el suelo enmendado y el suelo control en relación a esta enzima. Esto es debido, probablemente, a que esta enmienda no introduce sustratos capaces de activar esta enzima.

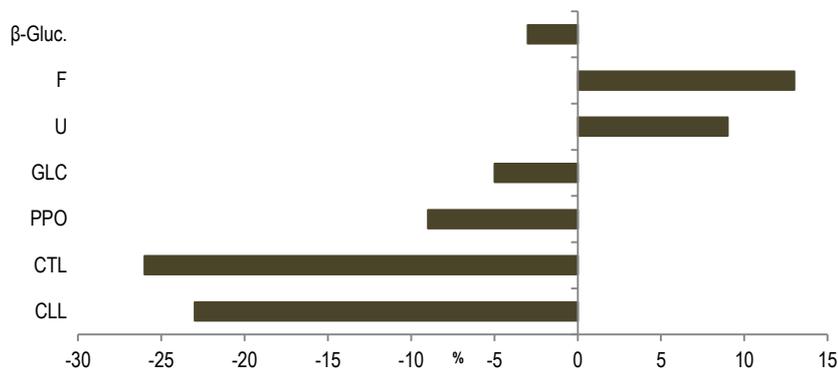
El incremento en la porosidad del suelo debido al alto contenido en materia orgánica en suelos con enmiendas orgánicas conduce a un incremento en la aireación del suelo (Tejada y col., 2006), lo que podría resultar en una alta actividad catalasa (Giusquiami y col., 1995; García-Gil y col., 2000; Fernández y col., 2009). Sin embargo, aunque, como se ha comentado anteriormente, en los suelos con cultivo de cereal enmendados con lodo se observó una disminución de la densidad (Tabla 4.2.7), no se observa en estos suelos un incremento en la actividad catalasa con relación al suelo control (Figura 4.2.15).



**Figura 4.2.15.**-Actividades enzimáticas glicina aminopeptidasa y catalasa en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR

Las enmiendas con lodos de depuradora pueden afectar a la actividad enzimática del suelo de dos maneras.

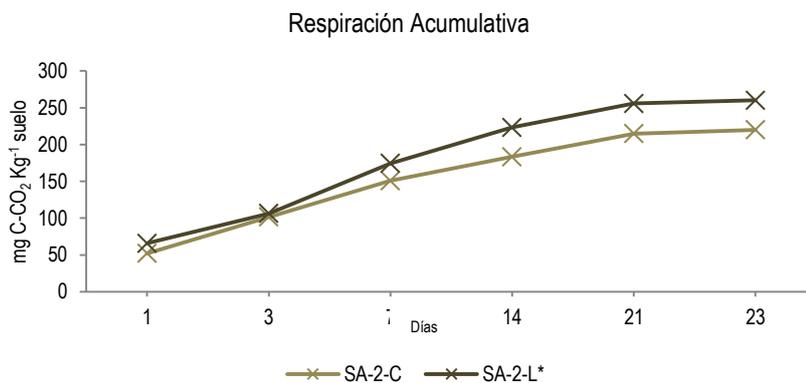
Por un lado, las propiedades superficiales de la fase sólida del lodo podrían conducir a un incremento en la estabilización de las enzimas extracelulares, y por otro lado, la incorporación del lodo podría incrementar la actividad enzimática del suelo al proporcionar sustratos como péptidos y proteínas, y por tanto, incrementar la proliferación microbiana (Sharma y col., 2017). Tras la aplicación 2 años consecutivos de lodo de depuradora a razón de 170 kg N ha<sup>-1</sup>año<sup>-1</sup> a un suelo con cultivo de cereal, solamente se observó incremento significativo en las actividad enzimática fosfatasa y un ligero aumento en la actividad ureasa del suelo enmendado respecto al suelo control (Figura 4.2.16). El incremento de estas actividades responde a la entrada de macronutrientes aportados por el lodo al suelo, pudiendo ser insuficiente el aporte de COT a las dosis aplicadas para poder obtener mayor respuesta en las enzimas implicadas en el ciclo del carbono.



**Figura 4.2.16.**-Porcentaje de variación de las actividades enzimáticas β-glucosidasa (β-gluc.), fosfatasa (F), ureasa (U), glicina aminopeptidasa (GLC), polifenoloxidasa (PPO), catalasa (CTL) y celulasa (CLL) en el suelo enmendado respecto al suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

### Respiración microbiana

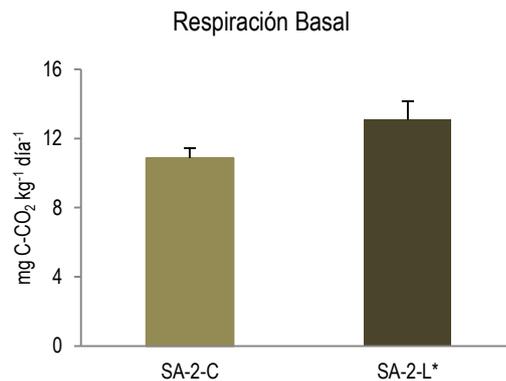
La tasa de mineralización de la materia orgánica del suelo por parte de los microorganismos del suelo es determinada mediante la medida del CO<sub>2</sub> liberado del suelo (respiración microbiana).



**Figura 4.2.17.**-Curvas acumulativas de desprendimiento de CO<sub>2</sub> en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control; L: lodo EDAR. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student (p≤0,05)

Tanto el suelo enmendado como el suelo control presentaron unas tasas de respiración paralelas, con pendientes poco pronunciadas que alcanzaban valores ligeramente superiores en el suelo enmendado (Figura 4.2.17) con lodo que en el suelo control, indicando una mayor actividad microbiana en este suelo.

Así, la respiración basal del suelo incrementó con la incorporación de lodo al suelo 1,5 veces con respecto al suelo control (Figura 4.2.18). Carbonell y col, (2009) observaron mayores tasas de respiración basal en suelos agrícolas enmendados con lodo de depuradora tras 3 adiciones anuales de dicha enmienda.



**Figura 4.2.18.**-Respiración basal en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control; L: lodo EDAR. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

### Análisis de la estructura de la comunidad microbiana

La incorporación de lodo de depuradora como enmienda normalmente resulta en una explosión de la actividad microbiana del suelo. Sin embargo, también se pueden provocar efectos negativos sobre los microorganismos del suelo debido a la adición de materia orgánica e inorgánica y contaminantes orgánicos. Entre estos efectos negativos destacan la reducción en la fijación de N, reducción de la biomasa y cambios en la composición de la población microbiana del suelo (Håni y col., 1996)

Los PLFAs biomarcadores de bacterias Gram<sup>-</sup>, estaban representados, en este estudio, por los ácidos grasos C16:1w9 y C18:1w9c. Tan sólo en el caso del ácido graso C18:1w9c se produjo un incremento significativo en el suelo enmendado con lodo respecto al control.

En cuanto a los ácidos grasos de la población de bacterias Gram<sup>+</sup> identificados (i15:0, a15:0, i17:0) alcanzaron valores significativamente superiores al control en el suelo enmendado, sin embargo, no ocurriendo lo mismo con la abundancia relativa de PLFAs de actinobacterias (18Me16:0 y 10Me18:0), que o bien no se identificaron (18Me16:0) o bien no presentaron diferencias significativas en el suelo enmen

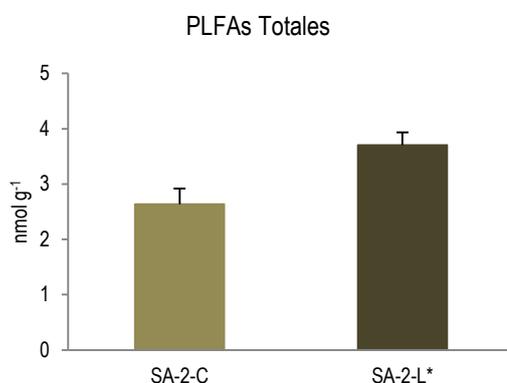
**Tabla 4.2.12.**-Abundancia de PLFAs (nmolg<sup>-1</sup>) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

PLFAs (nmol g <sup>-1</sup> )	SA-2-C	SA-2-L
c14:0	0,07 (0,01)	<b>0,14</b> (0,02)
i15:0	0,33 (0,07)	<b>0,54</b> (0,03)
a15:0	0,32 (0,03)	<b>0,42</b> (0,04)
c16:0	0,38 (0,08)	<b>0,55</b> (0,04)
10Me16:0	0,08 (0,02)	0,09 (0,01)
c16:1w9	0,39 (0,08)	0,46 (0,04)
i17:0	0,27 (0,05)	<b>0,40</b> (0,03)
c17:0	0,07 (0,00)	<b>0,11</b> (0,00)
c18:0	0,07 (0,01)	<b>0,13</b> (0,02)
10Me18:0	0,02 (0,00)	0,02 (0,00)
c18:1w9c	0,26 (0,03)	<b>0,38</b> (0,03)
c18:2w6,9c	0,08 (0,01)	<b>0,21</b> (0,02)
c18:3w3	0,06 (0,01)	<b>0,11</b> (0,02)
c20:1w9	<b>0,09</b> (0,01)	0,07 (0,01)
c24:1w9	0,07 (0,01)	0,08 (0,01)

SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

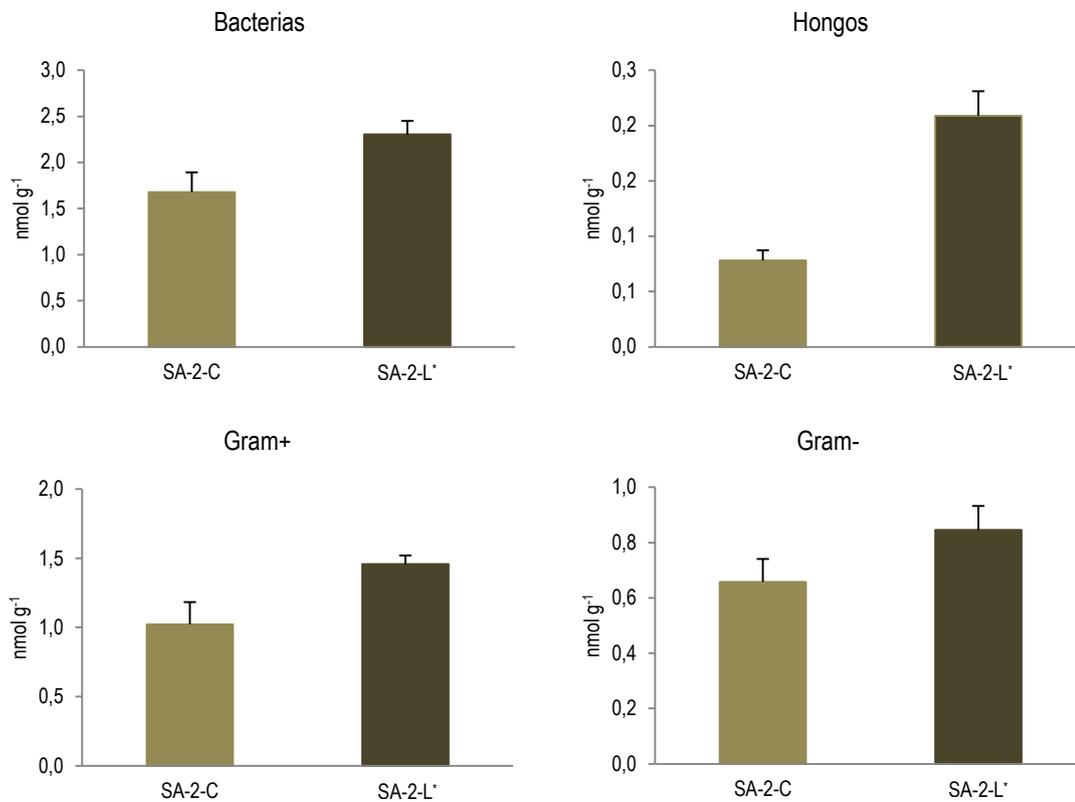
Como se puede observar en la Figura 4.2.19, el contenido en PLFAs totales (reflejo del tamaño de las poblaciones microbianas) se vio positivamente afectado por la adición de lodo a la dosis de 170 kg N ha<sup>-1</sup>año<sup>-1</sup>, tras dos años consecutivos de la aplicación de lodo a dosis de 170 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. En este sentido la población microbiana incrementó 1,4 veces en el suelo enmendado respecto al control.

Hay que tener en cuenta que el lodo de depuradora se considera como una “*materia viva*”, rica en microorganismos, los cuales pueden influir positivamente sobre las comunidades microbianas del suelo en número y diversidad, produciéndose una bioaumentación tras la adición de la enmienda (Hamdi y col., 2007a).



**Figura 4.2.19.**-PLFAs totales en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

La población total de bacterias y hongos incrementó significativamente ( $p \leq 0,05$ ) con la adición del lodo. En este sentido la población total de bacterias era 1,4 veces superior en el suelo con lodo (Figura 4.2.20).



**Figura 4.2.20.**-Bacterias, Hongos, Bacterias Gram<sup>+</sup> y Bacterias Gram<sup>-</sup> en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

La proliferación de la población de hongos mostró una tendencia similar en el suelo enmendado respecto al control, siendo numéricamente inferior ( $0,21 \text{ nmol g}^{-1}$ ) la abundancia de las poblaciones fúngicas que la de las poblaciones bacterianas ( $2,30 \text{ nmol g}^{-1}$ ); sin embargo, el incremento en la población de hongos fue superior al de bacterias ya que aumentó 2,62 veces en suelos con lodo respecto al suelo control sin enmendar (Figura 4.2.20).

Estos resultados están en consonancia con los obtenidos por Mossa y col., (2017), quienes también observaron cómo la población de bacterias se veía afectada en diferente grado a la de hongos al incorporar lodo en suelos agrícolas. En cuanto a la población de bacterias Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup>, presentaron la misma tendencia, incrementando en ambos casos 1,4 veces su población en los suelos enmendados con lodo respecto al suelo control.

Las concentraciones de PLFAs saturados y monoinsaturados, eran significativamente superiores en el suelo enmendado que en el suelo control (Tabla 4.2.13), mientras que, la población de actinobacterias no incrementó con la dosis de enmienda aplicada. Tampoco se han observado diferencias significativas entre el suelo enmendado y control en relación al cociente bacterias Gram<sup>+</sup>/Gram<sup>-</sup>, indicativo de que la acción

estimulante de la enmienda sobre ambos grupos de bacterias era similar, por lo que el cociente no se veía afectado.

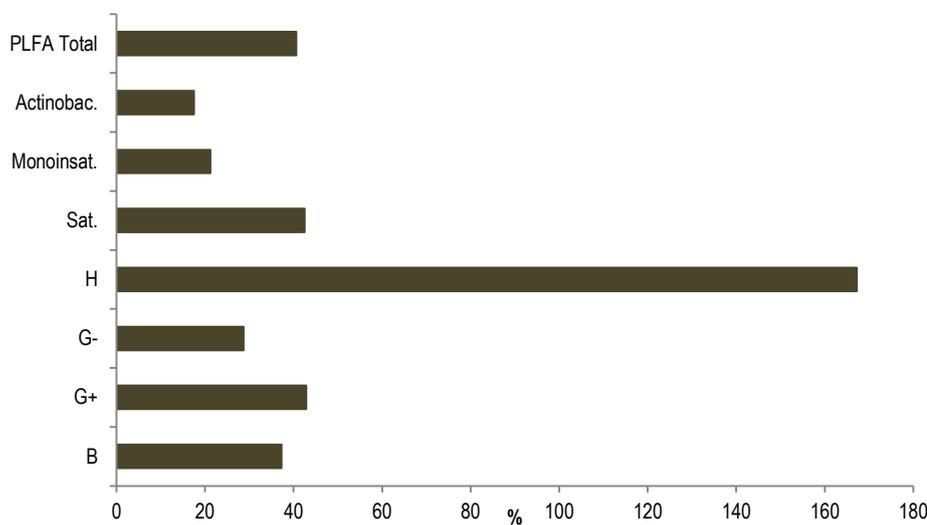
Este mismo patrón de comportamiento se observó el cociente de PLFAs saturados/monoinsat. Sin embargo, sí que se produjo un incremento significativo en el cociente Hongos/Bacterias en el suelo enmendado con lodo respecto al control.

**Tabla 4.2.13.**-Relaciones bacterias Gram+/Gram-, hongos/bacterias y de PLFAs saturados/monoinsaturados (Sat/Monoinsat.) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

nmol g <sup>-1</sup>	Saturados	Monoinsat.	Actinobac.	Gram+/Gram-	Hongos/Bac.	Sat/Monoinsat.
SA-2-C	1,68 (0,26)	0,81 (0,07)	0,09 (0,02)	1,56 (0,20)	0,05 (0,01)	2,06 (0,34)
SA-2-L	<b>2,39</b> (0,10)	<b>0,99</b> (0,10)	0,11 (0,01)	1,73 (0,10)	<b>0,09</b> (0,00)	2,42 (0,12)

SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas para cada parámetro, de acuerdo con el test de t de Student (p≤0,05)

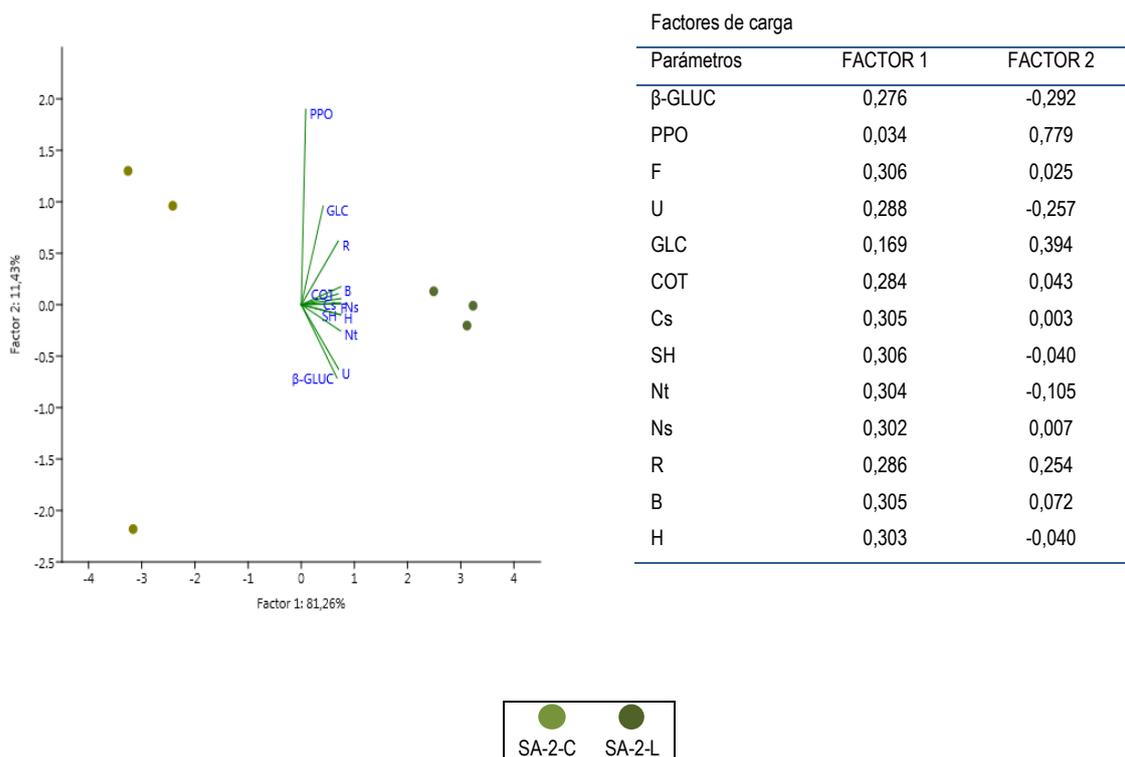
En general, la incorporación del lodo aumentó la población microbiana en el suelo, siendo mucho más significativo el incremento en la población de hongos respecto al control que el incremento de la población bacteriana. El aumento de la comunidad microbiana puede estar influido por la entrada de nutrientes, así como por el aporte de microorganismos incorporados en el lodo (Zoghiami y col., 2016). Consecuentemente, la adición de lodos de depuradora provoca la bioestimulación y bioaugmentación de los mircoorganismos autóctonos del suelo (Hamdi y col., 2007 b).



**Figura 4.2.21.**-Porcentaje de variación de los ácidos grasos de membrana de: hongos (H), bacterias (B), Gram<sup>+</sup> (G<sup>+</sup>)y Gram<sup>-</sup> (G<sup>-</sup>), PLFAs totales, actinobacterias (Actinobac.), monoinsaturados (Monoinsat.) y saturados (Sat.) en el suelo enmendado respecto al suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal

## ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN

El análisis de componentes principales puede ayudar a entender el efecto de la aplicación de lodos de depuradora en suelos agrícolas con cultivo de cereal respecto a diferentes propiedades:  $\beta$ -Glucosidasa ( $\beta$ -GLUC), Glicina Aminopeptidasa (GLC), fosfatasa (FOSF), polifenoloxidasas (PPO), ureasa (U); carbono orgánico total (COT), carbono hidrosoluble (Cs), nitrógeno total (Nt), nitrógeno hidrosoluble (Ns), sustancias húmicas (SH), respiración acumulativa (R), y poblaciones de hongos (H) y bacterias (B). Dicho análisis de componentes principales (Figura 4.2.22) explicaba el 92,7 % de la varianza y ha sido capaz de diferenciar el suelo enmendado con lodo del suelo sin enmendar. El Factor 1, explicaba el 81,26% de la varianza, mientras que el Factor 2 explicó el 11,43% de la varianza. Las diferentes fracciones de carbono (COT, Cs y SH) y nitrógeno (Nt y Ns), las actividades enzimáticas  $\beta$ -Glucosidasa, Ureasa y Fosfatasa así como las poblaciones bacterianas y de hongos tuvieron un alto porcentaje de carga sobre el Factor 1, mientras que, las actividades glicina aminopeptidasa y polifenoloxidasas tenían un alto porcentaje de carga en el Factor 2. La respiración microbiana presentó un porcentaje de carga aproximadamente igual para ambos factores.



**Figura 4.2.22.** Análisis de componentes principales de actividad  $\beta$ -Glucosidasa ( $\beta$ -GLUC), actividad fosfatasa (F), actividad glicina aminopeptidasa (GLC), actividad polifenoloxidasas (PPO), ureasa (U), carbono soluble en agua (Cs), carbono orgánico total (COT), carbono de las sustancias húmicas (SH), nitrógeno total (Nt), nitrógeno soluble en agua (Ns), respiración acumulativa (R), bacterias (B) y hongos (H) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. SA: suelo agrícola, 2: años desde la enmienda, C: control, L: lodo EDAR

Por tanto, cómo se muestra en la Figura 4.2.22, el suelo enmendado con lodo, situado espacialmente en el cuadrante donde tanto el Factor 1 como el Factor 2 son positivos, presenta después de la adición de lodo dos años consecutivos, una alta correlación con todas las variables consideradas en este análisis. Por otra parte,

los suelos no enmendados además de tener mayor dispersión, presentan menor carga con la mayoría de los parámetros estudiados ya que se disponen en los cuadrantes donde el Factor 1 es negativo.

El Factor 2 es positivo para parte de los suelos no enmendados teniendo mayor peso las actividades PPO y GLC. En general, mediante el análisis de componentes principales se puede observar la mejora en la calidad de los suelos cultivados con cereal tras dos adiciones anuales consecutivas de lodos de depuradora.

La matriz de correlación entre los diferentes parámetros considerados en nuestro estudio (Tabla 4.2.14), ha puesto de manifiesto la existencia de una correlación positiva entre la conductividad eléctrica del suelo (CE) y parámetros nutricionales, como el P y N total y el N hidrosoluble, y biológicos como las poblaciones bacterianas (B) (Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup>) y de hongos (H).

Cómo hemos indicado anteriormente (Figura 4.2.20), la población de hongos en el suelo enmendado presentó una tendencia similar que las poblaciones bacterianas incrementando con la adición de lodo, aunque numéricamente la población de hongos fue mucho menor.

Así, en relación al crecimiento microbiano en el suelo, ambas comunidades se encuentran altamente correlacionadas ( $r=0,91^*$ ,  $p<0,01$ ). Es de destacar que el COT solo presentaba correlación con el contenido de SH y la actividad ureasa, mientras que el Cs mostraba una correlación positiva con el Pt, todas las fracciones de N, la respiración y las diferentes poblaciones microbianas.

En cuanto a las actividades enzimáticas, la fosfatasa (F) mostró unos elevados coeficientes de correlación ( $p<0,01$ ) con los nutrientes incorporados por el lodo Pt, Nt, Ns y el desarrollo de la comunidad microbiana: B, H, Gram<sup>+</sup>, Gram<sup>-</sup>, ( $p<0,05$ ), sugiriendo que la enmienda con lodo de depuradora proporciona fósforo en forma orgánica, estimulando la actividad de la enzima fosfatasa para su transformación en fósforo inorgánico.

La actividad enzimática ureasa correlacionó muy significativamente ( $p<0,01$ ) con la entrada de COT y SH al suelo. El resto de actividades enzimáticas  $\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ -G), celulasa (CL), polifenoloxidasas (PPO) y glicina aminopeptidasa (GLC), no mostraron correlación significativa con los parámetros estudiados (Tabla 4.2.14).

**Tabla 4.2.14.**-Correlaciones entre variables en los suelos de la zona de Jumilla bajo cultivo de cereal. \*significación p<0,05, \*\*significación p<0,01

	CE	CRH	EA	D	CL	B-G	PPO	F	U	GLC	COT	Cs	SH	Pt	Nt	Ns	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	R	Gram <sup>+</sup>	Gram <sup>-</sup>	B	H	
CE																							
CRH	0,24																						
EA	-0,31	-0,34																					
D	-0,62	0,04	0,15																				
CL	-0,18	0,07	0,66*	0,18																			
B-G	-0,27	-0,23	0,51	-0,23	0,47																		
PPO	0,17	-0,41	0,33	0,09	0,21	-0,07																	
F	0,56	-0,16	-0,35	-0,59*	-0,60*	0,08	0,18																
U	0,26	0,45	-0,55	-0,49	-0,10	-0,03	-0,51	0,01															
GLC	-0,26	0,60*	0,44	0,13	0,31	0,50	0,53	0,13	-0,35														
COT	0,17	0,55	-0,52	-0,26	0,17	0,12	-0,51	-0,14	0,83**	-0,3													
Cs	0,39	0,42	-0,65	-0,48	-0,43	0,02	-0,50	0,45	0,47	-0,55	0,55												
SH	-0,08	0,63*	-0,45	-0,05	0,13	0,02	-0,78**	-0,38	0,71**	-0,53	0,88**	0,53											
Pt	0,65*	-0,03	-0,50	-0,71**	-0,60*	-0,13	-0,13	0,77**	0,20	-0,34	0,11	0,65*	-0,03										
Nt	0,62*	0,41	-0,60	-0,58*	-0,60*	-0,10	-0,25	0,73**	0,44	-0,46	0,30	0,73**	0,15	0,76**									
Ns	0,66*	0,11	-0,57	-0,71**	-0,64*	-0,14	-0,19	0,81**	0,26	-0,40	0,16	0,72**	0,03	0,94**	0,83**								
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,50	0,01	-0,38	-0,65*	-0,60*	0,09	-0,06	0,88**	0,07	-0,20	-0,02	0,63*	-0,15	0,81**	0,78**	0,92**							
R	0,33	0,25	-0,80**	-0,50	-0,58*	-0,15	-0,32	0,53	0,50	-0,43	0,45	0,87**	0,40	0,73**	0,69*	0,72**	0,60*						
Gram <sup>+</sup>	0,60*	0,33	-0,85**	-0,35	-0,64*	-0,39	-0,06	0,70*	0,40	-0,26	0,34	0,67*	0,15	0,70*	0,78**	0,75**	0,61*	0,80**					
Gram <sup>-</sup>	0,50	0,33	-0,66*	-0,36	-0,49	-0,11	-0,30	0,63*	0,41	-0,16	0,37	0,67*	0,25	0,66*	0,73**	0,64*	0,48	0,76**	0,86**				
B	0,58*	0,34	-0,82**	-0,37	-0,62*	-0,30	-0,14	0,70*	0,41	-0,24	0,36	0,70*	0,19	0,71*	0,79**	0,74**	0,59*	0,81**	0,98**	0,93**			
H	0,67*	0,45	-0,80**	-0,54	-0,57	-0,25	-0,38	0,64*	0,55	-0,44	0,50	0,82**	0,40	0,76**	0,84**	0,85**	0,68*	0,80**	0,90**	0,84**	0,91**		
ACT	0,47	0,08	-0,57	-0,03	-0,35	-0,37	0,30	0,51	0,13	0,20	0,11	0,20	-0,14	0,34	0,36	0,30	0,16	0,43	0,78**	0,73**	0,79**	0,53	

CE: conductividad eléctrica, CRH: capacidad de retención hídrica, EA: estabilidad de agregados, D: densidad, CL: celulosa, β-G: β-glucosidasa, PPO: polifenoloxidasa, F: fosfatasa, U: ureasa, GLC: glicina-aminopeptidasa, COT: carbono orgánico total, Cs: carbono hidrosoluble, SH: sustancias húmicas, Pt: fósforo total, Nt: nitrógeno total, Ns: nitrógeno hidrosoluble; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitratos; R: desprendimiento acumulativo de CO<sub>2</sub>, Gram<sup>+</sup>: Gram-positiva; Gram<sup>-</sup>: Gram-negativa; B: bacterias, H: hongos; ACT: actinobacterias

## **CONCLUSIONES PARCIALES**

*Se ha hipotetizado que, bajo ciertas condiciones, las actividades biológicas del suelo son mejoradas por la adición de lodo de depuradora respecto a suelos control sin enmendar. Esto depende en gran medida de la calidad del lodo, dosis, frecuencia de enmienda y características del suelo (Hamdi y col., 2007a).*

*En nuestro ensayo a corto plazo, tras la adición anual de lodo de depuradora ( $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ ) en dos años consecutivos a un suelo agrícola con cultivo de cereal, hemos podido observar que en general, el uso de esta enmienda ha contribuido a producir un incremento en las fracciones de carbono (COT, SH, Cs), macronutrientes (Nt, Pt, Kt) y en la población microbiana, así como en las actividades enzimáticas fosfatasa y ureasa en el suelo enmendado respecto al suelo control. Es importante señalar que estas mejoras no siempre han sido significativas, pero, teniendo en cuenta la dosis aplicada de lodo así como el corto plazo del experimento, la tendencia es hacia una ligera mejora de la calidad del suelo que seguramente con el tiempo se traducirá en un mayor incremento de su fertilidad.*

## **B. EXPERIMENTOS A MEDIO PLAZO**

### **ESTUDIO DEL EFECTO DE 11 AÑOS DE APLICACIÓN DE DIFERENTES ENMIENDAS EN CULTIVO DE CIRUELO**

Las tierras dedicadas al cultivo generalmente actúan como fuentes de C y nutrientes (Freibauer y col., 2004) y su contenido en materia orgánica es generalmente bajo comparado con los ecosistemas naturales o semi-naturales (Álvaro-Fuentes y col., 2011). En la región Mediterránea, el contenido en C de los suelos agrícolas es particularmente bajo, con valores frecuentemente por debajo del 1% (Romanyà y Rovira, 2011).

El suelo, el medioambiente, y la productividad, se benefician cuando el potencial edáfico es administrado de manera sostenible (Murillo y col., 2014). La adopción de prácticas para un manejo sostenible del suelo puede mantener o incrementar la productividad de las cosechas, sosteniendo e incluso acentuando muchos servicios ecosistémicos, tales como el secuestro de carbono, la mitigación del cambio climático, la biodiversidad, y la resiliencia a las perturbaciones naturales o antropogénicas. La agricultura orgánica es una de esas prácticas que pueden ser empleadas para mitigar los efectos medioambientales negativos de la agricultura convencional (Almagro y col., 2016).

Así, la aplicación de técnicas sostenibles como puede ser la adición de enmiendas orgánicas (compost, restos de poda, abono verde) a suelos agrícolas degradados, puede ser una buena estrategia para incrementar de modo sostenible la productividad de esos suelos, favoreciendo el aumento del pool de C en los mismos.

La aplicación de **compuestos orgánicos compostados** es una de las técnicas más extensamente usadas en la agricultura orgánica para mantener e incrementar la fertilidad del suelo (Chocano y col., 2016). La aplicación de la materia orgánica compostada tiene un impacto positivo en el suelo y la nutrición de las plantas, mejorando las características físicas, químicas y microbiológicas del suelo (Baldi y col., 2010).

El compost se descompone gradualmente, mineralizando los nutrientes a lo largo de varios años, dependiendo de su origen, composición química y condiciones climáticas. Es bien sabido, que la aplicación de compost puede afectar al crecimiento de las raíces, al influir en la disponibilidad de nutrientes en el suelo, así como a la presencia de sustancias húmicas que son liberadas como resultado de la descomposición de la materia orgánica (Gaiotti y col., 2017).

El empleo de materia orgánica como el abono verde/cultivo de cobertera, es especialmente respetuoso con el medio ambiente comparado con nutrientes químicos, siendo adecuado su uso en agricultura sostenible (Caban y col., 2018). El uso de cultivos de cobertera de **Abono verde** se considera una importante técnica agronómica en cultivos mediterráneos para mejorar la calidad del suelo y la producción (Mancinelli y col., 2013). A diferencia de otros fertilizantes orgánicos, el abono verde consiste en el desarrollo de plantas específicas entre las filas de los árboles y posterior labranza, incorporándolo al suelo para mejorar su calidad (Longa y col., 2017). La adición de este tipo de material, mejora la estructura del suelo, su capacidad de retención hídrica, ciclo de nutrientes y biodisponibilidad, mientras que reduce el riesgo de erosión del suelo y otros procesos de degradación (Lal, 2013 b).

Por otro lado, la incorporación de los **restos de poda** en el mismo campo está empezando a ser una práctica habitual en los cultivos ecológicos leñosos de distintas zonas semiáridas mediterráneas de España, en busca de la auto-sostenibilidad del agrosistema. Prácticamente, todos los estudios hasta el momento se han llevado a cabo sobre cobertura vegetal viva. Sin embargo, en plantaciones en zonas donde el agua escasea, este tipo de cobertura vegetal puede competir por el agua y los nutrientes con los árboles. Aunque este tipo de cobertura vegetal mejora la infiltración (Pastor, 1989), se obtienen mejores balances usando cobertura vegetal inerte que no compite con los árboles (Márquez y col., 2007). Entre estas coberturas vegetales inertes se incluyen los restos de poda, los cuales se descomponen y humifican lentamente debido a su alto contenido en celulosa y lignina, a su medio-bajo contenido en humedad y una alta relación C/N, lo que hace posible asegurar una duradera protección del suelo (Ramos, 1999). La actual disponibilidad de varios tipos de podadoras y utensilios para moler en el mercado, ha impulsado al uso de este tipo de residuo como cobertura vegetal (frente a la habitual incineración), incrementando el contenido en materia orgánica en el suelo, lo cual es muy positivo para la fertilidad del suelo y la biodiversidad agrícola (Repullo y col., 2012).

La agricultura ecológica como un enfoque hacia las prácticas agrícolas respetuosas con el medio ambiente, hace hincapié en incrementar el COT del suelo y mejorar el ciclo de los nutrientes a través de medidas tales como las indicadas anteriormente de cultivo de abono verde, cultivos de cobertera y uso de estiércoles (Olesen y col., 2007), los cuales proporcionan fuentes adicionales de C además de los residuos de los propios cultivos (Hu y col., 2018).

Pero ¿cómo contribuyen los diferentes componentes de los sistemas agrícolas orgánicos a las entradas de C al suelo a y los cambios que se producen en el COT del suelo?. Para tratar de profundizar en este aspecto se ha llevado a cabo este estudio, en el que analizamos diferentes parámetros agronómicos, ambientales y relacionados con la diversidad microbiana de un suelo agrícola con cultivo orgánico de ciruelo sometido a diferentes tratamientos.

Los suelos muestreados corresponden a un ensayo de aplicación de materia orgánica de diferente origen sobre suelos agrícolas, iniciado hacía 11 años, que se desarrollo en Cieza (Murcia) sureste de España, en una finca (38°14'38.7"N, 1°25'48.3"W ) dedicada al cultivo orgánico de ciruelo. En concreto, se trata de ciruelos de la variedad Santa Rosa. El marco de plantación de los árboles de esta finca de Cieza es de 4×4 m y el riego es a manta. Este estudio se realizó en parcelas experimentales de 256 m<sup>2</sup> con 16 árboles frutales cada uno y con los tratamientos distribuidos al azar Figura 4.2.23).



**Figura 4.2.23.-**Distribución de las parcelas experimentales de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo

El clima en esta zona se caracteriza por corresponder a un clima semiárido Mediterráneo, donde la media de temperatura anual es de 17,2 °C y la precipitación media anual es de 257 mm, estando las lluvias concentradas en primavera y otoño.

El suelo es de tipo Fluvisol calcárico franco arenoso (FAO, 2006). Las principales características de este suelo control se recogen en la Tabla 4.2.15.

**Tabla 4.2.15.**-Características del suelo de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo

Parámetros	Suelo Control
pH*	8,18
Conductividad eléctrica*, $\mu\text{S cm}^{-1}$	370
Materia Orgánica Total, $\text{g kg}^{-1}$	9,5
Carbono Orgánico Total, $\text{g kg}^{-1}$	5,5
Nitrógeno total, $\text{g kg}^{-1}$	1,5
Fósforo total, $\text{g kg}^{-1}$	0,5
Potasio total, $\text{g kg}^{-1}$	4,6

\*Extracto acuoso (1:5)

El suelo de la finca recibió durante 11 años fertilización exclusivamente orgánica. Todas las parcelas (excepto la parcela control) recibieron el aporte de las ramas podadas de los árboles de la misma parcela, que se incorporó al suelo con la ayuda de un rotovator (aproximadamente  $9\text{-}10 \text{ kg de madera árbol}^{-1} \text{ año}^{-1}$  equivalente a  $5625\text{-}6250 \text{ kg madera ha}^{-1}$ . El resto de parcelas (a excepción de la parcela control y parcela con adición de restos de poda), recibieron el aporte adicional de enmienda orgánica, como fueron:

-Adición anual o bienal de compost de estiércol de oveja incorporado por labranza superficial.

-Siembra anual de abono verde (60% *Avena sativa*, 40% *Vicia sativa*). La siembra se realizaba tras las primeras lluvias de otoño. La cosecha se realizaba en primavera al comienzo de la floración del ciruelo y se incorporaba al suelo mediante labranza superficial. Todos los tratamientos se detallan en la Tabla 4.2.16.

**Tabla 4.2.16.**-Nomenclatura y descripción de los tratamientos aplicados en los suelos de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo

	NOMENCLATURA Y TRATAMIENTOS				
	Control SA-11-C	Compost anual SA-11-CPa	Compost bianual SA-11-CPb	Restos de poda SA-11-RP	Abono Verde SA-11-AV
MATERIALES					
Compost de oveja	---	20 t/ ha	20 t/ ha	---	---
Mezcla de semillas	---	---	---	---	120 kg/ ha año
Restos de poda	---	5625-6250/ kg año	5625-6250/ kg año	5625-6250/ kg año	5625-6250/ kg año

Los principales parámetros agronómicos y medioambientales de los residuos orgánicos usados en el ensayo se muestran en la Tabla 4.2.17-19.

**Tabla 4.2.17.**-Parámetros agronómicos de los residuos orgánicos aplicados en los suelos de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo (m.s)

Parámetro	Compost*	Abono Verde*	Restos de poda*
Humedad, $\text{g } 100\text{g}^{-1}$	32,4	77,4	
pH	7,7	nd	
Conductividad Eléctrica, $\mu\text{S cm}^{-1}$	7105	nd	
Materia Orgánica, $\text{g } 100\text{g}^{-1}$	49,75	nd	
Carbono Orgánico Total, $\text{g } 100\text{g}^{-1}$	30,03	36,08	42,0
Nitrógeno total, $\text{g } 100\text{g}^{-1}$	2,72	3,15	0,5
Fósforo total, $\text{g } 100\text{g}^{-1}$	1,83	0,17	
Potasio total, $\text{g } 100\text{g}^{-1}$	0,63	1,97	

nd: no detectado, (m.s.) materia seca

**Tabla 4.2.18.**-Parámetros medioambientales (metales pesados) de los residuos orgánicos aplicados en los suelos de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo (m.s)

Metales pesados	Compost	Abono Verde	Restos de poda
Niquel total, mg kg <sup>-1</sup>	6,7	4,23	nd
Cromo total, mg kg <sup>-1</sup>	17,3	12,71	nd
Zinc total, mg kg <sup>-1</sup>	117,5	20,10	nd
Cobre total, mg kg <sup>-1</sup>	22,4	8,99	nd
Plomo total, mg kg <sup>-1</sup>	4,7	2,45	nd

nd: no detectado, (m.s.): materia seca

**Tabla 4.2.19.**-Parámetros medioambientales (Patógenos) de los residuos orgánicos aplicados en los suelos de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo (m.s)

Patógenos	Compost	Abono Verde	Restos de poda
Salmonella (en 25g)	Ausencia	Ausencia	Ausencia
E. coli, ufc g <sup>-1</sup>	<10	<10	<10

(m.s): materia seca

Las muestras de suelo se tomaron a los 11 años del inicio de los experimentos, después de la cosecha (Junio), en los primeros 20 cm de profundidad, en la zona radicular del árbol. Cada muestra estaba compuesta por 8 submuestras tomadas a lo largo de toda la parcela experimental. Las muestras fueron completamente homogenizadas, y tamizadas a 2 mm y se almacenaron a 4 °C, para los análisis físicos, químicos, físico-químicos y bioquímicos y a -18 °C en para los análisis microbiológicos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### PARÁMETROS AGRONÓMICOS

#### Parámetros físicos y físico-químicos

Después de 11 años de tratamiento los valores de pH presentaban diferencias significativas en los suelos con enmiendas orgánicas respecto al suelo control (SA-11-C). Hay que tener en consideración que todas las parcelas (excepto la parcela control), contienen restos de poda. Precisamente los suelos que solamente cuentan con la incorporación de restos de poda (SA-11-RP) presentan los valores de pH más elevados junto a los tratados con abono verde (SA-11-AV). La incorporación adicional de compost de estiércol tanto anual como bianual redujo significativamente los valores de pH con respecto a los anteriores tratamientos, siendo los suelos con aporte anual de lodo los que presentaron valores más bajos.

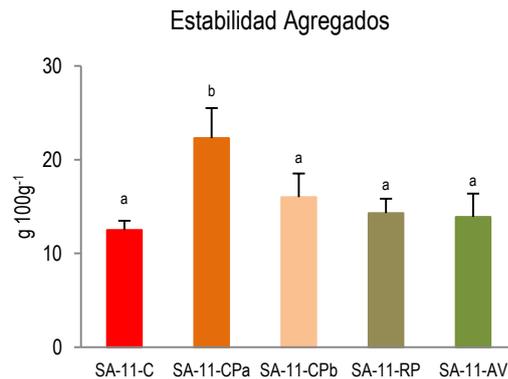
En general, los diferentes tratamientos redujeron significativamente la densidad del suelo respecto al suelo control, e incrementaron significativamente la capacidad de retención hídrica (Tabla 4.2.20).

**Tabla 4.2.20.**-Valores de pH, densidad y capacidad de retención hídrica (CRH) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo

	pH	Densidad g cm <sup>-3</sup>	CRH g 100g <sup>-1</sup>
SA-11-C	8,70 (0,10) a	1,08 (0,01) c	34,7 (0,6) a
SA-11-CPa	8,77 (0,15) a	0,83 (0,03) a	40,0 (2,6) ab
SA-11-CPb	8,93 (0,06) ab	0,87(0,03) ab	44,7 (6,4) b
SA-11-RP	9,07 (0,06) b	0,90 (0,05) ab	39,0 (1,0) ab
SA-11-AV	9,07 (0,06) b	0,90 (0,02) b	41,0 (2,6) b

SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

El porcentaje de agregados estables del suelo incrementó significativamente en el suelo enmendado anualmente con compost de estiércol animal (SA-11-CPa), mientras que el resto de tratamientos no mostraron diferencias significativas con el control, posiblemente, por la elevada dispersión de los valores obtenidos para este parámetro. No obstante, como se puede observar en la Figura 4.2.24, todos los suelos enmendados mostraban porcentajes de agregados estables superiores a los del suelo control.



**Figura 4.2.24.**-Porcentaje de agregados estables en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

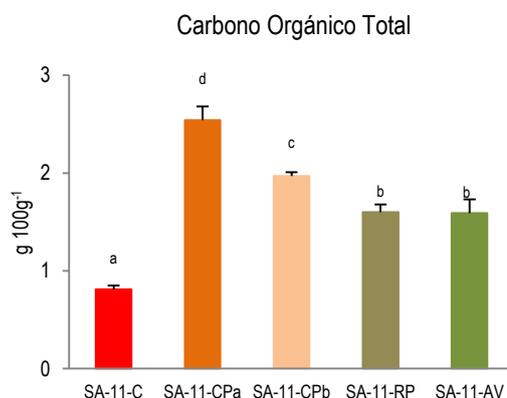
Entre todos los los tratamientos ensayados, la aplicación anual de compost de estiércol animal mejoró de forma más significativa las propiedades físicas del suelo, aunque en general, todas las enmiendas orgánicas estudiadas mejoraron la capacidad de retención hídrica y porosidad del suelo respecto al suelo control. Diversos autores han indicado que el uso de enmiendas orgánicas incrementa la materia orgánica del suelo y como consecuencia incrementa su estabilidad de agregados, así como la capacidad de retención hídrica y la porosidad (Celik y col., 2004, Leroy y col., 2008).

La construcción de la estructura del suelo en los agroecosistemas es importante, ya que ésta regula funciones del suelo tales como el movimiento del aire y del agua, la estabilización del C en el suelo, la disponibilidad de nutrientes y el desarrollo del sistema radicular (Lucas y col., 2014).

## Contenido de materia orgánica y Parámetros nutricionales

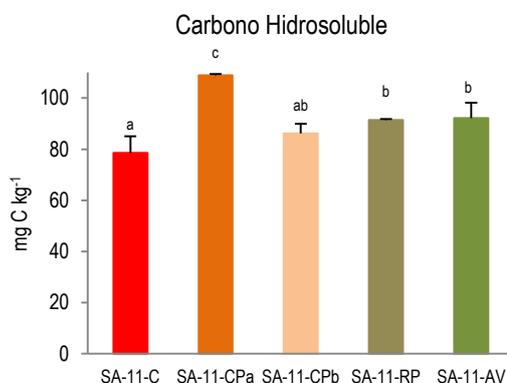
### Materia orgánica

El contenido en carbono orgánico total era significativamente superior en todos los suelos que recibieron enmienda orgánica respecto al suelo control sin enmendar. Por otro lado, se observaron diferencias significativas entre los suelos enmendados, puesto que el suelo con adición anual de compost presentó un contenido en COT significativamente superior al del resto de tratamientos, seguido por el suelo con aporte bianual de compost. El suelo enmendado con restos de poda y el suelo enmendado con abono verde no presentaron diferencias significativas entre ellos (Figura 4.2.25).



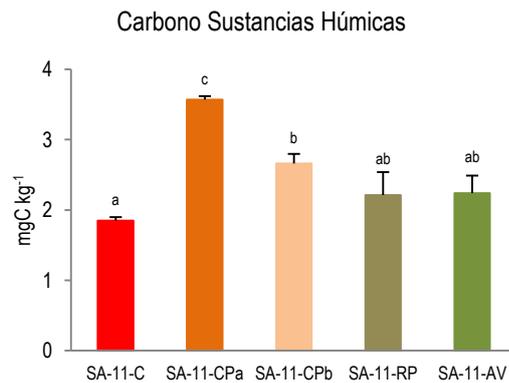
**Figura 4.2.25.**-Contenido de carbono orgánico total en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

El contenido en carbono hidrosoluble también fue significativamente superior en el suelo con adición anual de compost (Figura 4.2.26) que en el resto de tratamientos y en el suelo control, sugiriendo que una parte del carbono incorporado al suelo puede encontrarse en forma de carbono rápidamente descomponible por los microorganismos del suelo, que lo podrían utilizar como fuente de energía.



**Figura 4.2.26.**-Contenido de carbono hidrosoluble en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Por último el contenido de sustancias húmicas, que corresponden a la fracción más estable de la materia orgánica del suelo, incrementó significativamente en todos los tratamientos respecto al suelo control (Figura 4.2.27). El suelo con adición anual de compost presentó el mayor contenido de sustancias húmicas, seguido por el suelo enmendado con dosis anual de compost (SA-11-CPa), y suelo enmendado con compost cada dos años (SA-11-CPb). No se observaron diferencias significativas entre el suelo con siembra de abono verde (SA-11-AV) y el suelo con restos de poda (SA-11-RP).



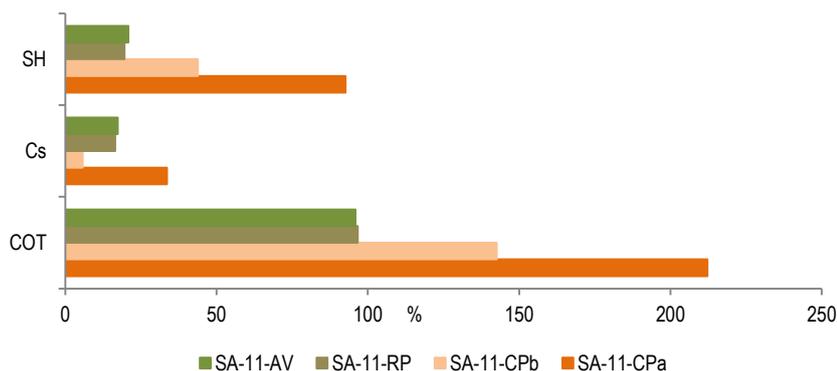
**Figura 4.2.27.**-Contenido de carbono sustancias húmicas en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

La mayor presencia de SH en los suelos que han recibido adición de compost se pueden atribuir a la naturaleza más estable de la materia orgánica contenida en el compost, transformación que se produce durante el propio proceso de compostaje, en comparación con la materia orgánica aportada por el abono verde o los restos de poda. Por su parte, los restos de poda se descomponen y humifican lentamente debido a su alto contenido en celulosa y lignina, medio a bajo contenido en humedad y elevada relación C/N, lo cual hace posible asegurar una protección duradera en el suelo frente al ataque microbiano (Ramos, 1999).

Adani y col., (2007) y Spaccini y Piccolo (2009) indicaron que la incorporación de compost al suelo mejoraba la calidad de las sustancias húmicas endógenas y reducía la mineralización de los compuestos lábiles fácilmente degradables, favoreciendo el papel de la materia orgánica del suelo como sumidero de carbono orgánico.

Para evaluar la capacidad de la materia orgánica exógena incorporada al suelo para restaurar los stocks de carbono, es necesario considerar como se distribuye entre los diferentes pools de C (más o menos estables), y conocer su capacidad para estabilizarse en el suelo. La fracción más estable del C, las sustancias húmicas, han sido consideradas durante mucho tiempo como beneficiosas para la fertilidad del suelo y para el crecimiento de las plantas, valorándose un incremento en el COT del suelo y de las sustancias húmicas como positivo en términos del mantenimiento de la estructura y fertilidad de este (Chocano y col., 2016). Por otro lado, un incremento significativo de la fracción más lábil de C (Cs) se relaciona con una rápida descomposición de la materia orgánica asociada a su mineralización.

En este sentido, todas las enmiendas empleadas presentaron un porcentaje de variación significativo respecto al suelo control tanto de la cantidad de COT como de las fracciones lábiles (Cs) y más resistentes a la degradación (SH), siendo este porcentaje mayor en la fracción de SH que en la de Cs, lo que se puede considerar como un efecto positivo de las enmiendas aplicadas. De entre las diferentes enmiendas, la aplicación de compost anual resultó en ser el tratamiento más efectivo para incrementar el pool de COT del suelo, seguido por el aporte bianual de compost y por último, los tratamientos con abono verde o solo restos de poda. (Figura 4.2.28).



**Figura 4.2.28.**-Porcentaje de variación de las diferentes fracciones de carbono: carbono hidrosoluble (Cs), sustancias húmicas (SH) y carbono orgánico total (COT) en los suelos enmendados respecto al suelo control en la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde

Estos resultados concuerdan con los de otros autores, que han indicado que el uso de enmiendas orgánicas incrementa la materia orgánica del suelo (Thangarajan y col., 2013, Khaliq y Abbasi, 2015). Diversos autores comprobaron este incremento en COT del suelo con diferentes tipos de enmiendas. Entre ellos, García-Pausas y col., (2017) comprobaron que la incorporación de compost de oveja ( $405 \text{ g m}^{-2} \text{ año}^{-1}$ ) en parcelas donde se incorporaban a su vez los restos de la cosecha anterior mediante arado, y bajo condiciones climáticas mediterráneas, produjo un incremento en el stock de C en el suelo con cultivo ecológico de vegetales. Por otro lado Gaiotti y col., (2017) comprobaron cómo tras cinco años de adición de compost de estiércol animal ( $4 \text{ t ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ ) en suelos agrícolas con cultivo de vid, también se observó un incremento significativo en la cantidad de materia orgánica en el suelo enmendado respecto al suelo control.

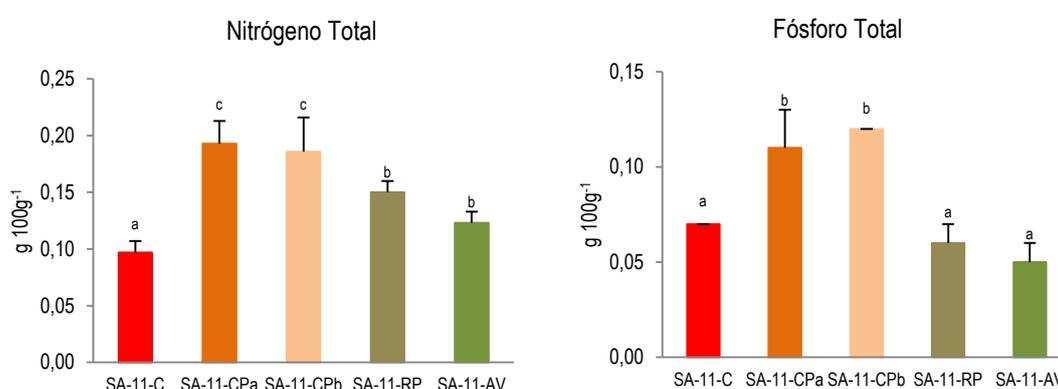
Los beneficios del uso de los restos de poda en el suelo fueron estudiados por Repullo y col., (2012) en suelos agrícolas con cultivo ecológico de olivo, donde tras un periodo de dos años comprobaron como la incorporación de los restos de poda de los olivos al suelo, incrementó significativamente los niveles de materia orgánica. De manera similar, Gómez-Muñoz y col., (2016) en un experimento a largo plazo, comprobaron que la incorporación de los restos de poda del olivo al suelo era una estrategia adecuada para incrementar el contenido de COT en el suelo.

Por otro lado, el beneficio del empleo de abono verde como enmienda podría ser atribuido a la gran cantidad de C que introduce, especialmente en C procedente de las raíces. Farina y col., (2018) indicaron que la

adición de abono verde era una opción efectiva en el manejo de suelos agrícolas con cultivos orgánicos de vegetales, en términos de secuestro de carbono.

### Parámetros nutricionales

La incorporación de enmiendas orgánicas a lo largo de 11 años en el suelo con cultivo orgánico de ciruelo resultó en un incremento significativo en el contenido de N total en todos los suelos enmendados respecto al suelo control. El suelo que recibió dosis anual tanto como el que recibió dosis bianual de compost, presentaron los mayores contenidos en este macronutriente, seguidos por los que tan solo recibieron los restos de poda y abono verde (Figura 4.2.29). El contenido en fósforo total fue significativamente superior en los suelos enmendados con compost (SA-11-CPa y SA-11-CPb) respecto a los suelos tratados con RP y AV y al suelo control.



**Figura 4.2.29.**-Contenido de nitrógeno total y fósforo total en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

No existieron diferencias significativas en el contenido de K y Ca entre los diferentes tratamientos y el control (Tabla 4.2.21).

**Tabla 4.2.21.**-Contenido de potasio (K) y calcio (Ca) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo

	K g 100g <sup>-1</sup>	Ca g 100g <sup>-1</sup>
SA-11-C	0,69 (0,03) a	14,6 (0,7) a
SA-11-CPa	0,74 (0,08) a	14,8 (0,8) a
SA-11-CPb	0,75 (0,07) a	15,1 (0,4) a
SA-11-RP	0,64 (0,02) a	14,0 (0,9) a
SA-11-AV	0,69 (0,07) a	14,2 (0,6) a

SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Entre paréntesis: error estándar,  $n=3$ . Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Como se muestra en la Tabla 4.2.22 no se observaron diferencias significativas en el contenido del resto de macro y micronutrientes analizados (Mg, Mn, Al, S y Fe) entre los tratamientos ensayados y el control a excepción de los tratamientos con compost que presentaban mayores contenidos de Mn y Fe que el control.

**Tabla 4.2.22.**-Contenido de magnesio (Mg), manganeso (Mn), aluminio (Al) azufre (S) y hierro (Fe) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo

	Mg mg kg <sup>-1</sup>	Mn mg kg <sup>-1</sup>	Al mg kg <sup>-1</sup>	S mg kg <sup>-1</sup>	Fe mg kg <sup>-1</sup>
SA-11-C	2,60 (0,08) a	265 (8) ab	1,95 (0,12) a	0,17 (0,00) ab	4953 (260) a
SA-11-CPa	2,60 (0,20) a	308 (21) c	2,18(0,21) a	0,19 (0,02) b	5959 (446) b
SA-11-CPb	2,60 (0,08) a	299 (11) bc	2,26 (0,22) a	0,17 (0,01) ab	5923 (444) b
SA-11-RP	2,40 (0,22) a	260 (5) a	1,98 (0,08) a	0,16 (0,00) a	5114 (109) ab
SA-11-AV	2,45 (0,11) a	267 (14) ab	2,12 (0,22) a	0,16 (0,01) a	5270 (387) ab

SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

## PARÁMETROS AMBIENTALES

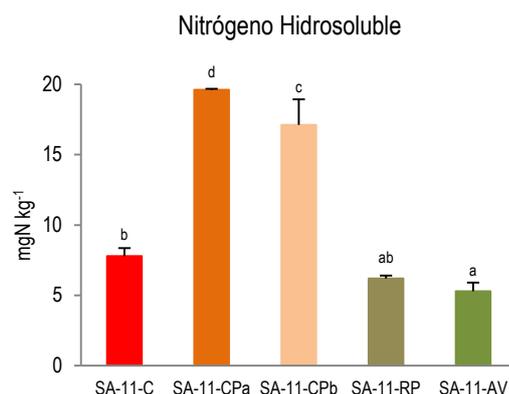
**Tabla 4.2.23.**-Valores de conductividad eléctrica (CE), sodio (Na<sup>+</sup>) y nitratos en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo

	CE μS cm <sup>-1</sup>	Na <sup>+</sup> g 100g <sup>-1</sup>	Nitratos mg NO <sub>3</sub> kg <sup>-1</sup>
SA-11-C	242,6 (20,5)d	0,03 (0,00)a	361,2 (38,0)b
SA-11-CPa	128,0 (14)c	0,03 (0,00)a	85,0 (3,5)a
SA-11-CPb	101,6 (2,5)bc	0,03 (0,00)a	74,2 (5,9) a
SA-11-RP	84,0 (6,1)ab	0,03 (0,00)a	66,0 (22,2)a
SA-11-AV	69,6 (1,5)a	0,03 (0,00)a	70,5 (4,8)a

SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Todos los tratamientos estudiados disminuyeron la conductividad eléctrica y la concentración de nitratos respecto al suelo control, asimismo, no se observaron diferencias en cuanto a la concentración de sodio entre los diferentes tratamientos (Tabla 4.2.23).

El contenido en Ns fue significativamente superior en el suelo con incorporación anual (CPa) tanto como con adición bianual (CPb) de compost respecto al suelo control y al suelo enmendado con RP ó AV. A su vez, cabe señalar que el contenido en Ns fue superior en el suelo control respecto al suelo con adición de RP o AV, llegando a presentar diferencias significativas entre suelo control y con adición de AV (Figura 4.2.30).



**Figura 4.2.30.**-Contenido de nitrógeno hidrosoluble en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

**Tabla 4.2.24.**-Contenido de metales pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo

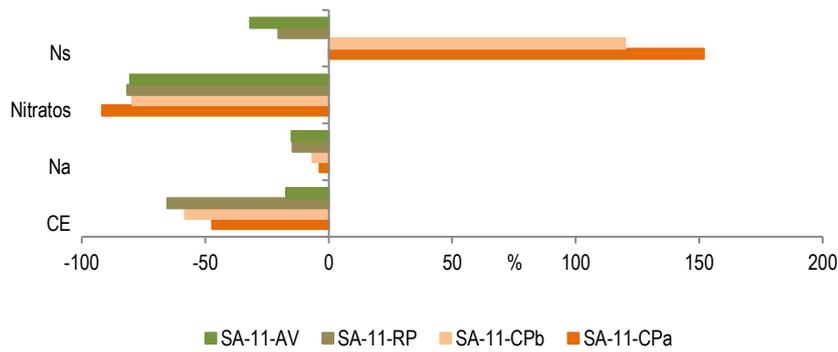
	SA-11-C	SA-11-CPa	SA-11-CPb	SA-11-RP	SA-11-AV
Cd, mg kg <sup>-1</sup>	0,36 (0,01)b	0,36 (0,05)b	0,33 (0,02)ab	0,27 (0,00)a	0,28 (0,03)a
Cr, mg kg <sup>-1</sup>	22,9 (1,0)a	26,4 (2,5)a	26,2 (2,2)a	22,8 (0,6)a	24,0 (1,6)a
Cu, mg kg <sup>-1</sup>	43,6 (2,8)b	14,4 (0,8)a	13,1 (1,5)a	12,3 (1,3)a	12,5 (0,4)a
Ni, mg kg <sup>-1</sup>	11,2 (0,6)a	12,7 (1,3)a	12,9 (1,2)a	11,5 (0,3)a	12,2 (0,9)a
Pb, mg kg <sup>-1</sup>	26,5 (2,2)ab	32,0 (1,75)b	28,1 (3,2)ab	22,8 (1,3)a	23,8 (2,6)a
Zn, mg kg <sup>-1</sup>	11,8 (0,7)a	11,1 (0,7)a	11,4 (0,9)a	10,2 (0,3)a	10,7 (0,6)a

SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

La incorporación de las diferentes enmiendas orgánicas no contribuyó de manera significativa al incremento en metales pesados en el suelo, a excepción del plomo, que incrementó en el suelo con adición anual de compost (SA-11-CPa), Tabla 4.2.24.

Desde un punto de vista ambiental, resulta positivo que la incorporación de las enmiendas orgánicas al suelo agrícola no produzca un incremento con respecto al suelo control de la CE así como de iones Na<sup>+</sup> que pudiera comprometer la viabilidad del cultivo, y de nitratos, que pudieran lixiviar en el suelo. Por otro lado, la adición anual y bianual de compost al suelo resultó en un incremento en el contenido de N soluble con respecto al control del 152% en el primer caso y de 120% en el segundo, mientras que para el suelo con RP y AV se observó un decrecimiento de este parámetro con respecto al control del orden de 20% y 32%, respectivamente (Figura 4.2.31).

Este mayor contenido de Ns no se debe a la presencia de nitratos ya que el contenido en nitratos de los suelos enmendados es inferior al del suelo control (Tabla 4.2.23), por lo tanto estas enmiendas no incrementan el riesgo de lixiviación de nitratos.



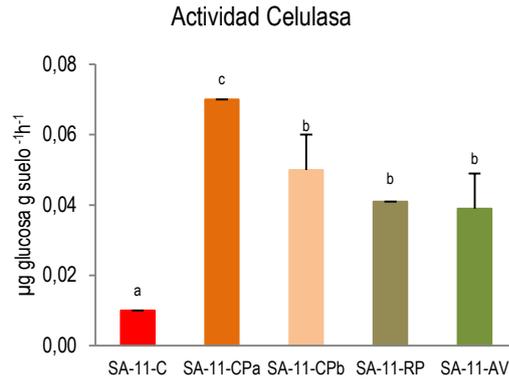
**Figura 4.2.31.** -Porcentaje de variación de la conductividad eléctrica (CE), sodio ( $\text{Na}^+$ ), nitrógeno hidrosoluble y nitratos en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde

### PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA

Los microorganismos del suelo median las transformaciones bioquímicas de la materia orgánica, que sostienen las funciones esenciales de los ecosistemas, incluyendo la descomposición, la mineralización de los nutrientes disponibles para las plantas y la retención de nutrientes (Bowles y col., 2014). Así, distintas enmiendas orgánicas, pueden estimular la biomasa microbiana de forma diferente a través del incremento en materia orgánica lábil (Marriot y Wander., 2006; Kallenbach y Grandy, 2011).

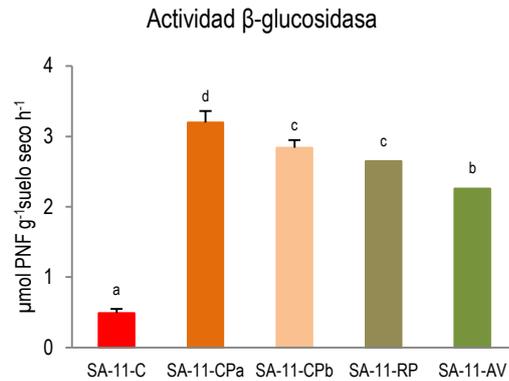
#### Actividades enzimáticas

Los residuos vegetales proporcionan la principal fuente de materia orgánica al suelo, y su biodegradación es crítica para la productividad de los ecosistemas. Debido a que las plantas contienen más del 60% de celulosa, la descomposición de celulosa es una actividad clave de las bacterias del suelo y vital para el flujo de energía a través del suelo y ciclo de los nutrientes N, P y S, donde su inmovilización generalmente acompaña a la degradación de la celulosa (Killham y col., 2015). Los suelos agrícolas que recibieron algún tipo de enmienda presentaron mayores valores de actividad enzimática celulasa que el suelo control sin enmendar. El tratamiento con adición anual de compost a lo largo de 11 años alcanzó valores para esta actividad significativamente superiores al resto de tratamientos. Por otro lado, el suelo con adición bianual de compost, suelos con restos de poda y suelo con adición de abono verde, no presentaron diferencias significativas entre ellos aunque los valores en actividad celulasa fueron ligeramente superiores que para el suelo con compost (SA-11-CPb), Figura 4.2.32.



**Figura 4.2.32.**-Actividad enzimática celulasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

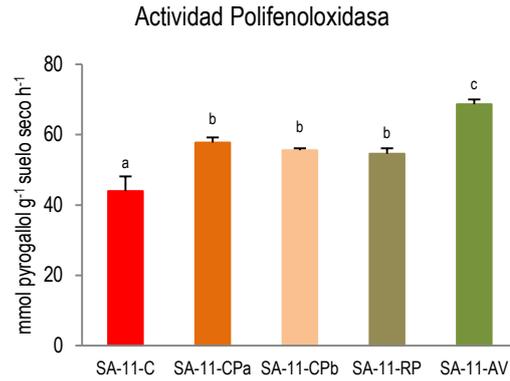
En general, todos los suelos con tratamiento mostraron valores de actividad  $\beta$ -glucosidasa significativamente superiores que el suelo control (Figura 4.2.33).



**Figura 4.2.33.**-Actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

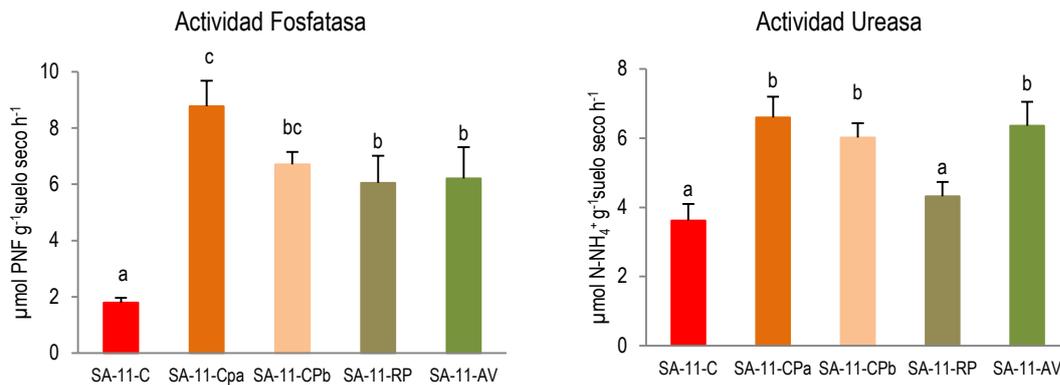
Al igual que para la actividad celulasa, el suelo con aporte anual de compost presentaron los valores más elevados de actividad  $\beta$ -glucosidasa.

Uno de los principales y más estudiados grupos de enzimas implicadas en los procesos oxidativos es el grupo de las polifenoloxidasas (PPO) (Stursova y Sinsabaugh, 2008), las cuales son enzimas oxirreductasas extracelulares. Estas enzimas son capaces de oxidar compuestos fenólicos y degradar ligninas y SH, permitiendo la liberación de C y otros nutrientes (Piotrowska-Dlugosz, 2014). Así, todos los suelos con tratamiento mostraron valores significativamente superiores de PPO que el suelo control, destacando que el suelo con adición de abono verde que alcanzó los valores más elevados para esta actividad enzimática (Figura 4.2.34).



**Figura 4.2.34.**-Actividad enzimática polifenoloxidasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Los valores obtenidos para la actividad enzimática fosfatasa nos muestran diferencias significativas entre todos los suelos enmendados y el suelo control (Figura 4.2.35).

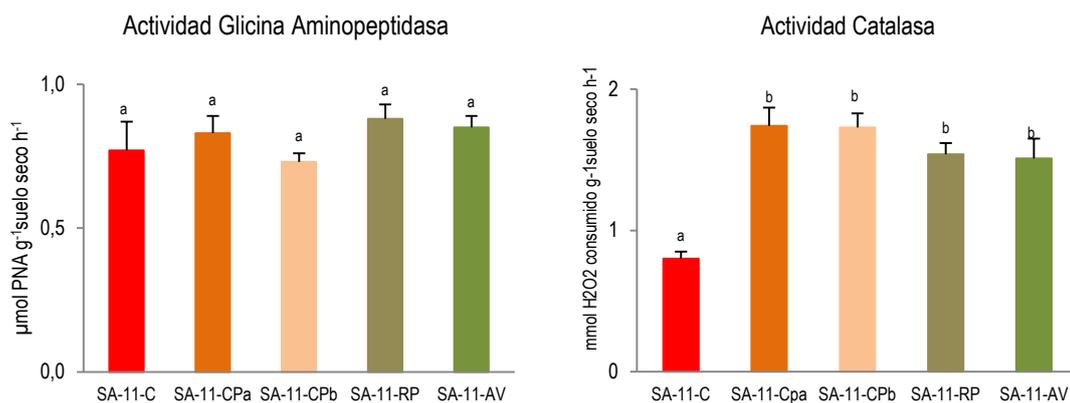


**Figura 4.2.35.**-Actividades enzimáticas fosfatasa y ureasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Más detalladamente, el suelo con adición anual de compost alcanzó valores superiores para dicha actividad, seguido por el que recibió adición bianual de compost. El suelo con abono verde y el suelo con restos de poda no mostraron diferencias significativas entre ellos

Las actividades enzimáticas ureasa y glicina aminopeptidasa están implicadas en el ciclo del N. En cuanto a la actividad ureasa, tanto el suelo enmendado con compost como el suelo enmendado con abono verde mostraron valores significativamente superiores al suelo con restos de poda y el suelo control (Figura 4.2.35), mientras que para la actividad glicina aminopeptidasa no se observaron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos ensayados y el suelo control (Figura 4.2.36).

Por otra parte, todos los suelos enmendados mostraron valores de actividad catalasa, implicada en procesos de detoxificación, superiores a los del suelo control (Figura 4.2.36).



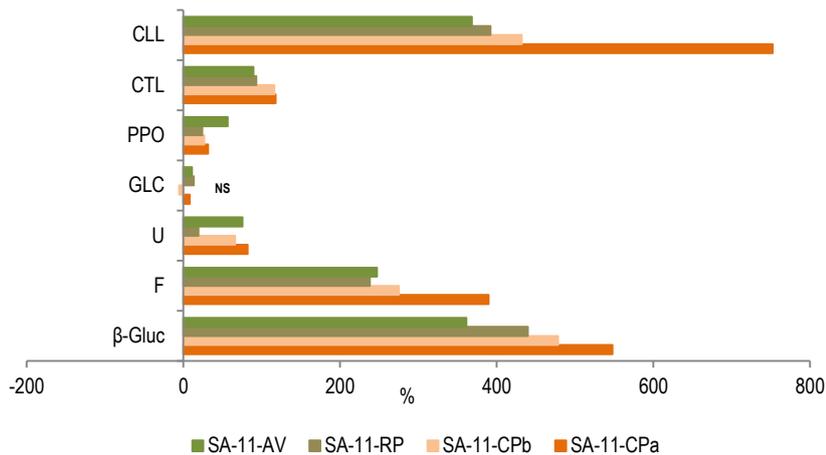
**Figura 4.2.36.**-Actividades enzimáticas glicina aminopeptidasa y catalasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Las enmiendas orgánicas incrementan en general las actividades enzimáticas (Bowles y col., 2014). Considerando los resultados expuestos hasta el momento, sobre las actividades enzimáticas en los suelos agrícolas con cultivo orgánico de ciruelo a los que se ha tratado con diferentes enmiendas orgánicas a lo largo de 11 años, podemos afirmar que su adición al suelo, en general, incrementó las actividades enzimáticas estudiadas de manera significativa respecto al suelo control excepto para la actividad glicina aminopeptidasa (Figura 4.2.37).

Todas las actividades enzimáticas relacionadas con el ciclo del C, celulasa,  $\beta$ -glucosidasa y PPO presentaron incrementos significativos en los suelos enmendados respecto al suelo control como resultado de la mayor disponibilidad de compuestos de carbono, siendo más patentes en las actividades celulasa y  $\beta$ -glucosidasa. La actividad celulasa incrementó de manera importante en los suelos enmendados ya que todos recibieron el aporte de restos de poda, material con un gran contenido en celulosa. El suelo enmendado con compost (SA-11-CPa y SA-11-CPb) mostraron los mayores incrementos en las actividades celulasa y  $\beta$ -glucosidasa, mientras que en la actividad PPO el suelo con abono verde presentó mayores incrementos respecto al suelo control.

El abono verde incrementó numerosas actividades enzimáticas del suelo especialmente aquellas implicadas en el ciclo del N (Okur y col., 2016). Así, cómo se muestra en la Figura 4.2.37, en el suelo con abono verde (SA-11-AV) se estimuló de manera significativa la actividad ureasa, al mismo nivel que en el suelo con adición anual de compost (SA-11-CPa). Por otro lado, la enmienda que más estimuló la actividad enzimática fosfatasa en el suelo fue el compost adicionado anualmente (SA-11-CPa).

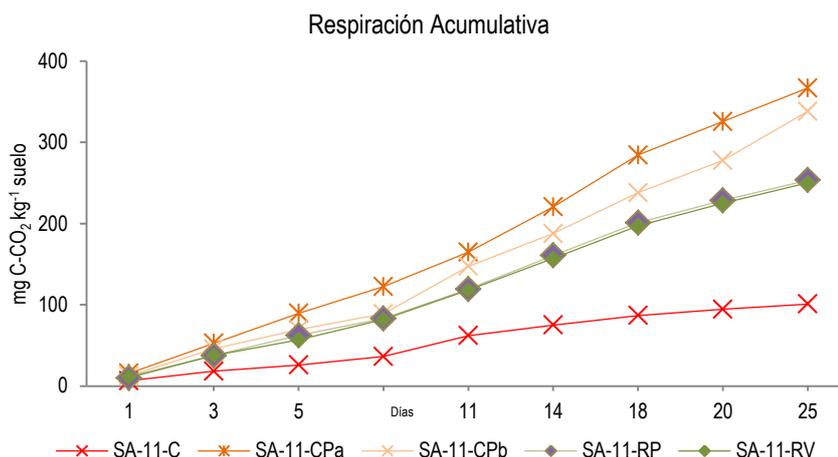
En general, los suelos tratados con compost tanto con adición anual como bianual (CPa y CPb) mostraron los mayores incrementos en las actividades enzimáticas, excepto para PPO, que se alcanzó con la adición de abono verde (AV).



**Figura 4.2.37.**-Porcentaje de variación de las actividades enzimáticas celulasa (CLL),  $\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ -gluc.), polifenoloxidas (PPO), ureasa (U), fosfatasa (F), glicina aminopeptidasa (GLC) y catalasa (CTL), en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control; CPa: adición compost anual; CPb: adición compost bianual; RP: restos de poda, AV: abono verde. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

### Respiración Microbiana

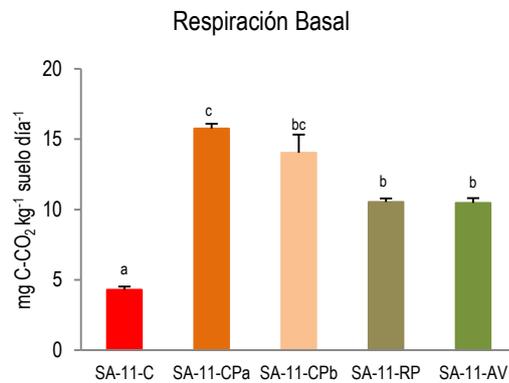
Como se muestra en la Figura 4.2.38, las enmiendas orgánicas tuvieron un importante impacto sobre la actividad de la comunidad microbiana del suelo, expresada como tasa de desprendimiento de  $C-CO_2$ . Todos los suelos enmendados presentaron mayores desprendimientos de  $C-CO_2$  que el suelo control. El suelo que recibió adición anual de compost (SA-11-Cpa) alcanzó los mayores desprendimientos de  $CO_2$  a lo largo de todo el experimento, seguidos por el suelo que recibió adición de compost cada dos años. Los tratamientos, RP y AV, mostraron curvas similares, por encima de la del suelo control.



**Figura 4.2.38.**-Curvas acumulativas de desprendimiento de  $CO_2$  en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde

En cuanto a la respiración basal, mostró la misma tendencia que en el caso anterior, siendo los valores de respiración alcanzados en el suelo con adición anual de compost significativamente superiores a los del resto

de los tratamientos. En general, todos los suelos enmendados mostraron valores de respiración basal significativamente superiores al del suelo control (Figura 4.2.39).



**Figura 4.2.39.**-Respiración basal en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

El incremento en la respiración microbiana puede entenderse como un efecto positivo de la incorporación de las diferentes enmiendas orgánicas al suelo, directamente relacionado con el aporte de carbono orgánico disponible por parte de éstas. La explosión de actividad de las poblaciones microbianas del suelo es esencial para la producción de la cosecha ya que éstas determinan la capacidad del suelo para suministrar nutrientes a las plantas, retener los nutrientes en el perfil, contribuir a la formación de la estructura del suelo, suprimir patógenos de las plantas y contribuir a la formación de humus (Ingels y col., 2005).

### Análisis de la estructura de la comunidad microbiana

La cantidad y calidad de la materia orgánica, y aportes de C y N se consideran como factores primordiales sobre la actividad de la biomasa microbiana del suelo (Bowles y col., 2014). Así, cada una de las enmiendas orgánicas empleadas podrá actuar de diferente forma sobre la comunidad microbiana en función de su naturaleza.

En estudios anteriores, Schutter y col., (2001) y Carrera y col., (2007), observaron que la incorporación de abono verde incrementaba los biomarcadores de PLFAs correspondientes a hongos, al igual que Saison y col., (2006) y Larkin y col., (2011), observaron, asimismo, que la adición de compost incrementaba la biomasa fúngica.

Como se muestra en la Tabla 4.2.25, la incorporación de las diferentes enmiendas orgánicas incrementó en general, la abundancia de PLFAs en los suelos tratados respecto al suelo control. De entre ellos, destaca la presencia de PLFAs biomarcadores de hongos (C18:2w6,9t; C18:2w6,9c) en todos los suelos que recibieron enmienda orgánica respecto al suelo control, donde no se detectó esta población. Hay que considerar que, a pesar de que todos los suelos enmendados recibieron el mismo aporte de restos de poda, el biomarcador de hongos C18:2w 6,9t se detectó en el suelo con restos de poda (SA-11-RP), abono verde (SA-11-AV) y con

adición anual de compost (SA-11-CPa), pero no se detectó en el suelo con adición bianual de compost (SA-11-CPb).

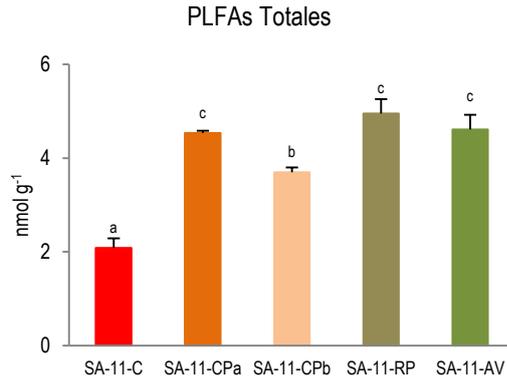
**Tabla 4.2.25.**-Abundancia de PLFAs (nmol g<sup>-1</sup>) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo

	SA-11-C	SA-11-CPa	SA-11-CPb	SA-11-RP	SA-11-AV
c14:0	0,09 (0,02)ab	0,09 (0,01)ab	0,07 (0,01)a	0,10 (0,00)ab	0,12 (0,01)b
i15:0	0,59 (0,03)a	0,91 (0,05)b	0,81 (0,05)b	0,94 (0,05)b	0,93 (0,15)b
a15:0	0,29 (0,00)a	0,64 (0,05)bc	0,56 (0,04)b	0,67 (0,05)c	0,71 (0,05)c
c15:0	0,00 (0,00)a	0,06 (0,01)c	0,00 (0,00)a	0,05 (0,00)b	0,00 (0,00)a
i16:0	0,00 (0,00)a	0,24 (0,02)c	0,17 (0,01)b	0,23 (0,02)c	0,19 (0,02)b
c16:0	0,41 (0,01)a	0,68 (0,02)c	0,55 (0,06)b	0,62 (0,06)bc	0,61 (0,02)bc
10Me16:0	0,07 (0,00)a	0,12 (0,00)a	0,08 (0,01)a	0,09 (0,00)a	0,12 (0,01)a
c16:1w9	0,13 (0,03)a	0,49 (0,02)c	0,30 (0,05)b	0,29 (0,03)b	0,47 (0,07)c
i17:0	0,25 (0,00)a	0,67 (0,03)bc	0,52 (0,07)b	0,67 (0,07)bc	0,72 (0,06)c
c17:0	0,00 (0,00)a	0,00 (0,00)a	0,00 (0,00)a	0,25 (0,01)c	0,07 (0,01)b
c18:0	0,11 (0,00)a	0,15 (0,01)ab	0,12 (0,02)a	0,12 (0,00)a	0,20 (0,03)b
c18:1w9c	0,04 (0,00)a	0,12 (0,001)bc	0,11 (0,01)b	0,14 (0,02)c	0,14 (0,01)c
c18:2w6,9t	0,00 (0,00)a	0,05 (0,00)b	0,00 (0,00)a	0,06 (0,01)b	0,07 (0,01)b
c18:2w6,9c	0,00 (0,00)a	0,14 (0,01)c	0,14 (0,01)c	0,11 (0,00)b	0,16 (0,02)c
cy19:0	0,10 (0,01)b	0,00 (0,00)a	0,00 (0,00)a	0,00 (0,00)a	0,00 (0,00)a
c18:3w3	0,00 (0,00)a	0,08 (0,02)cd	0,08 (0,01)d	0,05 (0,01)bc	0,05 (0,01)b
c20:0	0,00 (0,00)a	0,06 (0,01)b	0,03 (0,04)ab	0,06 (0,00)b	0,06 (0,01)b
c24:0	0,00 (0,00)a	0,07 (0,01)b	0,03 (0,01)ab	0,00 (0,00)a	0,05 (0,00)ab

SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

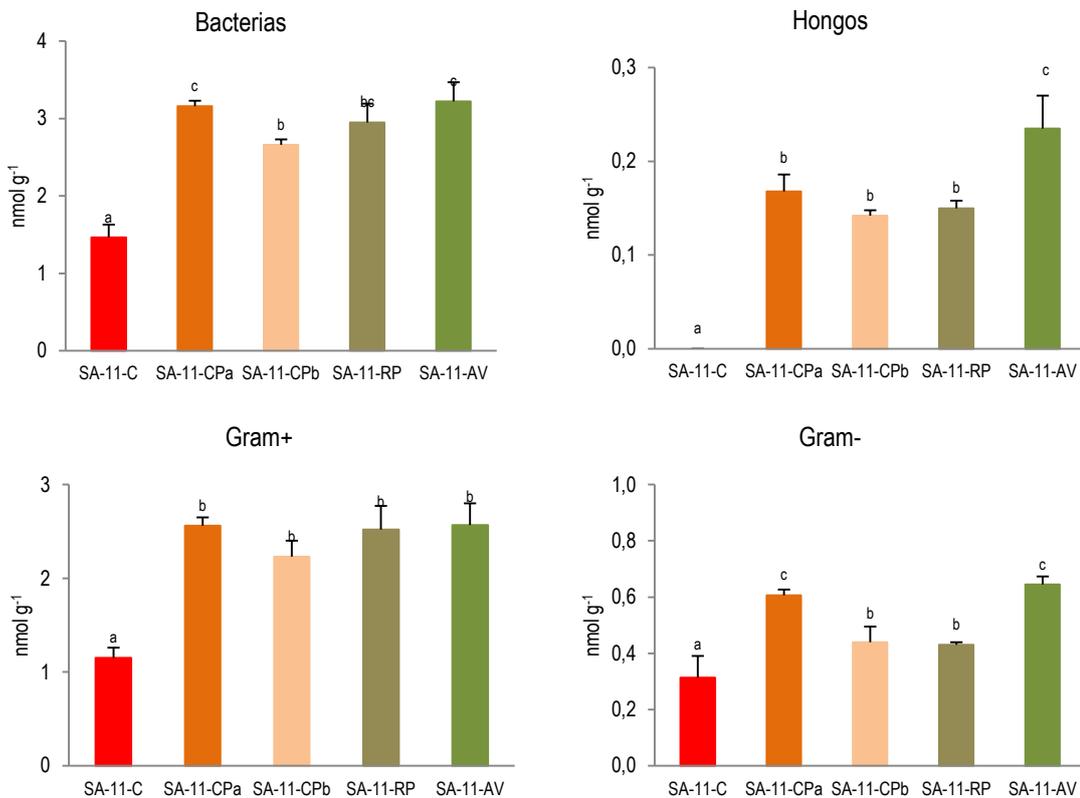
En cuanto a los PLFAs biomarcadores de bacterias Gram<sup>+</sup> (i15:0; a15:0; i16:0; i17:0), aumentaron significativamente en todos los suelos enmendados respecto al suelo control, donde no se llegó a cuantificar el biomarcador i16:0. Para la población de Actinobacterias sólo se detectó el PLFA 10Me16:0, no existiendo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos y el suelo control. La población de bacterias Gram<sup>-</sup>, estaba representada en este estudio, principalmente por el ácido graso C16:1w9, ya que cy19:0 solo se detectó en el suelo control (Tabla 4.2.25).

Las enmiendas incrementaron significativamente la cantidad de PLFAs totales respecto al suelo control (2,09 nmol g<sup>-1</sup>), llegando a duplicar la población en los tratamientos con, restos de poda (4,95 nmol g<sup>-1</sup>), abono verde (4,61 nmol g<sup>-1</sup>) y adición anual de compost (4,54 nmol g<sup>-1</sup>), siendo el incremento algo menor en el suelo con adición bienal de compost (3,70 nmol g<sup>-1</sup>), (Figura 4.2.40).



**Figura 4.2.40.**-PLFAs Totales en el suelo control y los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Como se muestra en la Figura 4.2.41, todos los tratamientos incrementaron la población de bacterias totales, Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup>, así como la de hongos. Todos los suelos enmendados contienen restos de poda, que aportan al suelo grandes cantidades de C fundamentalmente de carácter ligno-celulósico. Por su parte, la adición de abono verde también incrementó la población bacteriana total y de Gram<sup>-</sup>, así como de hongos, respecto al suelo con solo restos de poda.



**Figura 4.2.41.**-Bacterias, Hongos, Bacterias Gram<sup>+</sup> y Bacterias Gram<sup>-</sup> en los suelos control y los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años ensayo, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Gran parte del C biodisponible es probablemente de naturaleza celulósica. Esto podría explicar la proliferación de la comunidad fúngica, ya que la capacidad de degradar la celulosa es más comúnmente observada en hongos que en bacterias, para la gran mayoría de la degradación de celulosa en los ecosistemas (Markham y Bazin, 1991). Lucas y col., (2014), indicaron que las enmiendas orgánicas que contenían grandes cantidades de C biodisponible derivado de la celulosa, pueden estimular la proliferación de hongos y mejorar la estabilidad del suelo, mientras que Saison y col., (2006) y Larkin y col., (2011) encontraron que la población de hongos fue enriquecida con la adición de compost.

La incorporación adicional de enmiendas como compost y abono verde también tuvieron su influencia sobre la comunidad microbiana, ya que la adición anual de compost incrementó la población bacteriana, en concreto Gram<sup>-</sup>, respecto al suelo con solo adición de restos de poda. Estos cambios en la estructura de la población microbiana probablemente se producen como consecuencia del aumento en C orgánico biodisponible aportado por la enmienda, que podría ser accesible para los microorganismos del suelo gracias a la producción de enzimas extracelulares como celulasas y  $\beta$ -glucosidasas, que como se indica en las Figuras 4.2.32 y 4.2.33, aumentaron de manera significativa su actividad en los suelos enmendados.

La incorporación de abono verde demostró incrementar la diversidad de microorganismos del suelo, en particular, la abundancia de bacterias y hongos específicos. En concreto, Longa y col., (2017) encontraron evidencias del incremento en la población bacteriana fijadora de nitrógeno y nitrato-oxidante en los suelos donde se había incorporado abono verde, sugiriendo que dichas poblaciones se podrían adaptar para incrementar la disponibilidad de N. Precisamente, el incremento en estas poblaciones podría explicar las concentraciones en N<sub>t</sub> de los suelos con estas enmiendas (Figura 4.2.29).

Algunos estudios han constatado un incremento en ácidos grasos monoinsaturados con la adición de materiales orgánicos (Bossio y col., 1998; Lundquist y col., 1999), gracias a que este tipo de ácidos grasos parecen ser sensibles a la disponibilidad de sustratos (Böhme y col., 2005). En nuestro estudio se produjo un incremento significativo tanto de ácidos grasos saturados como de monoinsaturados respecto al suelo control (Tabla 4.2.26), siendo mayor el incremento en ácidos grasos saturados que en monoinsaturados, resultando en valores elevados para el cociente Sat/Monoinsat. La población de actinobacterias no presentó diferencias significativas respecto al suelo control.

El cociente Gram<sup>+</sup>/Gram<sup>-</sup>, fue mayor en los suelos con enmienda orgánica que el suelo control (Tabla 4.2.26), ya que las diferentes enmiendas incrementaron la población de bacterias Gram<sup>+</sup> en mayor medida que las Gram<sup>-</sup>, siendo este cociente mayor en los suelos con solo restos de poda.

Por otro lado, como se ha mostrado anteriormente en la Figura 4.2.41, la incorporación de las diferentes enmiendas al suelo produjo un incremento significativo tanto de la población de bacterias como de hongos respecto al suelo control.

No obstante, en cuanto a número, la población bacteriana es superior a la fúngica, explicando los bajos valores del cociente Hongos/Bac. Este cociente era significativamente mayor en todos los suelos enmendados que en el suelo control, dado que en el suelo control no se detectaron PLFAs de bioindicadores de poblaciones fúngicas, poniendo de manifiesto el efecto de las enmiendas sobre la estructura de la comunidad microbiana (Tabla 4.2.26).

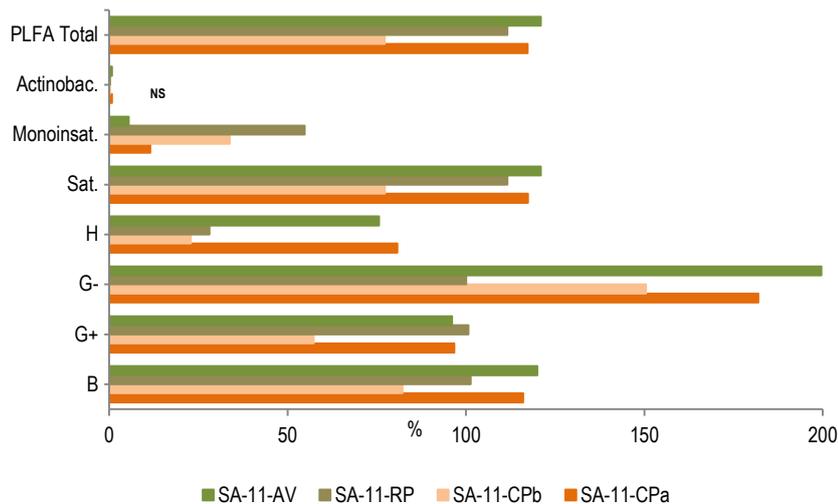
**Tabla 4.2.26.**-Relaciones bacterias Gram+/Gram-, hongos/bacterias y de PLFAs saturados/monoinsaturados (Sat/Monoinstat.) en el suelo control y los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo

nmol g <sup>-1</sup>	Saturados	Monoinstat.	Actinobac.	Gram+/Gram-	Hongos/Bac.	Sat/Monoinstat.
SA-11-C	1,87 (0,13)a	0,22 (0,09)a	0,07 (0,03)a	3,78 (0,70)a	0,00 (0,00)a	8,5 (2,97)b
SA-11-CPa	3,68 (0,10)c	0,61 (0,02)c	0,12 (0,00)a	4,22 (0,27)ab	0,05 (0,01)b	6,03 (0,36)ab
SA-11-CPb	2,94 (0,14)b	0,54 (0,02)bc	0,08 (0,01)a	5,06 (0,07)bc	0,05 (0,00)b	5,44 (0,45)a
SA-11-RV	3,76 (0,27)c	0,43 (0,01)b	0,09 (0,00)a	5,86 (0,73)c	0,05 (0,01)b	8,74 (0,84)ab
SA-11-AV	3,67 (0,30)c	0,64 (0,03)c	0,12 (0,02)a	4,01 (0,19)ab	0,07 (0,01)b	5,73 (0,24)a

SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Bastida y col., (2008 b) relacionaron la mayor abundancia de microorganismos en el suelo con una mayor cobertura vegetal. De acuerdo a Longa y col., (2017), la aplicación de abono verde tuvo un impacto importante sobre los microorganismos del suelo, promoviendo el desarrollo de la comunidad microbiana. En nuestro estudio, tanto bacterias como hongos respondieron de manera similar a la aplicación de abono verde al suelo, estimulando de manera importante estas poblaciones respecto al suelo control. La población bacteriana incrementó 120% respecto al suelo control, mientras que la de hongos, inexistente en el suelo control, incrementó hasta un 76% en el suelo enmendado con abono verde (Figura 4.2.42).

Por su parte, Lupwayi y col., (2018), comprobaron que, tras 12 años de manejo del suelo agrícola donde se adicionaba compost de estiércol animal y cultivos de cobertura, las diferentes poblaciones microbianas, incluyendo hongos, bacterias, Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup> incrementaban significativamente respecto a suelos con manejo agrícola convencional. En este estudio hemos obtenido resultados semejantes al adicionar durante 11 años compost a suelos agrícolas con cultivo de ciruelo, donde se ha producido un incremento significativo con respecto al control en la abundancia de los diferentes grupos de poblaciones microbianas estudiados, observando mayor incremento con la adición anual de compost (SA-11-CPa) que con la adición bianual (SA-11-CPb) (Figura 4.2.42).

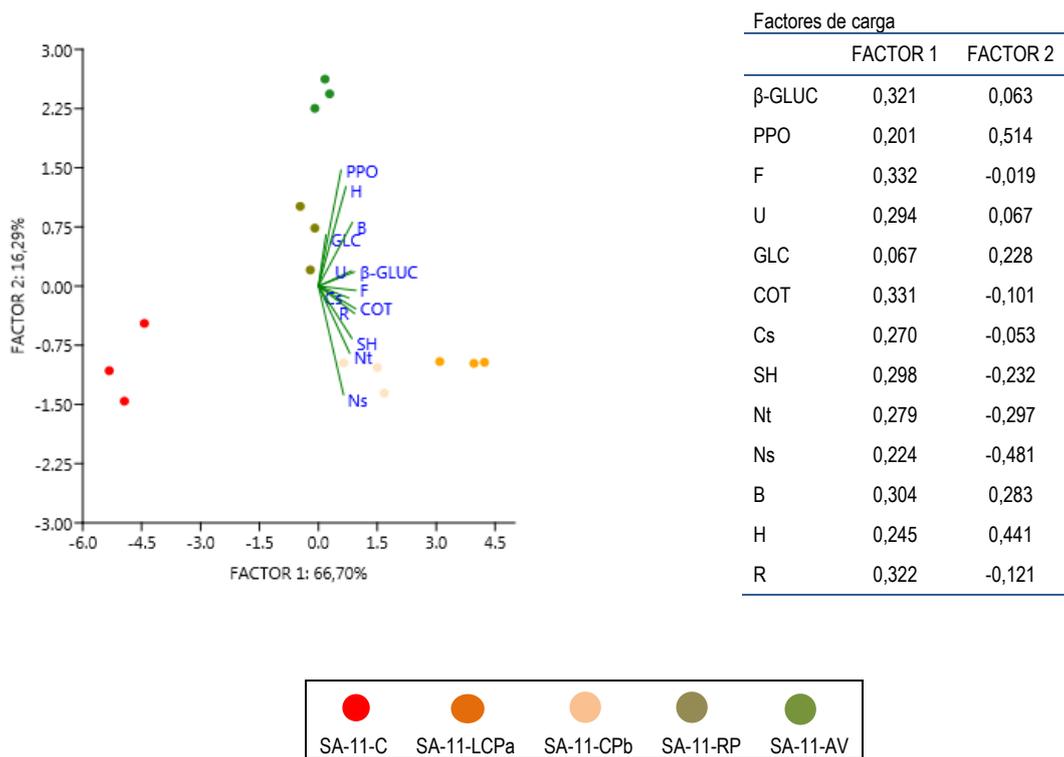


**Figura 4.2.42.**-Porcentaje de variación de los ácidos grasos de membrana de los diferentes grupos de microorganismos. Bacterias (B), Hongos (H), Gram<sup>+</sup>(G<sup>+</sup>), Gram<sup>-</sup>(G<sup>-</sup>), Saturados (Sat.), Monoinsaturados (Monoinsat.), Actinobacterias (Actinobac.) y PLFA Total de los diferentes suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control; CPa: adición compost anual; CPb: adición compost bianual; RP: restos de poda, AV: abono verde. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

## ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN

Cómo en los capítulos anteriores, el análisis de componentes principales fue llevado a cabo con el fin de determinar los principales factores relacionados con la evolución de la materia orgánica del suelo con respecto a los tratamientos estudiados y las variables:  $\beta$ -Glucosidasa ( $\beta$ -GLUC), glicina Aminopeptidasa (GLC), fosfatasa (F), polifenoloxidasas (PPO), ureasa (U); carbono orgánico total (COT), carbono hidrosoluble (Cs), nitrógeno total (Nt), nitrógeno hidrosoluble (Ns), sustancias húmicas (SH), respiración acumulativa (R), y poblaciones de hongos (H) y bacterias (B).

La Figura 4.2.43 representa el resultado de las observaciones sobre los ejes formados por los dos factores principales. El 82,99 % de la varianza ha sido capaz de diferenciar los cinco tratamientos estudiados, en función de los dos principales factores. El Factor 1 (representado por el primer eje) explicaba el 66,70% de la varianza, y mostró una fuerte relación entre la materia orgánica (incluyendo el C y sus fracciones, así como el Nt y Ns, las actividades enzimáticas ( $\beta$ -GLUC, F, U) respiración microbiana (R) y población bacteriana (B). El aporte de materia orgánica al suelo, estimuló las actividades enzimáticas relacionadas con los ciclos del C, N y P favoreciendo el ciclo de los nutrientes en el suelo y por tanto, contribuyendo al desarrollo vegetal. Este factor discrimina claramente los suelos enmendados con enmiendas de origen animal (compost de oveja y cabra) frente a la enmienda de origen vegetal (abono verde y solo restos de poda), así como entre el suelo control y los suelos con enmienda orgánica. El segundo eje, explicaba el 16,29% de la varianza, representado por el Factor 2, muy correlacionado con la actividad polifenoloxidasas (PPO), glicina aminopeptidasa (GLC) y la población de hongos (H). Este factor discrimina tres grupos, un primer grupo que incluye el control y los tratamientos con compost, un segundo grupo con los suelos que recibieron solo restos de poda, y un tercer grupo con los suelos que recibieron abono verde.



**Figura 4.2.43.**-Análisis de componentes principales de actividad  $\beta$ -Glucosidasa ( $\beta$ -GLUC), actividad Fosfatasa (F), actividad Glicina aminopeptidasa (GLC), actividad polifenoloxidasa (PPO), Ureasa (U), carbono soluble en agua (Cs), carbono orgánico total (COT), carbono de las sustancias húmicas (SH), nitrógeno total (Nt), nitrógeno soluble en agua (Ns), respiración acumulativa (R), bacterias (B) y hongos (H) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. SA: suelo agrícola, 11: años desde la enmienda, C: control, CPa: adición compost anual, CPb: adición compost bianual, RP: restos de poda, AV: abono verde

Cómo se puede observar en la Tabla 4.2.27, la estabilidad de agregados del suelo presentó una elevada correlación positiva con las actividades enzimáticas CL ( $p < 0,01$ ), B-G y F ( $p < 0,05$ ) fracciones de C, COT, Cs y SH ( $p < 0,01$ ), Nt y Ns así como con la respiración microbiana R ( $p < 0,01$ ). Esto concuerda con el efecto positivo de la adición de la enmienda sobre las propiedades físicas del suelo (CRH, densidad y estabilidad de agregados) tal como se mostró en la Tabla 4.2.20 y en la Figura 4.2.24. Por otra parte, es bien sabido que las bacterias y hongos en el suelo juegan un papel esencial en el desarrollo de su estructura gracias a la excreción de polisacáridos, proteínas, lípidos, y otros agentes, como también a la producción de hifas que pueden mantener las partículas del suelo unidas (Tisdall, 1991). Sin embargo, no se observó correlación significativa con los diferentes grupos de la población microbiana presente en estos suelos. Este hecho podría ser explicado por el manejo al que es sometido anualmente este suelo agrícola con labranza superficial.

El contenido en COT del suelo depende principalmente del sistema de cultivo y manejo del suelo, que a su vez determina la entrada de C al mismo (Farina y col., 2018). Tras la incorporación de las diferentes enmiendas orgánicas durante 11 años al suelo con cultivo orgánico de ciruelo, se obtuvieron correlaciones positivas con alto grado de significación ( $p < 0,01$ ), entre el COT y diferentes actividades enzimáticas (CL, B-G, F, U), fracciones de C (Cs y SH), Nt, Ns, R, poblaciones microbianas (Gram<sup>+</sup>, Gram<sup>-</sup>, B) y H ( $p < 0,05$ ), mientras

que, no se han observado correlaciones significativas con las actividades PPO y GLC. La funcionalidad del suelo es el resultado de un amplio rango de diferentes actividades (Maron y col., 2018).

Estas elevadas correlaciones positivas nos indican la fuerte dependencia entre la actividad microbiana del suelo y la presencia de compuestos orgánicos biodisponibles. Estos datos apoyan el uso de las diferentes enmiendas orgánicas empleadas (CP, RP y AV) como eficientes y efectivas, no solo sobre los stocks de C, sino también sobre las funciones biológicas del suelo. Entre los diferentes tratamientos, el manejo del suelo con adición anual de compost, resultó en general en mayores niveles de actividad hidrolasa así como de respiración microbiana.

Diacono y Montemurro (2010), en un meta-análisis reportaron los efectos positivos de la aplicación de enmiendas al suelo, no solo por el incremento que se produce en carbono orgánico, sino también sobre las funciones biológicas del suelo (biomasa y actividades enzimáticas del suelo).

## **CONCLUSIONES PARCIALES**

*Las funciones y servicios proporcionados por los suelos agrícolas depende en gran medida tanto del uso del terreno como de su manejo.*

*Así, mediante este ensayo a medio plazo (11 años), en un suelo bajo condiciones climáticas semiáridas y manejo de agricultura orgánica, al que se le han aplicado diferentes tipos de enmiendas orgánicas (compost (CP), restos de poda (RP) y abono verde (AV)), hemos podido observar que la adición de estos materiales orgánicos ha contribuido a incrementar el secuestro de C en el suelo (importante incremento en el pool de C), y así a mejorar su calidad, mediante la estimulación que este incremento de materia orgánica ejerce sobre las poblaciones microbianas y actividades enzimáticas, que juegan un papel fundamental en el flujo de energía y el ciclo de los nutrientes. De esta forma se consigue obtener nutrientes biodisponibles que favorecen la fertilidad del suelo.*

*Entre todas las enmiendas empleadas el compost incorporado con frecuencia anual obtuvo los mejores resultados, en general, para todos los parámetros estudiados principalmente en lo que se refiere al incremento en el pool de C orgánico. No obstante, hay que señalar el elevado incremento en la población microbiana como resultado de la incorporación de abono verde al suelo (AV). Se pone así de manifiesto la influencia de la naturaleza de la enmienda y el tipo de manejo en los efectos que la misma produce en el suelo, y que estos efectos son duraderos en el medio plazo.*

*En resumen, en función de los resultados obtenidos, podemos asegurar que la incorporación al suelo de compost, abono verde y restos de poda representa una opción válida en términos de incremento de secuestro de C, calidad y fertilidad de suelos agrícolas bajo manejo orgánico.*

**Tabla 4.2.27.**.-Correlaciones entre variables en los suelos de la zona de Cieza bajo cultivo de ciruelo. \*significación p<0,05, \*\*significación p<0,01

	CE	CRH	D	EA	CL	β-G	PPO	F	U	GLC	COT	Cs	SH	Pt	Nt	Ns	NO <sub>3</sub>	R	Gram <sup>+</sup>	Gram <sup>-</sup>	B	H	
CE																							
CRH	-0,57*																						
D	0,71**	-0,63*																					
EA	-0,03	0,22	-0,51																				
CL	-0,55*	0,53*	-0,92**	0,71**																			
β-G	-0,80**	0,60*	-0,96**	0,53*	0,90**																		
PPO	-0,82**	0,44	-0,56*	0,05	0,45	0,59*																	
F	-0,71**	0,61*	-0,95**	0,57*	0,95**	0,93**	0,60*																
U	-0,60*	0,67**	-0,71**	0,50	0,77**	0,71**	0,74**	0,81**															
GLC	-0,38	-0,08	-0,19	0,09	0,21	0,21	0,40	0,30	0,09														
COT	-0,56*	0,51*	-0,90**	0,71**	0,97**	0,91**	0,46	0,95**	0,79**	0,15													
Cs	-0,36	0,25	-0,70**	0,75**	0,85**	0,66**	0,44	0,78**	0,65**	0,38	0,78**												
SH	-0,26	0,40	-0,82**	0,77**	0,92**	0,73**	0,26	0,86**	0,69**	0,06	0,92**	0,82**											
Pt	0,80**	-0,36	0,43	0,19	-0,22	-0,52*	-0,72**	-0,35	-0,32	-0,44	-0,24	-0,02	0,06										
Nt	-0,41	0,56*	-0,79**	0,57*	0,80**	0,80**	0,16	0,76**	0,54*	-0,10	0,83**	0,50	0,76**	-0,16									
Ns	0,00	0,30	-0,57*	0,66**	0,70**	0,53*	-0,06	0,57*	0,51	-0,30	0,76**	0,50	0,83**	0,20	0,82**								
NO <sub>3</sub>	0,88**	-0,58*	0,91**	-0,41	-0,83**	-0,96**	-0,72**	-0,89**	-0,71**	-0,34	-0,84**	-0,60*	-0,61*	0,67**	-0,65**	-0,34							
R	-0,60*	0,37	-0,90**	0,70**	0,93**	0,93**	0,44	0,91**	0,63*	0,26	0,94**	0,79**	0,83**	-0,30	0,75**	0,62*	-0,87**						
Gram <sup>+</sup>	-0,90**	0,53*	-0,85**	0,30	0,77**	0,88**	0,76**	0,88**	0,67**	0,50	0,76**	0,63*	0,55*	-0,66**	0,52*	0,18	-0,94*	0,79**					
Gram <sup>-</sup>	-0,64**	0,30	-0,62*	0,35	0,63*	0,61*	0,90**	0,68**	0,78**	0,44	0,63*	0,70**	0,51*	-0,52*	0,25	0,18	-0,71**	0,60*	0,74**				
B	-0,90**	0,49	-0,84**	0,34	0,75**	0,88**	0,82**	0,85**	0,68**	0,42	0,76**	0,62*	0,54*	-0,68**	0,53*	0,20	-0,95**	0,80**	0,97**	0,81**			
H	-0,90**	0,52*	-0,72**	0,17	0,61*	0,76**	0,93**	0,72**	0,72**	0,35	0,60*	0,51	0,36	-0,72**	0,34	0,04	-0,87**	0,62*	0,89**	0,86**	0,94**		
ACT	-0,39	-0,21	-0,36	0,30	0,40	0,39	0,63*	0,43	0,37	0,61*	0,44	0,55*	0,34	-0,43	0,01	0,08	-0,51	0,52*	0,53*	0,82**	0,62*	0,60*	

CE: conductividad eléctrica; CRH: capacidad de retención hídrica; EA: estabilidad de agregados; D: densidad, CL: celulasa, β-G: β-glucosidasa, PPO: polifenoloxidasa, F: fosfatasa; U: ureasa; GLC: glicina-aminopeptidasa; COT: carbono orgánico total, Cs: carbono hidrosoluble; SH: sustancias húmicas, Pt: fósforo total, Nt: nitrógeno total, Ns: nitrógeno hidrosoluble; NO<sub>3</sub>: nitratos; R: desprendimiento acumulativo de CO<sub>2</sub>; G<sup>+</sup>: Gram-positiva; G<sup>-</sup>: Gram-negativa; B: bacteria, H: hongos; ACT: actinobacteria

## **C.EXPERIMENTOS A LARGO PLAZO**

### **C.1. ESTUDIO DEL EFECTO DE 16 AÑOS DE APLICACIÓN DE COMPOST DE ALPERUJO**

Globalmente, el suelo es uno de los almacenes terrestres de C más importantes, sin embargo, el C de los suelos agrícolas está sufriendo un cambio substancial debido tanto a las condiciones medioambientales como a los efectos del manejo del suelo (Teng y col., 2018).

Aumentando el carbono orgánico del suelo se puede contribuir a la reducción neta de la emisión de gases de efecto invernadero, no solamente mediante el almacenamiento de C en el mismo, sino también, facilitando cambios en la estructura del suelo, que en algunos casos pueden reducir la emisión de N<sub>2</sub>O (Powlson y col., 2001; Muteji y col., 2010). Asimismo, se puede incrementar el contenido en nutrientes tales como el nitrógeno, fósforo y azufre (Kirby y col., 2011).

Por lo tanto, la gestión del carbono orgánico del suelo también está estrechamente relacionada con la gestión de los nutrientes en el suelo, en particular en la agricultura ecológica (Watson y col., 2002; Gomiero y col., 2011; Reganold y Watcher, 2016). Precisamente, la agricultura ecológica necesita de una fuente de materia orgánica para aumentar la fertilidad de los suelos. Entre las opciones agrícolas para potenciar el secuestro de carbono destacan el no laboreo o laboreo mínimo, y la aplicación de fertilizantes orgánicos, tales como residuos o subproductos orgánicos compostados (Álvarez de la Puente y col., 2011). Recuperar activamente la materia orgánica del suelo, podría contribuir de forma efectiva a reducir los niveles de CO<sub>2</sub> de la atmósfera, y por tanto, a mitigar el calentamiento climático global.

La producción de aceite de oliva es una de las industrias más importantes en los países mediterráneos, por lo que se está produciendo una gran expansión del cultivo del olivar. España es el principal productor del mundo. La producción de aceite de oliva genera como subproducto “alperujo” (orujo+alpechín), el cual se produce en grandes cantidades durante un periodo corto de tiempo. Este subproducto puede ocasionar graves problemas medioambientales debido a su fitotoxicidad y textura semi-sólida. Sin embargo, a través de su compostaje se consigue transformar este subproducto en un recurso, ya que lo convierte en una enmienda orgánica, estabilizándolo, eliminando su potencial efecto fitotóxico, y logrando equilibrar su relación C/N, haciéndolo de esta forma apto para su uso en agricultura, de modo que puede ser incorporado al suelo como enmienda con el objetivo de mejorar su calidad.

No obstante, su proceso de compostaje suele presentar algunas dificultades relacionadas con: su alto contenido en lignina, alto valor de la relación C/N, textura semisólida que limita la difusión de oxígeno para que el proceso aeróbico de la biodegradación de la materia orgánica se pueda realizar satisfactoriamente, etc. Este es el principal motivo por el que se le incorporan otros materiales conocidos como agentes estructurantes, que sirven como fuente adicional de nitrógeno y equilibran la relación C/N hasta alcanzar valores en el rango óptimo (Albuquerque y col., 2004; Cegarra y Paredes, 2008).

En el ensayo seleccionado para este estudio, se emplearon como agentes estructurantes raspajo de uva y estiércol de cabra. El co-compostaje de estos materiales da lugar, generalmente, a un compost con un buen grado de humificación, no fitotóxico, libre de patógenos, y con niveles aceptables de nutrientes (Alburquerque y col., 2009; Cayuela y col., 2010; Roig y col., 2006).

De esta forma, se transforma este residuo en una enmienda orgánica útil, para mejorar la calidad del suelo en áreas semiáridas Mediterráneas. El compost de alperujo contiene una gran cantidad de materia orgánica, y así, puede ser útil como enmienda en suelos agrícolas, reduciendo potencialmente la necesidad de entradas de fertilizantes de nitrógeno, fósforo y potasio, mejorando las propiedades del suelo (García-Ruiz y col., 2012).

El objetivo principal de este estudio fue la evaluación del efecto de la aplicación agronómica durante 16 años de compost de alperujo sobre la calidad de un suelo bajo cultivo de olivo y el secuestro de C en el mismo.

Para este estudio se seleccionó una explotación agrícola localizada en Jumilla (38°24'1.6"N, 1°22'39.8"W), al sureste de España, a 400 metros sobre el nivel del mar, con una pluviometría escasa y una elevada insolación. Son 350 hectáreas dedicadas al cultivo ecológico de olivos, acebuches, viñas y cereales y al cultivo tradicional de almendros, frutales y viveros de vides. Las variedades que se cultivan son las tradicionales "cuquillo" y "cornicabra", renovando y completando las plantaciones con la variedad "arbequina".

El compost se aplicó encima de la línea del gotero, cerca del árbol, y con una labor superficial, de esta forma el compost quedó semienterrado. La distribución de las zonas ensayadas se muestra en la Figura 4.2.44.



**Figura 4.2.44.**-Distribución de las parcelas experimentales de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

El compost se ha aplicado durante 16 años de los que en los 12 primeros años se aportaban 40 kg compost/árbol cada 4 años y los 4 últimos años se aportaron 5 kg compost/árbol cada 2 años. La época de aporte fue entre noviembre y febrero.

En la Tabla 4.2.28 se detalla la nomenclatura y descripción de los tratamientos aplicados en esta finca de Jumilla.

**Tabla 4.2.28.**-Nomenclatura y descripción de los tratamientos aplicados en los suelos de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

NOMENCLATURA	TRATAMIENTO	DOSIS (kg compost árbol <sup>1</sup> )
SA-16-C	Parcela sin enmienda	0
SA-16-CP	Compost de alperujo	3 aplicaciones (cada 4 años), 40 kg compost/árbol (12 años) +2 aplicaciones (cada 2 años), 5 kg compost/árbol (4 años)

La textura de este suelo agrícola bajo manejo orgánico es Franco arenosa, textura gruesa. El suelo en esta zona está clasificado como regosol calcárico (FAO, 2006). Las principales características del suelo se detallan en la Tabla 4.2.29.

**Tabla 4.2.29.**-Características del suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

Parámetros	Suelo Control
pH*	9,50
Conductividad Eléctrica*, $\mu\text{S cm}^{-1}$	110
Materia Orgánica Total, $\text{g}100\text{g}^{-1}$	0,82
Carbono Orgánico Total, $\text{g}100\text{g}^{-1}$	0,48
Nitrógeno total, $\text{g}100\text{g}^{-1}$	0,045
Fósforo total, $\text{g}100\text{g}^{-1}$	0,02
Potasio total, $\text{g}100\text{g}^{-1}$	0,35
Calcio, $\text{g}100\text{g}^{-1}$	10,5

\*Determinado en extracto acuoso (1:5)

El alperujo necesita ser mezclado con agentes estructurantes antes de ser compostado. Así, en nuestro ensayo se empleó como enmienda orgánica compost de alperujo, raspajo de uva y estiércol de cabra. Los principales parámetros del compost de alperujo, tanto agronómicos como medioambientales, empleado como enmienda se detallan en las Tablas 4.2.30, 4.2.31 y 4.2.32.

**Tabla 4.2.30.**-Parámetros agronómicos del compost de alperujo+estiércol de cabra+ raspón de uva, aplicado en los suelos de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo (m.s)

Compost alperujo	
Humedad, $\text{g } 100\text{g}^{-1}$	7,86
pH	9,14
Conductividad Eléctrica, $\text{mS cm}^{-1}$	5,07
Materia Orgánica, $\text{g } 100\text{g}^{-1}$	94,6
Carbono Orgánico Total, $\text{g}100\text{g}^{-1}$	54,7
Nitrógeno Total, $\text{g}100\text{g}^{-1}$	2,50
Fosforo Total, $\text{g}100\text{g}^{-1}$	0,39
Potasio Total, $\text{g}100\text{g}^{-1}$	4,64

m.s: materia seca

**Tabla 4.2.31.** -Parámetros medioambientales del compost de alperujo (Metales pesados), aplicado en los suelos de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo (m.s)\*

	Compost alperujo	Límites de concentración** mg kg <sup>-1</sup> (m.s.)
Níquel, mg kg <sup>-1</sup>	6,17	25
Cobre, mg kg <sup>-1</sup>	25,13	70
Cadmio, mg kg <sup>-1</sup>	< 0,5	0,7
Zinc, mg kg <sup>-1</sup>	72,55	200
Cromo, mg kg <sup>-1</sup>	17,44	70
Plomo, mg kg <sup>-1</sup>	4,81	45

m.s.: materia seca. \*\*Límites establecidos para el tipo A en las enmiendas orgánicas compost según real decreto 824/2005, de 8 de julio sobre productos fertilizante

**Tabla 4.2.32.** -Parámetros medioambientales del compost de alperujo (Patógenos) aplicado en los suelos de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo (m.s)

Patógenos	
Salmonella, (en 25g)	Ausencia
E.coli, ufc g <sup>-1</sup>	<10

m.s.: materia seca

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### PARÁMETROS AGRONÓMICOS

#### Parámetros físicos y físico-químicos

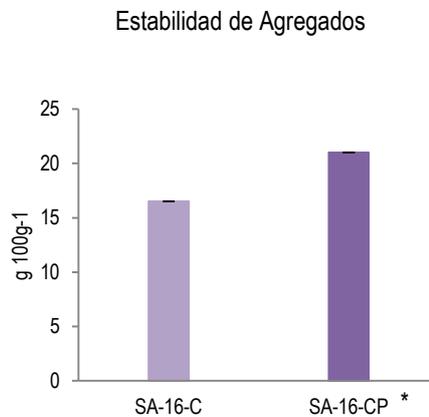
Después de 16 años de tratamiento no se observaron diferencias significativas de pH entre el suelo control y el suelo con compost. La influencia de la aplicación de las enmiendas orgánicas en el pH dependerá del valor de este parámetro en el suelo (Diacono y Montemurro, 2011). El suelo es un medio cuyo pH varía lentamente gracias a su poder tampón, lo que aporta estabilidad para la actividad microbiana y la disponibilidad de nutrientes, fuertemente condicionadas por el pH de la solución de suelo (García de la Fuente, 2011), así en suelos neutros y básicos no se producen grandes cambios en este parámetro (Ingelmo y Rubio, 2008; Erhart y Hartl, 2010). Tampoco se observaron diferencias significativas en la densidad del suelo control y enmendado con compost aunque si se observó un ligero descenso (1,08 veces inferior) en el suelo enmendado. Por su parte, la capacidad de retención hídrica aumentó significativamente en el suelo con compost respecto al suelo control (Tabla 4.2.33).

**Tabla 4.2.33.** -Valores de pH, densidad y capacidad de retención hídrica (CRH) en el suelo control y en el suelo enmendado con cultivo de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

	pH	Densidad g cm <sup>-3</sup>	CRH g 100g <sup>-1</sup>
SA-16-C	9,3 (0,1)	1,15 (0,01)	22,0 (1,0)
SA-16-CP	9,5 (0,1)	1,06 (0,03)	<b>24,7 (0,6)</b>

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Como se puede observar en la Figura 4.2.45, la adición de compost de alperujo al suelo condujo a una mejora en la estabilidad de agregados de éste, incrementando el porcentaje de agregados estables 1,27 veces, siendo este incremento en el suelo enmendado con respecto al suelo control estadísticamente significativo.



**Figura 4.2.45.**-Porcentaje de agregados estables en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de *t* de Student ( $p \leq 0,05$ )

En general, tras los resultados expuestos podemos señalar que la incorporación de compost de alperujo durante 16 años al suelo agrícola con cultivo orgánico de olivo mejoró las propiedades físicas de éste gracias a una sensible disminución de la densidad, así como a incrementos significativos en parámetros como CRH y EA.

Diversos autores (Evanylo y col., 2008; Ingelmo y Rubio, 2008; Erhart y Hartl, 2010), observaron que la aplicación de compost como enmienda orgánica al suelo disminuía la compactación y la densidad aparente del suelo e incrementaba su porosidad. Por su parte, Ferreras y col., (2006), así como Insam y de Bertoldi, (2007), observaron incrementos en la estabilidad de agregados tras la aplicación de compost. Además, el aporte de compost provocó un incremento en la capacidad de retención hídrica (CRH), favoreciendo el acceso de agua útil a las plantas. Este efecto se relaciona con la mezcla de las partículas del compost con las del suelo, generándose una estructura con un reparto equilibrado de poros de distinto tamaño, que permanece además estable (García de la Fuente, 2011).

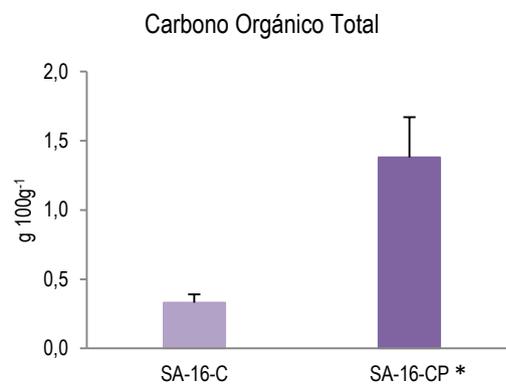
### **Contenido en materia orgánica y Parámetros nutricionales**

Cabe destacar que la incorporación de materia orgánica de los suelos agrícolas permite incorporar por un lado los nutrientes necesarios para mejorar la fertilidad de estos suelos, pero por otro lado, también puede contribuir de forma eficaz a reducir los niveles de CO<sub>2</sub> de la atmósfera y por ende, a mitigar el calentamiento climático global gracias a su capacidad para el secuestro de C.

Los compost de alperujo poseen un alto contenido de materia orgánica, en promedio entre 500-600 kg t<sup>-1</sup> que son similares a los de otros tipos de compost de origen vegetal (Álvarez de la Puente, 2011). Por ello, consideramos que la incorporación del compost de alperujo al suelo agrícola con cultivo ecológico de olivo, gracias a sus características (Tabla 4.2.30), puede ser una buena fuente de materia orgánica para aumentar la fertilidad del suelo.

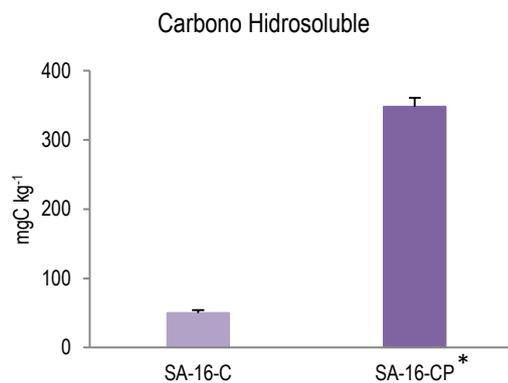
### **Materia orgánica**

El contenido de carbono orgánico total (COT) en el suelo enmendado con compost de alperujo, era después de 16 años de aplicación continuada de enmienda, significativamente mayor (hasta 4,6 veces) que el del suelo control sin enmendar, como se indica en la Figura 4.2.46.



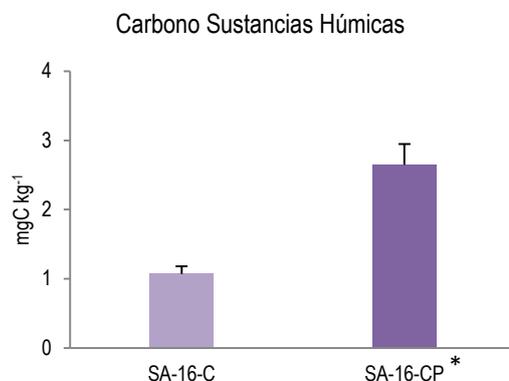
**Figura 4.2.46.**-Contenido de carbono orgánico total en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años ensayo, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

De la misma forma, el contenido de C hidrosoluble (Cs) incrementó significativamente (6,9 veces) en los suelos donde se adicionó compost respecto al suelo control (Figura 4.2.47).



**Figura 4.2.47.**-Contenido de carbono hidrosoluble en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años ensayo, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Por último, la fracción de sustancias húmicas, correspondiente a la fracción de los compuestos de C más resistentes a la degradación, también incrementó significativamente (2,5 veces) en el suelo enmendado con compost respecto al suelo control (Figura 4.2.48).



**Figura 4.2.48.**-Contenido de carbono de sustancias húmicas en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

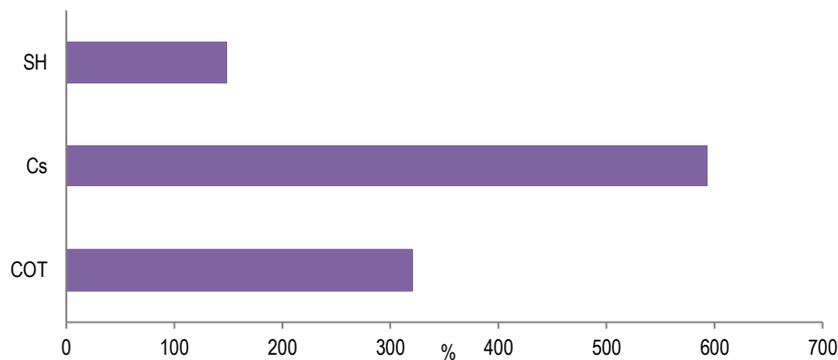
En general, tras 16 años de aplicación de compost de alperujo en el suelo con cultivo de ecológico de olivo, se observan efectos beneficiosos en el suelo asociados con el incremento de las diferentes fracciones de carbono (COT, Cs y SH), resultando en incrementos del 320% para COT, 593% para Cs y 149% para SH respecto del suelo control, como se muestra en la Figura 4.2.49.

El incremento de cada una de las fracciones, dependerá a su vez, de la composición del compost empleado, ya que el efecto del compost en el suelo dependerá no sólo de su contenido en materia orgánica sino también de la composición de la misma. Así, de acuerdo a Haug (1993), los compuestos orgánicos fácilmente degradables, tales como carbohidratos, grasas y aminoácidos, son rápidamente degradados al comienzo del proceso de compostaje, mientras que los sustratos orgánicos más resistentes tales como celulosa, hemicelulosa y lignina, son parcialmente degradados y transformados lentamente. Por consiguiente, el contenido en materia orgánica del compost, dependerá de la naturaleza de los materiales utilizados en dicha enmienda así como de la actividad microbiológica existente en la misma.

El hecho de que el contenido en Cs en el suelo enmendado con compost de alperujo, según el manejo detallado en la Tabla 4.2.28, incremente de una manera tan significativa al final del periodo experimental, confirma la idoneidad del uso de esta enmienda para la sostenibilidad de estos suelos agrícolas con cultivo de olivo. La degradación de la materia orgánica induce un aumento en la concentración de Cs gracias a la contribución creciente de productos microbianos solubles o liberación de compuestos solubles de bajo peso molecular, tales como fenoles y azúcares, procedentes de la degradación de sustratos ligno-celulósicos (Gigliotti y col., 2012). Así, la degradación de la materia orgánica introducida al suelo agrícola a través de la enmienda con compost de alperujo consiguió dotar al suelo de un importante pool de Cs.

Que los contenidos de las diferentes fracciones de C en los suelos enmendados incrementen significativamente respecto al suelo control, indica que la tasa de descomposición del COT del compost es relativamente baja o por lo menos inferior a las tasas de aplicación del compost al suelo, cada vez menores (Tabla 4.2.28). Así, esta baja tasa de descomposición del compost de alperujo, junto al elevado contenido en COT del suelo enmendado indica que su aplicación en suelos con cultivo de olivo es una estrategia adecuada para el secuestro de C en el suelo (Gómez-Muñoz y col., 2012).

Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores. García-Ruiz y col. (2012), tras la aplicación anual durante 16 años de compost de alperujo en suelos agrícolas con cultivo de olivo, indicaron que los compuestos recalcitrantes presentes en el compost podrían contribuir a reducir la tasa de descomposición del compost en condiciones de campo. Por otro lado, tras el aporte anual (17 años) de compost de alperujo en una finca con cultivo ecológico de olivo, se detectó un incremento de hasta el 400% de materia orgánica en los suelos enmendados respecto a al suelo de olivar en cultivo convencional (Álvarez de la Puente, 2001).

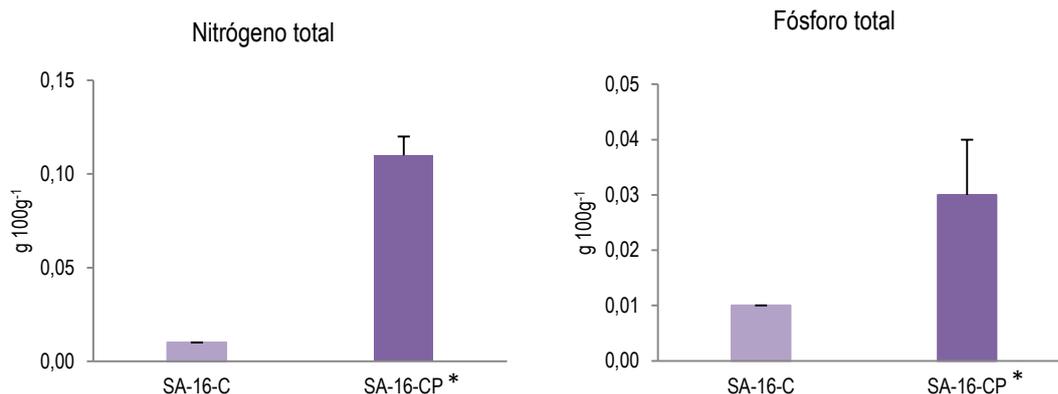


**Figura 4.2.49.**-Porcentaje de variación de las diferentes fracciones de carbono: carbono hidrosoluble (Cs), sustancias húmicas (SH) y carbono orgánico total (COT) en el suelo enmendado respecto al suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda; C: control, CP: compost de alperujo

### **Parámetros nutricionales**

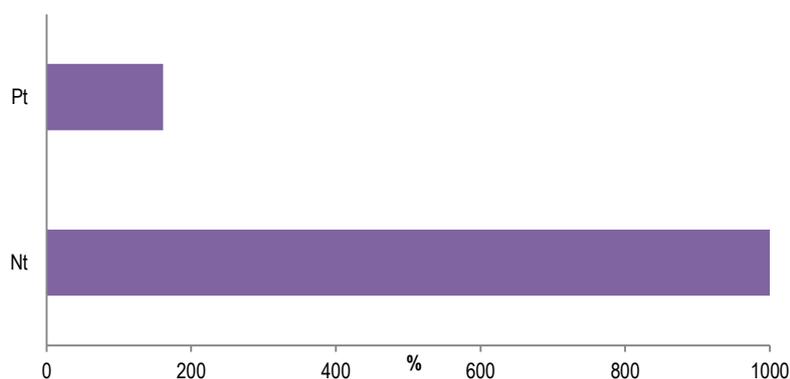
El valor agronómico de las enmiendas se relaciona no solamente con el aporte de materia orgánica, sino también con el aporte de nutrientes al suelo. Así, como se observa en la Figura 4.2.50 la adición de compost de alperujo incrementó de forma significativa tanto el contenido de N total, ya que supuso un aumento de 11 veces con respecto al suelo control, como de P total, que incrementó 3 veces la concentración inicial con respecto al suelo control.

Si consideramos los incrementos porcentuales, con respecto al suelo control, del contenido de estos nutrientes en el suelo enmendado (Figura 4.2.51), observamos que la adición de compost de alperujo supuso un incremento del 100% en el contenido de Nt y del 161% en el contenido de Pt. Estos resultados coinciden con los observados por otros autores (Cabrera y col., 2005; López-Piñeiro y col., 2008; García-Ruiz, 2012).



**Figura 4.2.50.**-Contenido de nitrógeno total y fósforo total en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Es importante señalar que, el N en forma orgánica es el principal componente nitrogenado en los compost (Gigliotti y col., 2012). De hecho, una gran parte de la proteína contenida en la mezcla de compostaje no se transforma en amonio durante el proceso del compostaje (Körner y Stegmann, 2002). Así, este incremento tan elevado de su concentración en el suelo nos indica que se trata de un N muy resistente a la mineralización, siendo retenido en el suelo, lo que se podría considerar como muy adecuado desde el punto de vista agrícola.



**Figura 4.2.51.**-Porcentaje de variación del contenido de nitrógeno total y fósforo total en el suelo enmendado con respecto al suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años ensayo, C: control, CP: compost de alperujo

Como se detalla en la Tabla 4.2.34 no existen diferencias significativas en el contenido de Ca y K entre el suelo control y el enmendado con compost. Por un lado, hay que señalar la naturaleza de estos suelos, que presentan un elevado contenido en calcio superior al aportado por el propio compost, mientras que por otro lado, hay que considerar que el potasio del compost es un elemento disponible para las plantas, así que al incorporar el compost al suelo, el K aportado puede ser rápidamente utilizado para cubrir las necesidades del cultivo.

**Tabla 4.2.34.** -Contenido de potasio (K) y calcio (Ca) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

	SA-16-C	SA-16-CP
K, g 100g <sup>-1</sup>	0,45 (0,06)	0,42 (0,03)
Ca, g 100g <sup>-1</sup>	8,94 (0,73)	9,65 (0,98)

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard

En cuanto al contenido en micronutrientes, no se observaron diferencias significativas como consecuencia de la adición de compost entre el suelo control y el enmendado (Tabla 4.2.35).

**Tabla 4.2.35.** -Contenido de magnesio (Mg), manganeso (Mn), aluminio (Al) azufre (S) y hierro (Fe) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

	SA-16-C	SA-16-CP
Mg, mg kg <sup>-1</sup>	3,19 (0,20)	3,22 (0,14)
Mn, mg kg <sup>-1</sup>	239,3 (18,1)	232,0 (12,4)
Al, mg kg <sup>-1</sup>	1,54 (0,21)	1,04 (0,09)
S, mg kg <sup>-1</sup>	0,10 (0,01)	0,12 (0,01)
Fe, mg kg <sup>-1</sup>	4599 (462)	6142 (869)

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard

## PARÁMETROS AMBIENTALES

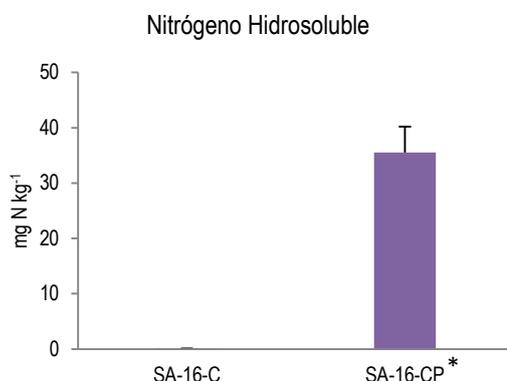
La conductividad eléctrica (CE) es un parámetro que refleja la concentración en sales solubles. Estas sales reducen el potencial osmótico de la solución del suelo, reduciendo al mismo tiempo la disponibilidad de agua para las plantas, a pesar de que el suelo muestre niveles razonables de humedad. Los problemas de salinidad son más acentuados en regiones áridas y semiáridas. La CE del compost de alperujo empleado como enmienda es elevada (5,07 mS cm<sup>-1</sup>) y su incorporación al suelo resultó en un incremento significativo de la CE en el suelo enmendado (SA-16-CP). No obstante, el valor de CE detectado en este suelo (206 µS cm<sup>-1</sup>) no representa ningún problema ni en términos medioambientales ni agronómico, ya que valores de CE hasta 5 dS/m (Maas, 1984) son considerados como adecuados para suelos con cultivo de olivo. No se observaron diferencias significativas en los contenidos de Na<sup>+</sup> y nitratos entre el suelo control y el suelo enmendado (Tabla 4.2.36).

**Tabla 4.2.36.** -Valores de conductividad eléctrica (CE), sodio (Na<sup>+</sup>) y nitratos en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

	SA-16-C	SA-16-CP
CE, µS cm <sup>-1</sup>	38,5 (0,5)	<b>206,0</b> (11,0)
Na <sup>+</sup> , g 100g <sup>-1</sup>	0,02 (0,00)	0,03 (0,00)
Nitratos, mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> kg <sup>-1</sup>	<1,0	<1,0

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos, para cada parámetro y zona, de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

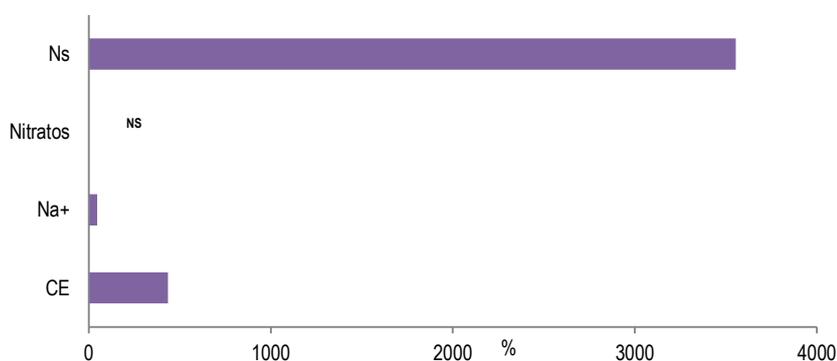
En cuanto al contenido en N hidrosoluble (Ns) (Figura 4.2.52), se produjo un importante incremento en su concentración en el suelo enmendado con compost presentando diferencias significativas con el suelo control sin enmendar.



**Figura 4.2.52.**-Contenido de nitrógeno hidrosoluble en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo: SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo.\* Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

En general, la aplicación de compost de alperujo durante 16 años al suelo con cultivo orgánico de olivo, no provocó incrementos significativos en el contenido de  $\text{Na}^+$  que pudiera conducir a la salinización del suelo ni en el contenido de  $\text{NO}_3^-$ . Sí que se produjo un incremento en la conductividad, pero dentro de valores adecuados para el cultivo y en el contenido de Ns con un porcentaje de variación respecto al suelo control muy elevado (3550%) (Figura 4.2.53).

Quizás este sea el parámetro (Ns) más destacable, debido a su elevado incremento respecto al suelo control, así como el hecho de que no se haya producido incremento alguno en el contenido de nitratos en el suelo enmendado, que se encuentran en cantidades no cuantificables (<1,0 ppm). Gómez-Muñoz y col., (2012) tras continuas aplicaciones de compost de alperujo al suelo consideraron que la demanda microbiana general de amonio para ser inmovilizado es mayor que la del amonio que es nitrificado.



**Figura 4.2.53.**-Porcentaje de variación de conductividad eléctrica (CE), sodio ( $\text{Na}^+$ ), nitratos y nitrógeno hidrosoluble (Ns) en el suelo enmendado respecto al suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Finalmente, en cuanto al contenido en metales pesados, no se observaron diferencias significativas en su contenido entre el suelo control y el suelo enmendado (Tabla 4.2.37). Como se indica en la Tabla 4.2.31, los niveles de metales pesados en el compost empleado en el ensayo están por debajo de los límites establecidos por el Real Decreto 824/2005.

**Tabla 4.2.37.**-Contenido de metales pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

	SA-16-C	SA-16-CP
Cd, mg kg <sup>-1</sup>	0,30 (0,04)	0,23 (0,04)
Cr, mg kg <sup>-1</sup>	18,50 (1,81)	15,13 (1,81)
Cu, mg kg <sup>-1</sup>	3,79 (0,50)	5,14 (1,38)
Ni, mg kg <sup>-1</sup>	8,27 (1,18)	6,85 (0,67)
Pb, mg kg <sup>-1</sup>	8,69 (0,89)	7,80 (0,93)
Zn, mg kg <sup>-1</sup>	17,74 (2,73)	17,45 (0,49)

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard

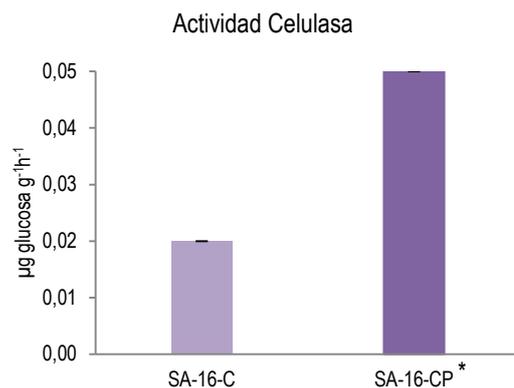
Así, se podría considerar que la aplicación de compost de alperujo como fuente de nitrógeno es una adecuada estrategia para minimizar los riesgos de contaminación por nitrato, siendo todos estos aspectos positivos desde el punto de vista medioambiental.

### **PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA**

Las actividades enzimáticas son generalmente utilizadas como buenos indicadores de la calidad del suelo, debido a su rápida respuesta tanto a los cambios naturales como a los inducidos por los humanos, y por sus métodos de determinación sencillos, baratos y reproducibles (Rao y col., 2014). Son valoradas como importantes sensores del estado metabólico de las poblaciones microbianas y de las condiciones físicas y químicas del suelo (Burns y col., 2013). Gracias a estas características, las actividades enzimáticas son empleadas para testar los efectos de las enmiendas sobre la calidad del suelo.

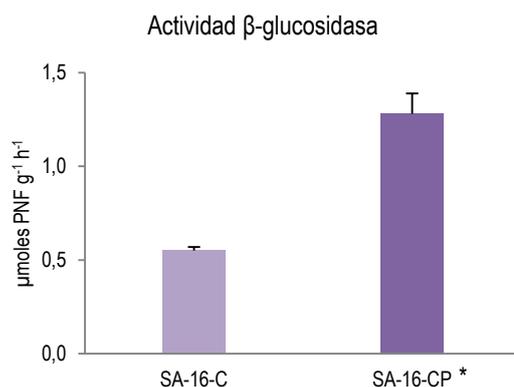
#### **Actividades enzimáticas**

La actividad enzimática celulasa incrementó significativamente en el suelo enmendado con compost de alperujo respecto al suelo control, llegando a aumentar su actividad hasta 2,5 veces, ya que los compost de alperujo presentan un elevado contenido en materia orgánica con importantes cantidades de celulosa y hemicelulosa, que actúan como sustratos para el complejo enzimático celulasa (Figura 4.2.54).



**Figura 4.2.54.**-Actividad enzimática celulasa en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

De la misma manera, se produjo un incremento significativo de la actividad  $\beta$ -glucosidasa, que alcanzó valores de hasta 2,3 veces superior de actividad en el suelo enmendado que en el suelo control (Figura 4.2.55).



**Figura 4.2.55.**-Actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

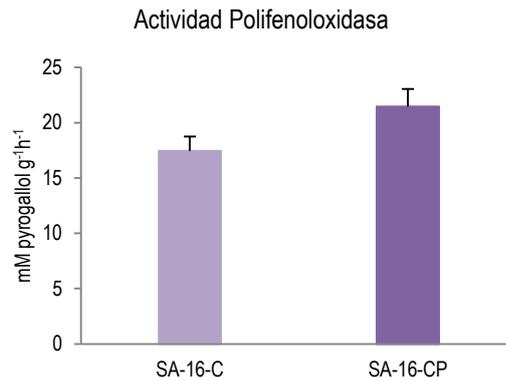
A través de la actividad enzimática polifenoloxidasa los microorganismos son capaces de oxidar compuestos fenólicos y degradar lignina y sustancias húmicas, permitiendo la liberación de C y otros nutrientes (Piotrowska-Dlugosz, 2014; Sinsabaugh, 2010).

El carbono orgánico aportado por el compost de alperujo al suelo está formado en gran parte por lignina, compuesto precursor de las sustancias húmicas. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre el suelo enmendado y el control para la actividad polifenoloxidasa (Figura 4.2.56.), si bien, esta actividad era mayor en el suelo enmendado que en el control.

Las prácticas de fertilización pueden, en efecto, tener un gran impacto sobre la fertilidad del suelo, no solamente mediante la entrada de nutrientes al suelo sino también mediante las tasas de descomposición de la materia orgánica (Giacometti y col., 2013).

Es el caso de los aportes de N tanto orgánico como inorgánico al suelo, que induce a una reducción en la degradación de los compuestos de C más recalcitrantes, relacionado con una disminución en las enzimas responsables de su descomposición (tales como PPO) (Craine y col., 2007).

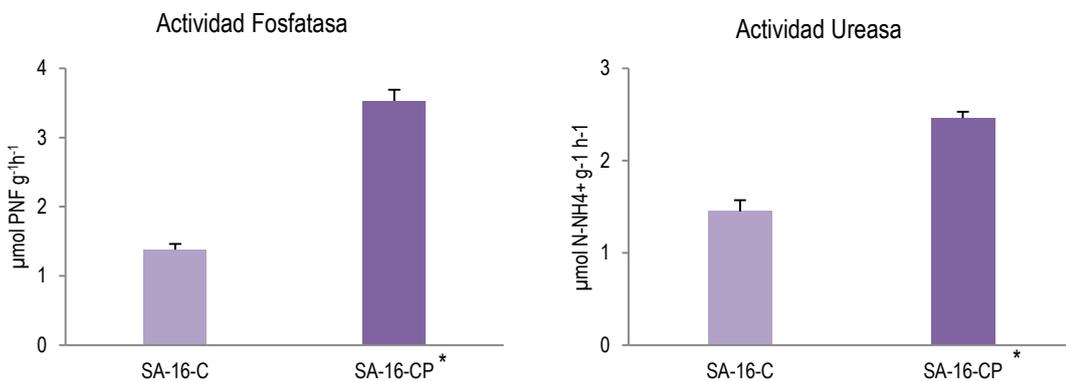
En nuestro ensayo experimental, se ha producido un elevado incremento en el contenido de N en el suelo con adición de compost (Figura 4.2.56), que según lo expuesto podría ocasionar que la actividad PPO no incremente significativamente su actividad.



**Figura 4.2.56.**-Actividad enzimática polifenoloxidasa en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo

Las actividades enzimáticas del ciclo del P y N, fosfatasa y ureasa, incrementaron significativamente en el suelo enmendado con compost respecto al suelo control 2,55 y 1,7 veces respectivamente (Figura 4.2.57). En general, el empleo de fertilizantes orgánicos incrementa la actividad ureasa en el suelo, siendo este efecto mayor cuando se emplean materiales compostados (Pascual y col., 2002).

De la misma forma, el incremento de actividad fosfatasa en el suelo podría estar asociado con la mejora en el contenido de materia orgánica como resultado de las enmiendas realizadas a lo largo de 16 años.



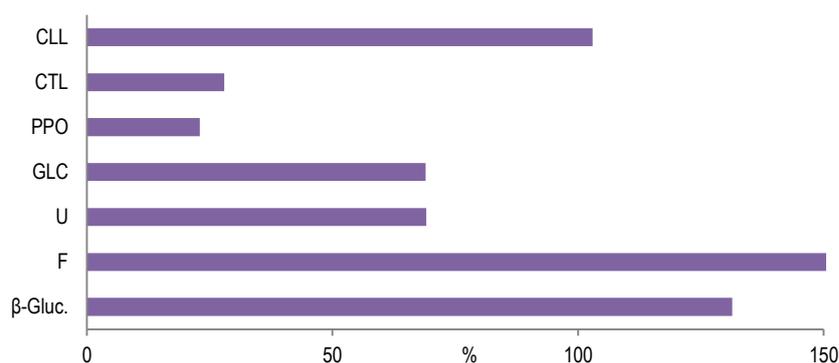
**Figura 4.2.57.**-Actividades enzimáticas fosfatasa y ureasa en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

La actividad glicina-aminopeptidasa implicada en la hidrólisis de proteínas incrementó significativamente, 1,6 veces, en el suelo con adición de compost respecto al suelo control sin enmendar, mientras que la actividad



Dada la importancia de la presencia de N en los suelos agrícolas, ya que es esencial para el crecimiento de las plantas y para la actividad microbiana (Zaman y col., 2002; Rutigliano y col., 2009; Gärdenäs y col., 2011), un incremento de N en el suelo juega un papel esencial en la descomposición de lignina, conduciendo a la formación de humus (Berg, 2014; Innangi y col., 2015). Así, el incremento en la actividad ureasa podría ser un signo del reciclado de nutrientes en el suelo dada por la estabilización de la materia orgánica como humus derivado del alperujo (Innangi y col., 2017).

El incremento en el suelo enmendado con respecto al control fue algo menor para la actividad catalasa (28%) y PPO (23%) (Figura 4.2.59).

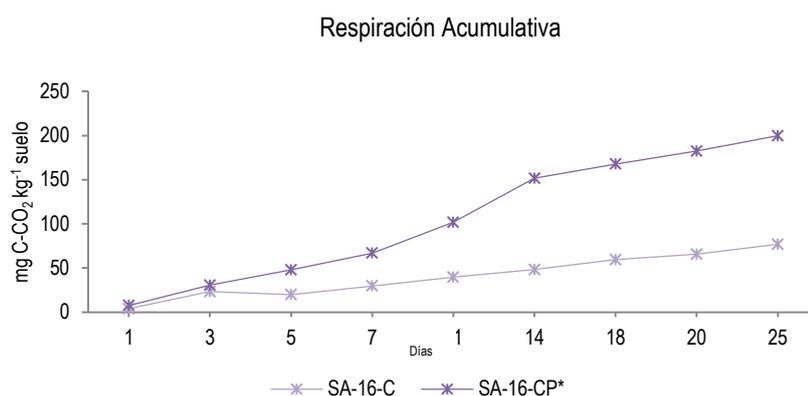


**Figura 4.2.59.** -Porcentaje de variación de las actividades enzimáticas celulasa (CLL), β-glucosidasa (β-gluc.), polifenoloxidasas (PPO), ureasa (U), fosfatasa (F), glicina aminopeptidasa (GLC) y catalasa (CTL), en el suelo enmendado respecto al suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

Así, podemos afirmar que la adición de compost de alperujo como enmienda suministra materia orgánica al suelo, encontrándose una parte de ella en forma de C lábil (Cs), capaz de estimular la actividad microbiana, lo que se refleja en un incremento general en los valores de las diferentes actividades enzimáticas en el suelo enmendado respecto al suelo control, indicando que la capacidad del suelo para reciclar carbono, fósforo y nitrógeno se vio incrementada tras la adición continuada de compost de alperujo en el suelo con cultivo de olivo.

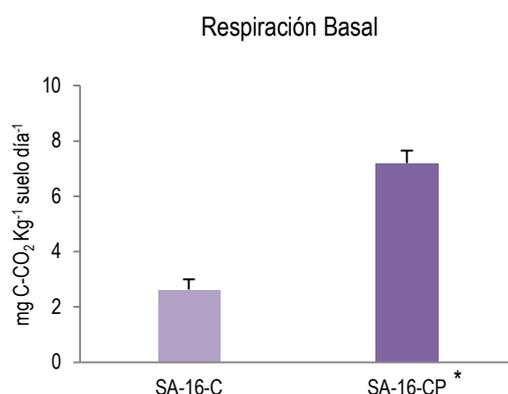
### Respiración microbiana

La influencia de la adición de compost de alperujo al suelo sobre las poblaciones microbianas del suelo se pudo determinar también a través de la medida de la respiración. Como se muestra en la Figura 4.2.60, la tasa de desprendimiento de CO<sub>2</sub>, era superior en el suelo enmendado que en el suelo control, presentando una pendiente mucho más pronunciada el suelo enmendado (SA-16-CP) a lo largo de todo el ensayo de incubación.



**Figura 4.2.60.**-Curvas acumulativas de desprendimiento de CO<sub>2</sub> en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Esta misma tendencia se presenta en los valores de respiración basal del suelo (mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> suelo día<sup>-1</sup>), (Figura 4.2.61).



**Figura 4.2.61.**-Respiración basal en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo.\*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Se muestra cómo la tasa de respiración diaria en el suelo enmendado con compost de alperujo era significativamente superior a la del suelo control, llegando a duplicar su valor (2,73 veces). Estos resultados están en consonancia con los obtenidos en las actividades enzimáticas, ya que una mayor actividad biológica resulta en una mayor respiración de la población microbiana.

### **Análisis de la estructura de la comunidad microbiana**

La incorporación de compost de alperujo, indudablemente resultó en una importante incorporación de COT y nutrientes al suelo, y por tanto, de fuentes de energía para los microorganismos del suelo. Así, este hecho se tradujo en un incremento significativo en los ácidos grasos de membrana determinados en los suelos enmendados respecto al suelo control (Tabla 4.2.38).

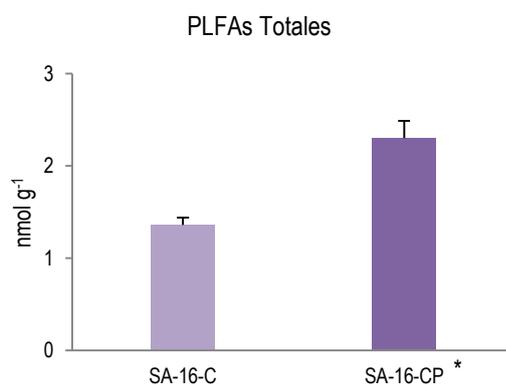
**Tabla 4.2.38.**-Abundancia de PLFAs (nmol g<sup>-1</sup>) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

PLFA (nmol g <sup>-1</sup> )	SA-16-C	SA-16-CP
i15:0	0,26 (0,01)	<b>0,42</b> (0,04)
a15:0	0,17(0,00)	<b>0,37</b> (0,07)
c16:0	0,22 (0,01)	<b>0,36</b> (0,03)
10Me16:0	0,04 (0,01)	0,07 (0,01)
c16:1w9	0,15 (0,01)	<b>0,26</b> (0,02)
i17:0	0,19 (0,04)	<b>0,30</b> (0,04)
10Me18:0	0,00 (0,00)	<b>0,02</b> (0,00)
c18:1w9c	0,14 (0,01)	<b>0,29</b> (0,03)
c18:2w6,9c	0,05 (0,01)	<b>0,13</b> (0,00)

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

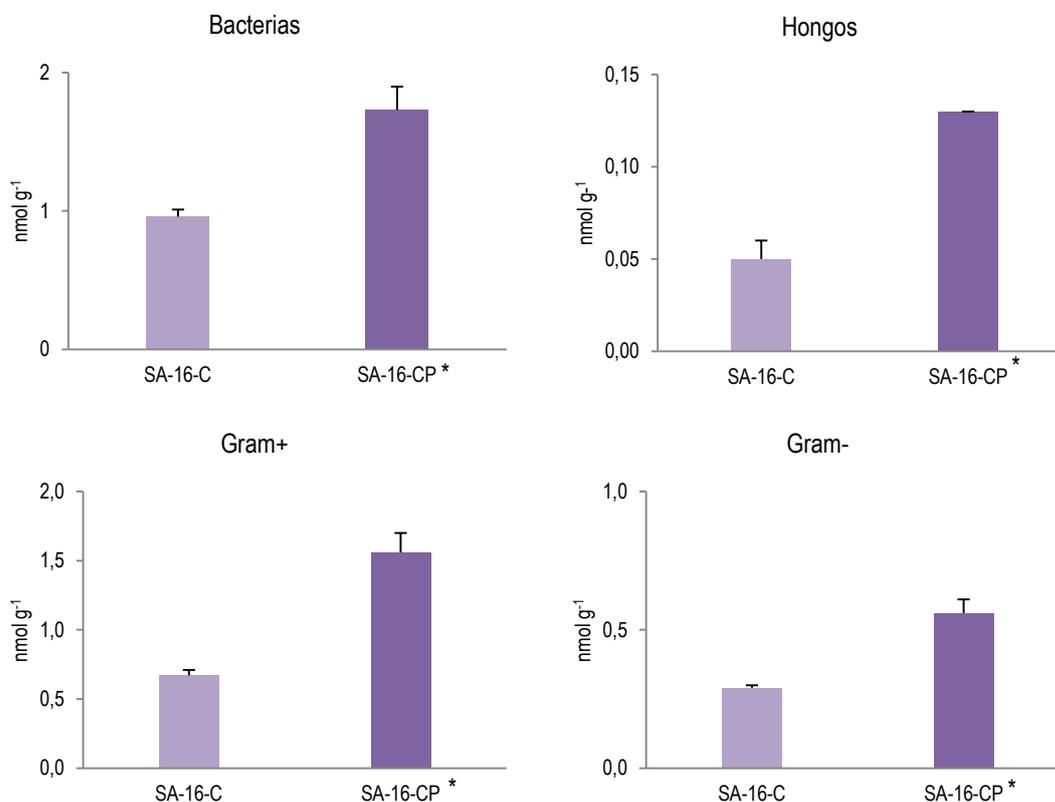
Como se indica en la Tabla 4.2.38, los PLFAs biomarcadores de bacterias Gram<sup>+</sup> estaban representados, en este estudio, por los ácidos grasos i15:0, a15:0 e i17:0, alcanzando todos ellos valores significativamente superiores en el suelo enmendado que en el suelo control. En cuanto a los ácidos grasos de la población de bacterias Gram<sup>-</sup> identificados (C16:1w9, C18:1w9c) también alcanzaron valores significativamente superiores al control en el suelo enmendado. Sin embargo, la abundancia relativa de PLFAs de actinobacterias (10Me16:0 y 10Me18:0), no presentó diferencias entre ambos suelos para el biomarcador 10Me16:0 pero sí en el caso de 10Me18:0. Representando la población de hongos sólo se detectó el ácido graso C18:2w 6,9c que incrementó de manera significativa en el suelo que recibió compost de alperujo.

En cuanto a la comunidad microbiana total, se produjo un incremento significativo en los PLFAs totales detectados en el suelo enmendado compost, en el que la concentración de PLFAs totales incrementó 1,7 veces respecto al suelo control (Figura 4.2.62).



**Figura 4.2.62.**-PLFAs totales en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Este incremento en la comunidad microbiana es indicativo de la intensa actividad biológica estimulada por la adición del compost de alperujo, dirigida a los procesos de mineralización de la materia orgánica y liberación de nutrientes. Como se puede observar en la Figura 4.2.63, la adición de compost de alperujo incrementó significativamente las poblaciones de Bacterias, Hongos, Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup> en el suelo.



**Figura 4.2.63.**-Bacterias, Hongos, Bacteria Gram<sup>+</sup> y Bacteria Gram<sup>-</sup> en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. \*Indica diferencias significativas entre tratamientos para cada parámetro de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Aunque numéricamente la población de hongos es inferior a la de bacterias, su incremento en el suelo enmendado fue de 2,60 veces respecto a la población en el suelo control mientras que la población bacteriana lo hizo 1,80 veces.

Algunos autores asocian el incremento en la población de hongos con una mayor capacidad en el secuestro de C en el suelo ya que están implicados en el proceso de humificación. Por su parte, la comunidad bacteriana desarrolla una intensa actividad biológica dirigida a los procesos de mineralización, con una mayor liberación de nutrientes (Muscolo y col., 2018). La población de bacterias Gram<sup>+</sup> también aumentó numéricamente respecto al control más que la población Gram<sup>-</sup>, siendo 2,32 y 1,93 veces, respectivamente, mayor en el suelo enmendado que en el suelo control.

En general, un mayor cociente Hongos/Bac. ha sido relacionado con una mayor capacidad de los suelos para secuestrar carbono (Muscolo y col., 2018).

En nuestro ensayo se produjo un incremento en esta fracción en el suelo enmendado aunque no llegó a presentar diferencias significativas con el control. Por otro lado, sí que se observaron diferencias significativas entre el suelo enmendado y el control en los valores obtenidos para ácidos grasos saturados y monoinsaturados (Tabla 4.2.39).

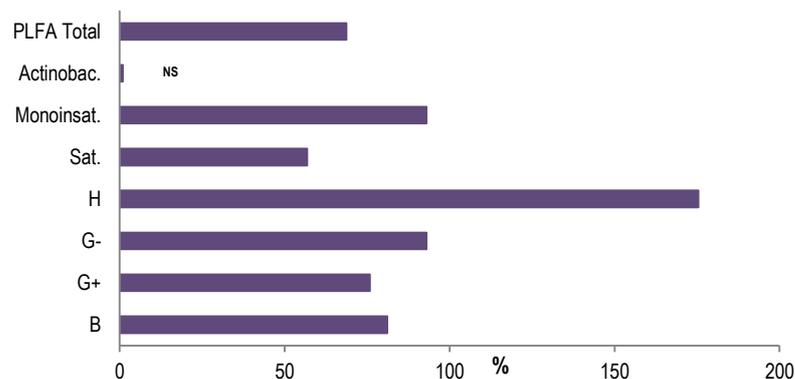
**Tabla 4.2.38.**-Relaciones bacterias Gram<sup>+</sup>/Gram<sup>-</sup>, hongos/bacterias y de PLFAs saturados/monoinsaturados (Sat/Monoinsat.) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo

nmol g <sup>-1</sup>	Saturados	Monoinsat.	Actinobac.	Gram <sup>+</sup> /Gram <sup>-</sup>	Hongos/Bac.	Sat/Monoinsat.
SA-16-C	1,02 (0,07)	0,29 (0,01)	0,04 (0,01)	2,31 (0,12)	0,05 (0,00)	3,55 (0,19)
SA-16-CP	<b>1,61</b> (0,15)	<b>0,56</b> (0,05)	0,08 (0,01)	2,11 (0,18)	0,08 (0,01)	2,89 (0,19)

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo. Cada valor representa la media de 3 valores (n=3); entre paréntesis: desviación standard. **Valores en negrita** indican diferencias significativas entre tratamientos, para cada parámetro, de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Como se detalla en la Figura 4.2.64 todos los ácidos grasos de membrana de los diferentes grupos de microorganismos presentaron porcentajes de variación significativos en el suelo enmendado respecto al suelo control, a excepción del grupo de actinobacterias. El mayor incremento porcentual se detectó para el grupo de hongos, que aumentó hasta un 175% respecto a la población fungica del suelo control. Bacterias, Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup> presentaron un incremento porcentual del 81%, %75 y 93%, respectivamente, con un incremento de PLFAs del 70%.

Aunque numéricamente los ácidos grasos saturados son mayores, el incremento porcentual de los ácidos grasos monoinsaturados fue superior (93%), que para los ácidos grasos saturados (57%). Por su parte, la población de Actinobacterias, no presentó diferencias significativas con el suelo control (NS).



**Figura 4.2.64.**-Porcentaje de variación de los ácidos grasos de membrana de los diferentes grupos de microorganismos. Bacterias (B), Hongos (H), Gram<sup>+</sup>(G<sup>+</sup>), Gram<sup>-</sup>(G<sup>-</sup>), Saturados (Sat.), Monoinsaturados (Monoinsat.), Actinobacterias (Actinobac.) y PLFA Total de los diferentes del suelo enmendado respecto al suelo control de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de t de Student ( $p \leq 0,05$ )

Nuestros resultados muestran que la adición de compost de alperujo a un suelo agrícola con cultivo de olivo, tras 16 años de tratamiento, incrementó la población microbiana de forma significativa respecto al suelo control.

Aunque la población de bacterias numéricamente fue superior a la de hongos, hay que destacar que el mayor incremento se produjo en la población fúngica. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Innangi y col., (2017), quienes tras 8 años de adición de compost de alperujo a un suelo agrícola observaron mayor abundancia de población bacteriana que fúngica si bien, la actividad de la población de hongos era siempre superior a la bacteriana.

En nuestro ensayo, la incorporación del compost se realizó mediante una labor superficial. En la zona superficial del suelo la biomasa bacteriana es generalmente superior a la de hongos (Berg y col., 1998), pero los hongos desempeñan un papel más especializado en la degradación de lignina y celulosa, mostrando una alta actividad en los suelos enriquecidos en materia orgánica (Romaní y col., 2006). Aunque los hongos juegan un papel fundamental en la descomposición de los restos vegetales, la población bacteriana es necesaria para que se finalice su descomposición (Dilly y col., 2001).

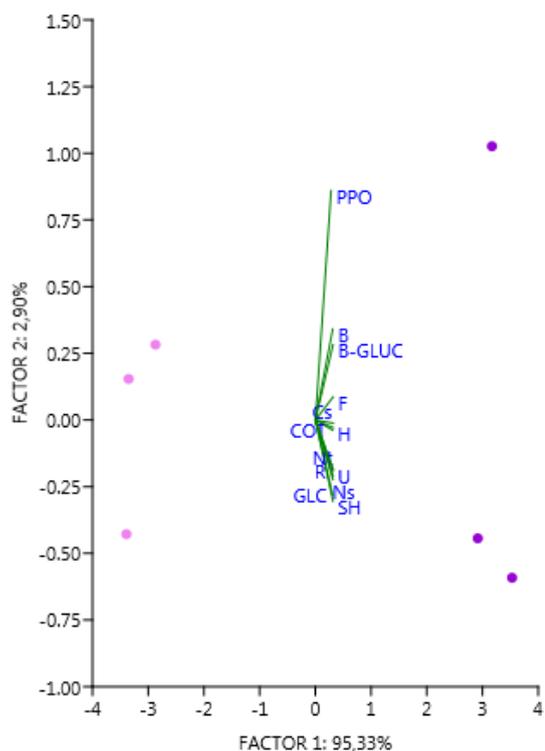
Así, en nuestro caso, se puede entender el incremento de la población de hongos al incorporar el compost de alperujo al suelo debido a su elevado contenido en materia orgánica. Gran parte de la fracción orgánica está formada por lignina, compuesto precursor de las sustancias húmicas, y por contenidos elevados en celulosa y hemicelulosa.

## **ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN**

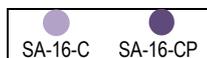
El análisis de componentes principales (PCA) efectuado con los parámetros:  $\beta$ -Glucosidasa ( $\beta$ -GLUC), Glicina Aminopeptidasa (GLC), fosfatasa (FOSF), polifenoloxidasas (PPO), ureasa (U); carbono orgánico total (COT), carbono hidrosoluble (Cs), nitrógeno total (Nt), nitrógeno hidrosoluble (Ns), sustancias húmicas (SH), respiración acumulativa (R), y poblaciones de hongos (H) y bacterias (B), nos permite obtener un mejor conocimiento del efecto producido sobre la capacidad de secuestro de C y la calidad del suelo por la incorporación durante 16 años de compost de alperujo a un suelo agrícola con cultivo de olivo.

Dicho análisis de componentes principales (Figura 4.2.65) explicaba el 98,2 % de la varianza y ha sido capaz de diferenciar el suelo enmendado con compost de alperujo del suelo sin enmendar. El Factor 1, explicaba el 95,33% de la varianza, mientras que el Factor 2 explicó el 2,90% de la varianza.

Las diferentes fracciones de carbono (COT, Cs y SH) y nitrógeno (Nt y Ns), las actividades enzimáticas glicina aminopeptidasa (GLC), Ureasa (U), Fosfatasa (F); respiración acumulativa ( R) así como la población de hongos (H) tuvieron un alto porcentaje de carga sobre el Factor 1, mientras que, la actividad polifenoloxidasas (PPO) tuvo un alto porcentaje de carga en el Factor 2. La actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa y población bacteriana (B) presentaban un porcentaje de carga aproximadamente igual para ambos factores.



Factores de carga		
	FACTOR 1	FACTOR 2
B-GLUC	0,280	0,249
PPO	0,249	0,759
F	0,282	0,076
U	0,280	-0,186
GLC	0,275	-0,249
COT	0,275	-0,034
C	0,284	-0,010
SH	0,279	-0,269
Nt	0,282	-0,164
Ns	0,279	-0,197
B	0,275	0,301
H	0,283	-0,026
R	0,280	-0,168



**Figura 4.2.65.**-Análisis de componentes principales de actividad  $\beta$ -Glucosidasa ( $\beta$ -GLUC), actividad fosfatasa (F), actividad glicina aminopeptidasa (GLC), actividad polifenoloxidasa(PPO), ureasa (U), carbono soluble en agua (Cs), carbono orgánico total (COT), carbono de las sustancias húmicas (SH), nitrógeno total (Nt), nitrógeno soluble en agua (Ns), respiración acumulativa (R), bacterias (B) y hongos (H) en el suelo control y en el suelo enmendado de la zona de Jumilla bajo cultivo de olivo. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, C: control, CP: compost de alperujo

Los suelos enmendados con compost de alperujo se distribuyen espacialmente en el cuadrante donde tanto el Factor 1 como el Factor 2 son positivos, y el cuadrante donde Factor 1 es positivo y el Factor 2 negativo, con una alta correlación con todas las variables consideradas en este análisis. Por otra parte, los suelos no enmendados, presentaban menor carga con la mayoría de los parámetros estudiados ya que se disponen en los cuadrantes donde el Factor 1 es negativo y el factor 2 positivo, así como en el cuadrante donde los dos factores estudiados resultan negativos. Por tanto, el análisis de componentes principales claramente separó el par de tratamientos estudiados (no enmendado, SA-16-C, y enmendado con compost, SA-16-CP), ya que presentan una amplia distancia entre ellos, secundando la hipótesis de que la aplicación de compost de alperujo al suelo, en general, mejoró su funcionalidad tras varias adiciones a lo largo de 16 años.

Para valorar el grado de asociación entre las variables analizadas, se realizó una matriz de correlación entre las diferentes variables analizadas (Tabla 4.2.40). La adición de materia orgánica al suelo, en general, resultó en una mejora de las propiedades físicas, físico-químicas y biológicas del suelo agrícola con cultivo de olivo

cómo se puede deducir de las elevadas correlaciones obtenidas entre el contenido de COT y los diferentes parámetros estudiados.

Así, el COT presentaba una correlación positiva con la EA, la capacidad de retención hídrica (CRH) ( $p < 0,01$ ) así como con las fracciones de C: SH ( $p < 0,01$ ) y Cs ( $p < 0,05$ ), respiración (R) ( $p < 0,01$ ) y diferentes poblaciones microbianas (B, H, Gram<sup>+</sup>, Gram<sup>-</sup> y ACT) ( $p < 0,05$ ). Respecto a la estabilidad de agregados (EA) destaca su correlación ( $p < 0,05$ ) con el COT y correlaciones ( $p < 0,01$ ) con Cs, Nt, Ns y R. Los parámetros relacionados con la materia orgánica y nutricionales también presentaron correlaciones significativas ( $p < 0,01$ ), así como los relacionados con la comunidad microbiana.

Las correlaciones entre el contenido de las diferentes fracciones de C (COT, Cs y SH) y las actividades enzimáticas sugieren una mejora de las condiciones del suelo para la actividad microbiana, gracias al incremento de la materia orgánica tras la adición de compost. Así la correlación positiva entre COT y las enzimas implicadas en el ciclo del C, ( $\beta$ -glucosidasa; PPO) y Cs y SH con la enzima celulasa nos sugiere una mayor estimulación del ciclo del C. Por otro lado, la actividad fosfatasa correlacionó positivamente con el Pt y la actividad ureasa con el Nt. Además, estas enzimas correlacionan positivamente entre ellas sugiriendo una estrecha relación. Resultados similares fueron obtenidos por Aranda y col., (2015) al estudiar el efecto de la adición de compost de alperujo a largo plazo (17 años) sobre las actividades enzimáticas del suelo. Por otro lado, Cayuela y col., (2008) también indicaron el efecto positivo de la enmienda de compost de alperujo sobre las actividades enzimáticas en general. En cuanto a las respiración microbiana (R) y las diferentes poblaciones microbianas también se observaron correlaciones positivas tanto con las actividades enzimáticas como con las fracciones de C (COT, Cs y SH) y nutrientes Pt y Nt.

En función de las elevadas correlaciones obtenidas, podemos destacar la contribución de la adición de compost de alperujo a la calidad del suelo ya que mejoró las características físicas y físico químicas en el suelo enmendado y el estado nutricional del mismo, asimismo, e incrementó las actividades enzimáticas y el tamaño de la población microbiana respecto al suelo no enmendado.

**Tabla 4.2.40.**-Correlaciones entre variables de los suelos de la zona de Jumila bajo cultivo de olivo. \*significación p<0,05, \*\*significación p<0,01

	CE	CRH	D	EA	CL	BG	PPO	F	U	GLC	COT	Cs	SH	P	Nt	Ns	R	Gram <sup>+</sup>	Gram <sup>-</sup>	B	H	
CE																						
CRH	0,91*																					
D	-0,90*	-0,80																				
EA	0,93**	0,76	-0,84*																			
CL	0,92**	0,71	-0,91*	0,86*																		
BG	0,97**	0,85*	-0,90*	0,90*	0,92**																	
PPO	0,83*	0,75	-0,84*	0,69	0,84	0,93**																
F	0,99**	0,88*	-0,90*	0,94**	0,91*	0,99**	0,88*															
U	0,99**	0,92**	-0,88*	0,95**	0,86*	0,96**	0,80	0,98**														
GLC	0,96**	0,95**	-0,77	0,83*	0,81	0,92**	0,80	0,94**	0,95**													
COT	0,94**	0,87*	-0,74	0,86*	0,81	0,95**	0,85*	0,96**	0,95**	0,96**												
Cs	0,99**	0,90*	-0,88*	0,93**	0,91*	0,99**	0,87*	0,99**	0,98**	0,96**	0,96**											
SH	0,98**	0,94**	-0,80	0,89*	0,84*	0,94**	0,80	0,96**	0,98**	0,99**	0,97**	0,98**										
P	0,96**	0,89*	-0,75	0,90*	0,82*	0,94**	0,80	0,96**	0,97**	0,97**	0,99**	0,97**	0,99**									
Nt	0,99*	0,91*	-0,85*	0,93**	0,89*	0,96**	0,82*	0,98**	0,99**	0,97**	0,96**	0,99**	0,99**	0,98**								
Ns	0,99**	0,91*	-0,89*	0,92**	0,92*	0,95**	0,80	0,97**	0,98**	0,96**	0,92**	0,98**	0,98**	0,95**	0,99**							
R	0,99**	0,93**	-0,90*	0,93**	0,90*	0,96**	0,80	0,98**	0,99**	0,95**	0,92**	0,99**	0,97**	0,95**	0,99**	0,99**						
Gram <sup>+</sup>	0,97**	0,84*	-0,95**	0,89*	0,97**	0,97**	0,89*	0,97**	0,94**	0,88*	0,88*	0,96**	0,91*	0,88*	0,95**	0,96**	0,96**					
Gram <sup>-</sup>	0,97**	0,82*	-0,95**	0,91*	0,97**	0,98**	0,91*	0,98**	0,94**	0,87*	0,89*	0,97**	0,90*	0,89*	0,95**	0,95**	0,94**	0,99**				
B	0,97**	0,82*	-0,94**	0,90*	0,97**	0,98**	0,92**	0,98**	0,94**	0,88*	0,90*	0,97**	0,91*	0,89*	0,95**	0,95**	0,95**	0,99**	0,99**			
H	0,99**	0,90*	-0,86*	0,90*	0,92*	0,98**	0,87*	0,99**	0,97**	0,97**	0,97**	0,99**	0,98**	0,97**	0,99**	0,98**	0,98**	0,96**	0,96**	0,96**		
ACT	0,94**	0,87*	-0,89*	0,80	0,91*	0,97**	0,97**	0,96**	0,91*	0,92**	0,92**	0,96**	0,92*	0,90*	0,93**	0,92**	0,93**	0,96**	0,96**	0,97**	0,96**	

CE: conductividad eléctrica; CRH: capacidad de retención hídrica; EA: estabilidad de agregados; D: densidad, CL: celulasa, β-G: β-glucosidasa, PPO: polifenoloxidasa, F: fosfatasa; U: ureasa; GLC: glicina-aminopeptidasa; COT: carbono orgánico total, Cs: carbono hidrosoluble; SH: sustancias húmicas, Pt: fósforo total, Nt: nitrógeno total, Ns: nitrógeno hidrosoluble; NO<sub>3</sub>: nitratos; R: desprendimiento acumulativo de CO<sub>2</sub>; Gram<sup>+</sup>: Gram-positiva; Gram<sup>-</sup>: Gram-negativa; B: bacteria,H:hongos;ACT:actinobacte

## CONCLUSIONES PARCIALES

*En resumen, en función de los resultados obtenidos en este estudio a largo plazo, de la aplicación de compost de alperujo a un suelo agrícola con cultivo de olivo, podemos afirmar que en el suelo enmendado, como consecuencia del incremento en materia orgánica, se ha producido un incremento en la concentración de COT y en la actividad de diversas enzimas relacionadas con el ciclo de los nutrientes, así como de la población microbiana. También es importante destacar que durante la descomposición de la materia orgánica el N mineral es retenido, no existiendo lixiviación de nitratos, siendo la mineralización del C muy lenta gracias a la naturaleza del compost de alperujo, y por tanto, su aplicación en el suelo podría incrementar el secuestro de C en el mismo.*

*Por tanto, podemos afirmar que, la incorporación de compost de alperujo mejoró la fertilidad y funcionalidad de los suelos con cultivo de olivo a largo plazo.*

## C.2. ESTUDIO DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BIOSOLARIZACIÓN

Las prácticas agrícolas basadas en el monocultivo, favorecen la proliferación de patógenos edáficos capaces de comprometer la viabilidad de los cultivos. Históricamente se ha procedido a la desinfección química del suelo mediante el uso de bromuro de metilo (BM) con el fin de erradicar las poblaciones de patógenos. A raíz de la prohibición del uso del BM, se han desarrollado otras alternativas eficaces en la desinfección de estos suelos agrícolas. Entre ellas destacamos la Biosolarización como alternativa eficaz en la desinfección de suelos agrícolas con cultivo ecológico.

La **biosolarización** se puede definir como la combinación de **biofumigación** y **solarización** o como la solarización con la adición al suelo de restos orgánicos antes de iniciarse el proceso hidrotérmico de calentamiento del suelo humedecido y cubierto de plástico.

Bello y col., (2000) definen la **biofumigación**, como “la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el control de los patógenos de las plantas, incrementado su eficacia cuando se incluyen en un sistema integrado de producción de cultivos”. La acción de los microorganismos sobre la materia orgánica durante su descomposición produce gran cantidad de productos químicos que pueden actuar en el control de patógenos en el suelo. Con este tratamiento se obtiene una eficacia similar a los fumigantes convencionales, al mismo tiempo que mejora las características del suelo y la nutrición de la planta. Cualquier materia orgánica puede ser empleada como biofumigante, su eficacia dependerá de la dosis y método de aplicación.

**Solarización.** Es el proceso hidrotermal que supone el calentamiento del suelo humedecido y cubierto con plástico por la radiación solar y los efectos del calentamiento sobre los organismos fitoparásitos y patógenos del suelo.

La solarización es un método que por sí solo no es totalmente eficaz. Así, la combinación de la solarización con la biofumigación muestra efectos sinérgicos de los dos métodos aplicados por separado. Este método, biosolarización, surge dentro de un manejo sostenible de los agrosistemas con el fin de mantener o incrementar la producción agrícola en los niveles necesarios para satisfacer a la población en aumento, pero sin degradar el medio ambiente.

En la Región de Murcia, la biosolarización del suelo en invernaderos de pimiento surge como una estrategia de control sobre los patógenos que en él se desarrollan; pero al ser el pimiento un monocultivo, no solamente se desarrollan patógenos que afectan a las plantas, sino que la reiteración del cultivo en el mismo suelo origina fenómenos de fatiga que pueden poner en peligro su nivel productivo.

El aporte de materia orgánica necesaria para llevar a cabo la biosolarización, supondrá una mejora en las características del suelo agrícola donde se aplica. El efecto de la enmienda orgánica no se limita solo a la generación de compuestos que inciden sobre patógenos fúngicos o nematodos fitoparásitos, sino que aporta nutrientes al suelo, que serán aprovechados por los microorganismos y las plantas. En este sentido, cobra interés el estudio de cómo un tratamiento de desinfección del suelo, puede mejorar su calidad y fertilidad, así como contribuir a la reducción de la emisión de gases a la atmósfera mediante su capacidad de actuar como sumidero de C.

Por tanto, la biosolarización combina la enmienda orgánica del suelo con la solarización con el fin de incrementar la actividad pesticida. La mejora de la actividad pesticida se puede lograr a través de diferentes efectos (Fernández-Bayo y col., 2017 a):

- Generación adicional de calor por efecto de la actividad biológica del suelo
- Liberación de compuestos tóxicos como ácidos grasos volátiles (VFAs) o amonio de la enmienda
- Competición con la comunidad microbiana introducida a través de la enmienda
- Colonización de los organismos que producen las plagas por bacterias y hongos introducidos por la enmienda

Así, el uso de enmiendas orgánicas podría influir en el rendimiento del proceso de biosolarización, gracias a su acción térmica, bioquímica y ecológica en el proceso, pero llegados a este punto se nos plantea la siguiente pregunta: es posible que el ensayo de biosolarización pueda afectar a la calidad del suelo?. Determinar el impacto del proceso de la biosolarización sobre los parámetros agronómicos, ambientales y relacionados con la diversidad microbiana es importante para entender las posibles consecuencias de este tratamiento en la calidad del suelo agrícola.

Este ensayo se llevó a cabo en una finca agrícola situada en San Pedro del Pinatar, 37°51'17.7"N, 0°50'15.5"W, Campo de Cartagena, Murcia (Figura 4.2.110), bajo clima de tipo Mediterráneo semiárido. Las temperaturas medias anuales en esta zona oscilan entre los 16-18 °C. Las temperaturas medias máximas alcanzan valores extremos de entre 38 y 42 °C. En cuanto a las precipitaciones medias anuales, oscilan alrededor de valores ligeramente inferiores a los 300 mm. La comarca, a lo largo del año, tiene escasa

nubosidad y abundancia de horas de sol (en torno a las 3.000 horas anuales), factores muy positivos para una agricultura fuera de estación con un aprovechamiento de las parcelas prácticamente sin reposo (González Ortiz, 2007), si se dispone del agua suficiente.

La irregularidad de las precipitaciones es uno de los factores más destacados y son frecuentes los años con precipitaciones inferiores a 200 mm o, por el contrario, días en los que en pocas horas pueden caer más de 150 mm, ocasionando, con frecuencia, inundaciones con grandes pérdidas económicas (Romero Díaz y Belmonte Serrano, 2001). El suelo es Calcisol Háplico (FAO, 2006), con textura franco arcillo arenosa.

Las principales características del suelo control se detallan en la Tabla 4.2.41.

**Tabla 4.2.41.**-Características del suelo control de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento

Parámetros	Suelo Control
pH*	8,88
Conductividad Eléctrica*, $\mu\text{S cm}^{-1}$	378
Materia Orgánica Total, $\text{g kg}^{-1}$	0,17
Carbono Orgánico Total, $\text{g kg}^{-1}$	0,10
Nitrógeno total, $\text{g kg}^{-1}$	0,02
Fósforo total, $\text{g kg}^{-1}$	0,01
Potasio total, $\text{g kg}^{-1}$	0,70

\*Determinación en extracto acuoso (1:5)

La finca agrícola de San Pedro del Pinatar (Figura 4.2.66) cuenta con invernaderos de cultivo de pimiento donde se realizó una fertilización orgánica con estiércol animal (vaca 60%+oveja 40%) compostado anteriormente (entre 7-8 meses con dos volteos mínimos) y gallinaza. Los tratamientos estudiados fueron:

**Control:** sin incorporación de enmienda orgánica ni solarización con plásticos.

**BIO 2:** adición de enmienda orgánica (compost de estiércol oveja y cabra+gallinaza) y solarización con plásticos 2 años consecutivos.

**BIO 16:** adición de enmienda orgánica (compost de estiércol oveja y cabra+gallinaza) y solarización con plásticos 16 años consecutivos.

En la Tabla 4.2.42 se detallan los tratamientos llevados a cabo en la finca de San Pedro del Pinatar.

**Tabla 4.2.42.**-Nomenclatura y descripción de los tratamientos aplicados en los suelos de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento

TRATAMIENTO	DESCRIPCION	Años tratados	DOSIS	
SA-16(SP)-C	CONTROL		0	
SA-16(SP)-BIO2	Biosolarización	2 años	5 $\text{kg m}^{-2}$ compost estiércol+2 $\text{kg m}^{-2}$ gallinaza	
SA-16(SP)BIO16	Biosolarización	16 años	5 $\text{kg m}^{-2}$ compost estiércol+2 $\text{kg m}^{-2}$ gallinaza	



**Figura 4.2.66.**-Distribución de las parcelas experimentales en la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento

La distribución de la enmienda se realizó vaciando los sacos correspondientes y se extendió sobre la superficie de cultivo con labor superficial para incorporarla al terreno, a continuación con la ayuda de una fresadora la enmienda se distribuyó en sentido transversal (Figura 4.2.67).



**Figura 4.2.67.**-Distribución de la enmienda orgánica en los invernaderos de pimiento. Fuente: López Saorín, 2014

Se extendieron las mangueras de riego con una separación entre ellas de 40 cm y a continuación se instalaron los plásticos (Figura 4.2.68).



**Figura 4.2.68.** Distribución de la enmienda orgánica en los invernaderos de pimiento. Fuente: López Saorín, 2014

Para llevar a cabo el tratamiento, la enmienda orgánica se aplicó durante los meses de verano (julio–septiembre) realizando a continuación la biosolarización mediante la instalación de plásticos. Las principales características de la enmienda orgánica empleada en el ensayo se detallan a continuación (Tablas 4.2.43-45).

**Tabla 4.2.43.**-Parámetros agronómicos del compost de oveja y cabra, y gallinaza aplicados en los suelos de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento (m.s)

Parámetros	Compost	Gallinaza
Humedad (%)	39,25	74,04
pH	7,68	8,3
Conductividad eléctrica, mS cm <sup>-1</sup>	9,30	3,90
Materia Orgánica Volátil, (%)	37,0	71,11
Carbono Orgánico Total, g 100g <sup>-1</sup>	21,5	22,5
Nitrógeno total, g 100g <sup>-1</sup>	2,50	2,60
Fosforo total, g 100g <sup>-1</sup>	0,53	0,96
Potasio total, g 100g <sup>-1</sup>	3,78	1,65
Hierro total, mg kg <sup>-1</sup>	17002	424,3
Magnesio total, g 100g <sup>-1</sup>	0,91	0,37
Manganeso total, mg kg <sup>-1</sup>	272	176,6
Calcio total, g 100g <sup>-1</sup>	7,43	4,71
Sodio total, g 100g <sup>-1</sup>	0,20	0,18
Molibdeno total, mg kg <sup>-1</sup>	0,58	2,19

(m.s): materia seca

**Tabla 4.2.44.**-Parámetros medioambientales (metales pesados) del compost de oveja y cabra, y gallinaza aplicados en los suelos de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento (m.s)

	Compost oveja+cabra*	Gallinaza*	Límites de concentración**
Níquel, mgkg <sup>-1</sup>	5,53	3,44	25
Cobre, mgkg <sup>-1</sup>	23,66	34,82	70
Cadmio, mgkg <sup>-1</sup>	< 0,5	0,18	0,7
Zinc, mgkg <sup>-1</sup>	74,04	134,9	200
Cromo, mgkg <sup>-1</sup>	16,68	6,61	70
Plomo, mgkg <sup>-1</sup>	6,09	0,33	45

(m.s) materia seca. \*\*Límites establecidos para el tipo A en las enmiendas orgánicas compost según real decreto 824/2005, de 8 de julio sobre productos fertilizantes

**Tabla 4.2.45.**-Parámetros medioambientales (patógenos) del compost de oveja y cabra, y gallinaza aplicados en los suelos de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento (m.s)

Patógenos	Compost	Gallinaza
Salmonella (en 25g)	Ausencia	Ausencia
E. coli, ufc g <sup>-1</sup>	<10	1,1×10 <sup>6</sup>

(m.s): materia seca

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### PARÁMETROS AGRONÓMICOS

#### Parámetros físicos y físico-químicos

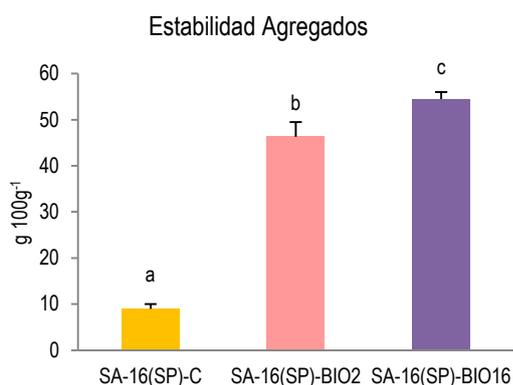
Las propiedades físicas y físico-químicas del suelo se vieron modificadas respecto al suelo control por efecto de los tratamientos llevados a cabo tanto durante 2 como durante 16 años consecutivos. Como se muestra en la tabla 4.2.46. el pH del suelo disminuyó significativamente en los suelos enmendados respecto al suelo control, así como la densidad, mientras que la capacidad de retención hídrica aumentó significativamente respecto del suelo control tanto en los suelos enmendados 2 años (SA-16(SP)-BIO2) como en los enmendados 16 años (SA-16(SP)-BIO16). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre ambos tratamientos.

**Tabla 4.2.46.**-Valores de pH, densidad y capacidad de retención hídrica (CRH) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento

	pH	Densidad g cm <sup>-3</sup>	CRH g 100g <sup>-1</sup>
SA-16(SP)-C	8,90 (0,00) b	1,09 (0,03) b	32,3 (0,6) a
SA-16(SP)-BIO2	7,96 (0,12) a	0,98 (0,03) a	44,0 (1,0) b
SA-16(SP)-BIO16	7,86 (0,12) a	0,96 (0,01) a	43,7 (1,5) b

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control; BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Por su parte, la estabilidad de agregados incrementó significativamente en los suelos sometidos a biosolarización respecto al suelo control, y a su vez, era mayor en los suelos tratados durante 16 años que en los que han sido tratados tan sólo 2 años (Figura 4.2.69).



**Figura 4.2.69.**-Porcentaje de agregados estables en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control; BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

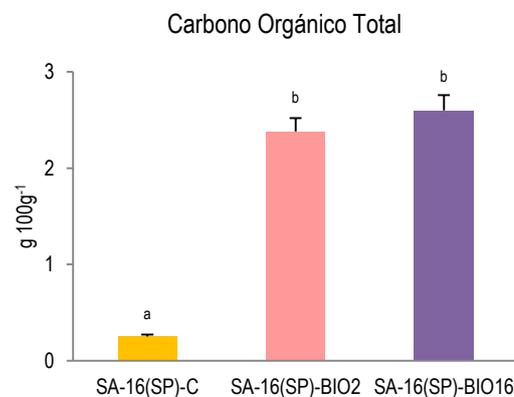
Estos resultados concuerdan con los de diferentes autores, quienes observaron que la adición de enmiendas orgánicas al suelo agrícola bajo manejo orgánico con biosolarización, provocaba una disminución del pH (Núñez-Zofío, 2013) y de la densidad (Núñez-Zofío y col., 2011), así como un incremento de la capacidad de retención hídrica (Achmon y col., 2018). Fernández-Bayo y col., (2017 a), también observaron incremento en la capacidad de retención hídrica tras la biosolarización de suelos enmendados con digestatos, así como un ligero descenso del pH, como resultado de la fermentación microbiana anaeróbica, que puede resultar en la producción de ácidos grasos volátiles, que se acumulan debido a la barrera física de la lona de plástico.

En general, la biosolarización del suelo con enmienda orgánica mejoró sus propiedades físicas y físico-químicas tras la aplicación continuada siendo mayor el efecto en el suelo tratado un mayor número de años (SA-16(SP)-BIO16).

## Contenido de materia orgánica y Parámetros nutricionales

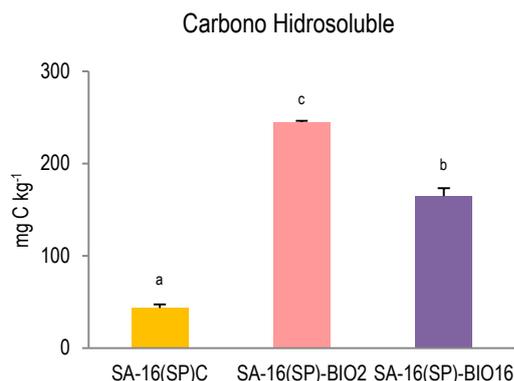
### Materia orgánica

El contenido en materia orgánica aumentó con la biosolarización de forma significativa, llegando a aumentar hasta 21,6 veces respecto al suelo control el segundo año, manteniéndose a ese nivel los años siguientes (23,6 veces superior al suelo control), pese a los aportes anuales consecutivos durante 16 años (Figura 4.2.70).



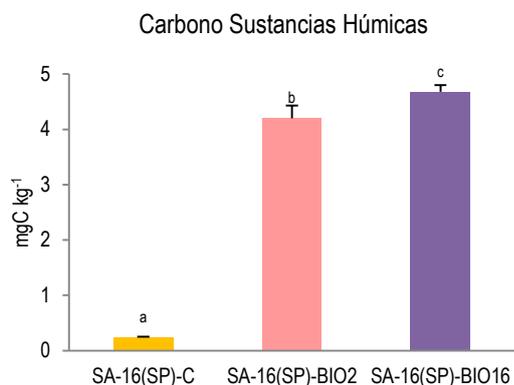
**Figura 4.2.70.**-Contenido de carbono orgánico total en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control; BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Sin embargo, la fracción hidrosoluble del C (Cs), era significativamente superior en los suelos en el segundo año de tratamiento que después de 16 años de reiteración de la biosolarización. No obstante, en ambos casos los contenidos de Cs eran significativamente superiores a los del suelo control (Figura 4.2.71).



**Figura 4.2.71.**-Contenido de carbono hidrosoluble en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control; BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

El aporte de abono orgánico al suelo, es una forma eficaz de incrementar el contenido en materia orgánica. El compost es una enmienda orgánica con un elevado grado de humificación. Como se puede observar en la Figura 4.2.72, la incorporación de compost al suelo sometido al ensayo de biosolarización favoreció el incremento de este pool de C, con respecto al control, en 17, 5 y 19,6 veces después respectivamente, de 2 y 16 ciclos consecutivos de aplicación.

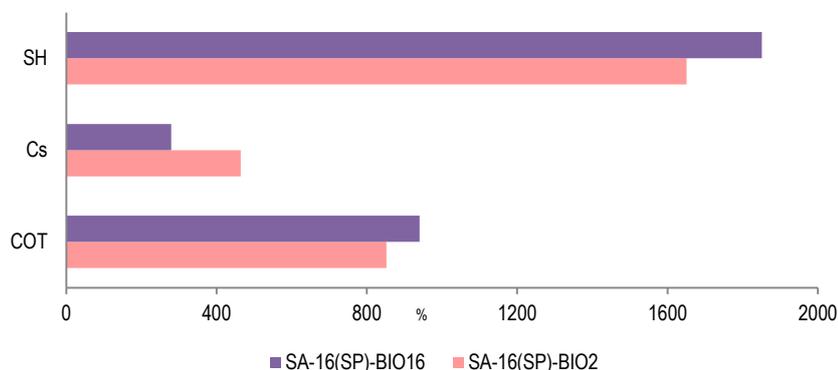


**Figura 4.2.72.**-Contenido de carbono sustancias húmicas en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control; BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

La materia orgánica es un componente crucial en el mantenimiento del equilibrio físico, químico y biológico en suelos, por lo que su aporte, puede conseguir la recuperación de la fertilidad en suelos con escasez en carbono orgánico (Scopa y col., 2009).

El ensayo de biosolarización llevado a cabo tanto a corto (SA-16(SP)-BIO2) como a largo plazo (SA-16(SP)-BIO16), consiguió un importante incremento en el porcentaje de COT, así como de sus fracciones solubles (Cs) y más estables (SH) respecto al suelo control sin tratamiento, (Figura 4.2.73). Otros autores también han observado que, la adición de una enmienda orgánica en combinación con la solarización del suelo (biosolarización) ejerce un efecto protector sobre la calidad del suelo, consiguiendo incrementos significativos

en la concentración de C orgánico en los suelos tratados frente al suelo control (Núñez-Zofío y col., 2013; Fernández-Bayo., 2018).

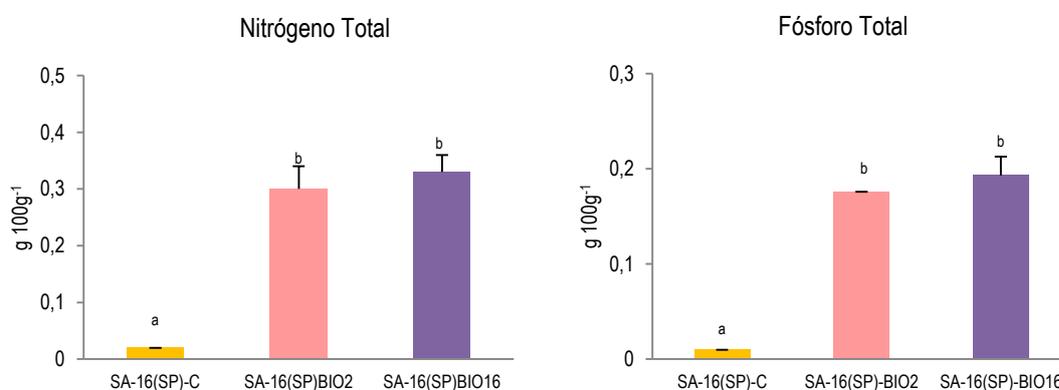


**Figura 4.2.73.**-Porcentaje de variación de las diferentes fracciones de carbono: carbono hidrosoluble (Cs), sustancias húmicas (SH) y carbono orgánico total (COT) en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control; BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años

En general, el incremento en materia orgánica favorece la estabilidad en la estructura del suelo, incidiendo indirectamente sobre la porosidad, favoreciendo la penetración de las raíces de las plantas. Por un lado cabe destacar el importante incremento en la fracción de sustancias húmicas, ya que en agricultura reporta grandes beneficios a las plantas cultivadas además de mejorar la fertilidad de estos suelos. Por otro lado, la fracción soluble de C del suelo, más accesible al ataque microbiano, puede actuar como fuente de energía, ya que es fácilmente accesible para los microorganismos implicados en los diferentes ciclos de nutrientes del suelo.

### Parámetros nutricionales

Los suelos sometidos a biosolarización presentaron contenidos en Nt y Pt significativamente superiores a los suelos control, tanto en los suelos tratados a corto plazo (SA-16(SP)-BIO2), cómo a largo plazo (SA-16(SP)-BIO16) no mostrando diferencias significativas entre ellos (Figura 4.2.74).



**Figura 4.2.74.**-Contenido de nitrógeno total y fósforo total en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

El contenido en potasio también incrementó significativamente en los suelos biosolarizados respecto al suelo control, mientras que el contenido en calcio disminuyó significativamente (Tabla 4.2.47), no observándose diferencias significativas entre los tratamientos de 2 y 16 años en relación a estos nutrientes.

**Tabla 4.2.47.**-Contenido de potasio (K) y calcio (Ca) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento

	K g 100g <sup>-1</sup>	Ca g 100g <sup>-1</sup>
SA-16(SP)-C	0,71 (0,08) a	17,43 (1,26) b
SA-16(SP)-BIO2	1,30 (0,05) b	12,31 (0,57) a
SN-16(SP)-BIO16	1,12 (0,12) b	13,11 (0,23) a

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar, C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En general, el contenido en micronutrientes incrementó significativamente en los suelos biosolarizados respecto al suelo control, excepto para el azufre, que no presentó diferencias significativas entre los suelos (Tabla 4.2.48).

**Tabla 4.2.48.**-Contenido de magnesio (Mg), manganeso (Mn), aluminio (Al) azufre (S) y hierro (Fe) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento

	Mg mg kg <sup>-1</sup>	Mn mg kg <sup>-1</sup>	Al mg kg <sup>-1</sup>	S mg kg <sup>-1</sup>	Fe mg kg <sup>-1</sup>
SA-16(SP)-C	0,85 (0,11) a	220,6 (31,0) a	2,28 (0,24) a	0,17 (0,01) a	11965 (1830) a
SA-16(SP)-BIO2	1,05 (0,04) b	418,5 (16,7) b	3,59 (0,17) b	0,19 (0,01) a	20037 (1132) b
SN-16(SP)-BIO16	0,89 (0,07) ab	367,8 (28,0) b	3,19 (0,25) b	0,19 (0,01) a	17956 (1347) b

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Además del aporte de nutrientes proporcionados por la propia enmienda, el alto contenido de nutrientes minerales encontrados en los suelos puede ser atribuido al tratamiento aplicado, que induce al incremento de nutrientes minerales disponibles (Stapleton, 2000).

### PARÁMETROS AMBIENTALES

La conductividad eléctrica (CE), fue usada como método indirecto para la medida de sales solubles. Como se detalla en la Tabla 4.2.49 la CE incrementó significativamente en los suelos sometidos a biosolarización respecto al suelo control llegando a valores elevados, pero siempre por debajo de 1,5 dS/m, considerado como CE límite para el cultivo de pimiento (Maas y Hoffman, 1977). De forma paralela los valores de Na<sup>+</sup> y nitratos fueron superiores significativamente en los suelos biosolarizados respecto al suelo control.

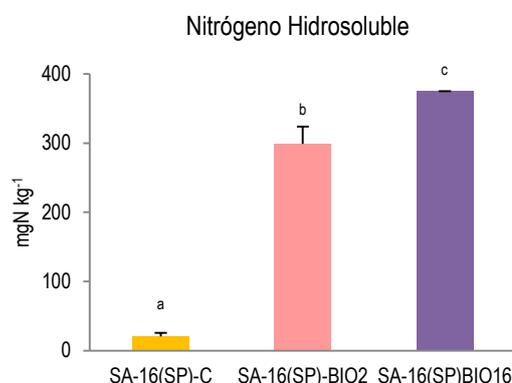
Al igual que para CE, los nitratos alcanzaron valores significativamente superiores en los suelos sometidos a 16 ciclos de biosolarización (SA-16(SP)-BIO16) respecto a los suelos tratados en más corto plazo (SA-16(SP)-BIO2), resultando en un efecto acumulativo a largo plazo, marcado fundamentalmente por la naturaleza de la propia enmienda (compost+gallinaza).

**Tabla 4.2.49.**-Valores de conductividad eléctrica (CE), sodio (Na<sup>+</sup>) y nitratos en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento

	CE μS cm <sup>-1</sup>	Na <sup>+</sup> g 100g <sup>-1</sup>	Nitratos mg NO <sub>3</sub> kg <sup>-1</sup>
SA-16(SP)-C	417,0 (0,6) a	0,05 (0,01) a	59,2 (15,3) a
SA-16(SP)-BIO2	868,0 (66,2) b	0,07 (0,01) b	1870,1 (90,0) b
SN-16(SP)-BIO16	1494,3 (92,0) c	0,06 (0,00) ab	2518,4 (345,3) c

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

En concordancia con Núñez-Zofío y col., (2013), quienes concluyeron que el tratamiento que combina solarización con la adición de enmienda orgánica conducía a un incremento significativo del N potencialmente mineralizable, el tratamiento de biosolarización durante 2 y 16 años incrementó significativamente el contenido de Ns en los suelos tratados respecto al suelo control (Figura 4.2.75), siendo hasta 14 y 18 veces superior al del suelo control respectivamente.



**Figura 4.2.75.**-Contenido de nitrógeno hidrosoluble en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey (p≤0,05)

La acumulación de metales pesados tras repetidas aplicaciones de estiércol es una de los principales motivos por lo que no se recomienda en ensayos de biosolarización (Ros y col., 2008). El contenido en metales pesados incrementó significativamente en los suelos biosolarizados a corto (SA-16(SP)-BIO2) y largo plazo (SA-16(SP)-BIO16) respecto al suelo control sin tratamiento (Tabla 4.2.50) tras la adición continuada de la enmienda orgánica, aunque los valores alcanzados no suponen ningún riesgo para el cultivo, ya que son muy inferiores a los valores límites establecidos (RD1320/1990, Anexo I).

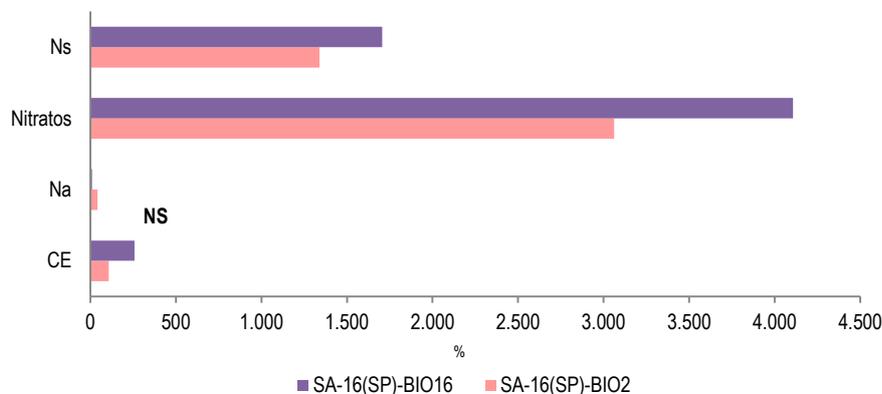
**Tabla 4.2.50.**-Contenido de metales pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) en los suelos control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento

	SA-16(SP)-C	SA-16(SP)-BIO2	SA-16(SP)-BIO16
Cd, mg kg <sup>-1</sup>	0,22 (0,02)a	0,40 (0,01)b	0,41 (0,01)b
Cr, mg kg <sup>-1</sup>	25,9 (2,1)a	46,6 (2,8)b	44,7 (4,2)b
Cu, mg kg <sup>-1</sup>	9,0 (0,8)a	27,9 (0,9)b	24,1 (2,3)b
Ni, mg kg <sup>-1</sup>	11,1 (1,0)a	18,3 (1,2)b	16,5 (0,6)b
Pb, mg kg <sup>-1</sup>	10,8 (1,1)a	25,1 (1,2)c	21,5 (1,8)b
Zn, mg kg <sup>-1</sup>	18,6 (1,9)a	70,1 (4,1)b	81,6 (1,4)c

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Una de las serias dudas existentes ante la bondad de la biosolarización en cuanto a desinfección de suelos, es el potencial riesgo de lixiviación de nitratos y el posible aporte de metales pesados (Ros y col., 2008). Como se muestra en la Figura 4.2.76, entre los diferentes parámetros ambientales estudiados destaca el incremento porcentual de nitratos en los suelos sometidos a biosolarización con respecto al control, alcanzando incrementos de 3000% (SA-16(SP)-BIO2) y hasta 4100% (SA-16(SP)-BIO16). Este incremento en nitratos también fue observado anteriormente por Flores y col., (2007) en suelos biosolarizados con estiércol, considerando que este aumento tras el proceso de biofumigación y solarización puede ser explicado por el hecho de que la solarización del suelo implica elevadas tasas de mineralización de la materia orgánica provocada por el incremento de temperatura.

Por otro lado, también hay que considerar que uno de los principales efectos de la biofumigación sobre las propiedades físicas del suelo es el incremento en la capacidad de retención hídrica en los suelos tratados respecto el suelo control. En nuestro ensayo ese incremento llega a ser de hasta 1,4 veces en los suelos biosolarizados (Tabla 4.2.46), reduciendo el riesgo de lixiviación. Así, esta técnica de desinfección en cultivos protegidos, donde la lluvia es muy escasa y por lo tanto se puede manejar el riego para limitar el lavado, no aumenta los riesgos de lixiviación de nitratos (Fernández y col., 2014).



**Figura 4.2.76.**-Porcentaje de variación de la conductividad eléctrica (CE), sodio (Na<sup>+</sup>), nitrógeno hidrosoluble y nitratos en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control; BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

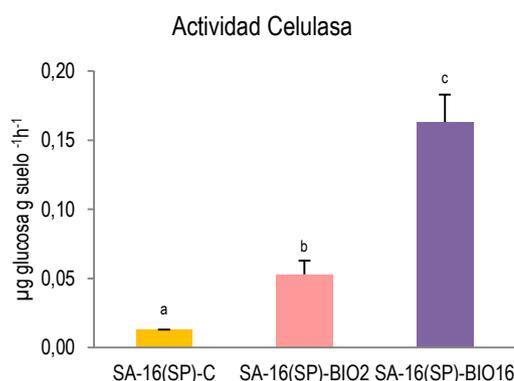
De los diferentes parámetros ambientales analizados, no se intuyen potenciales riesgos de toxicidad que puedan comprometer la salud de este suelo con cultivo de pimiento como consecuencia del tratamiento de biosolarización aplicado durante 2 y 16 años, si bien la potencial acumulación de nitratos con el tiempo en estos suelos, es un factor a tener en cuenta.

### **PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA DIVERSIDAD MICROBIANA**

Los efectos del stress biótico y abiótico sobre los microorganismos del suelo se pueden evaluar mediante la determinación de cambios en la actividad biológica, biomasa microbiana, respiración y actividades enzimáticas (Scopa y Dumontet, 2007). Por otro lado, la biomasa microbiana activa del suelo y su diversidad, pueden ser empleadas para entender la descomposición microbiana de la materia orgánica del suelo, elemento crítico del ciclo de nutrientes para las plantas (Stenström y col., 1998).

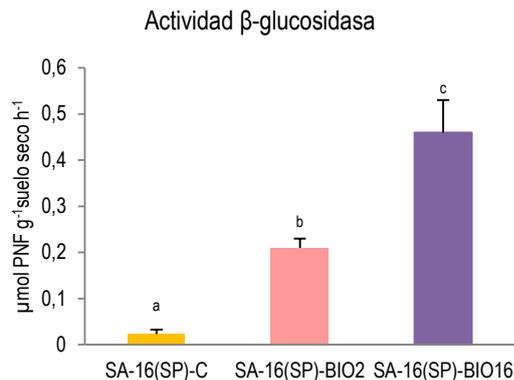
#### **Actividades enzimáticas**

La aplicación del tratamiento de biosolarización con enmienda orgánica indujo a un incremento en la actividad enzimática celulasa respecto al suelo control, siendo muy superior en los suelos tratados durante 16 ciclos respecto a los que han sido tratados a corto plazo (SA-16(SP)-BIO2). La única diferencia entre ambos suelos es el número de veces que han recibido la enmienda y procesos de solarización. Según Tuomela y col., (2000), aunque el proceso de compostaje es un proceso aerobio, en general, se pueden desarrollar microambientes capaces de permitir a las bacterias anaeróbicas crecer. Estas bacterias pueden ser altamente celulolíticas, desempeñando un papel significativo en la degradación de macromoléculas orgánicas. Así, la adición de compost podría ser la responsable del incremento en la actividad celulasa en estos suelos biosolarizados, así como el número de ciclos de aplicación (Figura 4.2.77).



**Figura 4.2.77.**-Actividad enzimática celulasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Con la misma tendencia que la actividad celulasa, la actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa, era significativamente superior en los suelos tratados con biosolarización, alcanzándose valores significativamente superiores a mayor número de ciclos aplicados (SA-16(SP)-BIO16), (Figura 4.2.78). El tratamiento del suelo con biosolarización incrementó hasta 9 veces la actividad en los suelos tratados a corto plazo (SA-16(SP)-BIO2), llegando a aumentar dicho valor de actividad hasta 20 veces en los suelos tratados a largo plazo (SA-16(SP)-BIO16), respecto al suelo control.

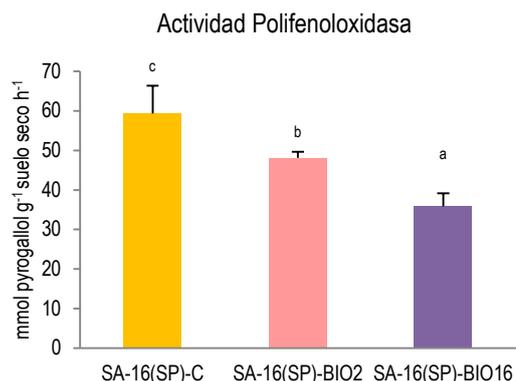


**Figura 4.2.78.**-Actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Cómo se mostró en la Figura 4.2.72, el contenido en Cs del suelo biosolarizado durante 2 ciclos (SA-16(SP)-BIO2), era significativamente superior al del suelo biosolarizado durante 16 años, disponiendo por tanto los microorganismos en este suelo de mayor contenido de formas lábiles de C, entre los que posiblemente se encuentren productos de la reacción de hidrólisis de la  $\beta$ -glucosidasa de forma que los microorganismos no necesiten sintetizar esta enzima para la obtención de energía. Esto explicaría la menor actividad  $\beta$ -glucosidasa detectada en SA-16(SP)-BIO2 en relación con SA-16(SP)-BIO16.

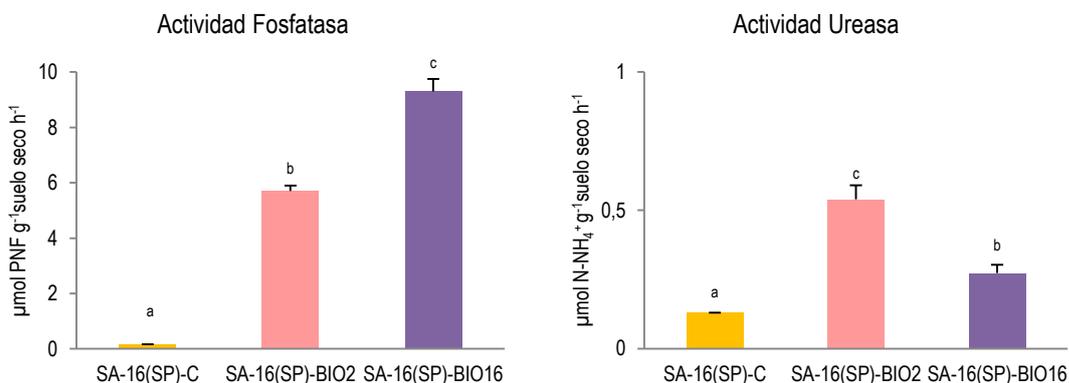
A diferencia de las actividades hidrolíticas celulasa y  $\beta$ -glucosidasa, la actividad enzimática polifenoloxidasa es una actividad oxidativa capaz de degradar fenoles y los pools de C más recalcitrantes. Las prácticas de fertilización pueden tener un gran impacto sobre la fertilidad del suelo, no solamente a través de la entrada de nutrientes al suelo, sino también a través de las tasas de descomposición de la materia orgánica (Giacometti y col., 2013). Así, por ejemplo, la entrada de C y N orgánico al suelo induce una reducción de la degradación de los compuestos más recalcitrantes de C relacionado con la disminución de las enzimas responsables de su descomposición, tales como fenoloxidasas (Craine y col., 2007).

Por otro lado, los sistemas áridos pueden estar dispuestos a una retroalimentación positiva ya que la sequía aumenta el stress oxidativo el cual induce la expresión de fenoloxidasas (Sinsabaugh, 2010). Estos factores podrían explicar los valores significativamente superiores en dicha actividad en el suelo control sin tratamiento, muy pobre en nutrientes (Tabla 4.2.41) y sometido al elevado stress climático de la zona, respecto a los suelos sometidos a biosolarización (Figura 4.2.79).



**Figura 4.2.79.-**Actividad enzimática polifenoloxidasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Los valores para la actividad fosfatasa de los suelos biosolarizados fueron significativamente más elevados que para el suelo control, alcanzando un valor 62 veces superior en los suelos con tratamiento de biosolarización a largo plazo (SA-16(SP)-BIO16). Por su parte, la actividad ureasa fue significativamente superior en los suelos biosolarizados a corto plazo (SA-16(SP)-BIO2), llegando a multiplicar por 4 los valores de actividad en el suelo control (Figura 4.2.80).

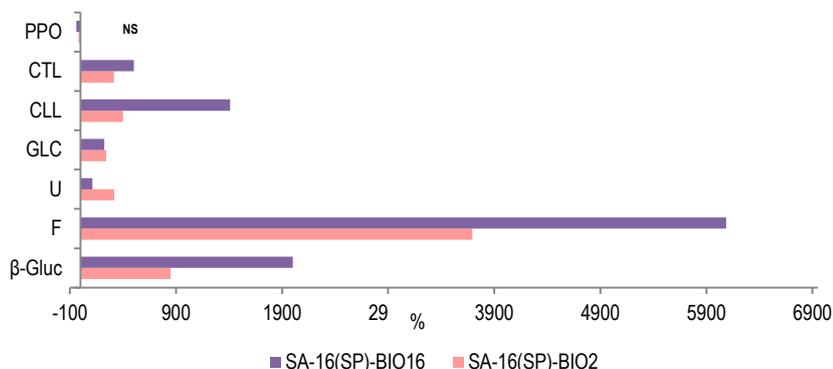


**Figura 4.2.80.-**Actividades enzimáticas fosfatasa y ureasa en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

La actividad glicina-aminopeptidasa está relacionada con la degradación de proteínas dando lugar a la formación de péptidos de menor tamaño y aminoácidos. La adición de la enmienda incrementó significativamente esta actividad en los suelos enmendados respecto al suelo control (Figura 4.2.81). Debido posiblemente a la naturaleza de la enmienda orgánica empleada en el ensayo de biosolarización, se produjo un incremento significativo de la actividad glicina-aminopeptidasa hasta valores hasta 3 veces superiores al valor del suelo control (Figura 4.2.82).



Tras todo lo expuesto, podemos considerar que, gracias al aporte de la materia orgánica y nutrientes asociados a ésta, en el proceso de biosolarización, se produce un efecto estimulador de las propiedades biológicas del suelo, favoreciendo la actividad de diferentes enzimas implicadas en el ciclo de los nutrientes y que dichas actividades dependerán de la naturaleza de la enmienda empleada.



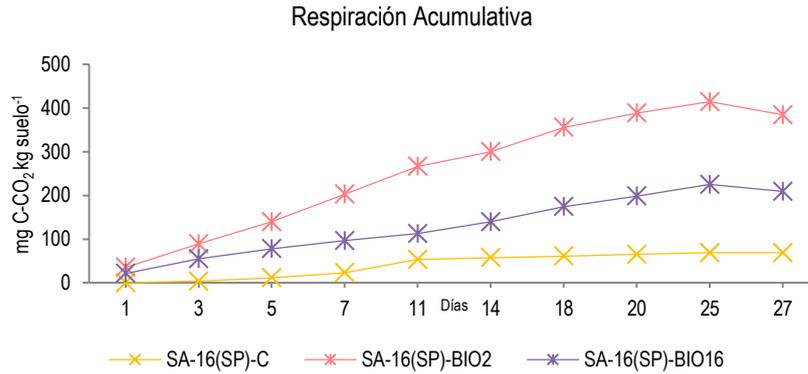
**Figura 4.2.82.**-Porcentaje de variación de las actividades enzimáticas celulasa (CLL),  $\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ -gluc), polifenoloxidasas (PPO), ureasa (U), fosfatasa (F), glicina aminopeptidasa (GLC) y catalasa (CTL), en los suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes según test de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). **NS**: diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

### Respiración Microbiana

La descomposición de la materia orgánica, medida como desprendimiento de  $\text{CO}_2$ , fue superior en los suelos biosolarizados respecto al suelo control (Figura 4.2.83), alcanzando los valores más elevados en los suelos biosolarizados durante dos ciclos (SA-16(SP)-BIO2). Este mayor desprendimiento de  $\text{CO}_2$  con respecto al control puede resultar del incremento en la actividad microbiana asociada a la hidrólisis de la materia orgánica, como se ha mostrado en el apartado de las actividades enzimáticas (Figura 4.2.83).

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Simmons y col., (2013) quienes indicaron que la descomposición de la materia orgánica medida como desprendimiento de  $\text{CO}_2$ , fue hasta 15 veces mayor en los suelos solarizados respecto a los suelos control, atribuyéndolo al incremento en la actividad microbiana asociada con la hidrólisis de la materia orgánica aportada por la enmienda y su uso para desarrollo microbiano.

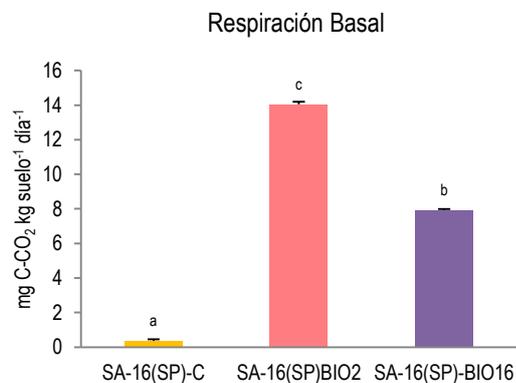
Si bien el suelo con 2 ciclos de biosolarización muestra mayores valores de respiración que el biosolarizado durante 16 años, la cinética de mineralización de su materia orgánica (Figura 4.2.83) es bastante similar mostrando las curvas acumulativas de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  pendientes semejantes a partir de los primeros 11 días de incubación.



**Figura 4.2.83.-**Curvas acumulativas de desprendimiento de CO<sub>2</sub> en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años

Este hecho se traduce en una elevada tasa de respiración basal (mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>suelo día<sup>-1</sup>), significativamente superior en los suelos biosolarizados 2 años que suelos biosolarizados a largo plazo y el suelo control (Figura 4.2.84), siendo este incremento de 40 y 26 veces respectivamente, respecto al suelo sin biosolarizar.

Esta elevada tasa de respiración respecto del suelo control nos sugiere que la aplicación de la enmienda formada por el compost+gallinaza, incorpora al suelo fracciones lábiles de C rápidamente accesibles por los microorganismos. La mayor tasa de respiración observada en el suelo biosolarizado 2 años en comparación con el tratamiento de 16 años de biosolarización, concuerda con el mayor contenido de Cs detectado en SA-16(SP)-BIO2.



**Figura 4.2.84.-**Respiración basal en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

El incremento en la tasa de respiración basal gracias a la aplicación del tratamiento de biosolarización con un semi-compost de caballo y gallinaza, fue previamente descrito por Núñez-Zofío y col., (2011), quienes observaron valores de respiración basal 3 veces superiores en los suelos biosolarizados que en los suelos control. Por su parte, Simmons y col., (2016) observaron cómo el aumento en la respiración, asociada con la adición de compost en ensayos de solarización en microcosmos, persistió a lo largo de todo el ensayo.

## Análisis de la estructura de la comunidad microbiana

En el tratamiento con biosolarización la acción combinada del calor y acumulación de ácidos grasos volátiles ha mostrado un efecto prometedor en el control de diferentes plagas. La liberación de estos compuestos pesticidas depende de la facilidad de la enmienda orgánica empleada para ser bio-convertida en el suelo bajo las condiciones de biosolarización. Entre ellas, la aplicación de enmiendas orgánicas compostadas es una práctica habitual (Fernández-Bayo y col., 2018). Estudios previos han descrito cambios en la comunidad microbiana en el suelo como resultado de la adición de compost y solarización. La enmienda conduce a un enriquecimiento de la comunidad microbiana, diferenciándose de los suelos no tratados tras la solarización (Simmons y col., 2104).

Las características de la comunidad microbiana del suelo, basada en el perfil de ácidos grasos de membrana, demostró diferencias entre los tratamientos estudiados. Como se puede observar en la Tabla 4.2.51, el suelo empleado como suelo control sin biosolarizar es un suelo con bajo tamaño y diversidad de la comunidad microbiana. La abundancia de ácidos grasos de membrana en los suelos donde se ha aplicado el tratamiento de biosolarización fue significativamente mayor que en el suelo control, cuantificándose ácidos grasos que no se detectaron en el suelo control.

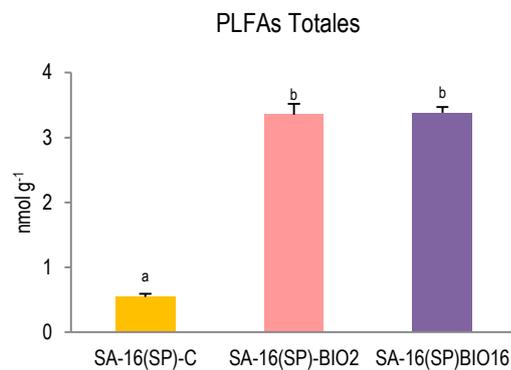
La población de bacterias Gram<sup>+</sup> incrementó significativamente en los suelos biosolarizados con respecto al suelo control donde los ácidos grasos a15:0; i17:0 no fueron cuantificados, al igual que los marcadores de Gram<sup>-</sup> C16:1w9 y C18:1w9c; Actinobacterias 10Me16:0 y hongos C18:2w 6,9c.

**Tabla 4.2.51.**-Abundancia de PLFAs (nmol g<sup>-1</sup>) en suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento

	SA-16(SP)-C	SA-16(SP)-BIO2	SA-16(SP)-BIO16
c14:0	0,00 (0,00) a	0,09 (0,00) b	0,12 (0,00) c
i15:0	0,23 (0,04) a	0,81 (0,00) b	1,07 (0,04) c
a15:0	0,00 (0,00) a	0,57 (0,06) b	0,52 (0,02) b
c15:0	0,17 (0,01) b	0,09 (0,03) a	0,06 (0,00) a
C16:0	0,07 (0,01) a	0,60 (0,08) b	0,48 (0,05) b
10Me16:0	0,00 (0,00) a	0,10 (0,02) b	0,13 (0,02) b
C16:1w9	0,00 (0,00) a	0,17 (0,00) b	0,19 (0,00) c
i17:0	0,00 (0,00) a	0,35 (0,05) b	0,45 (0,02) c
c18:0	0,06 (0,00) a	0,13 (0,00) ab	0,14 (0,05) b
c18:1w9c	0,00 (0,00) a	0,15 (0,01) c	0,12 (0,01) b
c18:2w6,9c	0,00 (0,00) a	0,16 (0,00) c	0,05 (0,01) b
c18:3w3	0,00 (0,00) a	0,05 (0,00) b	0,00 (0,00) a

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, SP: San Pedro del Pinatar, C: control; BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

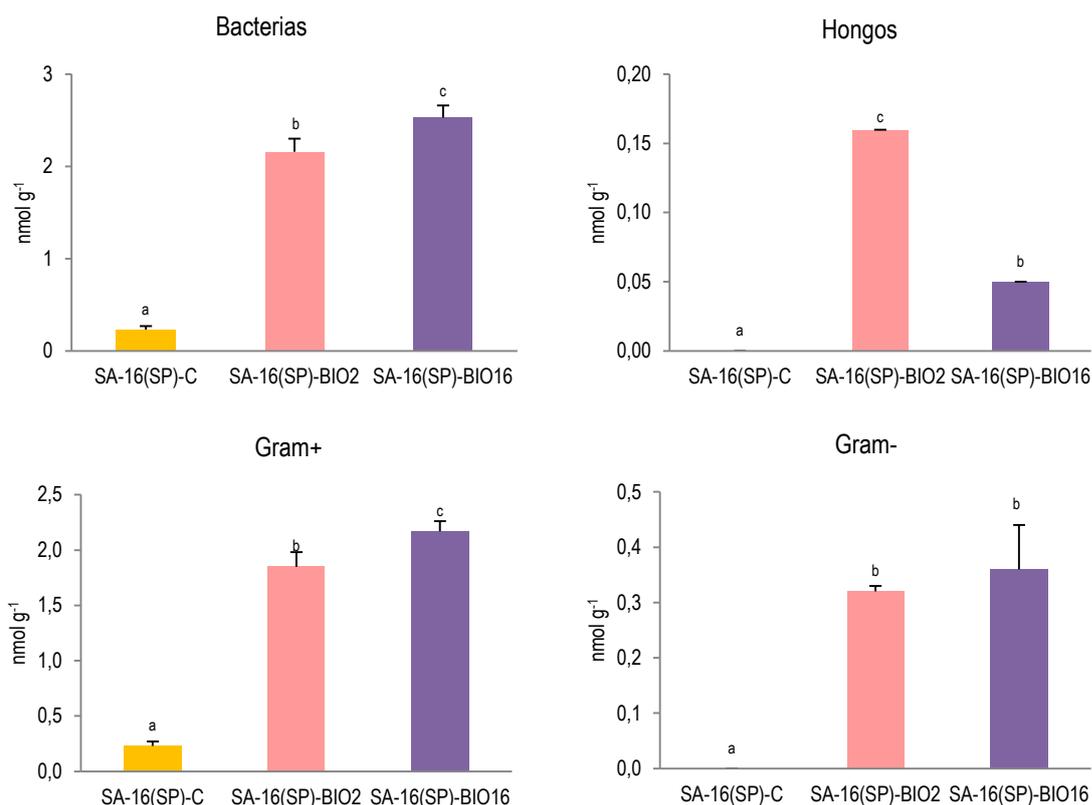
Mediante el tratamiento de biosolarización se consigue incrementar el tamaño de la comunidad microbiana hasta 6 veces en los suelos biosolarizados con respecto al suelo control, no presentando diferencias significativas entre ellos (Figura 4.2.85). Según Hestmark y col (2019), los microbios que colonizan el compost son capaces de adaptarse a las elevadas temperaturas y descomposición de la materia orgánica bajo condiciones microaeróbicas, así que tienen la ventaja inherente de sobrevivir y crecer bajo condiciones de solarización. La adición de compost durante 2 y 16 ciclos al suelo con posterior tratamiento de solarización ha resultado ser una buena estrategia para el desarrollo de microorganismos. El que no se presenten diferencias significativas entre los suelos biosolarizados nos podría indicar la existencia de algún tipo de umbral en el desarrollo de los mismos.



**Figura 4.2.85.**-PLFAs Totales en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

La enmienda con compost, generalmente conduce a un incremento en la utilización de sustratos complejos e incrementa el nivel de bacterias Gram<sup>+</sup> y hongos (Bernard y col., 2012). La incorporación de la enmienda orgánica al suelo y aplicación de tratamiento de solarización produjo una explosión de la comunidad bacteriana y fúngica tanto en el suelo tratado a corto plazo como a largo plazo. La población de bacterias aumentó aproximadamente unas 10 veces respecto al suelo control, desarrollándose también una población fúngica que no existía en el suelo control con anterioridad, si bien la población fúngica fue muy inferior numéricamente a la bacteriana (Figura 4.1.86).

De la misma forma, la población de bacterias Gram<sup>+</sup> fue muy superior a la de Gram<sup>-</sup> numéricamente. La población de Gram<sup>-</sup> no había sido detectada en el suelo control, desarrollándose en los suelos que han recibido enmienda orgánica con compost. Las bacterias Gram<sup>+</sup> consumen preferentemente formas de C más antiguo (Börjesson y col., 2012), frente a las bacterias Gram<sup>-</sup> que son capaces de utilizar gran variedad de fuentes de carbono (Hinojosa y col., 2005; Carrasco y col., 2009). Esta podría ser una de las razones por la que la población de Gram<sup>+</sup> sea superior en el suelo tratado a largo plazo que ya ha recibido enmienda de compost en numerosas ocasiones frente al suelo con adiciones recientes (SA-16(SP)-BIO2).



**Figura 4.2.86.**-Bacterias, Hongos, Bacterias Gram+ y Bacterias Gram- en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años Barras con igual letra indican valores que no son significativamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Las concentraciones de PLFAs saturados y monoinsaturados fueron significativamente superiores en los suelos biosolarizados respecto al suelo control (Tabla 4.2.52). La población de actinobacterias también incrementó significativamente en los suelos biosolarizados sin que se aprecien diferencias significativas entre ellos, al igual que la relación bacterias Gram+/Gram- y Sat/Monoinsat. De manera más significativa cabe destacar que la relación Hongos/Bac. fue significativamente superior en los suelos biosolarizados respecto al suelo control, alcanzando el valor de significación mayor en el tratamiento a corto plazo (SA-16(SP)-BIO2).

**Tabla 4.2.52.**-Relaciones bacterias Gram+/Gram-, hongos/bacterias y de PLFAs saturados/monoinsaturados (Sat/Monoinsat.) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento

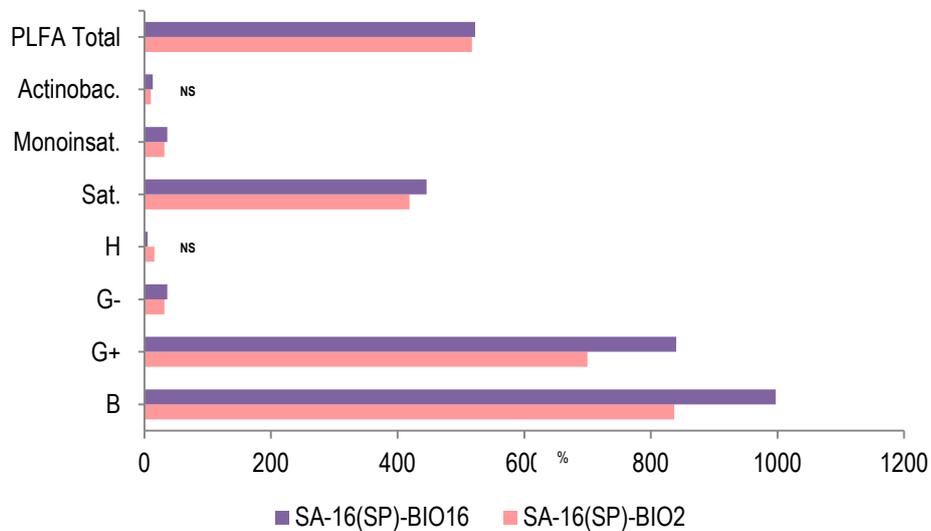
nmol g <sup>-1</sup>	Saturados	Monoinsat.	Actinobac.	Gram+/Gram-	Hongos/Bac.	Sat/Monoinsat.
SA-16(SP)-C	0,54 (0,05)a	0,00 (0,00)a				
SA-16(SP)-BIO2	2,82 (0,16)b	0,32 (0,01)b	0,10 (0,02)b	5,86 (0,30)b	0,07 (0,01)c	8,94 (0,46)b
SA-16(SP)-BIO16	2,96 (0,11)b	0,36 (0,08)b	0,13 (0,02)b	6,17 (1,25)b	0,02 (0,01)b	8,46 (1,90)b

SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años. Entre paréntesis: error estándar, n=3. Para cada parámetro, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

Muchos estudios anteriores han proporcionado evidencias de que la solarización con o sin enmienda orgánica, produce a corto o largo plazo cambios en la comunidad microbiana (Simmons y col., 2014). En

nuestro ensayo este cambio se manifestó con un incremento significativo de la comunidad microbiana en los suelos biosolarizados. Sin embargo, Kanaan y col., (2018), observaron que la estructura de la comunidad microbiana se veía afectada por la enmienda con compost, la solarización y el tiempo, pero en su estudio consideraron que solarización combinada con enmienda con materia orgánica podría causar una disminución de la comunidad microbiana del suelo ya que los cambios ambientales ya sean naturales ó antropogénicos pueden ocasionar un cambio en la composición de las bacterias del suelo, en parte debido a la intensa degradación que se produce de la materia orgánica. La adición de una enmienda orgánica compostada proporciona un producto estabilizado, el cual, al final del proceso de compostaje ha sufrido un cambio en la composición microbiana de bacterias Gram<sup>-</sup> a bacterias Gram<sup>+</sup> (Núñez-Zofio y col., 2011).

La adición de compost a corto y largo plazo, cómo se puede observar en la Figura 4.2.87, junto con el tratamiento de solarización ha producido un importante cambio e incremento de la comunidad microbiana de hasta casi 1000% en los suelos que han sido biosolarizados con compost 16 años (SA-16(SP)-BIO16), siendo este incremento mucho mayor en la población de bacterias Gram<sup>+</sup> (840% para suelos biosolarizados 16 años) que Gram<sup>-</sup> (36% para suelos biosolarizados 16 años) debido posiblemente a la naturaleza de la enmienda incorporada (compost). Tanto para actinobacterias como para hongos se detectaron porcentajes de variación con respecto al control no significativos (HS).

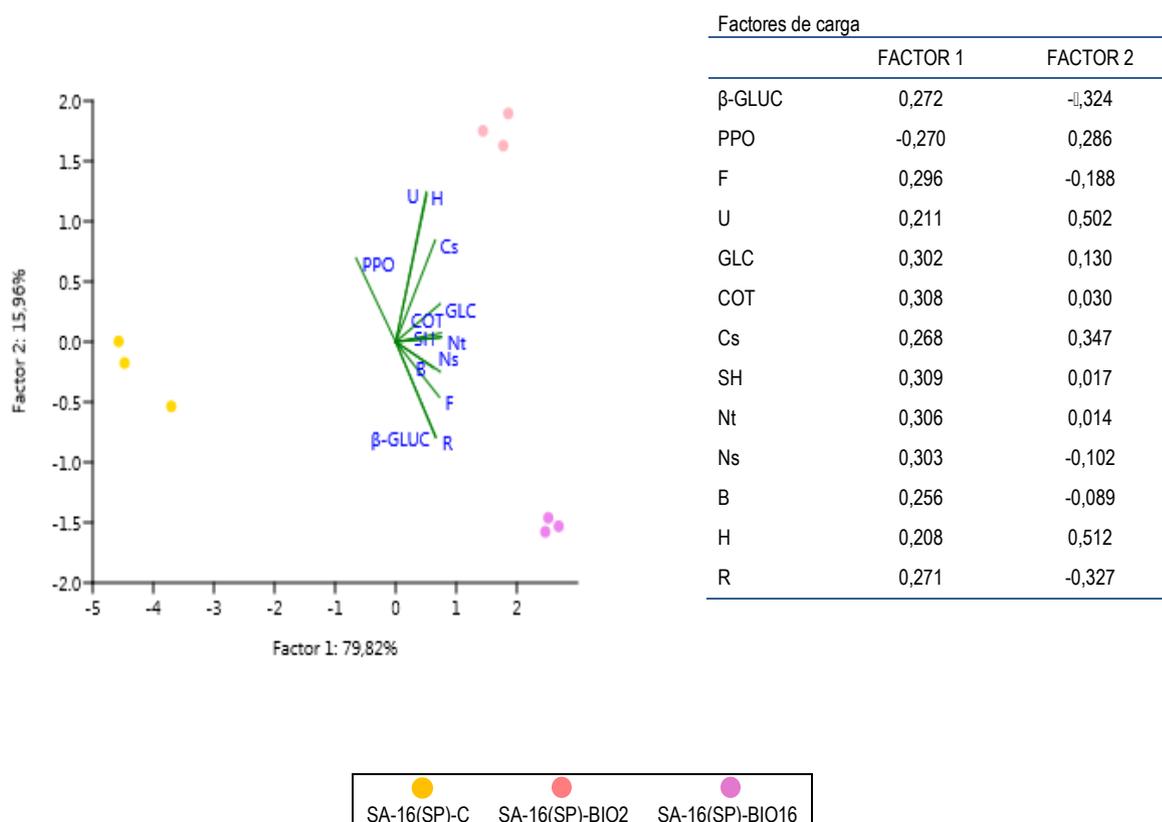


**Figura 4.2.87.** -Porcentaje de variación de los ácidos grasos de membrana de los diferentes grupos de microorganismos. Bacterias (B), Hongos (H), Gram<sup>+</sup>(G<sup>+</sup>), Gram<sup>-</sup>(G<sup>-</sup>), Saturados (Sat.), Monoinsaturados (Monoinsat.), Actinobacterias (Actinobac.) y PLFA Total de los diferentes suelos enmendados respecto al suelo control de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. **NS:** diferencias con el control no significativas estadísticamente de acuerdo con el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ )

En concordancia con nuestros resultados, Fernández-Bayo y col., (2017 b), observaron cómo la biomasa microbiana incrementó en un suelo que fue solarizado usando como enmienda digestato anaeróbico. El proceso de biosolarización produjo un cambio significativo de la comunidad microbiana que fue relacionada con el origen de la enmienda.

## ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y MATRIZ DE CORRELACIÓN

En cuanto al análisis de componentes principales (Figura 4.2.88) llevado a cabo con las propiedades físico-químicas, ambientales y biológicas del suelo, tanto el Factor 1 (79,82% de la varianza) como Factor 2 (15,96% de la varianza), discriminaron significativamente entre las parcelas tratadas SA-16(SP)-BIO2 y SA-16(SP)-BIO16 y suelo control SA-16(SP)-C, así como entre los suelos biosolarizados según los años tratados. El Factor1 correlacionó positivamente con todos los parámetros analizados excepto para la actividad PPO con la que la correlación era negativa, siendo los pesos de las diferentes variables en este Factor bastante semejantes.



**Figura 4.2.88.**-Análisis de componentes principales de la actividad  $\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ -GLUC), actividad fosfatasa (F), actividad glicina aminopeptidasa (GLC), actividad polifenoloxidasa (PPO), ureasa (U), carbono soluble en agua (Cs), nitrógeno soluble en agua (Ns), nitrógeno total (Nt), carbono orgánico total (COT), carbono de las sustancias húmicas (SH), respiración acumulativa (R), bacterias (B) y hongos (H) en el suelo control y en los suelos enmendados de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. SA: suelo agrícola, 16: años desde la enmienda, (SP): San Pedro del Pinatar. C: control, BIO2: Biosolarización 2 años, BIO16: Biosolarización 16 años

Las variables con mayor peso en el Factor 2 eran las actividades PPO y ureasa, la población de hongos (H) y el Cs. Cabe señalar que después de 2 años de biosolarización, los suelos mejoran notablemente respecto al suelo control, ya que se disponen espacialmente en el primer cuadrante, donde correlaciona positivamente tanto con el Factor 1 como 2, mientras que los suelos biosolarizados durante 16 años se disponen en el cuadrante donde el Factor 2 es negativo y el Factor 1 positivo.

Es decir, al cabo de dos años se alcanza la máxima calidad en el suelo, indicándonos que existe un umbral que una vez alcanzado no consigue incrementar proporcionalmente la calidad del suelo, por otra parte sometido a agricultura intensiva.

Así, podríamos considerar que no solamente la aplicación de enmienda orgánica empleada en este ensayo diferencia la calidad de los suelos, sino también el número de años que dichos suelos han recibido tratamiento de biosolarización.

Entre las propiedades físicas y físico-químicas estudiadas cabe destacar la correlación negativa de la densidad con el resto de variables estudiadas, con un elevado grado de significación, pudiéndose considerar cómo un efecto positivo del tratamiento, ya que a mayor incremento de materia orgánica disminuye la densidad del suelo, asociado a su vez con un incremento de la CRH y EA (Tabla 4.2.53). Por otro lado, se observaron correlaciones positivas, con alto grado de significación ( $p < 0,01$ ), entre todos los parámetros relacionados con la materia orgánica (COT, Cs y SH) así como nutricionales (Nt y Pt).

Las propiedades enzimáticas  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa, glicina-aminopeptidasa ( $p < 0,01$ ) y celulasa y ureasa ( $p < 0,05$ ) se vieron afectadas por el tratamiento ya que presentaron correlaciones positivas con elevado grado de significación con el COT y Nt. Correlaciones similares fueron determinadas por Núñez-Zofío y col., (2011) entre los tratamientos de biosolarización y actividades enzimáticas. Por otro lado, la actividad PPO presentó correlaciones negativas ( $p < 0,01$ ) con todos estos parámetros.

Al igual que las actividades enzimáticas, tanto la respiración cómo los diferentes grupos de población microbiana (Gram<sup>+</sup>, Gram<sup>-</sup>, B, H y ACT), presentaron alta correlación positiva con el COT y el Nt. También se observaron correlaciones positivas con elevado grado de significación entre el Nt aportado por la materia orgánica utilizada como enmienda y el Ns y los NO<sub>3</sub>, sin embargo, la actividad enzimática ureasa presentó correlación positiva significativa ( $p < 0,05$ ) con el Nt, no observándose correlaciones ni con el Ns ni NO<sub>3</sub>.

Según lo expuesto, podemos considerar que el efecto de los tratamientos de biosolarización sobre las propiedades del suelo puede ser explicado por la incorporación de la materia orgánica y nutrientes asociados. La actividad Ureasa también presentó correlaciones positivas pero con menor grado de significación ( $p < 0,05$ ) con el Nt. Este hecho puede deberse a la aplicación de enmiendas con alto contenido en N al suelo, lo que conduce a elevados niveles de NH<sub>3</sub> que inicialmente suprimen la actividad ureasa por inhibición de la retroalimentación del producto (McCarty y col., 1992).

## **CONCLUSIONES PARCIALES**

*El tratamiento de biosolarización cuyo objetivo principal está dirigido a la desinfección de suelos agrícolas, ha demostrado que gracias al empleo de materia orgánica no se limita sólo a la generación de un ambiente que incide sobre patógenos y nematodos, sino que mejora las propiedades físicas y físico-químicas del suelo*

*reduciendo la densidad del suelo e incrementando su CRH y EA, así como su contenido de nutrientes, estimulando las diferentes actividades enzimáticas y favoreciendo el desarrollo de la comunidad microbiana.*

*Estos resultados son apreciables a corto plazo tras dos años de reiteración del tratamiento de biosolarización, manteniéndose a largo plazo, consiguiendo dotar a un suelo agrícola con cultivo intensivo, de la calidad adecuada para mantener una producción constante.*

**Tabla 4.2.53.**-Correlaciones entre variables de los suelos de la zona de San Pedro del Pinatar bajo cultivo de pimiento. \*significación p<0,05, \*\*significación p<0,01

	CE	CRH	D	EA	CL	BG	PPO	F	U	GLC	COT	Cs	SH	Pt	Nt	Ns	NO <sub>3</sub>	R	Gram <sup>+</sup>	Gram <sup>-</sup>	B	H	
CE																							
CRH	0,79*																						
D	-0,87**	-0,91**																					
EA	0,89**	0,96**	-0,95**																				
CL	0,98**	0,67*	-0,78*	0,81**																			
BG	0,99**	0,79*	-0,87**	0,90**	0,98**																		
PPO	-0,92**	-0,77*	0,73*	-0,87**	-0,90**	-0,93**																	
F	0,97**	0,90**	-0,93**	0,96**	0,91**	0,97**	-0,91**																
U	0,25	0,77*	-0,55	0,63	0,09	0,25	-0,31	0,44															
GLC	0,76*	0,99**	-0,89**	0,95**	0,65	0,77*	-0,76*	0,88**	0,80**														
COT	0,84**	0,98**	-0,94**	0,99**	0,74*	0,85**	-0,82**	0,95**	0,69*	0,98**													
Cs	0,51	0,91**	-0,77*	0,83**	0,36	0,52	-0,54	0,69*	0,94**	0,93**	0,88**												
SH	0,86**	0,98**	-0,94**	0,99**	0,76*	0,87**	-0,84**	0,95**	0,69*	0,98**	0,99**	0,87**											
Pt	0,85**	0,98**	-0,94**	0,99**	0,75*	0,86**	-0,82**	0,95**	0,69*	0,97**	0,99**	0,88**	0,99**										
Nt	0,86**	0,96**	-0,95**	0,99**	0,77*	0,87**	-0,83**	0,94**	0,68*	0,96**	0,98**	0,86**	0,99**	0,98**									
Ns	0,91**	0,94**	-0,92**	0,98**	0,85**	0,92**	-0,89**	0,97**	0,56	0,94**	0,97**	0,76*	0,97**	0,96**	0,95**								
NO <sub>3</sub>	0,92**	0,93**	-0,92**	0,98**	0,86**	0,93**	-0,91**	0,96**	0,58	0,94**	0,96**	0,77*	0,97**	0,96**	0,97**	0,98**							
R	0,47	0,89**	-0,74*	0,81**	0,31	0,48	-0,50	0,65	0,96**	0,91**	0,86**	0,99**	0,85**	0,86**	0,84**	0,73*	0,74*						
Gram <sup>+</sup>	0,88**	0,97**	-0,95**	0,99**	0,79*	0,89**	-0,85**	0,97**	0,64	0,96**	0,99**	0,84**	0,99**	0,99**	0,98**	0,98**	0,97**	0,81**					
Gram <sup>-</sup>	0,82**	0,92**	-0,89**	0,97**	0,75*	0,84**	-0,83**	0,93**	0,65	0,94**	0,97**	0,85**	0,96**	0,95**	0,96**	0,95**	0,95**	0,81**	0,97**				
B	0,70*	0,74*	-0,60	0,78*	0,63	0,73*	-0,85**	0,77*	0,47	0,75*	0,78*	0,65	0,78*	0,77*	0,77*	0,77*	0,77*	0,62	0,79*	0,77*			
H	0,24	0,77*	-0,58	0,63	0,07	0,24	-0,28	0,44	0,98**	0,79*	0,70*	0,95**	0,69*	0,70*	0,68*	0,53	0,55	0,96**	0,64	0,63	0,50		
ACT	0,89**	0,95**	-0,95**	0,98**	0,80**	0,90**	-0,84**	0,97**	0,58	0,94**	0,99**	0,80**	0,98**	0,98**	0,96**	0,97**	0,95**	0,77*	0,99**	0,95**	0,79*	0,59	

CE: conductividad eléctrica; CRH: capacidad de retención hídrica; EA: estabilidad de agregados; D: densidad, CL: celulasa, β-G: β-glucosidasa, PPO: polifenoloxidasa, F: fosfatasa; U: ureasa; GLC: glicina-aminopeptidasa; COT: carbono orgánico total, Cs: carbono hidrosoluble; SH: sustancias húmicas, Pt: fósforo total, Nt: nitrógeno total, Ns: nitrógeno hidrosoluble; NO<sub>3</sub>: nitratos; R: desprendimiento acumulativo de CO<sub>2</sub>; Gram<sup>+</sup>: Gram-positiva; Gram<sup>-</sup>: Gram-negativa; B: bacteria, H: hongos; ACT: actinobacterias



## **4.3. ANÁLISIS GLOBAL DE DATOS**



## ANÁLISIS GLOBAL DE DATOS

Con el fin de obtener una visión global de los resultados obtenidos en los diferentes estudios llevados a cabo, se realizó un análisis multivariante entre aquellos parámetros, estudiados a lo largo de los anteriores capítulos, que en general, presentaron mayor impacto sobre el suelo. Más concretamente intervinieron en el análisis parámetros agronómicos (Cs, COT, SH, Nt), medioambientales (Ns), y relacionados con la diversidad microbiana (actividad  $\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ -G), actividad fosfatasa (F), actividad ureasa (U), actividad glicina-aminopeptidasa (GLC), actividad polifenoloxidasa (PPO), respiración microbiana (R), bacterias (B) y hongos (H)), analizando los suelos agrícolas y no agrícolas tanto de forma separada como en conjunto. Desde otra perspectiva, se realizó un estudio de minería de datos donde se integraron todos los resultados obtenidos en los diferentes experimentos llevados a cabo en suelos agrícolas y no agrícolas, con el fin de poder establecer conclusiones más generalistas, y así conocer el efecto de la adición de materiales orgánicos a suelos degradados de zonas semiáridas agrícolas y no agrícolas, sobre los factores que intervienen en la construcción de un pool de C en el suelo en las condiciones ensayadas.

## ANÁLISIS MULTIVARIANTE

### Suelos no agrícolas

El análisis multivariante (análisis de componentes principales, PCA) de los ensayos llevados a cabo en suelos no agrícolas degradados explicaba el 66,5% de la varianza, donde el Factor 1 representaba el 47,5 % de la varianza y el Factor 2 el 19%. El Factor 1 se correlacionó positivamente con todos los parámetros considerados, a excepción de la actividad polifenoloxidasa (PPO), con la que la correlación era negativa. Los parámetros con mayor carga en el Factor 1 fueron el carbono de sustancias húmicas (SH), carbono soluble (Cs), actividad fosfatasa (F), carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (Nt), respiración microbiana (R) y nitrógeno soluble en agua (Ns), por este orden (Tabla 4.3.1). Por su parte, el Factor 2 presentaba correlación positiva con las actividades enzimáticas  $\beta$ -glucosidasa (B-G), ureasa (U), glicina aminopeptidasa (GLC), polifenol oxidasa (PPO), y poblaciones de bacterias (B) y hongos (H), mostrando una fuerte correlación negativa con el Nt y Ns, así como con el COT y Cs (Tabla 4.3.1).

Cómo se puede observar en la Figura 4.3.1, todos los parámetros analizados se sitúan en la zona positiva del Factor 1, a excepción de la actividad polifenoloxidasa, mientras que en la zona positiva del Factor 2 se sitúan todos los parámetros excepto COT, Nt, Cs y Ns. En consecuencia, los suelos situados en el cuadrante positivo del gráfico poseerán valores aceptables de todas las características estudiadas, y en este sentido serán los que presenten mejor calidad particularmente aquellos con mayor proyección en el eje del Factor 1.

Este análisis de componentes principales ha discriminado claramente los suelos enmendados de los suelos control (Figura 4.3.1) situándose estos dos grupos de suelos separados espacialmente y, en la mayoría de los casos, en cuadrantes distintos. Esto pone de manifiesto el efecto positivo de las enmiendas orgánicas sobre

las características del suelo y el incremento de las reservas de carbono del suelo para todos los tipos de enmienda y periodos de tiempo considerados. Así, la mayoría de los suelos enmendados se sitúan en la zona positiva del Factor 1 y del Factor 2. Los suelos enmendados 28 años atrás y el tratamiento C(L+B) de la zona de Santomera-1 a pesar de no estar incluidos en la zona positiva, se discriminan claramente de sus respectivos controles en función del Factor 1.

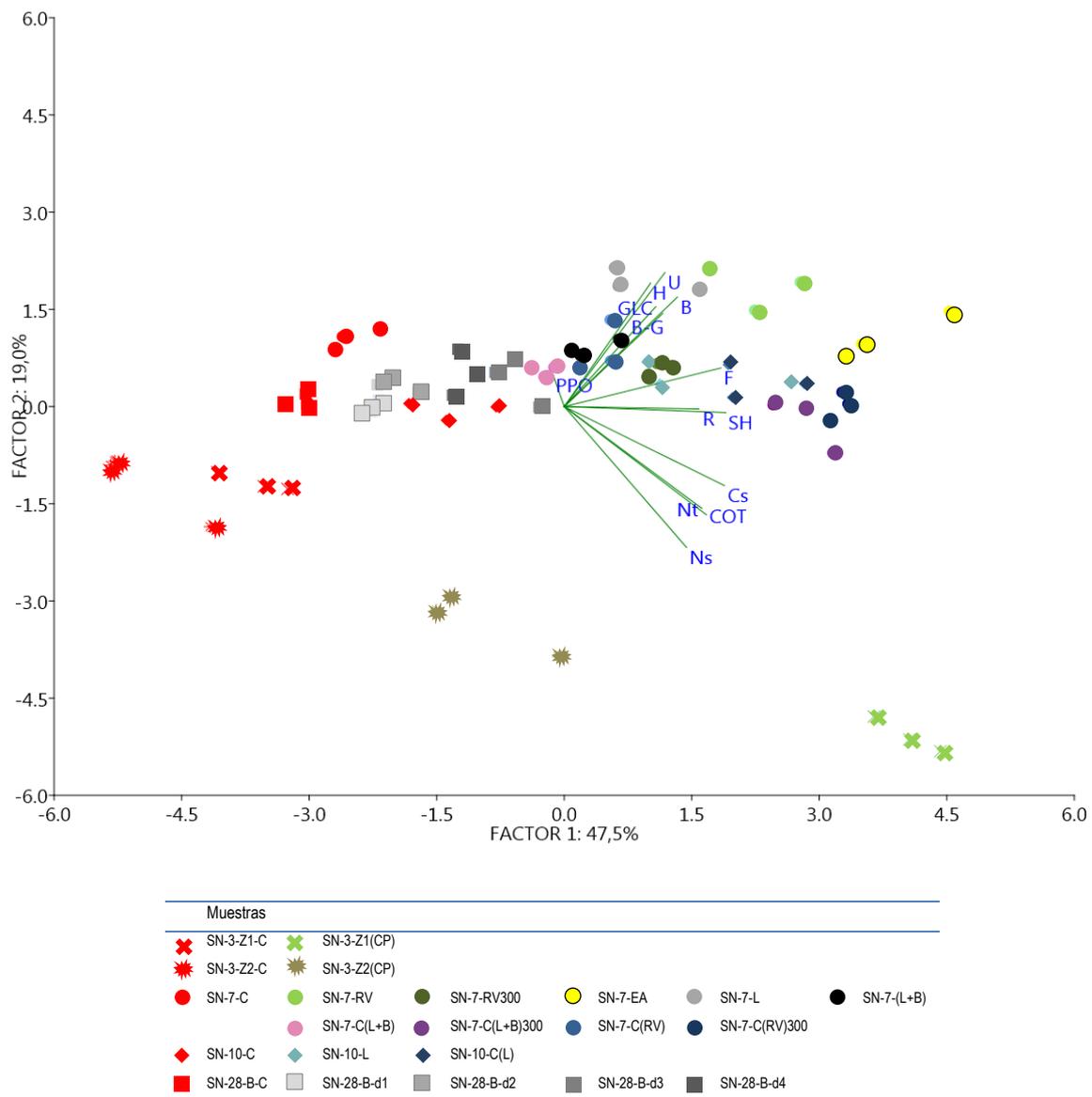


Figura 4.3.1.-Análisis de Componentes Principales en los suelos no agrícolas degradados

Este análisis discrimina también claramente los suelos en función de la naturaleza de la enmienda, grado de estabilidad y dosis aplicada. Así, cómo se observa en la Figura 4.3.1, en la zona de Santomera-1, los suelos enmendados con estiércol animal fueron los que mayor cambio sufrieron respecto al suelo control al encontrarse espacialmente más distantes del control, seguidos por los suelos que recibieron enmiendas compostadas a dosis altas, C(L+B)-300 y C(RV)-300 y suelos enmendados con RV, diferenciándose de los

suelos de esta misma zona tratados con RV-300, L y L+B, todos ellos situados en el primer cuadrante, y de los suelos enmendados con C(L+B) situados en el segundo cuadrante. Se pone así de manifiesto la influencia de la naturaleza de la enmienda y la dosis de aplicación en los efectos de la misma en el suelo. Por su parte, los suelos de la zona de Santomera-2 enmendados con lodo compostado se distanciaron en mayor medida que los suelos enmendados con lodo fresco respecto al control, indicando que la aplicación de esta enmienda en forma compostada, consigue originar cambios mayores en el suelo aplicado respecto al suelo control a medio plazo.

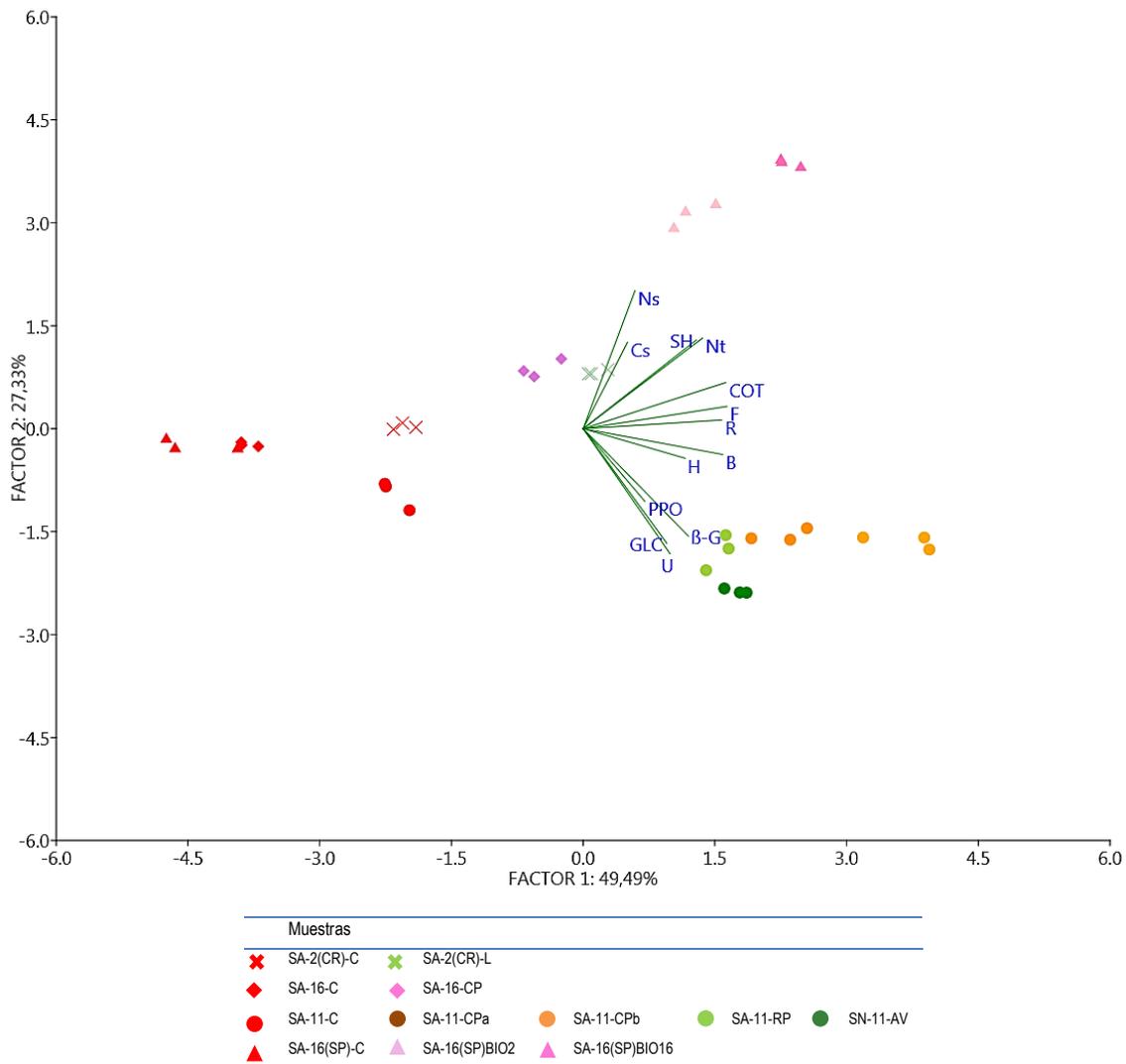
**Tabla 4.3.1.** Factores de carga en el análisis multivariante de los suelos no agrícolas degradados

	FACTOR 1	FACTOR 2
Actividad $\beta$ -glucosidasa (B-G)	0,221	0,275
Actividad fosfatasa (F)	0,352	0,113
Actividad ureasa (U)	0,226	0,396
Actividad glicina-aminopeptidasa (GLC)	0,206	0,294
Actividad polifenoloxidasa (PPO)	-0,024	0,092
Carbono soluble (Cs)	0,360	-0,233
Nitrógeno soluble (Ns)	0,275	-0,416
Carbono orgánico total (COT)	0,319	-0,319
Carbono de sustancias húmicas (SH)	0,364	-0,017
Respiración microbiana (R)	0,303	-0,007
Bacterias (B)	0,254	0,323
Hongos (H)	0,194	0,364
Nitrógeno total (Nt)	0,310	-0,300

La incidencia de la dosis se pone de manifiesto en la discriminación observada entre los tratamientos SN-7-RV y SN-7-RV-300 y entre SN-7-C(L+B) y SN-7-C(L+B)300 de la zona de Santomera-1 y entre los tratamientos SN-28-B-d1 y d2, SN-28-B-d3, y SN-28-B-d4 de la zona de Abanilla. Por otro lado, los suelos de la zona de Abanilla, enmendados 28 años antes con diferentes dosis (d1-d4) de una misma enmienda (basura domiciliaria ligeramente compostada, B), si bien se dispusieron separados de su respectivo suelo control, fue el grupo de suelos que se situó más próximo a su respectivo control. El Factor 1 discrimina en estos suelos tres grupos en función de la dosis aplicada: las dosis 1 y 2 por un lado, la dosis 3 por otro y la dosis 4. El análisis de componentes principales de estos suelos manifiesta que, al cabo de un transcurso de tiempo tan largo, los suelos enmendados tienden a volver a sus características iniciales reagrupándose cerca del suelo control. Sin embargo, en el caso de los ensayos a corto plazo (3 años) como los llevados a cabo en las zonas de Cartagena y Abarán con un mismo tipo de enmienda (compost de estiércol animal), se produce un cambio significativo en la calidad de estos suelos, apareciendo espacialmente muy separados de sus respectivos controles, siendo esta separación más relevante en la zona de Cartagena, lo cual pone de relieve que el efecto de la enmienda viene también condicionado por las características del suelo, así como por el tiempo transcurrido desde la adición de la enmienda.

## Suelos agrícolas

El análisis de componentes principales realizado para los suelos agrícolas sometidos a estudio explicó el 76,8% de la varianza repartida entre el Factor 1: 49,5% y el Factor 2: 27,3%. La mayoría de los parámetros estudiados tales como: B-G, F, U, GLC, PPO, COT, R, B, H presentaron mayor carga sobre el Factor 1 mientras que Cs y Ns presentaron mayor carga sobre el Factor 2. Los parámetros Nt y SH presentaron cargas similares sobre ambos Factores 1 y 2 (Tabla 4.3.2).



**Figura 4.3.2.-Análisis de Componentes Principales suelos agrícolas degradados**

Cómo se muestra en la Figura 4.3.2, con la adición de la enmienda se produce, en mayor o menor medida, una separación espacial entre suelos enmendados y suelos control. Este aspecto nos permite destacar la influencia de la estrategia empleada, resultando en una mejora en la calidad de todos los suelos agrícolas enmendados.

Se pone así de manifiesto que el aporte de materia orgánica al suelo, estimula las actividades enzimáticas relacionadas con los ciclos del C, N y P, favoreciendo el ciclo de los nutrientes en el mismo y mejorando la calidad del suelo en ensayos a corto, medio y largo plazo.

El efecto beneficioso de la enmienda sobre el suelo queda reflejado en los experimentos de aplicación de lodo de Edar bajo cultivo de cereal y el de dos años de biosolarización (SA-16(SP)-BIO2). En ambos casos, en tan solo 2 años, se produjo una mejora en la calidad de estos suelos agrícolas como se observa en la Figura 4.3.2, ya que se produce una separación espacial de los suelos enmendados respecto a su control, siendo este efecto más significativo en el ensayo de biosolarización.

La influencia de la naturaleza de la enmienda sobre el suelo, queda confirmada gracias a los experimentos de aplicación de diferentes enmiendas bajo cultivo orgánico de ciruelo, discriminando el Factor 1 los suelos tratados con compost (SA-11-CPa y SA-11-CPb) de los tratados con poda de ciruelo (SA-11-RP) o abono verde (SA-11-AV).

Por otra parte, a igualdad de enmienda orgánica, se aprecia la influencia del manejo de la enmienda cómo se observa en los suelos de Cieza bajo cultivo de ciruelo (donde el Factor 1 discrimina los suelos con aplicación anual de compost (SA-11-CPa) de los que recibieron compost de modo bienal (SA-11-CPb), y en los suelos de San Pedro del Pinatar, donde El Factor 1 también discrimina entre la aplicación de solarización durante dos años y la aplicación durante 16 años. Estos suelos agrícolas sometidos a tratamientos de Biosolarización a corto (2 años) y largo plazo (16 años) fueron los que mostraron mayores diferencias respecto al suelo control.

**Tabla 4.3.2.** Factores de carga en el análisis multivariante de los suelos agrícolas degradados

	FACTOR 1	FACTOR 2
Actividad $\beta$ -glucosidasa (B-G)	0,270	-0,353
Actividad fosfatasa (F)	0,369	0,073
Actividad ureasa (U)	0,223	-0,411
Actividad glicina-aminopeptidasa (GLC)	0,215	-0,376
Actividad polifenoloxidasa (PPO)	0,158	-0,238
Carbono soluble (Cs)	0,113	0,283
Nitrógeno soluble (Ns)	0,133	0,454
Carbono orgánico total (COT)	0,366	0,151
Carbono de sustancias húmicas (SH)	0,291	0,292
Respiración microbiana (R)	0,356	0,028
Bacterias (B)	0,358	-0,080
Hongos (H)	0,262	-0,097
Nitrógeno total (Nt)	0,307	0,298

Sin embargo, los suelos correspondientes al tratamiento de biosolarización a corto plazo (SA-16(SP)-BIO2) y largo plazo (SA-16(SP)-BIO16), si bien se mostraron diferentes entre sí, se distribuyeron espacialmente próximos (Figura 4.3.2). Este hecho podría sugerir que la mejora en la calidad del suelo con este tratamiento

se produce en un corto espacio de tiempo, incrementando después más gradualmente a largo plazo gracias a las aplicaciones anuales.

Hay que destacar, asimismo, que este análisis de componentes principales pone también de relieve la incidencia sobre las propiedades del suelo de los años de aplicación sucesiva de enmienda, siendo los suelos de Cieza, con 11 años de aplicación de diferentes enmiendas bajo cultivo de ciruelo, y los suelos con 16 años de tratamiento de biosolarización, los que se sitúan más alejados de su control y en la zona de los mayores valores positivos del Factor 1, poniendo de manifiesto que los efectos de las enmiendas sobre las propiedades del suelo serán más evidentes con aplicaciones continuadas de enmienda durante largos periodos de tiempo.

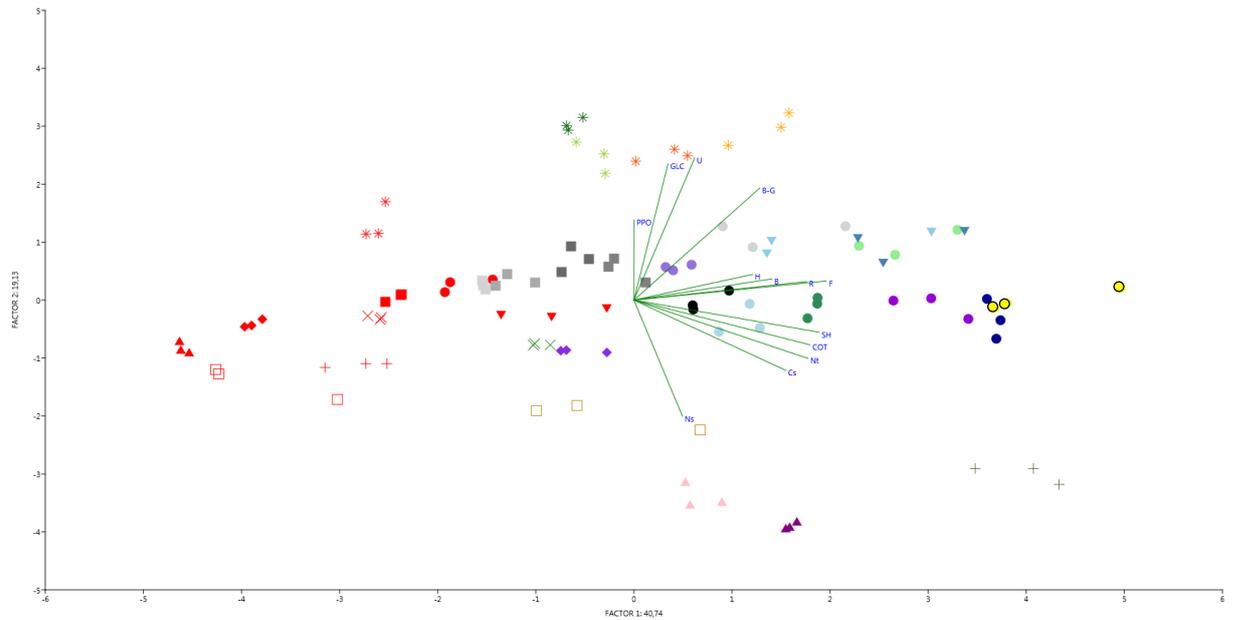
### **Suelos agrícolas y no agrícolas**

Con el fin de tener una visión más global sobre los efectos en el suelo de las enmiendas orgánicas se llevó a cabo un análisis multivariante incluyendo tanto los datos de los suelos agrícolas como de los no agrícolas. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.3.3.

Este análisis explicaba aproximadamente el 60% de la varianza, donde el Factor 1 representaba el 40,74% de la varianza y el Factor 2 el 19,13%. El Factor 1 se correlacionaba positivamente con todos los parámetros considerados en este análisis, siendo los parámetros con mayor carga en este Factor 1 el carbono orgánico total y sus fracciones (Cs y SH), el nitrógeno total, la respiración y la actividad fosfatasa (Tabla 4.3.3). Por su parte, el Factor 2 presentaba correlación negativa con todas las fracciones de C y de N, en particular con el nitrógeno soluble, siendo los parámetros con mayor carga en este factor las actividades enzimáticas  $\beta$ -glucosidasa, ureasa y glicina-aminopeptidasa (Tabla 4.3.3).

Como se muestra en la Figura 4.3.3, el análisis de componentes principales discrimina claramente los suelos enmendados de los suelos control, independientemente de que se trate de suelos degradados rehabilitados o de suelos agrícolas. Todos los suelos control se sitúan en la parte negativa del Factor 1, y muchos de ellos se sitúan también en la parte negativa del Factor 2, al contrario de los suelos enmendados que en la mayoría de los casos se encuentran situados en la zona positiva del Factor 1 y/o en la zona positiva del factor 2, poniéndose así de nuevo de manifiesto la mejor calidad de los suelos enmendados con relación a sus respectivos controles.

Los suelos rehabilitados no agrícolas presentan, en general, una mayor proyección sobre el eje positivo del Factor 1 que los suelos agrícolas, reflejando una mayor contribución del C y sus fracciones, así como del Nt en estos suelos, sugiriendo un mayor papel de los suelos degradados rehabilitados en la construcción de un pool de C en relación a los suelos agrícolas, particularmente en el corto, medio plazo, atribuible a la mayor mineralización de la materia orgánica en estos últimos suelos.



Muestras					
✗ SA-2-C	✗ SA-2-L				
◆ SA-16-C	◆ SA-16-CP				
* SA-11-C	* SA-11-CPa	* SA-11-CPb	* SA-11-RV	* SA-11-AV	
▲ SA-16(SP)-C	▲ SA-16(SP)-BIO2	▲ SA-16(SP)BIO16			
+ SN-3-Z1-C	+ SN-3-Z1(CP)				
□ SN-3-Z2-C	□ SN-3-Z2(CP)				
● SN-7-C	● SN-7-RV	● SN-7-RV300	● SN-7-EA	● SN-7-L	● SN-7-(L+B)
▼ SN-10-C	▼ SN-7-C(L+B)	▼ SN-7-C(L+B)300	● SN-7-C(RV)	● SN-7-C(RV)300	
■ SN-28-B-C	■ SN-10-L	▼ SN-10-C(L)			
	■ SN-28-B-d1	■ SN-28-B-d2	■ SN-28-B-d3	■ SN-28-B-d4	

Figura 4.3.3.-Análisis de Componentes Principales del conjunto de todos los suelos, agrícolas y no agrícolas

Tabla 4.3.3.-Factores de carga en el análisis multivariante del conjunto de todos los suelos

	FACTOR 1	FACTOR 2
Actividad β-glucosidasa (B-G)	0,256	0,385
Actividad fosfatasa (F)	0,391	0,065
Actividad ureasa (U)	0,123	0,489
Actividad glicina-aminopeptidasa (GLC)	0,069	0,468
Actividad polifenoloxidasa (PPO)	0,000	0,276
Carbono soluble (Cs)	0,308	-0,241
Nitrógeno soluble (Ns)	0,098	-0,399
Carbono orgánico total (COT)	0,358	-0,153
Carbono de sustancias húmicas (SH)	0,376	-0,110
Respiración microbiana (R)	0,351	0,063
Bacterias (B)	0,280	0,073
Hongos (H)	0,241	0,088
Nitrógeno total (Nt)	0,354	-0,200

Se pone también de relieve la incidencia del tiempo en el efecto de la enmienda sobre la calidad del suelo, que sigue una tendencia inversa en los suelos rehabilitados no agrícolas y los agrícolas. Así, mientras que en los suelos no agrícolas, con una sola incorporación de una dosis elevada de enmienda, el efecto de la enmienda, se debilita con el tiempo, mostrándose los suelos de los ensayos a largo plazo (SN-28-B) más cercanos su respectivo control que los que han recibido aporte reciente de enmienda (SN-3-Z1 y SN-2-Z2), en los suelos agrícolas, donde se hacen aportes continuados de enmienda, los efectos de la enmienda son más notables en los suelos de los ensayos a largo plazo, situándose los suelos con más tiempo de tratamiento más alejados de su control (SA-16-(SP)-BIO2 vs SA-16-(SP)-BIO16.

## ENSAYO SOBRE MINERÍA DE DATOS Y SU VALIDEZ PARA EL CICLO DEL C

Una vez realizados los análisis PCA anteriormente descritos, se ha querido avanzar algo más a modo de “ensayo”, con el objetivo de estructurar los datos obtenidos de una manera más sensible. Se hace hincapié en que se considera a este apartado como un “ensayo” para futuros estudios.

Dicho lo anterior, con el fin de determinar patrones de comportamiento en los suelos degradados de zonas semiáridas frente a la incorporación de fuentes exógenas de materia orgánica y su capacidad para generar pools de C (COT, SH y Cs) que aseguren su viabilidad, se emplearon herramientas de minería de datos.

La minería de datos se puede definir como “el proceso que consiste en la aplicación de análisis de datos y descubrimiento de algoritmos que, con unas limitaciones de eficiencia computacional aceptables, producen una particular enumeración de los patrones (o modelos) sobre los datos” (Fayyad, 1996).

Las “heurísticas” son reglas para tener éxito en la resolución de problemas, sugerencias generales que ayudan a comprender mejor el problema o hacer progresos hacia su solución. Los algoritmos matemáticos son las **herramientas heurísticas** que se emplean con este objetivo. Las herramientas heurísticas para analizar esos datos de una manera automática y organizada son conocidas como Descubrimiento de Conocimiento en Bases de Datos (Knowledge Discovery in Databases, KDD) (Figura 4.3.4).

La Minería de datos, se trata de una aplicación directa de algoritmos de inteligencia artificial para, a partir de un elevado número de datos, sacar resultados (Data Mining) de ellos. Para tal fin, se empleó el software *Weka* (versión 3.8) (*Waikato Environment for Knowledge Analysis*), una biblioteca de clases de aprendizaje en Java. Weka dispone de una gran cantidad de métodos de clasificación y regresión.

### Árbol de regresión

Un árbol de regresión es un conjunto de condiciones organizadas de manera jerárquica, de tal manera que la decisión final a tomar se puede determinar siguiendo las condiciones que se cumplen desde la raíz del árbol hasta alguna de sus hojas. Una de las grandes ventajas de los árboles de decisión, es que, en su forma más general, las opciones posibles a partir de una determinada condición son excluyentes. Esto permite analizar una situación y, siguiendo el árbol de decisión apropiadamente, llegar a una sola acción o decisión a tomar.

Estos algoritmos se denominan algoritmos de “partición”. Por tanto, uno de los aspectos más importantes en los sistemas de aprendizaje de árboles de decisión es el denominado *criterio de partición*, ya que una mala elección de la partición (especialmente en las partes superiores del árbol) generará un peor árbol.

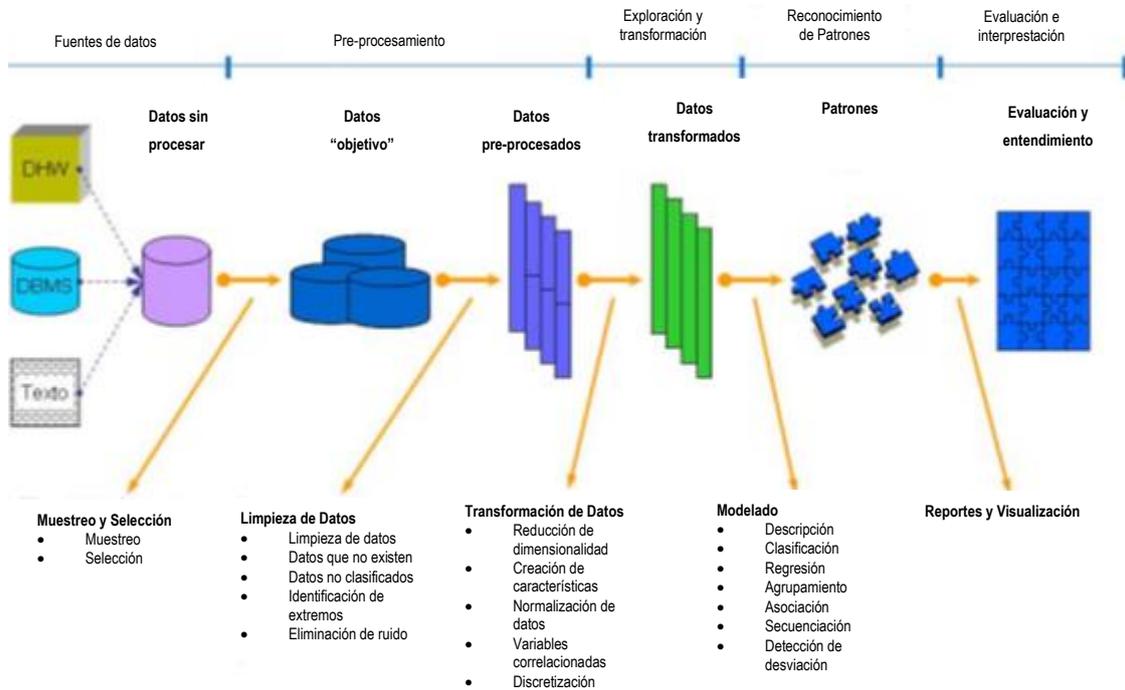


Figura 4.3.4.-Esquema de un proceso KDD. Fuente: Vizcaino Garzón, 2008

En nuestro estudio, nos hemos centrado en la generación de árboles por su fácil interpretación y la posibilidad de emplear grandes conjuntos de datos, con el fin de conocer los parámetros que más influyen en la formación de las diferentes fracciones de C (COT, SH, Cs) que conforman el pool de C en el suelo.

El objetivo de este estudio es predecir los resultados de la adición de diferentes tipos de materia orgánica exógena, en diferentes escenarios (suelos degradados agrícolas y no agrícolas), sobre la creación en el suelo de un pool de C (COT, SH, Cs); para ello, se escogieron una serie de variables descriptivas de las propiedades del suelo (Tabla 4.3.4), tanto en cuanto a sus características agronómicas (físicas y físico-químicas), como medioambientales y relacionadas con la diversidad microbiana.

El análisis estadístico se realizó mediante la utilización de árboles de regresión y su posterior análisis de significación mediante la realización de diez validaciones cruzadas. El algoritmo escogido para la realización de los siguientes gráficos, RepTREE, fue el que proporcionó un mejor equilibrio entre una buena resolución, mejores coeficientes de correlación y un gráfico de fácil interpretación. RepTREE es un tipo de árbol de aprendizaje rápido, cuya característica es aprender tomando decisiones rápidas.

**Tabla 4.3.4.**-Variables descriptivas de las propiedades del suelo

PROPIEDADES DEL SUELO	REFERENCIAS	Nº ATRIBUTOS
AGRONOMICAS	pH, CRH, D, EA, COT, Cs, SH, Nt, Pt, Kt	11
MEDIOAMBIENTALES	CE, Na <sup>+</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , metales pesados	9
DIVERSIDAD MICROBIANA:		
Actividades enzimáticas	BG, F, U, GLC, PPO, CTL, CLL	7
Respiración microbiana	R	1
Análisis de la comunidad microbiana	Gram <sup>+</sup> , Gram <sup>-</sup> , B, H, ACT	5
PROPIEDADES DE LA ENMIENDA	pH_e, CE_e, COT_e, Nt_e	4
OTROS	Zona, concentración_e, tipo de enmienda, años de ensayo	4

Este algoritmo, actúa de forma optimizada para una rápida resolución del problema: Para ello, construye en primer lugar un árbol de regresión basado en el análisis de la varianza y ganancia de la información, lo cual se consigue mediante la división en nodos. A continuación, realiza podas usando sistemas de reducción de error, seleccionando aquellas ramas en las que los errores se reducen más.

En el caso del algoritmo seleccionado, RepTREE, los parámetros que regulan el proceso de construcción del árbol, que se pueden modificar y contribuyen a una mejora en los resultados son:

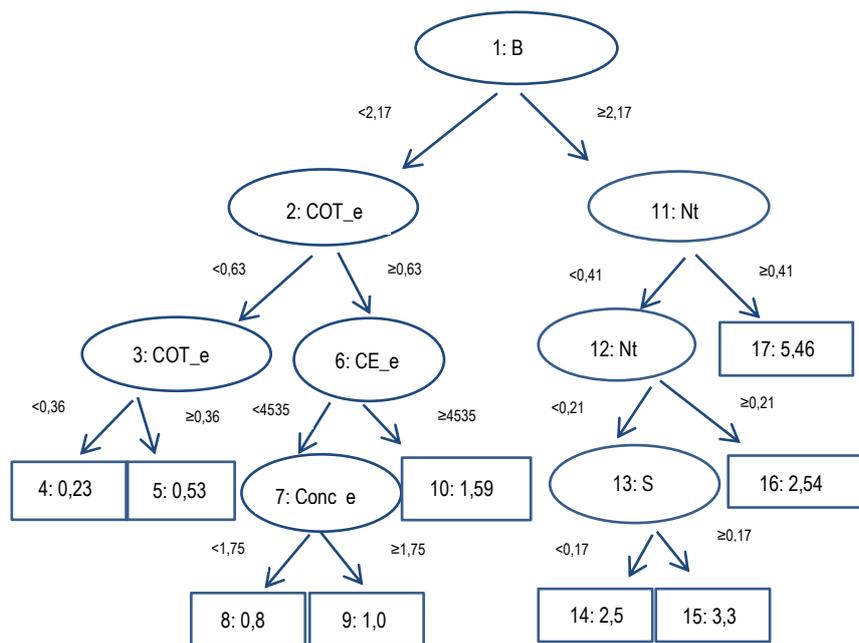
- a) La profundidad máxima del árbol,
- b) El peso mínimo total de las instancias en la hoja,
- c) Datos usados para la poda (uno es usado para la poda y el resto para el crecimiento de las reglas).

Una vez obtenido el correspondiente árbol de regresión deben ser interpretados según la pregunta “*qué ocurre si*”, realizada a partir de la raíz de cada árbol; cuanto más cercana está la propiedad a la raíz del árbol, mayor es su influencia sobre la variable predicha por el modelo. En cada uno de los gráficos resume de forma eficaz la combinación de los mejores parámetros para encontrar el mejor coeficiente de correlación (Pérez, 2017).

Para llevar a cabo este ensayo, se ha trabajado con parámetros cuya importancia se señala a continuación. El COT que se distribuye en pools o fracciones en función de su disponibilidad para ser degradado por los microorganismos del suelo. La materia orgánica del suelo una vez descompuesta (proceso de humificación) ya no proporciona tantos nutrientes para las plantas y los microbios del suelo como la fracción más activa (Cs), pero desempeña funciones muy importantes en este. Así, su fracción más activa representada por el carbono soluble asegura la disponibilidad de C a corto plazo, mientras que la fracción de sustancias húmicas actúa como reservorio a largo plazo; de ahí la importancia de conocer qué factores, bajo las condiciones ensayadas, son los que más influyen en su formación.

### Árbol de regresión para el C orgánico total

El árbol de regresión obtenido para el C orgánico total (Figura 4.3.5) señala la fuerte correlación existente entre el COT y la actividad bacteriana en dichos suelos. Cuando la actividad de la población bacteriana del suelo es más elevada se alcanzan los mayores valores en COT en éstos, siendo necesaria a su vez altas concentraciones de Nt. Cuando la población bacteriana del suelo es menos abundante, la concentración de COT del suelo está correlacionada con características de la enmienda aplicada como el C orgánico total (COT\_e) y la conductividad eléctrica (CE\_e), y en última instancia, con la de la dosis de la enmienda aplicada (Conc\_e).



**Figura 4.3.5.-**Árbol de regresión obtenido para el COT en los suelos estudiados en función de los parámetros de la Tabla 4.3.3. Parámetros del árbol: profundidad máxima=4, peso mínimo: 2, datos para la poda: 5. Coeficiente de correlación: 0,8278

Estos resultados, que establecen una fuerte dependencia de la concentración de COT en los suelos degradados con la actividad microbiana en éstos y con el contenido de COT de la enmienda y la dosis aplicada, están en consonancia con los resultados obtenidos por Lupwagi y col., (2018).

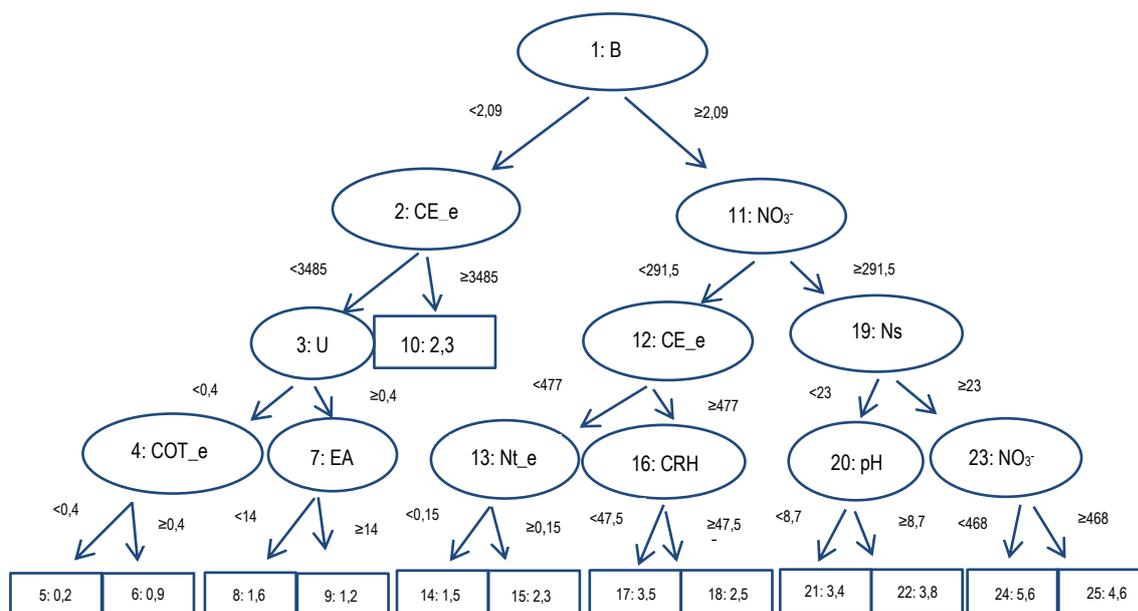
### Árbol de regresión para sustancias húmicas

Las sustancias húmicas (SH), son componentes muy importantes del suelo que afectan tanto a las propiedades físicas y químicas de éste, como a la mejora su fertilidad. Las sustancias húmicas afectan a la química, al ciclo de nutrientes en el suelo y a su biodisponibilidad, así como al transporte y degradación de xenobióticos y compuestos químicos naturales. Resultan en una mezcla compleja y heterogénea de materiales policondensados, formados por una serie de reacciones químicas y bioquímicas que tienen lugar durante la degradación y transformación de restos vegetales y microbianos.

Muchos componentes del suelo toman parte en este importante proceso. Conocer cuáles son los parámetros que intervienen en su creación en suelos degradados semiáridos, agrícolas y no agrícolas, resulta de gran interés, ya que estas sustancias forman el principal reservorio de C orgánico a medio-largo plazo en el suelo. Así, gracias al uso de las herramientas proporcionadas por los árboles de regresión, llegamos a establecer que el contenido de SH en los suelos estudiados está fuertemente influenciado por la actividad microbiana.

Como ya se ha comentado anteriormente, este resultado se apoya en el hecho de que las SH son generadas en el suelo a partir de los residuos orgánicos, vegetales y animales que han sido sometidos a procesos de transformación microbiana.

Por otro lado, tal y como nos muestra el árbol generado (Figura 4.3.6), es importante la concentración de Ns en el suelo, alcanzándose para los valores más elevados de este parámetro las mayores concentraciones de SH. El papel del nitrógeno en el proceso de formación de sustancias húmicas es muy importante ya que acelera su formación, aumenta su generación, e incrementa su resistencia a la biodegradación. Este nitrógeno se puede encontrar formando parte de proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, clorofilas, etc. Cuando la población microbiana en el suelo es baja, cobra especial importancia la naturaleza de la enmienda orgánica empleada en el ensayo de recuperación.



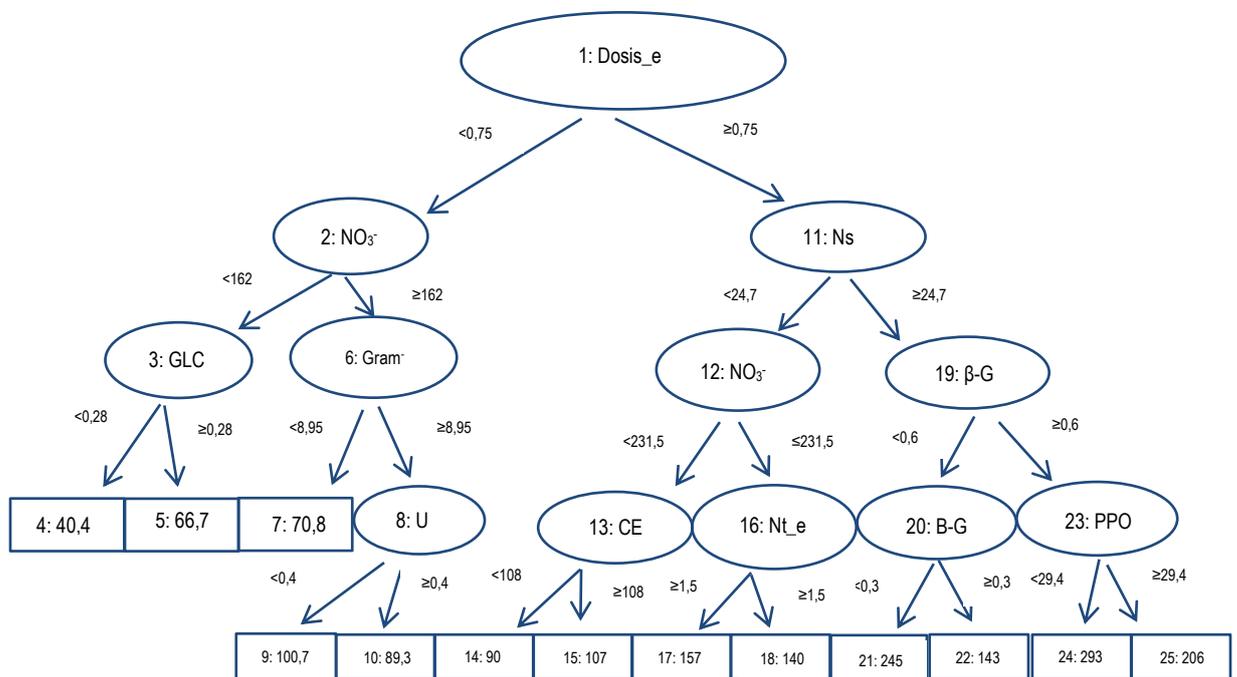
**Figura 4.3.6.**-Árbol de regresión obtenido para las SH en el suelo considerando todos los parámetros estudiados (Tabla 4.3.3). Parámetros del árbol: profundidad máxima=4, peso mínimo: 2, datos para la poda: 4, Coeficiente de correlación: 0,8165

El árbol de regresión nos muestra también una buena correlación de las SH con la actividad ureasa, lo cual es atribuible a la relación de esta enzima con la liberación de N disponible soluble en el suelo, así como con las características de la enmienda (COT\_e, CE\_e, Nt\_e).

### Árbol de regresión para el C soluble

El árbol de regresión obtenido para el Cs en suelo, nos manifiesta su relación directa con la dosis de la enmienda aplicada, y la importancia del Ns, así como de la actividad enzimática  $\beta$ -glucosidasa en el suelo, ya que las mayores concentraciones de este parámetro en el suelo tras la adición de materia orgánica se alcanzan cuando estos parámetros son más elevados, (Figura 4.3.7).

Otro factor que influye en este caso negativamente en la concentración de Cs en el suelo, es la cantidad de nitratos cuando el aporte de materia orgánica exógena es inferior, obteniendo menores cantidades de Cs en estas condiciones.



**Figura 4.3.7.**-Árbol de regresión obtenido para Cs en los suelos estudiados considerando los parámetros estudiados (Tabla 4.3.3). Parámetros del árbol: profundidad máxima=4, peso mínimo: 2 datos para la poda: 5, Coeficiente de correlación: 0,9137

En general, con el análisis de los datos obtenidos a través de los árboles de regresión se comprueba la importante contribución de las enmiendas orgánicas a las poblaciones microbianas del suelo, así como en la construcción de cada una de las fracciones de C en los suelos semiáridos no agrícolas y agrícolas, estudiados a lo largo del presente trabajo de Tesis Doctoral. El ciclo de la materia orgánica del suelo está mediado principalmente por la actividad y composición de la comunidad microbiana (Balser y Firestone, 2005; Bowles y col., 2014). Así, los microorganismos del suelo son los principales responsables de la descomposición de la materia orgánica y del turn-over de carbono orgánico total (COT) y nutrientes para las plantas en el suelo (Lupwayi y col., 2018). Como se ha comentado anteriormente, cuanto más próxima está la propiedad que se indica a la raíz del árbol, mayor es su influencia sobre la variable predicha por el modelo.

Así, queda patente el papel primordial de la dosis de la enmienda empleada, así como el aporte de COT y N que realiza la enmienda al suelo, en la construcción del pool de C en el mismo.

En función de los resultados obtenidos, consideramos que el empleo de herramientas como la minería de datos en estudios como el nuestro, puede proporcionar información más detallada sobre alguno de los ciclos de elementos, abriendo nuevas opciones sobre el conocimiento de procesos en el suelo.

# **CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

Este trabajo de Tesis Doctoral tiene como base aspectos relacionados con la importancia de la función del suelo en la mitigación del cambio climático, gracias a su contribución como agente regulador dentro del ciclo del C. Bajo las premisas de los problemas ocasionados por el fenómeno actual de la desertificación en los suelos de zonas semiáridas, junto con la generación excesiva de residuos orgánicos como resultado de nuestro estilo de vida, surge la necesidad de mejorar nuestro conocimiento en el desarrollo de estrategias que nos permitan asegurar la sostenibilidad del suelo.

Los suelos degradados de zonas semiáridas tanto agrícolas como no agrícolas, son muy frágiles debido a su extrema escasez en materia orgánica, de forma que una de las estrategias más adecuadas para su recuperación podría ser la incorporación a los mismos de la materia orgánica de la cual carecen.

En base a esto, en este trabajo de Tesis Doctoral nos planteamos como **Objetivo General** la evaluación de la capacidad y eficacia del manejo de enmiendas orgánicas, procedentes de diferente origen y con distinto grado de estabilidad, incorporándolas en diversos escenarios y a diferentes dosis, evaluando su efecto a distintas escalas de tiempo, siempre bajo la premisa de construir nuevos y estables pools de C orgánico en el suelo, que permitan asegurar la sostenibilidad de estos ecosistemas. Para ello, nos hemos centrado en el estudio global de parámetros agronómicos, ambientales, y aquellos relacionados con la diversidad microbiana, que nos permiten conocer de forma detallada cuales son los procesos que rigen la dinámica del C en suelos semiáridos no agrícolas y agrícolas.

**Las principales conclusiones** derivadas de este estudio han sido las siguientes:

En los ensayos bajo la estrategia de aplicación única de enmienda a dosis elevada con el objetivo de restauración de suelos no agrícolas abandonados muy degradados, se ha puesto de manifiesto que:

- En general, la adición de enmiendas orgánicas de calidad a suelos no agrícolas degradados produce tanto a corto, como a medio y largo plazo, una considerable mejora de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo, favoreciendo la creación de un pool de carbono en el mismo (incremento del contenido de COT y sus fracciones: Cs y SH), gracias a la capacidad de desarrollar una cubierta vegetal, que asegura el retorno de materia orgánica al suelo, promoviendo, asimismo, un mayor desarrollo y actividad de las poblaciones microbianas del suelo.
- La magnitud de estos efectos varía en función de las características del suelo al que se añade la enmienda, tal como se ha puesto de relieve en el ensayo a corto plazo (3 años) en el que una misma enmienda se ha añadido a dos tipos diferentes de suelos, obteniendo diferente respuesta en función del tipo de suelo.

- El efecto beneficioso de las enmiendas orgánicas sobre la calidad del suelo persiste en el medio (7-10 años) y largo plazo (28 años después de la adición de la enmienda), y se ve influenciado por la naturaleza, grado de estabilidad y dosis de aplicación de la enmienda, siendo los mecanismos a través de los cuales estas enmiendas afectan a las propiedades del suelo, diferentes. Así, por ejemplo, el efecto de la incorporación al suelo del estiércol animal difiere del de otros residuos frescos tales como los lodos de depuradora, la fracción orgánica de las basuras domiciliarias (introducidas a nivel de investigación), o el residuo vegetal cuando se aplican al mismo tipo de suelo.
- Diez años después de la adición de una misma enmienda orgánica (lodo de depuradora) con diferente grado de estabilidad, fresca y compostada, a un suelo degradado, se observó que los efectos beneficiosos de la enmienda sobre las propiedades del suelo, las poblaciones microbianas, y la creación de un pool de carbono en el suelo eran más significativos en los suelos que recibieron el aporte de la enmienda compostada que en los que recibieron enmienda fresca, por lo que podemos concluir que estas enmiendas estabilizadas, que contiene mayor cantidad de compuestos menos biodegradables, ofrecen efectos más duraderos sobre la calidad del suelo.
- La adición de la fracción orgánica de basuras domiciliarias (sometida a un periodo de estabilización de 21 días) a diferentes dosis en un ensayo a largo plazo (28 años), ha puesto de manifiesto que después de ese tiempo desde la adición de la enmienda, los suelos enmendados siguen mostrando, cuando se han aplicado a dosis elevadas, una notable mejora, con relación al control, de las propiedades físicas y físico-químicas del suelo, así como de la actividad de diferentes enzimas hidrolasas, traduciéndose en un mayor desarrollo de las poblaciones microbianas y en un incremento del contenido de carbono de esos suelos. Hay que resaltar que esta mejoría está marcada por la dosis de enmienda aplicada, siendo necesario el empleo de altas dosis para que dicha mejoría fuese persistente en el largo plazo, manifestando los suelos tratados a dosis más bajas una tendencia después de un plazo de tiempo tan largo a volver a sus características iniciales.
- Que la mejora en la calidad del suelo producida por la incorporación de la enmienda, favorece el desarrollo en el mismo de una vegetación espontánea, la cual, contribuye de modo fundamental al mantenimiento de un nivel adecuado de materia orgánica en el suelo, a través de los exudados radiculares y el retorno de restos vegetales, a la vez que protege al suelo frente a procesos erosivos por viento y agua.

La estrategia de aplicación de enmiendas orgánicas a dosis bajas y de manera continuada a suelos agrícolas en zonas semiáridas, ha puesto de manifiesto lo siguiente:

- La adición de enmienda orgánica a suelos agrícolas mejora la calidad de dichos suelos, incrementando su porosidad y capacidad de retención hídrica, así como el porcentaje de agregados estables. Estas enmiendas, aportan materia orgánica que reactiva el desarrollo y actividad de las comunidades microbianas del suelo, favoreciendo la liberación de nutrientes y su disponibilidad, incrementando, por tanto, la fertilidad del suelo.
- El efecto beneficioso de las enmiendas sobre las características del suelo es ya apreciable a corto plazo como lo evidencia el hecho de que la adición durante dos años consecutivos de una enmienda fresca como es el lodo de depuradora, a un suelo con cultivo de cereal, ha sido suficiente para contribuir al incremento de las fracciones de C y macronutrientes en el suelo, mejorando las propiedades agronómicas del mismo e incrementando el tamaño y actividad de las poblaciones microbianas.
- La adición de enmiendas a suelos agrícolas ha favorecido, tanto a corto, como a medio y largo plazo, la creación de un pool de C en estos suelos, incrementando en ellos tanto el contenido de C orgánico total como el de C hidrosoluble y sustancias húmicas.
- Al igual que se vio en el caso de los suelos degradado restaurados, en los suelos agrícolas se ha puesto también de relieve que el efecto de la enmienda sobre las características del suelo y la fijación de C en el mismo, viene condicionado por la naturaleza de la enmienda y su grado de estabilidad, mejorando la calidad agronómica del suelo con la adición continuada de estas enmiendas al suelo. Por tanto, los efectos de estas enmiendas son más apreciables en el largo que en el corto plazo.
- El manejo del suelo agrícola bajo tratamiento de biosolarización y cultivo de pimiento, resultó en una mejora de su fertilidad, tanto en ensayos a corto (2 años) como a largo plazo (16 años), denotando su capacidad para conservar la calidad de suelos agrícolas sometidos a agricultura intensiva, asegurando la producción constante del cultivo. La aplicación continuada de biosolarización (16 años) conduce, con respecto a su aplicación a más corto plazo (2 años), a un mayor incremento en el porcentaje de agregados estables, una mayor actividad de las enzimas celulasa,  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa y catalasa, y un mayor desarrollo de las poblaciones de bacterias, así como a una mayor estabilización de la materia orgánica contenida en suelo, como se ha puesto de relieve por los menores valores de respiración microbiana y el mayor contenido de sustancias húmicas en este suelo con 16 años de tratamiento de biosolarización.
- La aplicación de enmiendas de calidad y con un manejo adecuado de las mismas, no supone riesgo alguno de salinización para el suelo receptor, contaminación por metales pesados o lixiviación de nitratos.

El tratamiento estadístico global de los datos obtenidos ha puesto de relieve lo siguiente:

- Tanto en los suelos degradados no agrícolas como en los suelos agrícolas, la aplicación de enmiendas orgánicas ha conducido a una notable mejora de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de los suelos donde se han aplicado, con independencia de la naturaleza de la enmienda, manejo, dosis, o tiempo transcurrido desde la enmienda, si bien, todos estos factores influyen en la magnitud de los efectos de estas enmiendas sobre los parámetros agronómicos, medioambientales y microbiológicos considerados. Así los análisis de componentes principales (PCA) realizados a los suelos agrícolas y no agrícolas estudiados, tanto separadamente como en su conjunto, discriminan claramente los suelos no enmendados de los enmendados, poniendo de relieve la mejor calidad de estos últimos.
- El análisis multivariante ha puesto asimismo de relieve que, en general, los suelos degradados restaurados mejoran en mayor proporción que los agrícolas los contenidos de COT y sus fracciones (Cs y SH), mostrándose más eficaces para actuar como sumideros de carbono.

Los árboles de regresión generados para el carbono orgánico total (COT) y sus fracciones (C hidrosoluble y sustancias húmicas) utilizando diferentes variables descriptivas de las propiedades del suelo nos llevan a concluir que:

- El Contenido de carbono orgánico total (COT) de los suelos degradados guarda una estrecha correlación positiva con la comunidad bacteriana y el contenido de N total de dichos suelos, estando dicho contenido de COT del suelo altamente influenciado por las características de la enmienda (contenido de carbono orgánico y conductividad eléctrica) y por la dosis.
- El contenido de sustancias húmicas en estos suelos está también altamente correlacionado con las poblaciones bacterianas, así como con la concentración de N hidrosoluble, actividad ureasa y las características de la enmienda (contenido de C orgánico y conductividad eléctrica).
- El contenido de C hidrosoluble, se ha mostrado altamente influenciado por la dosis de enmienda aplicada, así como por el N hidrosoluble y las actividades del ciclo del C y del N,  $\beta$ -glucosidasa y glicina-aminopeptidasa.

Como **Conclusión General** de este trabajo de Tesis Doctoral se puede señalar que la adición de enmiendas orgánicas de diferente origen y grado de estabilidad a suelos semiáridos degradados, tanto agrícolas como no agrícolas, dota a estos de una mayor calidad y una mejoría general de sus propiedades agronómicas y relacionadas con la diversidad microbiana, sin afectar negativamente al medio ambiente, siempre sobre la base del empleo de enmiendas de calidad y con un manejo adecuado de las mismas. Este impacto sobre la calidad del suelo dependerá del tipo de manejo de la enmienda, de su naturaleza y dosis de aplicación, y de las características del suelo (textura, propiedades físicas y físico-químicas) sobre el que se aplica. El estudio a diferentes escalas de tiempo, nos ha permitido constatar que los suelos semiáridos no pierden su capacidad

*de respuesta a las entradas de materia orgánica exógena, siendo capaces de desarrollar y mantener un pool de C al cabo del tiempo, gracias una cobertura vegetal estable en aquellos suelos desprovistos de vegetación. Es importante destacar que el efecto de las enmiendas sobre la calidad del suelo no es puntual, sino persistente en el tiempo consiguiendo restaurar y mantener la fertilidad edáfica en estos ecosistemas. La adición de fuentes de C exógenas (enmiendas orgánicas de calidad) a suelos de clima semiárido con un manejo adecuado, se puede considerar, después de nuestro estudio, como una estrategia sostenible y necesaria si se quiere conservar y mantener en condiciones óptimas un Recurso Natural tan importante como el SUELO.*



# **BIBLIOGRAFÍA**



## BIBLIOGRAFÍA

- Abiven, S., Menasseri, S., Chenu, C., 2009. The effects of organic inputs over time on soil aggregate stability: A literature analysis. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1-12.
- Acevedo, E., Carrasco, M., León, O., Silva, P., Castillo, G., Ahumada, I., Borie, G., González, S., 2005. Informe de criterios de calidad de suelo agrícola. Servicio Agrícola y ganadero. Ministerio de Agricultura. Gobierno de Chile. 205 p.
- Achmon, Y., Sade, N., Wilhelmi, M.R., Fernández-Bayo, J.D., Harrold, D.R., Stapleton, J.J., VanderGheynst, S.S., Blumwald, E., Simmons, C.W., 2018. Effects of short-term biosolarization using mature compost and industrial tomato waste amendments on the generation and persistence of biocidal soil conditions and subsequent tomato growth. *J Agric. Food Chem.* 66(22), 5451-5461. doi: 10.1021/acs.jafc.8b00424.
- Adani, F., Genevini, P., Ricca, G., Tambone, F., Montoneri, E., 2007. Modification of soil humic matter after 4 years of compost application. *Waste Manag.* 27(2), 319-324. doi: 10.1016/j.wasman.2006.04.004.
- Adhikari, K., Hartemik, A.E., 2016. Linking soils to ecosystem services- A global review. *Geoderma* 262, 101-11.
- Aguilera, S.M., 2000. Importancia de la protección de la materia orgánica en suelos. Simposio Proyecto Ley Protección de Suelo. Boletín N°14. Valdivia 77-85.
- Albadalejo, J., Castillo, V., Díaz, E., 2000. Soil loss and runoff on semiarid land as amended with urban solid refuse. *Land Degrad. Develop.* 11, 363-373. doi: 10.1002/1099-145x(200007/08)11:4<363::AID-LDR399>3.0.CO;2-R.
- Albadalejo, J., López, J., Boix-Fayos, C., Barberá, G.G., Martínez-Mena, M., 2008. Long-term effect of a single application of organic refuse on carbon sequestration and soil physical properties. *J. Env. Qual.* 37, 2093-2099.
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F., 2001. Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendments to a horticultural soil. *Bioresour. Technol.* 76 (2), 125-129.
- Albuquerque, J.A., González, J., García, D., Cegarra, J., 2004. Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresour. Technol.* 91, 195-200.
- Albuquerque, J.A., González, J., Tortosa, G., Baddi, G.A., Cegarra, J., 2009. Evaluation of "alperujo" composting based on organic matter degradation, humification and compost quality. *Biodegradation* 20, 257-270.

- Albuzio, A., Nardi, S., Guilli, A., 1989. Plant growth regulator activity of small molecular size humic fractions. *Sci. Total Environ.* 81, 671-64.
- Alguacil, M.M., Roldán, A., Torres, M.P. 2009,. Assessing the diversity of AM fungi in arid gypsophilous plant communities. *Environ. Microbiol.* 11(10), 2649-2659. doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.01993.x.
- Allison, S.D., 2006. Soil minerals and humic acids alter enzyme stability: implications for ecosystem processes. *Biogeochemistry* 81, 361-373.
- Almagro, M., de Vente, J., Boix-Fayos, C., García-Franco, N., Melgares de Aguilar, J., González ,D., Solé-Benet, A., Martínez-Mena, M., 2016. Sustainable land management practices as providers of several ecosystem services under rainfed Mediterranean ecosystems. *Mitig. Adapt. Strat. Glob. Change.* 21, 1029-1043.
- Alvarenga, P., Mourinha, C., Fartos, M., Santos, T., Palma, P., Sengo, J., Morais, M.C., Cunha-Queda, C., 2015. Sewage sludge, compost and other representative organic wastes as agricultural soil amendments: Benefits versus limiting factors. *Waste Manag.* 40, 44-52. doi: 10.1016/j.wasman.2015.01.027.
- Alvarenga, P., Palma, P., Mourinha, C., Farto, M., Dôres, S., Patanita, M., Cunha-Queda, C., Natal-da-luz, T., Renaud, M., Sousa, J.P., 2017. Recycling organic wastes to agricultural land as a way to improve its quality: A field study to evaluate benefits and risks. *Waste Manag.* 61, 582-592. doi: 10.1016/j.wasman.2017.01.004.
- Álvarez de la Puente, J.M., García Ruiz, R., Jáuregui Arana, J., Martín Pérez, A., 2011. Compostaje de alperujos y mejora del suelo de olivar en Andalucía. En; *Compostaje. Salud del suelo y uso de energía en el mundo rural. Libro de Actas del II Simposio de Compostaje "Salud del suelo y uso de la energía en el mundo rural".* CFEA "Pedro Murias". Vilaframil-Ribadeo. 27-29 de Julio de 2011.
- Álvaro-Fuentes, J., López, M.V., Cantero-Martínez, C., Arrúe, J.L., 2008. Tillage effects on soil organic carbon fractions in Mediterranean dryland agroecosystems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72, 541-547.
- Álvaro-Fuentes, J., Easter, M., Cantero-Martínez, C., Paustian, K., 2011. Modeling soil organic carbon stocks and their changes in the northeast Spain. *Eur. J. Soil Sci.* 62, 685-695.
- Alvear, M., Urra, C., Huaiquillao, R., Astorga, M., Reyes, F., 2007. Actividades biológicas y estabilidad de agregados en un suelo del bosque templado chileno bajo dos etapas sucesionales y cambios estacionales. *R. C. Suelo Nutr. Veg.* 7(3), 38-50.
- Angers, D.A., Edwards, L.M., Sanderson, J.B., Bissonnette, N., 1999. Soil organic matter quality and aggregate stability under eight potato cropping sequences in a fine sandy loam of Prince Edward Island. *Can. J. Soil Sci.* 79, 411-417. doi: 10.4141/S98-033.

- Annabi, M., HOUOT, S., Francou, C., Poitrenaud, F. Le Bissonais, Y., 2007. Soil aggregate stability improvement with urban compost of different maturities. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 71(2), 413-423.
- Antolín, M.C., Pascual, I., García, C., Polo, A., Sánchez-Díaz, M., 2005. Growth, yield and solute content of barley in soils treated with sewage sludge under semiarid Mediterranean conditions. *Field Crop. Res.* 94, 224-237.
- Aranda, V., Macci, C., Peruzzi, E., Masciandaro, G., 2015. Biochemical activity and chemical-structural properties of soil organic matter 17 years of amendments with olive-mill pomace co-compost. *J. Environ. Manage.* 147, 278-285.
- Armas, C., Miranda, J.D., Padilla, F.M., Pugnaire, F.I., 2011. Special issue: The Iberian southeast. *J. Arid. Environ.* 75, 1241-1243.
- Atlas, R., Bartha, R., 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. *Int. Microbiol.* 4 (4), 239-240. doi.org: 10.1007/s10123-001-0045-9.
- Ayuso, L.M., 1995. Utilización de residuos orgánicos como enmiendas orgánicas sólidas y líquidas: Valoración agronómica y efectividad frente a enmiendas tradicionales. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Ayuso, L.M., Pascual, J.A., García, C., Hernández, T., 1996. Evaluation of urban wastes for agricultural use. *Soil Sci. Plant Nutr.* 42, 105-111.
- Azcón-Bieto, J., Talón, M., 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2ª Edición. Publicacions i edicions de la UB. McGraw-Hill Interamericaba
- Bai, Z.G., Dent, D.L., Olson, L., Schaepman, M.E., 2008. Global assessment of land degradation and improvement. 1: Identification by remote sensing. Report 2008/ISRIC: World Soil Information, Wageningen, The Netherlands.
- Baldi, E., Toselli, M., Marcolini, G., Quartieri, M., Cirillo, E., Innocenti, A., 2010. Compost can successfully replace mineral fertilizers in the nutrient management of commercial peach orchard. *Soil Use Manage.* 26, 346-353.
- Balser, T.C., Firestone, M.K., 2005. Linking microbial community composition and soil processes in a California annual grassland and mixed-conifer forest. *Biogeochemistry* 73, 395-415.
- Bardgett, R.D., McAlister, E., 1999. The measurement of the soil fungal:bacterial biomass ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grasslands. *Biol. Fert. Soils.* 29, 282-290.
- Bastida, F., Moreno, J.L., García, C., Hernández, T., 2006. Microbiological activity in a soil 15 years after its revegetation. *Soil. Biol. Biochem.* 38, 2503-2507.
- Bastida, F., Moreno, J.L., Hernández, T., García, C., 2007. The long-term effects on the management of a forest soil on its carbon content, microbial biomass and activity under a semi-arid climate. *Appl. Soil Ecol.* 37(2), 53-62.

- Bastida, F., Kandeler, E., Hernández, T., García, C., 2008 a. Long-term effect of municipal solid waste amendment on microbial abundance and humus-associated enzyme activities under semiarid conditions. *Microb. Ecol.* 55, 651-661.
- Bastida, F., Kandeler, E., Moreno, J.L., Ros, M., García, C., Hernández, T., 2008 b. Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Appl. Soil Ecol.* 40, 318-329.
- Bastida F., Hernández T., Albadalejo J., García C., 2013. Phylogenetic and functional changes in the microbial community of long-term restored soils under semiarid climate. *Soil Biol. Biochem.* 65, 12-21.
- Bastida, F., Selevsek, N., Torres, I.F., Hernández, T., García, C., 2015. Soil restoration with organic amendments: linking cellular functionality and ecosystem services. *Sci. Rep.* 5, 15550. doi: 10.1038/srep15550.
- Bautista, A., Etchevers, J., del Castillo, R.F., Gutiérrez, C., 2004. La calidad del suelo y sus indicadores. *Ecosistemas* 13(2), 90-97.
- Bello, A., López-Pérez, J.A., Díaz-Viruliche, L., Tello, J., 2000. Alternativas al bromuro de metilo como fumigante del suelo en España. In: R. Labrada (ED.) Report on validated Methyl Bromide alternatives. FAO, Rome, 13 pp.
- Ben-David, E.A., Zaady, A., Sher, Y., Nejidat, A., 2011. Assesment of the spatial distribution of soil microbial communities in patchy arid and semi-arid landscapes of the Negev Desert using combined PLFA and DGGE analyses. *Fems. Microbiol. Ecol.* 76, 492-503.
- Bendfeldt, E.S., Burger, J.A., Daniels, W.L., 2001. Quality of amended mine soils after sixteen years. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 1736-1744.
- Benke, M.B., Indratne S.P., Hao X., Chang C., Goh T.B., 2008. Trace element changes in soil after long-term cattle manure applications. *J. Environ. Qual.* 2, 37(3), 798-807. doi: 10.2134/jeq2007.0214.
- Berg, M.P., Kniese, J.P., Verhoef, H.A., 1998. Dynamics and stratification of bacteria and fungi in the organic layers of a scots pine forest soil. *Biol. Fert. Soils* 26, 313-322.
- Berg, B., 2014. Decomposition patterns for foliar litter-a theory for influencing factors. *Soil Biol. Biochem.* 78, 222-232.
- Bernard, E., Larkin, R.P., Tavantzis, S., Erich, M.S., Alyokhin, A., Sewel, G., Lannan, A., Gross, S.D., 2012. Compost, rapeseed rotation, and biocontrol agents significantly impact soil microbial communities in organic and conventional potato production systems. *Appl. Soil Ecol.* 52 (1), 29-41. DOI: 10.1016/j.apsoil.2011.10.002.

- Bhattacharya, S.S., Ki-Hyun, K., Das, S., Uchimiya, M., Jean, B.H., Kwon, E., Szulejko, J.E., 2016. A review on the role of organic inputs in maintaining the soil carbon pool of the terrestrial ecosystem. *J. Environ. Manage.* 167, 214-227.
- Biggs, E.M., Bruce, E., Boruff, B., Duncan, J.M.A., Horsley, S., Pauli, N., McNeill, K., Neef, A., Von Ogtrop, F., Curnow, J., Haworth, B., Duce, S., Imanari, Y., 2015. Sustainable development and the water-energy-food nexus: a perspective on livelihoods. *Environ. Sci. Policy* 54: 389-397. doi: 10.1016/j.envsci.2015.08.002.
- Bisaro, A., Kirk, M., Zdruli, P., Zimmermann, W., 2014. Global drivers setting desertification research priorities: insights from a stakeholder consultation forum. *Land Degrad. Dev.* 25, 5-16.
- Blanchet, G., Gavazov, K., Bragazza, L., Sinaj, S., 2016. Responses of soil properties and crop yields to different inorganic and organic amendments in a Swiss conventional farming system. *Agr. Ecosyst. Environ.* 230, 116-126. doi: 10.1010/j.agee/2016.05-032.
- Blum, W.E.H., 2005. Functions of Soil for Society and the Environment. *Rev. Environ. Sci. Bio.* 4(3), 75-79.
- BOE-A-2011-13046. Ley 22/2011, de 28 de Julio, de residuos y suelos contaminados.
- Böhme, L., Langer, Y., Böhme, F., 2005. Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments. *Agric. Ecosyst. Environ.* 109, 141-152.
- Boix-Fayos, C., Calvo-Cases, A., Imeson, A.C., 2001. Influence of soil properties on the aggregation of some Mediterranean soils and use of aggregate size and stability as land degradation indicators. *Catena* 44, 47-67.
- Börjesson, G., Menichetti, L., Kirchmann, H., 2012. Soil microbial community structure affected by 53 years of nitrogen fertilization and different organic amendments. *Biol. Fert. Soils* 48, 245-257.
- Bossio, D., Scow, K.M., Gunapala, N., Graham, K., 1998. Determinants of soil microbial communities: effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. *Microb. Ecol.* 36, 1-12.
- Bouajila, K., Sanâa, M., 2011. Effects of organic amendments on soil physico-chemical and biological properties. *J. Mater. Environ. Sci.* 2, 485-490.
- Bouyoucos, G.J., 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agron. J. Madison* 54(3), 464-465.
- Bowles, T.M., Acosta-Martínez, V., Calderón, F., Jackson, L.E., 2014. Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. *Soil Biol. Biochem.* 68, 252-262.
- Boyrahmadi, M., Raiesi, F., 2018. Plant roots and species moderate the salinity effect on microbial respiration, biomass and enzyme activities in a sandy clay soil. *Biol. Fert. Soils* 54, 509-521.

- Brady, N.C., Weil, R.R., 2008. *The nature of properties of soil*, 14 ed. Prentice-hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Brant, J.B., Sulzman, E.W., Myrold, D.D., 2006. Microbial community utilization of added carbon substrates in response to long-term carbon input manipulation. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2219-2232.
- Bravo Martín-Consuegra, S., García-Navarro, F.J., Amorós-Ortíz-Villajos, J.A., Pérez de los Reyes, C., Higuera, P.L., 2016. Effect of the addition of sewage sludge as a fertilizer on a Sandy vineyard soil. *J. Soils Sediments* 16 (4), 1360-1365.
- Brebdecke, J.W., Axelson, R.D., Pepper, I.L., 1993. Soil microbial activity as an indicator of soil fertility: Long-term effects of municipal sewage sludge on an arid soil. *Soil Biol. Biochem.* 25(6), 751-758. doi: 10.1016/0038-0717(93)901117-5.
- Bronick, C.J., Lal R., 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma* 124, 3-22.
- Brookes, P.C., Cayuela, M.L., Contin, M., De Nobili, M., Kemmitt, S.J., Mondini, C., 2008. The mineralisation of fresh and humified soil organic matter by the soil microbial biomass. *Waste Manage.* 28(4), 716-722. doi: 10.1016/j.wasman.2007.09.025.
- Bruun, T.B., Elberling, B., de Neergaard, A., Magid, J., 2015. Organic carbon dynamics in different soil types after conversion of forest to agriculture. *Land Degrad. Develop.* 26, 272-283. doi: 10.1002/ldr.2205.
- Burns, R.G., Davies, J.A., 1986. The microbiology of soil structure. *Biol. Agric. Hortic.* 3(2-3), 95-113.
- Burns, R.G., DeForest, J., Marxsen, J., Sinsabaugh, R., Stromberger, M.E., Wallestein, M., Weintraub, M.N., Zoppini, A., 2013. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biol. Biochem.* 58, 216-234. doi: 10.1016/j.soilbio.2012.11.009.
- Busby, R.R., Torbet, H.A., Gebhart, D.L., 2007. Carbon and nitrogen mineralization of non-composted and composted municipal solid waste in sandy soils. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1277-83. doi: 10.1016/j.soilbio.2006.12.003.
- Caban, J.R., Kuppusamy, S, Kim, J.H, Yoon, Y.E., Kim, S.Y., Lee, Y.B., 2018. Green manure amendment enhances microbial activity and diversity in antibiotic-contaminated soil. *Appl. Soil Ecol.* 129, 72-76. doi: 10.1016/j.apsoil.2018.04.013.
- Cabrera, F., Martín-Olmedo, P., López, R., Murillo, J.M., 2005. Nitrogen mineralization in soils amended with composted olive mil sludge. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 71(3), 249-258. doi: 10.1007/s10750-004-6373-3.
- Cai, B.J., Xie, L., Yand, D.H., Arcangeli, J.P., 2010. Toxicity evaluation and prediction of toxic chemicals on activated sludge system. *J. Hazard. Mater.* 177 (1-3), 414-419. doi: 10.1016/j.hazmat.2009.11.452.
- Calleja-Cervantes, M.E., Menéndez, J., Fernández-González, A.J., Irigoyen, I., Cibrián-Sabalza, J.F., Toro, N., Aparicio-Tejo, P.M., Fernández-López, M., 2015. Changes in soil nutrient content and bacterial

- community after 12 years of organic amendment application to a vineyard: compost changes soil's mineral content and microbial community. *Eur. J. Soil Sci.* 66 (4), 802-812. doi: 10.1111/ejss.12261.
- Calleja-Cervantes, M.E., Aparicio-Tejo, P.M., Villadas, P.J., Irigoyen, I., Irañeta, J., Fernández-González, A.J., Fernández-López, M., Menéndez, S., 2017. Rational application of treated sewage sludge with urea increases GHG mitigation opportunities in Mediterranean soils. *Agr. Ecosyst. Environ.* 238, 1147-127.
- Camberato, J.J., Gagnon, B., Angers, D.A., Chantigny, M.H., Pan, W.L., 2006. Pulp and papermill by-products as soil amendments and plant nutrient sources. *Can. J. Soil Sci.* 86, 641-653.
- Campbell, C.A., Zentner, R.P., 1993. Soil organic matter as influenced by crop rotations and fertilization in an aridic haploboroll. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, 1034-1040.
- Caravaca, F., Masciandaro, G., Ceccanti, B., 2002. Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semiarid Mediterranean environment. *Soil Till. Res.* 68, 23-30.
- Carbonell, G., Pro, J., Gómez, N., Babín, M.M., Fernández, C., Alonso, E., Tarazona, J.V., 2009. Sewage sludge applied to agricultural soil: Ecotoxicological effects on representative soil organisms. *Ecotox. Environ. Safe.* 72(4), 1309-1319. doi: 10.1016/j.ecoenv.2009.01.007.
- Carlson, J., Saxena, J., Basta, N., Hundal, L., Busalacchi, D., Dick R.P., 2015. Application of organic amendments to restore degraded soil: effects on soil microbial properties. *Environ. Monit. Assess.* 187(3), 109. doi: 10.1007/s10661-015-4293-0.
- Carrasco, L., Caravaca, F., Azcón, R., Roldán, A., 2009. Soil acidity determines the effectiveness of an organic amendment and a native bacterium for increasing soil stabilization in semiarid mine tailings. *Chemosphere* 74, 239-244.
- Carrera, L.M., Buyer, J.S., Vinyard, B., Abdul-Baki, A.A., Sikora, L.J., Teasdale, J.R., 2007. Effects of cover crops, compost, and manure amendments on soil microbial community structure in tomato production systems. *Appl. Soil Ecol.* 37(3), 247-255.
- Carrión, P., Fernández, S., Jiménez-Moreno, G., Fauguet, S., Gil-Romera, G., González-Sampériz, P., Finlayson, C., 2010. The historical origins of aridity and vegetation degradation in southeastern Spain. *J. Arid. Environ.* 74 (7), 731-736.
- Cayuela, M.L., Mondini, C., Sánchez-Monedero, M.A., Roig, A., 2008. Chemical properties and hydrolytic enzyme activities for the characterization of two-phase olive mill wastes composting. *Bioresour. Technol.* 99, 4255-4262.
- Cayuela, M.L., Sánchez-Monedero, M.A., Roig, A., 2010. Two-phase olive mill waste composting: enhancement of the composting rate and compost quality by grape stalks addition. *Biodegradation* 21, 465-473.

- C.E.C., 2006. Communication from the Commission to the Council (CEC), the European Parliament, the European economic and Social Committee and the Committee of the Regions: Thematic Strategy for Soil Protection. Commission of the European Communities, COM, Brussels, p. 231.
- Cegarra, J., Paredes, C., 2008. Residuos agroindustriales. En: Moreno, J. y Moral, R. (Eds.). Compostaje. pp. 519-551. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Celik, I., Ortas, I., Kilic, S., 2004. Effects of compost, mycorrhiza, manure and fertilizer on some physical properties of a Chromoixerert soil. *Soil Till. Res.* 78, 59-67. doi: 10.1016/j.still.2004.02.012.
- Celik, I., 2005. Land-use effects on organic matter and physical properties of soil in a southern Mediterranean highland of Turkey. *Soil Till. Res.* 83, 270-277.
- Chang, C., Entz, T., 1996. Nitrate leaching losses under repeated cattle feedlot manure applications in southern Alberta. *J. Environ. Qual.* 25, 145-153. doi: 10.2134/jeq1996.004724250025222100019x.
- Cheng, H., Xu, W., Liu, J., Zhao, Q., He, Y., Chen, G., 2007. Application of composted sewage sludge (CSS) as a soil amendment for turfgrass growth. *Ecol. Eng.* 29(1), 96-104. doi: 10.1016/j.ecoleng.2006.08.005.
- Chenu, C., Le Bissonais, Y., Arrouays, D., 2000. Organic matter influence on clay wettability and soil aggregate stability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 1479-1486. doi: 10.2136/sssaj2000.6441479x.
- Chepil, W.S., 1946. Germination of wood seeds I. Longevity, periodicity of germination and vitality of seeds in cultivated soil. *Scientific agriculture* 26 (7), 307-346. doi: 10.4141/sa-1946-0038.
- Cherfouh, R., Lucas, Y., Dirrij, A., Merdy, P., 2018. Long-term, low technicality sewage sludge amendment and irrigation with treated wastewater under Mediterranean climate: impact on agronomical soil quality. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, 35571-35581.
- Chocano, C., García, C., González, D., Melgares de Aguilar, J., Hernández, T., 2016. Organic plum cultivation in the Mediterranean region: The medium-term effect of five different organic soil management practices on crop production and microbiological soil quality. *Agr. Ecosyst. Environ.* 221, 60-70. doi: 10.1016/j.agee.2016.01-031.
- Ciais, B., Bombelli, A., Williams, M., Piao, S.L., Chave, J., Ryan, C.M., Henry, M., Brender, P., Valentini, R., 2011. The carbon balance of Africa: synthesis of recent research studies. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.* 369(1943), 2038-2057. doi: 10.1098/rsta.2010.0328.
- Clark, G., Dodgshun, N., Sale, P., Tang, C., 2007. Changes in chemical and biological properties of a sodic clay subsoil with addition of organic amendments. *Soil Biol. Biochem.* 39 (11), 2806-2817.
- Clothier, B.E., Hall, A.J., Deurer, M., Green, S.R., Mackay, A.D., 2011. Soil ecosystem services: Sustaining returns on investment into natural capital. In *Sustaining Soil Productivity in Response to Global*

- Climate Change: Science, Policy, and Ethics, eds TJ Sauer, J Norman, M Sivakumar (New York, NY: John Wiley and Sons), 304-356. doi: 10.1002/9780470960257.ch9.
- C.O:M., 2014. 398. Hacia una Economía Circular: un programa de cero residuos para Europa. Comunicación de la Comisión al Parlamento Europeo, al Consejo, al Comité Económico y Social Europeo y al Comité de las Regiones. Bruselas 2.7.2014.
- Conant, R.T., Six, J., Paustian, K., 2004. Land use effects on soil carbon fractions in the southeastern United States. II. Changes in soil carbon fractions along a forest to pasture chronosequence. *Biol. Fert. Soils* 40, 194-200.
- Connon, S.A., Lester, E.D., Shafaat, H.S., Obenhuber, D.C., Ponce, A., 2007. Bacterial diversity in hyperarid Atacama desert soils. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 112 (G4), G04S17. doi: 10.1029/2006jG000311.
- Cook, B.D., Allan, D.L., 1992. Dissolved organic matter in old field soils: total amounts as a measure of available resources for soil mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 24, 585-594.
- Cooperband, L., 2000. Sustainable use of by-products in land management. In: Bartels J:M:, Dick W.A. (Eds.), *Land Application of Agricultural, Industrial and Municipal By-products*.
- Cooperband, L., 2002. Building Soil Organic Matter with Organic Amendments: A resource for urban and rural gardeners, small farmers, turfgrass managers and large-scale producers. Center for Integrated Agricultural Systems (CIAS) Sep 16, 1-12.
- Coors, A., Edwards, M., Lorenz, P., Römbke, J., Schmelz, R.M., Topp, E., Waszak, K., Wilkes, G., Lapen, D.R., 2016. Biosolids applied to agricultural land: Influence on structural and functional endpoints of soil fauna on a short- and long-term scale. *Sci. Total Env.* 15(562), 312-326. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.03.226.
- Cotton, J., Acosta-Martínez, V., Mooer-Kucera, J., Burow, G., 2012. Early changes due to sorghum biofuel cropping systems in soil microbial communities and metabolic functioning. *Biol. Fertil. Soils* 49, 403-413.
- Courtier-Murias, D., Simpson, A.J., Marzadori, C., Baldoni, G., Ciavatta, C., Fernández, J.M., López-da-Sá, E., Plaza, C., 2013. Unraveling the long-term stabilization mechanisms of organic materials in soil by physical fractionation and NMR spectroscopy. *Agr. Ecosyst. Environ.* 171, 9-18. doi: 10.1016/j.agee.2013.03.010.
- Craine, J.M., Morrow, C., Fierer, N., 2007. Microbial nitrogen limitation increases decomposition. *Ecology* 88, 2105-2113.
- Crecchio, C., Curci, M., Pizzigallo, M.D.R., Ricciuti, P., Ruggiero, P., 2004. Effect of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. *Soil Biol. Biochem.*, 36(10), 1595-2005. doi: 10.1016/j.soilbiol.2004.07.016.

- Cusack, D., Silver, W., Torn, M., Burton, S., Firestone, M.K., 2011. Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests. *Ecology* 92(3), 621-632. doi: 10.1890/10-0459.1.
- Darrouzet-Nardi, A., 2013. How much carbon is stored in dryland soils? <http://anthony.darrouzet-nardi.net/scienceblog/?p=1664>.
- Das, S., Jeong, S.T., Das, S., Kim, P.J., 2017. Composted Cattle Manure Increases Microbial Activity and Soil Fertility More Than Composted Swine Manure in a Submerged Rice Paddy. *Front. Microbiol.* 8, 1702. doi: 10.3389/fmicb.2017.01702.
- Davinic, M., Fultz, L.M., Acosta-Martínez, V., Calderón, F.J., Cox, S.B., Dowd, S.E., Allen, V.G., Zak, J.C., Moose-Kucera, J., 2012. Pyrosequencing and mid-infrared spectroscopy reveal distinct aggregate stratification of soil bacterial communities and organic matter composition. *Soil Biol. Biochem.* 46, 63-72. doi: 10.1016/j.soilbio.2011.11.012.
- Debiase, G., Montemurro, F., Fioreb, A., Rotolo, C., Farraq, K., Miccolis, A., Brunetti, G., 2016. Organic amendment and minimum tillage in winter wheat grown in Mediterranean conditions: Effects on yield performance, soil fertility and environmental impact. *Eur. J. Agron.* 75, 149-157. doi: 10.1016/j.eja.2015.12.009.
- Debiase, G., Traversa, A., Montemurro, F., Mastrangelo, M., Fiore, A., Ventrella, G., Brunetti, G., 2017. Minimum tillage and organic fertilization for the sustainable management of *Brassica carinata* A. (Braun) in the Mediterranean environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25: 33556-33565.
- Delgado-Baquerizo, M., Maestre, F.T., Reich, P.B., Jeffries, T.C., Gaitan, J.J., Encinar, D., Berdugo, M., Campbell, C.D., Singh, B.K., 2016. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nat. Commun.* 28; 7, 10541. doi: 10.1038/ncomms10541.
- Deng, S.P., Tabatabai, M.A., 1994. Cellulase activity of soils. *Soil Biol. Biochem.* 26, 1347-1354.
- Diacono, M., Montemurro, F., 2010. Long-term effects of organic amendments on soil fertility. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30, 401-422.
- Diacono, M., Montemurro, F., 2011. Long-term effects of organic amendments on soil fertility. In: Lichtfouse, E., Hamelin, M., Navarrete, M. and Debaeke, P. (Eds.). *Sustainable Agriculture*. Vol. 2. pp. 761-786. Springer Science+Business Media B.V. Dordrecht.
- Díaz, E., 1992. Efecto de la adición de residuos urbanos en la regeneración de suelos degradados como medio de control de la desertificación. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Dick, W.A., Tabatabai, M.A., 1993. Significance and potential uses of soil enzymes. En: Metting, FB (Ed.). *Soil Microbial Ecology: Application in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker, new York, pp. 95-125.

- Dilly, O., Bartsh, S., Rosenbrock, P., Buscot, F., Munch, J.C., 2001. Shifts in physiological capabilities of the microbiota during the decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (Gaertn.) L.) forest. *Soil Biol. Biochem.* 33, 921-930.
- Directiva del Consejo 1999/31/EC. On landfill of waste. Official J. L182, 1-19.
- Directiva del Consejo 2008/98/CE del parlamento Europeo y del Consejo, de 19 de noviembre de 2008, sobre los residuos y por la que se derogan determinadas Directivas. DOUE, núm 312 de 22 de noviembre de 2008, pp 3-38. DUOE-L-2008-82319.
- Djukic, I., Kepfer-Rojas, S., Schmidt, I.K., Larsen, K.S., Beier, C., Berg, B., Verheyen, K., 2018. Early stage litter decomposition across biomes. *Sci. Total Environ.* 628-629(3), 1369-1394. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.012.
- Dong, W., Zhang, X., Wang, H., Dai, X., Sun, X., Qiu, W., Yang, F., 2012. Effect of different fertilizer application on the soil fertility of paddy soils in red soil region of southern China. *PLoS One*, 7 (9): e44504. doi:10.1371/journal.pone.0044504.
- Doni, S., Macci, C., Longo, V., Souid, A., García, C., Masciandaro, G., 2017. Innovative system for biochemical monitoring of degraded soils restoration. *Catena* 152, 173-181. doi: 10.1016/j.catena.2017.01.016.
- Doran, J.W., Parkin, B.T., 1994. Defining soil quality for a sustainable environment. *Soil Sci. Soc. Am. Inc. special Publication*, 35. Madison, Wisconsin, USA.
- Doran, J.W., Safley, M., 1997. Defining and assessing soil health and sustainable productivity. En: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR (Eds.). *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International, pp. 1-28.
- Doran, F.W., Jones, A.J., Arshad, M.A., Gilley, J.E., 1999. Determinants of soil quality and health. En: Lal, R (Ed.). *Soil Quality and Soil Erosion*. CRC Press, Florida. 39-57.
- Doyle, J., Pavel, R., Barness, G., Steinberg, Y., 2006. Cellulase dynamics in a desert soil. *Soil Biol. Biochem.* 38, 371-376.
- Dregne, H.E., Chou, N.T., 1992. Global desertification dimensions and costs. In *Degradation and restoration of arid lands*, Dregne HE (ed). Texas Tech University: Lubbock, 73-92.
- Drenovsky, R.E., Steenwerth, K.L., Jackson, L.E., Scow, K.M., 2010. Land use and climatic factors structure regional patterns in soil microbial communities. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 19, 27-39.
- Drewnik, M., 2006. The effect of environmental conditions on the decomposition rate of cellulose in mountain soils. *Geoderma* 132, 116-130.
- Dungait, J.A.J., Kemmit, S.J., Michallon, M., Guo, S., Wen, Q., Brooker, P.C., Evershed, R.P., 2011. Variable responses of the soil microbial biomass to trace concentrations of <sup>13</sup>C-labelled glucose, using <sup>13</sup>C-PLFA analysis. *Eur. J. Soil Sci.* 62(1), 117-126. doi: 10.1111/j.1365-2389.2010.01321.x.

- Dunjó, G., Pardini, G., Gispert, M., 2003. Land use change effects on abandoned terraced soils in a Mediterranean catchment, NE Spain. *Catena* 52, 23-37.
- Durán Zuazo, V.H., Rodríguez Pleguezuelo, C.R., 2008. Soil-erosion and runoff prevention by plant covers. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 28, 65-86.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A., 1988. Glucosidases and galactosidase in soils. *Soil Biol. Biochem.* 20(5), 601-606.
- Eldridge, S.M., Chan, K.Y., Barchia, I., Pengelly, P.K., Katupitiya, S., Davis, J.M., 2009. A comparison of surface applied granulated biosolids and poultry litter in terms of risk to runoff water quality on turf farms in Western Sydney, Australia. *Agric. Ecosyst. Environ.* 134 (3-4), 243-250. doi: 10.1016/j.agee.2009.07.007.
- El Kenawy, A., McCabe, M.F., Vicente-Serrano, S.M., López-Moreno, J.L., Robaa, S.M., 2016. Changes in the frequency and severity of hydrological droughts over Ethiopia from 1960 to 2013. *Cuadernos de Investigación Geográfica* 42 (1), 145-166. doi: 10.18172/cig.2931.
- Epstein, E., Taylor, J.M., Chaney, R.L., 1976. Effects of sewage sludge applied to soil on some soil physical and chemical properties. *J. Environ. Qual.* 5(4), 422-426.
- Erhart, E., Hartl, W., 2010. Compost use in organic farming. In: Lichtfouse, E. (Ed.). *Genetic Engineering, Biofertilisation, Soil Quality and Organic Farming*. pp. 311-345. *Sustainable Agriculture Reviews* 4. Springer Science+Business Media B.V., Dordrecht.
- Eriksson, K.E.L., Blanchette, R.A., Ander, P., 1990. Biodegradation of cellulose. In: *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components* (Eriksson KEL, Blanchette RA, Ander P. Eds.), pp. 89-180. Springer-Verlag, New York.
- EUROPEAN DIRECTIVE 86/278/EEC, of 12 June 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. *Official Journal L 181, 04/07/1986 p.0006-0012*.
- Evanylo, G., Sherony, C., Spargo, J., Starner, D., Brosius, M., Haering, K., 2008. Soil and water environmental effects of fertilizer-, manure-, and compost-based fertility practices in an organic vegetable cropping system. *Agr. Ecosyst. Environ.* 127 (1-2), 50-58. doi: 10.1016/j.agee.2008.02.014.
- FAO, 2006. Informes sobre recursos mundiales de suelos. Base referencial mundial del recurso suelo. Un marco conceptual para clasificación, correlación y comunicación internacional. <http://www.fao.org/3/a-a0510s.pdf>.
- FAO, 2013. Manual de Agricultura Climáticamente Inteligente. <http://www.fao.org/climatechange/37495-0edc2355c27f19ee5cee068a90496add9.pdf>.
- FAO, 2014. World reference base for soil resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. [www.fao.org/soils-portal/es](http://www.fao.org/soils-portal/es).

- FAO, 2015. El suelo es un recurso no renovable. <http://www.fao.org/3/a-i43735.pdf>.
- Faridullah, F., Hafeez, S., Ahmed, T., Alam, S., Naz, A., Shah, W., Khalid, S., 2018. Characterization of phosphorous in fresh and composted manures of different livestock. *Pol. J. Environ. Stud.* 27(2), 615-622. doi: 10.15244/pjoes/68883.
- Farina, R., Testani, E., Campanelli, G., Leteo, F., Napoli, R., Canali, S., Tittarelli, F., 2018. Potential carbon sequestration in a Mediterranean organic vegetable cropping system. A model approach for evaluating the effects of compost and Agro-ecological Service Crops (ASCs). *Agr. Syst* 162, 239-248. doi: 10.1016/j.agsy.2018.02.002.
- Fayyad, U.M., 1996. Data Mining and Knowledge Discovery: Making Sense Out of Data *IEEE Expert: Intelligent Systems and Their Application* 11, 20-25.
- Fernandes, S.A.P., Bettiol, W., Cerri, C.C., 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. *Appl. Soil Ecol.* 30(1), 65-77.
- Fernández, J.M., Senesi, N., Plaza, C., Brunetti, G., Polo, A., 2009. Effects of composted and thermally dried sewage sludge on soil and soil humic acid properties. *Pedosphere* 19(3), 281-291. doi: 10.1016/S1002-0160(09)60119-3.
- Fernández, P., Pascual, J.A., Lacasa, A., 2014. Potencial de lixiviación de nitratos de la técnica de biosolarización en suelos de invernadero de pimiento. V Jornadas Fertilización SECH. *Actas de Horticultura* 66, 107-115.
- Fernández-Bayo, J.D., Achmon, Y., Harrold, D.F., McCurry, D.G., Hernández, K., Dahlquist-Willard, R.M., Stapleton, J.J., VanderGheynst, J.S., Simmons, C.W., 2017 a. Assessment of two solid anaerobic digestate soil amendments for effects on soil quality and biosolarization efficacy. *J Agric. Food Chem.* 65(17), 3434-3442. doi: 10.1021/acs.jafc.6b04816.
- Fernández-Bayo, J.D., Achmon, Y., Harrold, D.F., Claypool, J.T., Simmons, B.A., Singer, S.W., Dahlquist-Willard, R.M., Stapleton, J.J., VanderGheynst, J.S., Simmons, C.W., 2017 b. Comparison of soil biosolarization with mesophilic and thermophilic solid digestates on soil microbial quantity and diversity. *Appl. Soil Ecol.* 119, 183-191. doi: 10.1016/j.apsoil.2017.06.016.
- Fernández-Bayo, J.D., Randall, T.E., Harrold, D.R., Achmon, Y., Hestmark, K.V., Su, J., Dahlquist-Willard, R.M., Stapleton, J.J., VanderGheynst, J.S., Simmons, C.W., 2018. Effect of management of organic wastes on inactivation of *Brassica nigra* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* using soil biosolarization. *Pest. Manag. Sci.* 74(8), 1892-1902. doi: 10.1002/ps.4891.
- Fernández-Getino, A.P., Pérez, J., Albarrán, M.M., Martín Lammerding, D., Walter, I., 2012. Restoration of abandoned, degraded agricultural soil using composted biosolid: influence on selected soil properties. *Arid Land Res. Manag.* 26, 200-210. doi: 10.1080/15324982.2012.680657.

- Ferreras, L., Gómez, E., Toresani, S., Firpo, I., Rotondo, R., 2006. Effect of organic amendments on some physical, chemical and biological properties in a horticultural soil. *Bioresour. Technol.* 97, 635-640. doi: 10.1016/j.biortech.2005.03.018.
- Fierer, N., Lauber, C.L., Ramirez, K.S., Zaneveld, J., Bradford, M.A., Knight, R., 2012. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *ISME J.* 6(5), 1007-1017. doi: 10.1038/ismej.2011.159.
- Fierro, A., Angers, D.A., Beauchamp, C.J., 1999. Restoration of ecosystem function in an abandoned sandpit: plant and soil responses to paper de-inking sludge. *J. Appl. Ecol.* 36, 244-253.
- Figueroa, V., Flores, O., Palomo, M., 2002. Uso de biosólidos en suelos agrícolas. Folleto Técnico 3. Campo experimental Valle de Juárez-Centro de Investigación Regional Norte Centro- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Chihuahua, México.
- Fioretto, A., Papa, S., Curcio, E., Sorrentino, G., Fuggi, A., 2000. Enzyme dynamics on decomposing leaf litter of *Cistus incanus* and *Myrtus communis* in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 32(13), 1847-1855. doi: 10.1016/S0038-0717(00)00158-9.
- Flores, P., Fenoll, J., Hellín, P., 2007. The Feasibility of Using  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  Values for Discriminating between Conventionally and Organically Fertilized Pepper (*Capsicum annum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 55, 5740-5745.
- Francaviglia, R., Renzi, G., Ledda, L., Benedetti, A., 2017. Organic carbon pools and soil biological fertility are affected by land use intensity in Mediterranean ecosystem of Sardinia, Italy. *Sci. Total Environ.* 599-600, 789-796.
- Francioli, D., Schulz, E., Lentendu, G., Wubet, T., Buscot, F., 2016. Mineral vs. organic amendments: Microbial community structure, activity and abundance of agriculturally relevant microbes are driven by long-term fertilization strategies. *Front. Microbiol.* 14; 7:1446. doi: 10.3389/fmicb.2016.01446.
- Freeman, C., Ostle, N.J., Fenner, N., Kang, H., 2004. A regulatory role for phenol oxidase during decomposition in peatlands. *Soil Biol. Biochem.* 36(10), 1663-1667.
- Frei, C., Christensen, J.H., Dequé, M., Jacob, D., Jones, R.G., Vidale, P.L., 2003. Daily precipitation statistics in regional climate models: evaluation and intercomparison for the European Alps. *J. Geophys. Res.* 108 (D3), 4124. Doi: 10.1029/2002JD002287.
- Freibaue,r A., Rounsenvell, M.D.A., Smith, P., Verhangen, J., 2004. Carbon sequestration in the agricultural soils in Europe. *Geoderma* 122, 1-23.
- Frostergård, A., Tunlid, A., Baath, E., 1993. Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Appl. Env. Microbiol.* 59, 3605-3617.

- Frostegård, A., Baath, E., 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biol. Fert. Soils* 22, 59-65.
- Frostegård, A., Courtois, S., Ramisse, V., Clerc, S., Bernillon, D., Le Gall, F., Jeannin, P., Nesme, X., Simonet, P., 1999. Quantification of bias related to the extraction of DNA directly from soils. *Appl. Env. Microbiol.* 65(12), 5409-5420.
- Gaiotti, F., Marcuzzo, P., Belfiore, N., Lovat, L., Fornasier, F., Tomasi, D., 2017. Influence of compost addition on soil properties, root growth and vine performances of *Vitis vinifera* cv Cabernet sauvignon. *Sci. Hortic.* 225, 88-95. doi: 10.1016/j.scienta.2017.06.052.
- Galantini, J., Rosell, R., 2006. Long-term fertilization effects on soil organic matter quality and dynamics under different production systems in semiarid soils. *Soil Till. Res.* 87, 72-79.
- Gallardo-Lara, F., Nogales, R., Navarro, A., 1990. Extractable sulphate in two soils affected by applied townrefuse compost and agricultural wastes. *Biological Wastes* 33, 39-51.
- García, C., 1990. Estudio del compostaje de residuos orgánicos. Valoración Agrícola. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia, Murcia.
- García, C., Hernández, T., Costa, F., 1992. Mineralization in calcareous soil of a sewage sludge composted with different organic residues. *Waste Manage. Res.* 10, 445-452.
- García, C., Hernández, T., Costa, F., 1994. Microbial activity in soils under Mediterranean conditions. *Soil Biol Biochem* 26, 1185-1191.
- García, C., Hernández, T., 1997. Biological and biochemical indicators in direct soils subject to erosion. *Soil Biol Biochem.* 29, 171-177.
- García, C., Hernández, T., Roldán, A., Martín, A., 2002. Effect of plant cover decline on chemical microbiological parameters under Mediterranean climate. *Soil Biol. Biochem.* 34, 635-642.
- García, E., García, C., Hernández, T., 2012 a. Evaluation of the sustainability of using large amount of urban wastes for degraded arid soil restoration and C fixation. *Eur. J. Soil Sci.* 63, 650-658.
- García, Y., Ramírez, W., Sánchez, S., 2012 b. Soil quality indicators: A new way to evaluate this resource. *Pastos y Forrajes* 35 (2), 125-138.
- García, C., Moreno, J.L., Hernández, T., Bastida, F., 2017. Soils under arid and semiarid environment; the importance of organic carbon and microbial communities. Facing the future. In: *Life in Extreme Environments Series. The Biology of Arid soils* (Ed. Steven Blaire) vol.4, September 2017. ISBN: 978-3-11-041904-7. De Gruyter. USA.
- García, E., García, C., Hernández, T., 2018. Changes in humic fraction characteristics and humus-enzyme complexes formation in semiarid degraded soils restored with fresh and composted urban wastes. A 5-year field experiment. *J. Soils Sediments* 18(4), 1376-1388. doi: 10.1007/s11368-016-1537-8.

- García-Álvarez, A., Ibáñez, J.J., 1994. Seasonal fluctuations and crop influence on microbiota and enzyme activity in fully developed soils of central Spain. *Arid Soil Res. Rehabil.* 8, 161-178.
- García de la Fuente, R., 2011. Caracterización y uso de compost de alperujo como enmienda orgánica. Evaluación agronómica y medioambiental. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. DOI:10.4995/Thesis/10251/11406.
- García-Franco, N., 2014. Mecanismos de Secuestro de Carbono en Suelos Semiáridos en función del Tipo de Uso y Prácticas de Manajo. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. <http://hdl.handle.net/10201/40572>.
- García-Gil, J.C., Plaza, C., Solerrovira, P., Polo, A., 2000. Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1907-1913.
- García-Gil, J.C., Ceppi, S.B., Velasco, M.I., Polo, A., Senensi, N., 2004. Long-term effects of amendment with municipal solid waste compost on the elemental and acidic functional group composition and pH-buffer capacity of soils humic acids. *Geoderma* 121 (1-2), 135-142. doi: 10.1016/j.geoderma.2003.11.004.
- García-Orenes, F, Cerdá, A, Mataix-Solera, J, Guerrero, C., Bodí, M.B., Arcenegui, V., Zorzona, R., Sempere, J.G., 2009. Effects of agricultural management on surface soil properties and soil-water losses in Eastern Spain. *Soil Till. Res.* 106 (1), 117-123. doi: 10.1016/j.still.2009.06.002.
- García-Palacios, P., Maestre, .FP., Kattge, J., Wall, D.H., 2013. Climate and litter quality differently modulate the effects of soil fauna on litter decomposition across biomes. *Ecol. Lett.* 16, 1045-1053. doi:10.1111/ele.12137.
- García-Pausas, J., Rabissi, A., Rovira, P., Romanyà, J., 2017. Organic Fertilisation Increases C and N Stocks and Reduces Soil Organic Matter Stability in Mediterranean Vegetable Gardens. *Land Degrad. Dev.* 28(2), 696-698. doi: 10.1002/ldr.2569.
- García-Ruiz, R., Ochoa, V., Hinojosa, M.B., Carreira, J.A., 2008. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2137-2145.
- García-Ruiz, R., Ochoa, M.V., Hinojosa, M.B., Gómez-Muñoz, B., 2012. Improved soil quality after 16 years of olive mil pomace application in olive oil groves. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 803-810.
- Gårdenäs, A.I., Agren, G.I., Bird, J.A., Clarholm, M., Hallin, S., Ineson, P., Kättener, T., Knicker, H., Nilsson, S.I., Nášholm, T., Ogle, S., Paustian, K., Persson, T., Stendahl, J., 2011. Knowledge gaps in soil carbon and nitrogen interactions-from molecular to global scale. *Soil Biol. Biochem.* 43(4), 702-717. doi: 10.1016/j.soilbio.2010.04.006.

- Garg, R.N., Pathak, H., Das, D.K., Tomar, R.H., 2005. Use of fly ash and biogas slurry for improving wheat yield and physical properties of the soil. *Environ. Monit. Assess.* 107(1-3), 1–9. doi: 10.1007/s10661-005-2021-x.
- Giacometti, C., Demyan, M.S., Cavani, L., Marzadori, C., Ciavatta, C., Kandeler, E., 2013. Chemical and microbiological soil quality indicators and their potential to differentiate fertilization regimes in temperate agroecosystems. *Appl. Soil Ecol.* 64, 32-48. doi: 10.1016/j.apsoil.2012.10.002.
- Gigliotti, G., Proietti, P., Said-Pullicino, D., Nasini, L., Pezzolla, D., Rosati, L., Porceddu, P.R., 2012. Co-composting of olive husks with high moisture contents: Organic matter dynamics and compost quality. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 67, 8-14. doi: 10.1016/j.ibiod.2011.11.009.
- Giorgi, F., 2006. Climate change hot-spots. *Geophys. Res. Lett.* 33 L08707. doi: 10.1029/2006GL025734.
- Giusquiami, P.L., Pagliai, M., Gigliotti, G., Businelli, D., Benetti, A., 1995. Urban waste compost: effect on physical, chemical and biochemical soil properties. *J. Environ. Qual.* 24(1), 175-182. doi: 10.2134/jeq1995.00472425002400010024x.
- Gómez-Muñoz, B., Hatch, D.J., Bol, R., García-Ruiz, R., 2012. The compost of olive mil pomace: From a waste to a resource-environmental benefits of its application in olive oil groves. *IntechOpen*. doi: 10.5772/48244.
- Gómez-Muñoz, B., Valero-Valenzuela, J.D., Hinojosa, M.B., García-Ruiz, R., 2016. Management of tree pruning residues to improve soil organic carbon in olive groves. *Eur. J. Soil Biol.* 74, 104-113.
- Gomiero, T., Pimentel, D., Paoletti, M., 2011. Environmental impact of different agricultural management practice: conventional vs organic agriculture. *Crit. Rev. Plant Sci.* 30, 95-124.
- González Ortiz, J., 2007. La comarca del Campo de Cartagena-Mar Menor. En: A. Romero Díaz y F. Alonso Sarría (coord.) *Atlas Global de la Región de Murcia*. La Verdad CMM S.A. Murcia. p. 478-489.
- González Pérez, R., 2017. Análisis del contenido y valor equivalente de productos orgánicos de aplicación en agricultura a nivel de sustancias húmicas. Trabajo fin de Grado. Escuela Politécnica de Orihuela. Universidad Miguel Hernández.
- Goss, M.J., Tubeileh, A., Goorahoo, D., 2013. A review of the use of organic amendments and the risks to human health. In D.L. Sparks (Ed.), *Advances in Agronomy* (Vol. 120, pp. 275-379). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-407686-0.00005-1.
- Goossens, D., 2003. The on-site and off-site effects of wind erosion. In *wind erosion on agricultural land in Europe*, Warren (ed). Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg.
- Gracia, J.J., 2012. Efectos de los compost sobre las propiedades del suelo: evaluación comparativa de compost con separación en origen y sin separación en origen. Trabajo Fin de Máster. Universidad Politécnica de Cartagena.

- Grandy, A.S., Neff, J.C., 2008. Molecular soil C dynamics downstream: The biochemical decomposition sequence and its effects on soil organic matter structure and function. *Sci. Total Environ.* 404, 297-307.
- Gregorich, E.G., Carter, M.R., Angers, D.A., Monreal, C.M., Ellert, B.H., 1994. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Can. J. Soil Sci.* 74(4), 367-386. doi: 10.4141/cjss94-051.
- Guckert, J.B., Antworth, C.P., Nichols, P.D., White, DC., 1985. Phospholipid, ester-linked fatty-acid profiles as reproducible assays for changes in prokaryotic community structure of estuarine sediments. *FEMS Microbiol. Ecol.* 31, 147-158.
- Guimarães, D.V., Silva, M.I., Oliveira, T., Lima da Silva, T., da Silva Dias, N., Silva Matias, M.I., 2013. Soil organic matter pools and carbon fractions in soil under different land uses. *Soil Till. Res.* 126, 177-182. doi: 10.1016/j.still.2012.07.010.
- Guo, Xx., Liu, Ht., Wu, Sb., 2019. Humic substances developed during organic waste composting: Formation mechanisms, structural properties, and agronomic functions. *Sci. Total Env.* 662, 501-510. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.01.137.
- Hainzelin, E., 2014. *Cultivating Biodiversity to Transform Agriculture*. Edited by Etienne Hainzein. Jan 2014. Springer. Dordrecht, Netherlands.
- Hamdi, H., Benzarti, S., Manusadzianas, L., Aoyama, I., Jedidi, N., 2007a. Solid-phase bioassays and soil microbial activities to evaluate PAH-spiked soil ecotoxicity after a long-term bioremediation process simulating landfarming. *Chemosphere* 70(1), 135-143.
- Hamdi, H., Benzarti, S., Manusadzianas, I., Aoyama, I., Jedidi, N., 2007b. Bioaugmentation and biostimulation effects in PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1926-1935.
- Hamdi, H., Hechmi, S., Naceur Khelil, M., Rahma Zoghalmi, I., Benzarti, S., Mokni-Tlili, S., Hassen, A., Jedidi, N., 2019. Repetitive land application of urban sewage sludge: effect of amendment rates and soil texture on fertility and degradation parameters. *Catena* 172, 11-20. doi: 10.1016/j.catena.2018.08.015.
- Hâni, H., Seigenthaler, A., Candinas, T., 1996. Soil effects due to sewage sludge application in agriculture. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 43: 149-156.
- Hao, X., Chang, C., 2003. Does long term heavy manure application increase salinity of a clay loam soil in semi-arid southern Alberta? *Agr. Ecosyst. Environ.* 94: 89-103. doi: 10.1016/S0167-8809(02)00008-7.

- Hao, X.H., Liu, S.L., Wu, J.S., Hu, R.G., Tong, C.L., Su, Y.Y., 2008. Effect of long-term application of inorganic fertilizer and organic amendments on soil organic matter and microbial biomass in three subtropical paddy soils. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 81(1), 17-24.
- Hargreaves, J.C., Adl, M.S., Warman, P.R., 2008. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. *Agric. Ecosyst. Environ.* 123, 1-14.
- Harris, J.A., Birch, P., 1989. Soil microbial activity in opencast coal mine restoration. *Soil Use Manage.* 5, 155-160.
- Harris, J.A., 2003. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. *Eur. J. Soil Sci.* 54, 801-808.
- Harwood, C.S., Rivelli, M., Ornston, L.N., 1984. Aromatic acids are chemoattractants for *Pseudomonas putida*. *J. Bacteriol.* 160 (2), 622-628.
- Haug, R.T., 1993. "The Practical Handbook of Compost Engineering". 1ª Edición. Lewis Publishers.USA.
- López Castillo, H (1980) Capacidad de uso y manejo de los suelos de la Península de Yucatán. Residencia de Agrología de la SARH. Mérida, México.
- Havlin, J., Betan, J., Nelson, W., Tisdale, S., 2014. Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management. Ed. Pearson 8<sup>th</sup> Upper Saddle River, NJ.
- Haynes, R.J., Naidu, R., 1998. Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: A review. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 51 (2), 123-137.
- Heidari, G., Mohammadi, K., Sohrabi, Y., 2016. Responses of Soil Microbial Biomass and Enzyme Activities to Tillage and Fertilization Systems in Soybean (*Glycine max L.*) Production. *Front Plant Sci* 7, nº 1730. doi: 10.3389/fpls.2016.07730 .
- Henry, H.A.L., 2012. Soil extracellular enzyme dynamics in changing climate. *Soil Biol. Biochem.* 47, 53-59.
- Hernández, T., García, C., 2003. Estimación de respiración microbiana del suelo. In: García C, F. Gil S, Hernández T, Trasar C (eds). *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos. Actividades enzimáticas y biomasa microbiana.* Mundi-Prensa. Madrid, pp: 311-346.
- Hernández, M.T., García, E., García, C., 2015. A strategy for marginal semiarid degraded soil restoration: A sole addition of compost at a high rate. A five-year field experiment. *Soil Biol. Biochem.* 89, 61-71.
- Hernández, T., Chocano, C., Moreno, J.L., García, C., 2016. Use of compost as an alternative to conventional inorganic fertilizers in intensive lettuce (*Lactuca sativa L.*) crops—Effects on soil and plant. *Soil Till. Res.* 160, 14-22.
- Hestmark, K.V., Fernández-Bayo, J.D., Harrold, D.R., Randall, T.E., Achmon, Y., Stapelton, J.J., Simmons, C.W., VanderGheynst, J.J., 2019. Compost induces the accumulation of biopesticidal organic acids during soil biosolarization. *Resour. Conser. Recycl.* 413, 27-35. doi: 10.1016/j.resconrec.2018.12.009.

- Hill, J., Stellmes, M., Udelhoven, T., Röder, A., Sommer, S., 2008. Mediterranean desertification and land degradation. Mapping related land use change syndromes based on satellite observations. *Glob. Planet. Change* 64 (3-4): 146-157. doi: 10.1016/j.glopacha.2008.10.005.
- Hinojosa, M.B., Carreira, J.A., García-Ruiz, R., Dick, R.P., 2005. Microbial response to heavy metal-polluted soils: Community analysis from phospholipid-linked fatty acids and ester-linked fatty acids extracts. *J. Environ. Qual.* 34, 1789-1800.
- Hispagua., Sistema Español de Información sobre el Agua. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. [www.hispagua.cedex.es](http://www.hispagua.cedex.es).
- Hortal, S., Bastida, F., Armas, C., Lozano, Y.M., Moreno, J.L., García, C., Pugnaire, F.I., 2013. Soil microbial community under a nurse-plant species changes in composition, biomass and activity as the nurse grows. *Soil Biol. Biochem.* 64, 139-146. doi: 10.1016/j.soilbso.2013.04.018.
- Howden, S.M., Soussana, J.F., Tubiello, F.N., Chhetri, N., Dunlop, M., Meinke, H., 2007. Adapting agriculture to climate change. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104 (50), 19691-19696. doi: 10.1073/pnas.0701890104.
- Hu, T., Sørensen, P., Olesen, J.E., 2018. Soil carbon varies between different organic and conventional management schemes in arable agriculture. *Eur. J. Agr.* 94, 79-88.
- Hueso-González, P., Martínez-Murillo, J.M., Ruiz-Sinoga, J.D., 2018. Técnicas de restauración de suelos basadas en el uso de residuos orgánicos: seis años de beneficios sobre las propiedades de un suelo forestal. *Cuadernos de Investigación Geográfica*, 44 (2): 675-695. doi: 10.18172/cig.3422.
- Huysegoms, L., Cappuyns, V., 2017. Critical review of decision support tools for sustainability assessment of site remediation options. *J. Environ. Manage.* 196, 278-296.
- Ingelmo, F., Rubio, J.L., 2008. Efecto de la aplicación del compost sobre las propiedades físicas y químicas del suelo. En: Moreno, J. y Moral, R. (Eds.). *Compostaje*. pp. 305-327. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Ingels, C.A., Scow, K.M., Whisson, D.A., Drenovsky, R.E., 2005. Effects of cover crops on grapevines, yield, juice composition, soil microbiological ecology, and gopher activity. *Am. J. Enol. Vitic.* 56, 19-29.
- Innangi, M., Schenk, M.K., d'Alessandro, F., Pinto, S., Menta, C., Papa, S., Fioretto A., 2015. Field and microcosms decomposition dynamics of European beech leaf litter: influence of climate, plant material and soil with focus on N and Mn. *Appl. Soil Ecol.* 93, 88-97. doi: 10.1016/j.apsoil.2015.04.007.
- Innangi, M., Nireo, E., D'Ascoli, R., Danise, T., Proietti, P., Nasini, L., Regni, L., Castaldi, S., Fioretto A., 2017. Effects of olive pomace amendment on soil enzyme activities. *Appl. Soil Ecol.* 119, 242-249. doi: 10.1016/j.apsoil.2017.06.015.

- Insam, H., De Bertoldi, M., 2007. Microbiology of the composting process. In: Díaz, L.F., de Bertoldi, M., Bidlingmaier, W. and Stentiford, E. (Eds.) *Compost Science and Technology*. pp. 25-48. Elsevier Ltd., Oxford.
- IPCC, 2007- *Intergovernmental Panel on Climate Change, Climate Change 2007: Synthesis Report, Contribution of working groups I, II and III to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University, Cambridge, UK.
- IPCC, 2014- *Cambio climático 2014: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático* [Equipo principal de redacción, R.K. Pachauri y L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Ginebra, Suiza, 157 págs.
- Ito, K., Ma, X., Azmi, N., Huang, H-S., Fujii, M., Yoshimoto T., 2003. Novel aminopeptidase specific for Glycine from *Actinomyces elegans*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67(1), 83-88. doi:10.1271/bbb.67.83.
- Jacobs, G.K., Keller, M., 2011. Opening a black box: how microbial ecology can inform global climate change. *Microb. Biotechnol.* 4(2), 118-120.
- Jindo, K., Martim, S.A., Cantero, E., Pérez-Alfocea, F., Hernández, T., García, C., Oliveira, N., Pasqualoto, L., 2012. Root growth promotion by humic acids from composted and non-composted urban organic wastes. *Plant Soil* 353, 209-220. doi: 10.1007/s11104-011-1024-3.
- Johnson, J.L., Temple, E.L., 1964. Some variables affecting the measurements of catalase activity. *Soil Sci. Soc. Am.* 28, 207-209.
- Jónsson, B.G., Ekström, M., Essen, P.A., Grafström, A., Ståhl, G., Westerlund, B., 2016. Dead wood availability in managed Swedish forest-policy outcomes and implications for biodiversity. *For. Ecol. Manage.* 376, 174-182. doi: 10.1016/j.foreco.2016.06.017.
- Kacprzak, M., Neczaj, E., Fijalkowski, K., Grobelak, A., Grosser, A., Warwag, M., Rorat, A., Brattebo, H., Almás, A., Singh, B.R., 2017. Sewage sludge disposal strategies for sustainable development. *Environ. Res.* 156, 39-46. doi: 10.1016/j.envres.2017.03.010.
- Kallenbach, C., Grandy, A.S., 2011. Control over soil microbial biomass responses to carbon amendments in agricultural systems: A meta-analysis. *Agr. Ecosyst. Environ.* 144, 241-252.
- Kanaan, H., Frenk, S., Raviv, M., Medina, S., Minz, D., 2018. Long and short term effects of solarization on soil microbiome and agricultural production. *Appl. Soil Ecol.* 124, 54-61. doi: 10.1016/j.apsoil.2017.10.026.
- Kandeler, E., Gerber, H., 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fert. Soils* 6, 68-72.
- Kandeler, E., Stemmer, M., Klímanek, E.M., 1999 a. Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fractions to long-term soil management. *Soil Biol. Biochem.* 31, 261-273.

- Kandeler, E., Tscherko, D., Spiegel, H., 1999 b. Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralisation and enzyme activities of a Chernozem under different tillage management. *Biol. Fert. Soils* 28(4), 343-351.
- Kandeler, E., Tscherko, D., Bruce, K.D., Stemmer, M., Hobss, P.J., Bardgett, R.D., Amelung, W., 2000. Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. *Biol. Fert. Soils* 32(5), 390-400. doi: 10.1007/s0037400002.
- Kästner, M., Miltner, A., 2016. Application of compost for effective bioremediation of organic contaminants and pollutants in soil. *Appl. Microbiol. Biot.* 100, 3433-3449.
- Kéfi, S., Rietkerk, M., Alados, C.L., Pueyo, Y., Papanastasis, V.P., ElAich, A., de Ruiter, P.C., 2007. Spatial vegetation patterns and imminent desertification in Mediterranean arid ecosystems. *Nature* 449, 213-217. doi: 10.1038/nature06111.
- Khaliq, A., Abbasi, M.K., 2015. Improvements in the physical and chemical characteristics of degraded soils supplemented with organic-inorganic amendments in the Himalayan region of Kashmir, Pakistan. *Catena* 126, 209–219.
- Killham, K., Prosser, J.I., 2015. Chapter 3-The Bacteria and Archea. Editor(s): Eldor A. Paul In: *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition)*. Academic Press. pp 41-76.
- Kirby, C.A., Kirkegaard, J.A., Richardson, A.E., Wade, I.J., Blanchard, C.L., Batten, G., 2011. Stable organic carbon matter: a comparison of C:N:P:S ratios in Australian and other world soils. *Geoderma* 163(3), 197-208. doi: 10.1016/j.geoderma.2011.04.010.
- Kizilkaya, R., Bayraklım B., 2005. Effects of N-enriched sewage sludge on soil enzyme activities. *Appl. Soil Ecol.* 30(3): 192-202. doi: 10.1016/j.apsoil.2005.02.009.
- Klinoromos, J.N., Hart, M.M., 2001. Food-web dynamics: Animal nitrogen swap for plant carbon. *Nature* 410 (6829), 651-652.
- Köchy, M., Hiederer, R., Freibauer, A., 2015. Global distribution of soil organic carbon-Part 1: Masses and frequency distributions of SOC stocks for the tropics, permafrost regions, wetlands, and the world. *Soil* 1, 351-365. doi: 10.5194/soil-1-351-2015.
- Kohler, J., Caravaca, F., Azcón, R., Díaz, G., Roldán, A., 2016. Sustainability of the microbial community composition and function in a semiarid mine soil for assessing phytomanagement practices based on mycorrhizal inoculation and amendment addition. *J. Environ. Manage.* 169, 236-246. doi: 10.1016/j.envman.2015.12-037.
- Kolthof, J.M., Sandell, E.D., Meehan, E.J., Bruckenstein, S., 1972. *Análisis químico cuantitativo*. 4ª Edición. Nigar SRL, Buenos Aires, 1231 pp.

- Komatsuzaki, M., Ohta, H., 2007. Soil management practices for sustainable agro-ecosystems. *Sustain. Sci.* 2, 103-120. doi: 10.1007/s11625-006-0014-5.
- Köppen-Geiger.,2006.clasificaciónclimática.[http://koeppen-geiger.vu-wien.ac.at/pics/kottek\\_et\\_al\\_2006.gif](http://koeppen-geiger.vu-wien.ac.at/pics/kottek_et_al_2006.gif)
- Körner, I., Stegmann, R., 2002. N-Dynamics During Composting—Overview and Experimental Results. In: Insam H, Riddech N, Klammer S (eds) *Microbiology of Composting*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., Rubel, F., 2006. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift* 15(3), 259-263. doi: 10.1127/0941-2948/2006/0130.
- Kowaljow, E., Mazzarino, M.J., 2007. Soil Restoration in Semiarid Patagonia: Chemical and Biological Response to Different Compost Quality. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1580-1588. doi: 10.1016/j.soilbio.2007.01.008.
- Kramer, C., Gleixner, G., 2008. Soil organic matter in soil depth profiles: distinct carbon preferences of microbial groups during carbon transformation. *Soil Biol. Biochem.* 40, 425-433.
- Kuzkayov, Y., Friedel, J.K., Stahr, K., 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects effects. *Soil Biol. Biochem.*, 32, 1485-1948.
- Kuzyakov, Y., Bo, R., 2006. Sources and mechanism of priming effect induced in two grassland soils amended with slurry and sugar. *Soil Biol. Biochem.* 38 (4), 747-758. doi: 10.1016/j.soilbio.2005.06.025.
- Kuzyakov, Y., Blagodatskaya, E., 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: concept & review. *Soil Biol. Biochem.* 83, 184-199.
- Lag-Brotons, A.J., Martín-Soriano, J., Gómez Lucas, I., Navarro-Pedreño, J., 2013. Saline Irrigation Effects on *Cynara Cardunculus* L. Plants Grown in Mediterranean Soils. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 48 (6), 762-767.
- Laird, D., Fleming, P., Wang, B., Horton, R., Karlen, D., 2010. Biochar impact on nutrient leaching from a Midwestern agricultural soils. *Geoderma* 158: 436-442. doi: 10.1016/j.geoderma.2010.05.012.
- Lakhdar, A., Scelza, R., Scotti, R., Rao, M.A., Jedidi, N., Gianfreda, L., Abdely, C., 2010. The effect of compost and sewage sludge on soil biological activities in salt-affected soil. *R. C. Suelo Nutr. Veg.* 10(1), 40-47. doi: 10.4067/S078-27912010000100005.
- Lal, R., 1994. Sustainable land use systems and soil resilience. In: Greenland, D.J & Szabolcs, I., eds. *Soil resilience and sustainable land use*. Wallingford, CAB International, pp. 41-67.
- Lal, R., 2002. Carbon sequestration in dry land ecosystems of West Asia and North Africa. *Land Degrad. Dev.* 13 (1), 45-59. doi: 10.1002/ldr.47.
- Lal, R., 2004. Carbon sequestration in dryland ecosystems. *Environ. Manage.* 33, 528-544.

- Lal, R., 2009. Challenges and opportunities in soil organic matter research. *Eur. J. Soil Sci.* 60(2), 158-169.
- Lal, R., 2013 a. Enhancing ecosystem services with no-till. *Renew. Agric. Food Syst.* 28, 102-114.
- Lal, R., 2013 b. Intensive agriculture and the soil carbon pool. *J. Crop Improv.* 27, 735-751. doi: 10.1080/15427528.2013.845053.
- Lal, R., 2016. Soil health and carbon management. *Food Energy. Secur.* 5(4), 212-222. doi: 10.1002/fes3.96.
- Lalande, R., Gagnon, B., Simard, R.R., Cote, D., 2000. Soil microbial biomass and enzyme activity following liquid hog manure application in a long-term field trial. *Can. J. Soil Sci.* 80(2), 263-269.
- Lapied, E., Nahmani, J., Rousseau, G.X., 2009. Influence of texture en amendements on soil properties and earthworm communities. *Appl. Soil Ecol.* 43: 241-249.
- Larkin, R.P., Honeycutt, C.W., Griffin, T.S., Olanya, O.M., Halloran, J.M., He, Z., 2011. Effects of different potato cropping system approaches and water management on soilborne diseases and soil microbial communities. *Phytopathology* 101, 58-67.
- Larney, F.J., Pan, W., 2006. Organic waste to resource: Recycling nutrients. *Can. J. Soil Sci.* 86(4), 585-586.
- Larney, F.J., Janzen, H.H., Olson, B.M., Olson, A.F., 2009. Erosion-productivity-soil amendment relationships for wheat over 16 years. *Soil Till. Res.* 103, 73-83.
- Larney, F.J., Angers, D.A., 2012. The role of organic amendments in soil reclamation: A review. *Can. J. Soil Sci.* 92, 19-38.
- Larson, W.E., Pierce, F.J., 1991. Conservation and enhancement of soil quality. In: *Evaluation for sustainable land management in the developing world. Proc. Of the Int. Workshop on evaluation for sustainable land management in the developing world. Bangkok, Thailand.* P.175.
- Lashermes, G., Nicolardot, B., Parnaudeau, V., Thuriès, L., Morvan, T., Tricaud, A., Vilette, C., Houot S., 2010. Typology of exogenous organic matters based on chemical and biochemical composition to predict potential nitrogen mineralization. *Bioresour. Technol.* 101, 157-164. doi: 10.1016/j.biortech.2009.08.025.
- Latare, A.M., Kumar, O., Singh, S.K., Gupta, A., 2014. Direct and residual effect of sewage sludge on yield, heavy metals content and soil fertility under rice-wheat system. *Ecol. Eng.* 69, 17-24.
- Lavorel, S., Canadell, J., Rambla, S., Terradas, J., 1998. Mediterranean terrestrial ecosystems: research priorities on global change effects. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 7, 157-166.
- Lax, A., Díaz, E., Castillo, V., Albadalejo, J., 1994. Reclamation of physical and chemical properties of salinized soil by organic amendment. *Arid Land Res. Manag.* 8, 9-17.
- Lehmann, J., Keblor, M., 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature* 528, 60-68.

- Lepp, N.W., 1981. Effect of heavy metal pollution on plants. *Metals in the Environment. Pollution Monitoring Series*, Vol. 2. Lepp N.W (Ed.) Applied Science Publishers, London.
- Leroy, B.L.M., Herath, H.M.S.K., Sleutel, S., De Neve, S., Gabriels, D., Reheul, D., Moens, M., 2008. The quality of exogenous organic matter: short-term effects on soil physical properties and soil organic matter fractions. *Soil Use Manage.* 24, 139–147. doi: 10.1111/j.1475.2743.2008.00142.x.
- Lewandowski, A., 2017. Soil management and health. *Organic matter management*. <http://www.extension.umn.edu/agriculture/soils/soil-properties/soil-management>.
- Li, J., Cooper, J.M., Lin, Z., Li, Y., Yang, X., Zhao, B., 2015. Soil microbial community structure and function are significantly affected by long-term organic and mineral fertilization regimes in North China Plain. *Appl. Soil Ecol.* 96, 75-87. doi: 10.1016/j.apsoil.2015.07.001.
- Li, Z., Tian, D., Wang, B., Wang, J., Wang, S., Chen, H.Y.H., Xu, X., Wang, C., He, N., Niu, S., 2018. Microbes drive global soil nitrogen mineralization and availability. *Glob. Change Biol.* 25 (3), 1078-1088. doi: 10.1111/gcb.14557.
- Liang, Y.C., Si, J., Nikolic, M., Peng, Y., Chen, W., Jiang, Y., 2005. Organic manure stimulates biological activity and barley growth in soil subject to secondary salinization. *Soil Biol. Biochem.* 37(6), 1185-1195. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.11.017.
- Liu, Y., Mi, G., Chen, F., Zhang, J., Zhang, F., 2004. Rhizosphere effect and root growth of two maize (*Zea mays* L.) genotypes with contrasting P efficiency at low P availability. *Plant Sci.* 167, 217-223. doi: 10.1016/j.plantsci.2004.02.026.
- Lloret, E., Pascual, J.A., Brodie, E.L., Bouskill, N., Insam, H., Fernández-Delgado Juárez, M., Goberna, M., 2016. Sewage sludge addition modifies soil microbial communities and plant performance depending on the sludge stabilization process. *Appl. Soil Ecol.* 101, 37-46. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.01.002.
- Llovet López, J., Fuentes Delgado, D., Valdecantos Dema, A., Gonçalves do Vale, S.M., Ribeiro da Silva, M.J., Valiente Clavel, Y., 2008. ¿Perduran en el suelo las enmiendas orgánicas? Análisis en repoblaciones forestales. "Actas de la II Reunión sobre Suelos Forestales". *Cuad Soc Esp Cienc For* 25, 281-286.
- Longa, C.M.O., Nicola, L., Antonielli, L., Mescalchin, E., Zanzotti, R., Turco, E., Pertot, I., 2017. Soil microbiota respond to green manure in organic vineyards. *J. Appl. Microbiol.* 123, 1547-1560. doi: 10.1111/jam.13606.
- López Bermúdez, F., García Gómez, J., 2005. Desertification in the Arid and Semiarid Mediterranean Region. A Food Security. In *Desertification in the Mediterranean Region. A Security Issue* (Kepner W, Rubio JL, Mouat DA, Pedrazzini F, eds.). *NATO Security Science* 3: 401-428.

- López-Piñeiro, A., Fernández-Rodríguez, J., Abarrán, A., Nunes, J.M., Barreto, C., 2008. Effects of De-oiled Two-Phase Olive Mill Waste on Mediterranean Soils and the Wheat Crop. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72(2), 424-430. doi: 10.2136/sssaj2007.0098.
- López Saorín, M.A., 2004. Enmiendas orgánicas para biosolarización y el manejo integrado de resistencias a patógenos en pimiento. Proyecto fin de carrera. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agrónoma. Universidad Politécnica de Cartagena.
- Lucas, T.S., D'Angelo, E.M., Williams, M.A., 2014. Improving soil structure by promoting fungal abundance with organic soil amendments. *Appl. Soil Ecol.* 75, 13–23.
- Ludwig, M., Wilmes, P., Schrader, S., 2018. Measuring soil sustainability via soil resilience. *Sci. Total Environ.* 626, 1484-1493.
- Luna, L., Pastorelli, R., Bastida, F., Hernández, T., García, C., Miralles, I., Solé-Benet, A., 2016. The combination of quarry restoration strategies in semiarid climate induces different responses in biochemical and microbiological soil properties. *Appl. Soil Ecol.* 107, 33-47. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.05.006.
- Lundquist, E.J., Scow, K.M., Jackson, L.E., Uesugi, S.L., Johnson, C.R., 1999. Rapid response of soil microbial communities from conventional, low input, and organic farming systems to a wet/ dry cycle. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1661-1675. doi: 10.1016/S0038-0717(99)00080-2.
- Luo, Y., Zhao, X.Y., Andrén, O., Zhu, Y., Wang, W., 2014. Artificial root exudates and soil organic carbon mineralization in a degraded Sandy grassland in northern China. *J. Arid. Land* 6, 423-431. doi: 10.1007/s40333-014-0063-z.
- Luo, P., Han, X., Wang, Y., Han, M., Shi, H., Liu, N., Bai, H., 2015. Influence of long-term fertilization on soil microbial biomass dehydrogenase activity, and bacterial and fungal community structure in a brown soil in northeast China. *Ann. Microbiol.* 65(1), 533-542. doi: 10.1007/s13213-014-0889-9.
- Lupwayi, N.Z., Neil Harker, J.T., O'Donovan, J.T., Turkington, T.K., Blackshaw, R.E., Hall, L.M., Willenborg, C.J., Gan, Y., Lafond, G.P., May, W.E., Grant, C.A., 2015. Relating soil microbial properties to yields of no-till canola on the Canadian prairies. *Eur. J. Agron.* 62, 100-119. doi: 10.1016/j.eje.2014.10.004.
- Lupwayi, N.Z., Kanashiro, D.A., Eastman, A.H., Hao, X., 2018. Soil phospholipid fatty acid biomarkers and B-Glucosidase activities after long-term manure and fertilizer N applications. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 82 (2). doi: 10.2136/SSSAJ2017.09.0340.
- M.A., (Millennium Ecosystem Assessment) (2005). *Ecosystems and human well-being: Synthesis*. Island Press, Washington DC. <http://www.millenniumassessment.org>.
- Maas, E.V., Hoffman, G.J., 1977. Crop salt tolerance: Current assessment. *J. Irrig. Drain E-ASCE* 103 (IR 2), 115-134.

- Maas, E.V., 1984. Salt Tolerance of plants. En: The handbook of plant Science in Agriculture, (ed. RB Christie), CRC Press Boca Raton (Florida).
- Mabuhay, J.A., Nakagoshi, N., Isagi, Y., 2006. Microbial responses to organic and inorganic amendments in eroded soil. *Land Degrad. Dev.* 17, 321-332.
- Mahdavi, M., Jafari, J., 2010. Environmental Risks due to application of sewage sludge in farmlands. *Ozean J. Appl. Sci.* 3(2), 304-310.
- Mancinelli, R., Marinari, S., Di Felice, V., Savin, M.C, Campiglia, C., 2013. Soil property, CO<sub>2</sub> emission and aridity index as agroecological indicators to assess the mineralization of cover crop green manure in a Mediterranean environment. *Ecol. Indic.* 34, 31-40. doi: 10.1016/j.ecolind.2013.01.011.
- Manzetti, S., Van der Spoel, D., 2015. Impact of sludge deposition on biodiversity. *Ecotoxicology* 24(9), 1799-11814. doi: 10.1007/s10646-015-1530-9.
- Marañón, T., Madejón, E., 2016. Funciones del suelo y servicios ecosistémicos: Importancia de la materia orgánica. V Jornadas de la red Española de Compostaje (REC).
- Marinari, S., Maciandaro, G., Ceccanti, B., Grego, S., 2000. Influence of organic and mineral fertilisers on soil biological and physical properties. *Bioresour Technol* 72, 9-17. doi: 10.1016/S0960-8524(99)00094-2.
- Markham, P., Bazin, M.J., 1991. Descomposition of cellulose by fungi. In: Arora DK, Rai B, Mukerji KG, Knudsen GR (Eds.), *Handbook of Applied Mycology*, vol. Soil and Plants. Marcel Dekker, Inc, New York, NY, pp 379-424.
- Maron, P.A., Sarr, A., Kaisermann, A., Lévêque, J., Mathieu, O., Guigue, J., Karimi, B., Bernard, L., Dequiedt, S., Terrat, S., Chabbi, A., Ranjard, L., 2018. High Microbial Diversity Promotes Soil Ecosystem Functioning. *Appl. Environ. Microbiol.* Apr. 16, 84(9): 38-17. doi: 10.1128/AEM.02738-17.
- Márquez, F., Giráldez, J.V., Rodríguez-Lizana, A., Ordóñez, R., 2007. Influencia de la planta en la variación espacio-temporal de la humedad del suelo en olivares cultivados con cubiertas vegetales. En Giráldez JV, Jiménez-Hornero FJ. (Eds.), *Estudios de la zona no saturada del suelo*, vol III.
- Marriot, E.E., Wander, M., 2006. Qualitative and quantitative differences in particulate organic matter fractions in organic and conventional farming systems. *Soil Biol. Biochem.* 38, 1527-1536.
- Marron, N., 2015. Agronomic and environmental effects of land application of residues in short-rotation tree plantations: A literature review. *Biomass. Bioenerg.* 81, 378-400. doi: 10.1016/j.biombioe.2015.07.025.
- Masciandaro, G., Macci, C., Peruzzi, E., Doni, S., 2018. Soil Carbon in the world: ecosystem services linked to soil carbón in forest and agricultural soils. In: *The future of soil carbon: Its conservation and formation.* (Eds.) García C, Nannipieri P, Hernández T. Academic press.

- Masunga, R.H., Uzokwe, V.N., Mlay, P.D., Odeh, I., Singh, A., Buchan, D., de Neve, S., 2016. Nitrogen mineralization dynamics of different valuable organic amendments commonly used in agriculture. *Appl Soil Ecol* 101,185-193. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.01.006.
- Mattana, B., Petrovicová, L., Landi, A., Gelsomino, P., Cortés, P., Ortiz, O., Renella, G., 2014. Sewage sludge processing determines its impact on soil microbial community structure and function. *Appl. Soil Ecol.* 75, 150-161. doi: 10.1016/j.apsoil.2013.11.007.
- Mauri, J., Matsushita-Morita, M., Tada, S., Hattori, R., Suzuki, S., Amano, H., Ishida, H., Yamagata, Y., Takeuchi, M., Kusumoto, K-I., 2012. Enzymatic properties of the glycine D-alanine aminopeptidase of *Aspergillus oryzae* and its activity profiles in liquid-cultured mycelia and solid-state rice culture (rice Koji). *Appl. Microbiol. Biot.* 93, 655-659. doi: 10.1007/s00253-011-3610-y.
- Mayhew, L., 2004. Humic substances in biological agriculture. *Acres USA*, Enero-Febrero, vol 34, nº 1 y 2.
- Mbagwu, J.S.C., 1992. Improving the productivity of a degraded ultisol in Nigeria using organic and inorganic amendments. Part 2. Changes in physical properties. *Biores. Technol.* 42, 167-175.
- McCarty, G.W., Shorgen, D.R., Bremner, J.M., 1992. Regulation on urease production in soil by microbial assimilation of nitrogen. *Biol. Fertil. Soils* 8, 123-127.
- McCormick, R., Kapustka, L.A., 2016. The answer is 42----What is the question?. *J. Environ. Stud. Sci.* Springer, Association of Environmental Studies and Sciences 6(1), 208-231. doi: 10.1007/s13412-016-0376-7.
- Medina, J., Monreal, C., Barea, J.M., Arriagada, C., Borie, F., Cornejo, P., 2015. Crop residue stabilization and application to agricultural and degraded soils: A review. *Waste Manage.* 42, 41-54. doi: 10.1016/j.wasman.2015.04-002.
- Miller, J.J., Beasley, B.W., Drury, C.F., Larney, F.S., Hao, X., Chanasky, D.S., 2018. Influence of long-term feedlot manure amendments on soil hydraulic conductivity, water-stable aggregates, and soil thermal properties during the growing season. *Can. J. Soil Sci.* 98(3), 421-435. doi: 10.1139/cjss-2017-0061.
- Mikutta, R., Klebber, M., Torn, M., Jahn, R., 2006. Stabilization of the soil organic matter: association with minerals or chemical recalcitrance? *Biogeochemistry* 77, 25-26.
- Mohapatra, D.P., Cledón, M., Brar, S.K., Surampalli, R.Y., 2016. Application of wastewater and biosolids in soil: occurrence and fate of emerging contaminants. *Water Air Soil Pollut.* 227, 77-91.
- Mohawesh, Y., Taimeh, A., Ziadat, F., 2015. Effects of land use changes and soil conservation intervention on soil properties as indicators for land degradation under a Mediterranean climate. *Solid Earth* 6, 857-868. doi: 10.5194/se-6-857-2015.
- Montemurro, F., Maiorana, M., Convertini, G., Ferri, D., 2007. Alternative sugar beet production using shallow tillage and municipal solid waste fertilizer. *Agron. Sustain. Dev.* 27, 129-137.

- Montiel-Rozas, M.M., Domínguez, M.T., Madejón, E., Madejón, P., Pastorelli, R., renella G., 2018. Long-term effects of organic amendments on bacterial and fungal communities in a degraded Mediterranean soil. *Geoderma* 332, 20-28. doi: 10.1016/j.geoderma.2018.06.022.
- Moreno, F., Murillo, J.M., Pelegrín, F., Girón, I.F., 2006. Long-term impact of conservation tillage on stratification ratio of soil organic carbon and loss of total and active CaCO<sub>3</sub>. *Soil Till. Res.* 85, 86-93.
- Mosko, A.A., Shcherbakova, T.A., Glushko, N.A., Klenitskaya, I.A., 1992. Immobilization of polyphenol oxidase by soil humus. *Euroasian J. Soil Sci.* 24, 23-29.
- Mosquera-Losada, R., Amador-García, A., Muñoz-Ferreiro, N., Santiago-Freijanes, J.J., Ferreiro-Domínguez, N., Romero-Franco, R., Rigueiro-Rodríguez, A., 2017. Sustainable use of sewage sludge in acid soils within a circular economy perspective. *Catena* 149, 341-348. doi: 10.1016/j.catena.2016.10.007.
- Mossa, A.W., Dickinson, M.J., West, H.M., Young, S.D., Crout, N.M.J., 2017. The response of soil microbial diversity and abundance to long-term application of biosolids. *Environ. Pollut.* 224, 16-25. doi: 10.1016/j.envpol.2017.02.056.
- Mrabet, R., Saber, N., El-Brahli, A., Lahlou, S., Bessam, F., 2001. Total particulate organic matter and structural stability of a Calcixeroll soil under different wheat rotations and tillage systems in a semiarid area of Morocco. *Soil Till. Res.* 57, 225-235. doi: 10.1016/S0167-1987(00)00180-x.
- Mtshali, J.S., Tiruneh, A.T., Faridan, A.O., 2014. Characterization of Sewage Sludge Generated from Wastewater Treatment Plants in Swaziland in Relation to Agricultural Uses. *Resources and Environment* 4(4), 190-199. doi: 10.5923/j.re.20140404.02.
- Müller, T., Höper, H., 2004. Soil organic matter turnover as a function of the soil clay content: Consequences for model applications. *Soil Biol. Biochem.* 36(6), 877-888.
- Muñoz-Rojas, M., Jordán, A., Zavala, L.M., De la Rosa, D., Abd-Emabod, S.K., Anaya-Romero, M., 2015. Impact of land use and land cover changes on organic carbon stocks in Mediterranean soils (1956-2007). *Land Degrad. Dev.* 26, 169-179. doi: 10.1002/ldr.2194.
- Murillo, J., Rodríguez, G., Roncallo, B., Rojas, L.A., Bonilla, R.R., 2014. Efecto de la aplicación de prácticas sostenibles en las características físicas, químicas y microbiológicas de suelos degradados. *Pastos y Forrajes* 37(3), 270-278.
- Murphy, D.V., Stockdale, E.A., Brookes, P.C., Goulding, K.W.T., 2007. Impact of microorganisms on chemical transformation in soil. En: Abott, L.K., Murphy DV (Eds.). *Soil biological fertility\_A key to sustainable land use in agriculture*, Springer, pp 37-59.
- Muscolo, A., Sidari, M., Nardi, S., 2013. Humic Substance: Relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. *J. Geochem. Explor.* 129, 57-63. doi: 10.1016/j.gexplo.2012.10.012.

- Muscolo, A., Papalia, T., Settineri, G., Mallamaci, C., Jeske-Kaczanowska, A., 2018. Are raw material sor composting conditions and time that most influence the maturity and/or quality of composts? Comparison of obtained composts on soil properties. *J. Clean Product.* 195, 93-10. doi: 10.1016/j.clepro.2018.05.204.
- Mutegi, J.K., Munkholm, L.J., Petersen, B.M., Hansen, E.M., Petersen, S.O., 2010. Nitrous oxide emissions and controls as influenced by tillage and crop residue management strategy. *Soil Biol. Biochem.* 42, 1701-1711. doi: 10.1016/j.soilbio.2010.06.004.
- Nannipieri, P., Greco, S., Ceccanti, B., 1990. Ecological significance of the biological activity in soils. In: Bollag JM, Stotzky G (Eds.). *Soil Biochem.* 293-355.
- Nannipieri, P., Sequi, P., Fusi, P., 1996. Humus and enzyme activity. In: Piccolo A (Ed.), *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems.* Elsevier, New York, pp. 293-328.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G., 2003. Microbial diversity and soil functions. *Eur. J. Soil Sci.* 54, 655-670. doi: 10.1111/ejss.3\_12398.
- Navarro-Pedreño, J., Alemdro-Candel, M.B., Gómez-Lucas, I., Manuel Miguel, J., García Sánchez, E., Mataix-Solera, J., 2004. Risk areas in the application of sewage sludge on degraded soils in the province of Alicante (Spain). En: *Geo-Environment: Monitoring and Remediation of the Geological Environment*, 293-302. Martín-Duque, J.F., Brebbia, C.A., Godfrey, A., Díaz de Teran J.R., (Editors) WIT PRESS. doi: 10.2495/GEO2040281.
- Needelman, B.A., 2013. What are soils? *Nature Education Knowledge* 4(3), 2.
- Ng, E.L., Patti, A.F., Rose, M.T., Scheffe, C.R., Wilkinson, K., Smernik, R.S., Cavagnaro, T.R., 2014. Does the chemical nature of soil carbon drive the structure and functioning of soil microbial communities? *Soil Biol. Biochem.* 70, 54-61. doi: 10.1016/j.soilbio.2013.12004.
- Nicolás, C., Hernández, T., García, C., 2012. Organic amendments as strategy to increase organic matter in particle-size fractions of a semi-arid soil. *Appl. Soil Ecol.* 57, 50-58.
- Nie, M., Pendall, E., Bell, C., Gasch, C.K., Raut, S., Tamang, S., Wallenstein, M.D., 2013. Positive climate feedbacks of soil microbial communities in a semiarid grassland. *Ecol. Lett.* 16(2), 234-241. doi: 10.1111/ele.12034.
- Nkoa, K., 2014. Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 34, 473–492.
- Novak, J., Busscher, W.J., Laird, D., Ahmedna, M., Watts, D.W., Niandou, M., 2009. Impact of Biochar amendment on fertility of a southeastern coastal plain soil. *Soil Sci.* 174 (2), 105. doi: 10.1097/ss.0b013e3181981d9a.

- Núñez-Zofío, M., Larregla, S., Garbisu, C., 2011. Application of organic amendments followed by soil plastic mulching reduces the incidence of *Phytophthora capsici* in pepper crops under temperate climate. *Crop Prot.* 30, 1563-1572.
- Núñez-Zofío, M., Larregla, S., Garbisu, C., Guerrero, M.M., Lacasa, C.M., Lacasa A., 2013. Application of sugar beet vinasse followed by biosolarization reduces the incidence of *meloidogyne incognita* in pepper crops while improving soil quality. *Phytoparasitica* 41 (2): 181-191. doi: 10.1007/s12600-012-0277-6.
- Ochoa-Hueso, R., Delgado-Baquerizo, M., An King, P.T., Benham, M., Arca, V., Power, S.A., 2019. Ecosystem type and resource quality are more important than global change drivers in regulating early stages of litter decomposition. *Soil Biol. Biochem.* 129, 144-152. doi: 10.1016/j.soilbio.2018.11.009.
- O'Connor, G.A., Brinton, S., Silveira, M.L., 2005. Evaluation and selection on soil amendment for field testing to reduce P losses. *Soil Crop Sci. Soc. Florida Proc.* 64, 22-34.
- O'Dell, R., Silk, W., Green, P., Claassen, V., 2007. Compost amendment of Cu-Zn minespoil reduces toxic bioavailability heavy metal concentration and promotes establishment and biomass production of *Bromus carinatus* (Hook and Arn). *Environ. Pollut.* 148, 115-124.
- Ojeda, G., Alcañiz, J.M., Ortiz, O., 2003. Runoff and losses by erosion in soils amended with sewage sludge. *Land Degrad. Dev.* 14, 563-573.
- Ojeda, G., Alcañiz, J.M., Le Bissonnais, Y., 2008. Differences in aggregate stability due to various sewage sludge treatments on a Mediterranean calcareous soil. *Agr. Ecosyst. Environ.* 125, 48-56.
- Okur, N., Kayikcioglu, H.H., Ates, F., Yagmur, B., 2016. A compararison of soil quality and yield parameters under organic and conventional vineyard systems in Mediterranean conditions (West Turkey). *Biol. Agric. Hortic.* 32, 73-84.
- Olesen, J.E., Hansen, E.M., Askegaard, M., Rasmussen, I.A., 2007. The value of catch crops and organic manures for spring barley in organic arable farming. *Field Crops Res.* 100, 168-178.
- Ondoño, S., Bastida, F., Moreno, J.L., 2014. Microbial and biochemical properties of artificial substrates. A preliminary study of its application as Technosols or as a basis in Green Roof Systems. *Ecol. Eng.* 70, 189-199.
- Ondoño, S., 2015. Design and characterization of optimal substrates for the growth of Mediterranean plant species in extensive Green roof systems under semiarid conditions. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena.
- Palm, C., Sánchez, P., Ahmed, S., Awiti, A., 2007. Soils: A contemporary perspective. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 32, 99-129.

- Palumbo, A.V., McCarthy, J.F., Amonette, J.E., Fischer, L.S., Wulfschleger, S.D., Daniels, W.L., 2004. Prospects for enhancing carbon sequestration and reclamation of degraded lands with fossil-fuel combustion by-products. *Adv. Environ. Res.* 8: 425-438. doi: 10.1016/S1093-0191(02)00124-7.
- Pancholy, S.K., Rice, E.L., 1973. Soil enzymes in relation to old field succession: Amylase, cellulose, invertase, dehydrogenase and urease. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 37, 47-50.
- Park, S., Kim, K., Kim, J-T., Kang, D., Sung, K., 2011. Effects of humic acid on phytodegradation of petroleum hydrocarbons in soil simultaneously contaminated with heavy metals. *J. Env. Sci.* 23 (12), 2034-2041. Doi: 10.1016/S1001-0742(10)60670-5.
- Parras-Alcántara, L., Lozano-García, B., Keesstra, S., Cerdà, A., Brevik, E.C., 2016. Long-term effects of soil management on ecosystem services and soil loss estimation in olivegrove top soils. *Sci. Total Environ.* 571, 498–506. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.07.016.
- Parsons, A.J., 2014. Abandonment of Agricultural Land, Agricultural Policy and Land degradation in Mediterranean Europe. E.N. Mueller et al. (eds.), In: *Patterns of Land Degradation in Drylands: Understanding Self-Organised Ecogeomorphic Systems*.
- Pascual, J.A., García, C., Hernández, T., 1999. Lasting microbiological and biochemical effects of the addition of municipal solid waste to an arid soil. *Biol. Fertil. Soils* 30, 1-6.
- Pascual, J.A., García, C., Hernández, T., Moreno, J.L., Ros, M., 2000. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. *Soil Biol. Biochem.* 32(13), 1877-1883. doi: 10.1013/S0038-0717(00)00161-9.
- Pascual, J.A., Moreno, J.L., Hernández, T., García, C., 2002. Persistence of immobilised and total urease and phosphatase activities in a soil amended with organic wastes. *Bioresour. Technol.* 82(1), 73-78.
- Pastor, M., 1989. Efecto del no laboreo en el olivar sobre la infiltración de agua en el suelo. *Inv. Agraria Prod. Vegetal* 4, 225-247.
- Pérez Alonso, D., 2017. Utilización de técnicas de minería de datos para la predicción del comportamiento de biosólidos aplicados en agricultura. Tesis Doctoral. Universidad de Burgos.
- Pérez-Gimeno, A., Navarro-Pedreño, J., Almendro-Candel, M.B., Gómez, I., Manuel Miguel, J.V., 2016. Environmental consequences of the use of sewage sludge compost and lime-stone outcrop residue for soil restoration: salinity and trace elements pollution. *J. Soils Sediments* 16, 1012-1021. doi: 10.1007/s11368-015-1288-y.
- Perucci, P., Casucci, C., Dumontet, S., 2000. An improved method to evaluate the o-diphenol oxidase activity of soil. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1927-1933.
- Petersen, S.O., Henriksen, K., Mortensen, G.K., Krogh, P.H., Brandt, K.K., Sorensen J., Madsen, T., Petersen, J., Gron, C., 2003. Recycling of sewage sludge and household compost to arable land: fate and

- effects of organic contaminants, and impact on soil fertility. *Soil Till. Res.* 72, 139-152. doi: 10.1016/S10167-1987(03)00084-9.
- Piccolo, A., Pietramellara, G., Mbagwu, J.S.C., 1997. Use of humic substances as soil conditioners to increase aggregate stability. *Geoderma* 75, 267-277.
- Piotrowska-Dlugosz, A., 2014. Chapter 2: Enzymes and Soil Fertility. In: *Enzyme in Agricultural Sciences*. Gianfreda L, Rao M (Eds.). OMICS Group eBooks. 731 Gull Ave Foster City, CA 94404, USA. pp 44-79.
- Plaza, C., Courtier-Murias, D., Fernández, J.M., Polo, A., Simpson, A., 2013. Physical, chemical, and biochemical mechanisms of soil organic matter stabilization under conservation tillage systems: A central role for microbes and microbial by-products in C sequestration. *Soil Biol. Biochem.* 57, 124-134. doi: 10.1016/j.soilbio.2012.07.026.
- Pomares-García, F., Pratt, P.F., 1978. Value of Manure and Sewage Sludge as N Fertilizer. *Agron. J.* 70(6), 1065-1069.
- Powelson, D.S., Whitmore, A.P., Goulding, K.W.T., 2001. Soil carbon sequestration to mitigate climate change: a critical re-examination to identify the true and the false. *Eur. J. Soil Sci.* 62, 42-55.
- Prayogo, C., Jones, J.E., Baeyens, J., Bending, G.D., 2014. Impact of biochar on mineralization of C and N from soil and willow litter and its relationship with microbial community biomass and structure. *Biol. Fertil. Soils* 50(4), 695-702. doi: 10.1007/s00374-013-0884-5.
- Pu, X.Z., Zhang, G.J., Zhang, P.P., Liu, Y.J., Zhang, W.F., 2016. Effects of straw management, inorganic fertilizer, and manure amendment on soil microbial properties, nutrient availability, and root growth in a drip-irrigated cotton field. *Crop Pasture Sci.* 67, 1297-1308. doi: 10.1071/Cp16230.
- Quereda, J., Montón, E., Escrig, J., 2000. La Evolución de las precipitaciones en la cuenca occidental del Mediterráneo ¿tendencia o ciclos?. *Investigaciones Geográficas* 24, 17-35.
- Raiesi, F., Kabiri, V., 2016. Identification of soil quality indicators for assessing the effect of different tillage practices through a soil quality index in a semi-arid environment. *Ecol. Indic.* 71, 198-207.
- Ramos, F.J., 1999. Influencia de la aplicación continuada de restos de poda del olivo sobre las propiedades del suelo. Trabajo Profesional Fin de Carrera, ETSIAM. Universidad de Córdoba. España.
- Ramulu, U.S., 2001. Reuse of municipal sewage and sludge in agriculture. Scientific Publishers, Jodhpur, India.
- Ramussen, C., Southard, R.J., Howarth, W.R., 2006. Mineral control of organic carbon mineralization in a range of temperature conifer forest soils. *Global Change Biol.* 12, 834-847.
- Rao, M.A., Scelzam, R., Acevedo, F., Díez, M.C., Gianfreda, L., 2014. Enzymes as useful tools for environmental purposes. *Chemosphere* 107, 145-162. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.12.059.

- Rauch, W., Becker, W., 2000. Waste sludge disposal in extreme alpine environments. *Waste Manage. Res.* 18, 33-40.
- Rawls, W.J., Pachepsky, Y.A., Ritchie, J.C., Sobecki, T.M., Bloodworth, H., 2003. Effect of soil organic carbon on soil water retention. *Geoderma* 116, 61-76. doi.org/10.1016/S0016-7061(03)00094-6.
- Reganold, J.P., Watchter, J.M., 2016. Organic agriculture in the twenty-first century. Review article. *Nat Plants* 2, 1-8.
- Repullo, M.A., Carbonell, R., Hidalgo, J., Rodríguez-Lizana, A., Ordoñez, R., 2012. Using olive pruning residues to cover soil and improve fertility. *Soil Till. Res.* 124, 36-46. doi: 10.1016/j.still.2012.04.003.
- Rethemeyer, J., Kramer, C., Gleixner, G., John, B., Yamashita, T., Flessa, H., Andersen, N., Nadeau, M.J., Grootes, P.M., 2005. Transformation of organic matter in agricultural soils: radiocarbon concentration versus soil depth. *Geoderma* 128, 94-105. 10.1016/j.geoderma.2004.12.017.
- Reynolds, J.F., Granger, A., Stanford Smith, D.M., Bastin, G., Gracia-Barrios, L., Fernández, R.J., Janssen, M.A., Jürgens, N., Scholes, R.J., Veldkamp, A., Verstraete M.M., Von Maltz, G., Zdruli, P., 2011. Scientific concepts for an integrated analysis of desertification. *Land Degrad. Dev.* 22, 166-183. doi: 10.1002/ldr.1104.
- Richmond, P.A., 1991. Occurrence and functions of native cellulose. In: *Biosynthesis and Biodegradation of Cellulose* (Haigler CH and Weimer PJ Eds), pp. 5-23. Dekker, New York.
- Ross DJ (1968). Activities of enzymes hydrolysing sucrose and starch in some grassland soils. *Trans. 9th Int. Congr. Soil Sci.* 3, 299-308.
- Roca-Pérez, L., Martínez, C., Marcilla, P., Boluda, R., 2009. Composting rice Straw with sewage sludge and compost effects on the soil-plant system. *Chemosphere* 75 (6), 781-787.
- Rodrigo, F.S., 2002. Cambio climático y extremos pluviométricos. En: Contreras S, Piquer M, Cabello J Eds. *Agricultura, Agua y Sostenibilidad en la provincia de Almería*. Almería. pp 283-299.
- Rodríguez-Lloveras, X., Buytaert, W., Benito, G., 2016. Land use can offset climate change induced increases in erosion in Mediterranean watersheds. *Catena* 143, 244-255.
- Roig, A., Cayuela, M.L., Sánchez-Monedero, M.A., 2006. An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Manage.* 26, 960-96.
- Romaní, A.M., Fischer, H., Mille-Lindblom, C., Tranvik, L.J., 2006. Interactions of bacteria and fungi on decomposing litter: differential extracellular enzyme activities. *Ecology* 87, 2559-2569.
- Romanyà, J., Rovira, P., Vallejo, R., 2007. Análisis del carbono en los suelos agrícolas de España. Aspectos relevantes en relación a la reconversión de la agricultura ecológica en el ámbito mediterráneo. *Ecosistemas* 16(1), 50-57.

- Romanyà, J., Rovira, P., 2011. An appraisal of soil organic carbon content in Mediterranean agricultural soils. *Soil Use Manage*, 27, 321-332.
- Romero Díaz, A., Belmonte Serrano, F., 2001. El campo de Cartagena una visión Global. En: *Recorridos por el campo de Cartagena. Control de la degradación y uso sostenible del suelo*. Eds., Henández Bastida, J. Instituto Mediterráneo del Agua (IEA), Murcia: 17-48. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/266969091\\_El\\_Campo\\_de\\_Cartagena\\_una\\_vision\\_global](https://www.researchgate.net/publication/266969091_El_Campo_de_Cartagena_una_vision_global) [accessed Apr 19 2018].
- Ros, M., 2000. Recuperación de suelos agrícolas abandonados mediante el reciclaje en los mismos de residuos orgánicos de origen urbano. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Ros, M., Hernández, M.T., García, C., 2002. Bioremediation of Soil Degraded by Sewage Sludge: Effects on Soil Properties and Erosion Losses. *Environ. Manage.* 31, 741-747.
- Ros, M., Hernández, M.T., García, C., 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biol. Biochem.*, 35, 463-469.
- Ros, M., Pascual, J.A., García, C., Hernández, M.T., Insam, H., 2006. Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in soil after long-term amendment with different composts. *Soil Biol. Biochem.* 38, 3443-3452. doi: 10.1016/j.soilbio.2006.05.017.
- Ros, M., García, C., Hernández, M.T., Lacasa, A., Fernández, P., Pascual, J.A., 2008. Effects of biosolarization as methyl bromide alternative for *Meloidogyne incognita* contro on quality of soil under pepper. *Biol. Fertil. Soils* 45, 37-44. doi: 10.1007/s00374-008-0307-1.
- Rosell, R.A., 1999. Materia orgánica, fertilidad de suelos y productividad de cultivos. *Proceed. XIV Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo*. Pucón, Chile.
- Rossi, G., Beni, C., 2018. Effects of medium-term amendment with diversely processed sewage sludge on soil humification-mineralization processes on Cu, Pb, Ni, and Zn bioavailability. *Plants* 7, 16. doi: 10.3390/plants7010016.
- Rostagno, C.M., Sosebee, R.E., 2001. Surface application of biosolids in the Chihuahuan desert: effects on soil physical properties. *Arid Land Res. Manage.* 15, 233-244.
- Ruiz, T., Febles, G., 2004. La desertificación y la sequía en el mundo. *Avances en Investigación Agropecuaria* 8 (2).
- Rutigliano, F.A., Castaldi, S., D'Ascoli, R., Papa, S., Carfora, A., Marzaioli, R., Fioretto, A., 2009. Soil activities related to nitrogen cycle under three plant cover types in Mediterranean environment. *Appl Soil Ecol* 43, 40-46. doi: 10.1016/j.apsoil.2009.05-010.

- Saia, S., Benítez, E., García-Garrido, J.M., Settanni, L., Amato, G., Giambalvo, D., 2014. The effect of arbuscular mycorrhizal fungi on total plant nitrogen uptake and nitrogen re-recovery from soil organic material. *J Agric. Sci.* 152, 370–378. doi: 10.1017/S002185961300004X.
- Saison, C., Degrange, V., Oliver, R., Millard, P., Commeaux, C., Montange, D., LeRoux, X., 2006. Alteration and resilience of the soil microbial community following compost amendment: effects of compost level and compost-borne microbial community. *Environ. Microbiol.* 8, 247-257. doi: 10.1111/j.1462-2920.2005.00892.x.
- Sanallah, M., Rumpel, C., Charrier, X., Chabbi, A., 2012. How does drought stress influence the decomposition of plant litter with contrasting quality in a grassland ecosystem? *Plant Soil* 352, 277-288. doi: 10.1007/s11104-011-0995-4.
- Sánchez-Monedero, M.A., Mondini, C., de Nobili, M., Leita, L., Roig, A., 2004. Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter. *Waste Manage.* 24, 325-332. doi: 10.1016/j.wasman.2003.08.006.
- Sastre, B., Barbero-Sierra, C., Bienes, R., Marques, M.J, García-Díaz, A., 2017. Soil loss in olive grove in central Spain under cover crops and tillage treatments, and farmer perceptions. *J. Soil Sediment.* 17, 873-888. doi: 10.1007/s11368-016-1589-9.
- Saviozzi, A., Levi-Minzi, R., Riffaldi, R., 1993. Mineralization parameters from organic materials added to soil as a function of their chemical composition. *Bioresour. Technol.* 45, 131-135.
- Schillaci, C., Acutis, M., Lombardo, L., Lipani, A., Fantappiè, M., Märker, M., Saia, A., 2017. Spatio-temporal topsoil organic carbon mapping of a semi-arid Mediterranean region: The role of land use, soil texture, topographic indices and the influence of remote sensing data to modeling. *Sci. Total Environ.* 601-602, 821-832. doi: 10.1016/j.scitotenv. 2017.05.239.
- Schimdt, M.W.I, Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabher, I., Lehmann, J., Manning, D.A., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49-56. doi: 10.1038/nature10386.
- Schiwinning, S., Sala, O.E., 2004. Hierarchy of responses to resource pulses in arid land semi-arid ecosystems. *Oecologia* 141, 211-220. doi: 10.1007/s00442-004-1520-8.
- Schulze, E.D., Freibauer, A., 2005. Environmental science: Carbon unlocked from soils. *Nature* 437,(7056), 205-206. DOI: 10.1038/437205a.
- Schutter, M.E., Sandeno, J.M., Dick, R.P., 2001. Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems. *Biol. Fert. Soils* 34, 397-410.

- Scopa, A., Dumonet, S., 2007. Soil solarization: effects on soil microbial parameters. *J. Plant Nutr.* 30, 537-547.
- Scopa, A., Candido, V., Dumontet, S., Pasquale, V., Miccolis, V., 2009. Repeated solarization and long-term effects on soil microbiological parameters and agronomic traits. *Crop Prot.* 28, 818-824. doi: 10.1016/j.cropro.2009.06.014.
- Scotti, R., Bonanomi, G., Scelza, R., Zoina, A., Rao, M.A., 2015. Organic amendments as sustainable tool to recovery fertility in intensive agricultural systems. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 15(2), 333-352. doi: 10.4067/S0718-9516200/5005000031.
- Scotti, R., Pane, C., Spaccini, R., Palese, AM., Piccolo, A., Celano, G., Zaccardelli, M., 2016. On-farm compost: a useful tool to improve soil quality under intensive farming systems. *Appl. Soil Ecol.* 107: 13-23. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.05.004.
- Seilsepour, M., Rashidi, M., 2008. Modeling of soil sodium adsorption ratio based on soil electrical conductivity. *ARPN J. Agric. Biol. Sci.* 3 (5-6), 27-31.
- Senesi, N., Plaza, C., 2007. Role of humification processes soil amendments. *Clean-Soil Air Water* 35, 26-41.
- Seybold, C.A., Mausbach, M.J., Karlen, D.L., Rogers, H.H., 1997. Quantification of soil quality. En *Soil Process and the carbon cycle* (eds. Lal R, Kimble JM, Follet RF, Stewart BA), pp 387-403. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Sharma, B., Sarkar, A., Singh, P., Singh, R.P., 2017. Agricultural utilization of biosolids: a review on potential effects on soil and plant grown. *Waste Manage.* 64, 117–132. doi: 10.1016/j.wasman.2017.03.002.
- Sierra, C .,2016. La importancia de las enmiendas orgánicas en los suelos (Parte I). <http://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Noticias/2015/07/07/La-importancia-de-las-enmiendas-organicas-en-los-suelos-Parte-I.aspx>.
- Sims, J.R., Haby, V.A., 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. *Soil Sci.* 112, 137-141.
- Sims, J.T., Cunningham, S.D., Summer, M.E., 1997. Assessing soil quality for environmental purposes: Roles and challenges for soil scientists. *J. Environ. Qual.* 26, 20-25.
- Singh, R.P., Agrawal, M., 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Manage.* 28, 347-358.
- Singh, R.P., Singh, P., Hakimi Ibrahim, M., Hashim, R., 2011. Land application of sewage sludge: Physicochemical and microbial response. *Rev. Environ. Contam. T* 214, 41-61. doi: 10.1007/978-1-4614-0668-6\_3.

- Singh, J., Kalamdhad, A., 2012. Reduction of heavy metals during composting-a review. *Int. J. Environ. Protection* 2, 36-43.
- Singh, M., 2015. Soil salinization and waterlogging: A threat to environment and agricultural sustainability. *Ecol. Indic.* 57, 128-130.
- Sivakumar, M.V.K., 2007. Interactions between climate and desertification. *Agric. For. Meteorol.* 142, 143-155.
- Sinsabaugh, R.I., Antibus, R.K., Linkins, A.E., McClaugherty, C.A., Rayburn, L., Repert, D., Weiland T., 1993. Wood decomposition: nitrogen and phosphorous dynamics in relation to extracellular enzyme activity. *Ecology* 74, 1586-1593. doi: 10.2307/1940086.
- Sinsabaugh, R.L., Gallo, M.E., Lauber, C.L., Waldrop, M., Zak, D.R., 2005. Extracellular enzyme activities and soil carbon dynamics for northern hardwood forest receiving simulated nitrogen deposition. *Biogeochemistry* 75, 201-215. doi: 10.1007/s10533-004-7112-1.
- Sinsabaugh, R. I., Lauber, C.I., Weintraub, M.N., Ahmed, B., Allison, S.D., Crenshaw, C., Contosta, A.R., Cusack, D., Frey S., Gallo, M.E., Gartner, T.B., Hobbie, S.E., Holland L., Heeler, B.L., Powers, S.S., Stursova, M., Takacs-Vesbach, C., Waldrop, M., Wallestein, M.D., Zak, D.R., Zeglin, L.H., 2008. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecol. Lett.* 11(11), 1252-1264. doi: 10.1111/j.1461-0248.2008.01245-x.
- Sinsabaugh, R.L., 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biol. Biochem.* 42, 391-404.
- Six, J., Elliot, E.T., Paustian, K., 2000. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biol. Biochem.* 32, 2099-2103.
- Six, J., Conant, R.T., Paul, E.A., Paustian, K., 2002. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. *Plant Soil* 241, 155-176.
- Simmons, C.W., Guo, H., Claypool, J., Marshal, M.N., Perano, K.M., Stapleton, J.J., VanderGheynst, J.S., 2013. Managing compost stability and amendment to soil to enhance soil heating during soil solarization. *Waste Manage.* 33, 1090-1096. doi: 10.1016/j.wasman.2013.01.015.
- Simmons, C.W., Claypool, J.T., Marshall, M.N., Jabusch, L.K., reddy, A.P., Simmons, B.A., Singer, S.W., Stapleton, S.S., VanderGheynst, J.S., 2014. Characterization of bacterial communities in solarized soil amended with lignocellulosic organic matter. *Appl. Soil Ecol.* 73, 97-104. doi:10.1016/j.apsoil.2013.08.014.
- Simmons, C.W., Higgins, B., Staley, S., Joh, L.D., Simmons, B.A., Singer, S.W., Stapleton, J.J., VanderGheynst, J.S., 2016. The role of organic matter amendment level on soil heating, organic acid accumulation, and development of bacterial communities in solarized soil. *Appl. Soil Ecol.* 106, 37-46. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.04.018.

- Smith, L.J., Papendick, R.I., 1993. Soil organic matter dynamics and crop residue management. En: Blaine Metting (Ed.) Soil Microbial Ecology. Marcel Dekker. New York.
- Sommers, L.E., Tabatabai, M.A., Nelson, D.W., 1977. Forms of sulfur in sewage sludge. *J. Environ.Qual.* 6:42-46.
- Spaccini, R., Piccolo, A., 2009. Molecular characteristics of humic acids extracted from compost at increasing maturity stages. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1164-1172.
- Sponseller, R.A., 2007. Precipitation pulses and soil CO<sub>2</sub> flux in a Sonoran desert ecosystem. *Glob. Change Biol.* 13, 426-436. doi: 10.1111/j.1365-2486.2006.01307.x.
- Stapleton, J.J., 2000. Soil solarization in various agricultural production systems. *Crop Prot.* 19, 837-841.
- Stephen, R.S., 2009. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste compost compared to sewage sludge. *Environ. Int.* 35: 142-156.
- Stevenson, F.J., 1994. Humus chemistry. Genesis, composition, reactions. John Willey and Sons. New York, 512 p.
- Stewart, B.A., Robinson, C.A., Parker, D.B., 2000. Examples and case studies of beneficial reuse of beef cattle by products. Pp 387-407. In: JF Power y WA Dick eds. Land application of agricultural, industrial and municipal by-products. SSSA Book Series No. 6, SSSA, Madison, WI.
- Stout, W.L., Weaver, S.R., Gburek, W.J., Folmar, G.J., Schnabel, R.R., 2000. Water quality implications of dairy slurry applied to cut pastures in the northeast USA. *Soil Use Manage.* 16(3), 198-193. doi: 10.1111/j.1475-2743.2000.tb00191.x.
- Stenström, J., Pell, M., Johansson, M., 1998. Kinetics of substrate-induced respiration (SIR) and denitrification. Applications to a soil amended with silver. *Ambio* 27 (1), 40-44.
- Stursova, M., Sinsabaugh, R.L., 2008. Stabilization of oxidative enzymes in desert soil may limit organic matter accumulation. *Soil Biol. Biochem.* 40, 550-553. doi: 10.1016/j.soilbio.2007.09.002.
- Swift, R., 2001. Sequestration of carbon by soil. *Soil Science* 166, 858-871.
- Sylvia, D. M., Fuhrmann, J. J., Hartel, P. G., Zuberer, D. A., 2005. Principles and applications of soil microbiology. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River N.J.
- Tabatabai, M.A., 1982. Soil enzymes. En: Page, AL (Ed.). Methods of soils analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2<sup>nd</sup> edition. Soil Sci. Soc. Am., Madison, pp, 903-947.
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1989. Use of p-nitrophenyl phosphatase for assay of soil phosphate activity. *Soil Biol. Biochem.* 1, 301-307.

- Thangarajan, R., Bolan, N.S., Tian, G., Naidu, R., Kunhikrishnan, A., 2013. Role of organic amendment application on greenhouse gas emission from soil. *Sci. Total Environ.* 465, 72–96. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.01.031.
- Tarrasón, D., Ortiz, O., Alcañiz, J.M., 2007. A multi-criteria evaluation of organic amendments used to transform an unproductive shrubland into a Mediterranean *dehesa*. *J. Environ. Manage.* 82, 446-456.
- Tarrasón, D., Ojeda, G., Ortiz, O., Alcaniz, J.M., 2010. Effects of different types of sludge on soil microbial properties: a field experiment on degraded Mediterranean soils. *Pedosphere* 20, 681-691.
- Tejada, M., Hernández, T., García, C., 2006. Application of two organic amendments on soil restoration: Effects on the soil properties. *J. Environ. Qual.* 35, 1010-1017.
- Tejada, M., Moreno, J.L., Hernández, M.T., García, C., 2007. Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in an environment in southern Spain. *Agr. Ecosyst. Environ.* 119 (3), 289-298. doi: 10.1016/j.agee.2006.07-019.
- Tejada, M., Gonzalez, J.L., 2008. Influence of two organic amendments on the soil physical properties, soil losses, sediments and runoff water quality. *Geoderma* 145, 325-334. doi: 10.1016/j.geoderma.2008.03.020.
- Tejada, M., Gonzalez, J.L., García-Martínez, A.A., Parrado, J., 2008. Application of a Green manure composted with beet vinasse on soil restoration: Effects on soil properties. *Bioresour. Technol.* 99, 4949-4957.
- Tejada, M., Hernández, M.T., García, C., 2009. Soil restoration using composted plant residues: effect on soil properties. *Soil Till. Res.* 45, 109-117.
- Tejada, M., Benítez, C., Gómez, I., Parrado, J., 2011. Use of biostimulants on soil restoration: Effects on soil biochemical properties and microbial community. *Appl. Soil Ecol.* 49, 11-17.
- Teng, H., Sørensen, P., Olesen, J.E., 2018. Soil carbon varies between different organic and conventional management schemes in arable agriculture. *Eur. J. Agron.* 94, 79-88.
- Terry, R., Nelson, D., Sommers, L., 1979. Decomposition of anaerobically digested sewage sludge as affected by soil environmental conditions. *J. Environ. Qual.* 8, 3-12.
- Tian, G., Kang, B.T., Brussaard, L., 1992. Biological effects of plant residues with contrasting chemical compositions under humid tropical conditions-decomposition and nutrient release. *Soil Biol. Biochem.* 24(10), 1051-60. doi: 10.1016/0038-0717(92)90035-V.
- Tian, J., Wang, J., Dippold, M., Gao, Y., Blagodatskaya, E., Kuzyakov, Y., 2016. Biochar affects soil organic matter cycling and microbial functions but does not alter microbial community structure in a paddy soil. *Sci. Total Environ.* 556, 89-92. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.03.010.

- Tian J, Lou Y, Gao H, Fang S., Liu, S., Xu, M., Blagodatskaya, E., Zuzyakov, Y., 2017. Response of soil organic matter fractions and composition of microbial community to long-term organic and mineral fertilization. *Biol. Fertil. Soils* 53, 523-532. doi: 10.1007/s00374-017-1189x.
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418, 617-677.
- Tisdall, J.M., 1991. Fungal hyphae and structural stability of soil. *Aust. J. Soil Resour.* 29, 729-743.
- Toor, G.S., Shober, A.L., 2015. Soils & Fertilizers for master gardeners: Soil organic matter and organic amendments. UF/IFAS Extension. SL273. <http://edis.ifas.ufl.edu>.
- Torres Bocero, I.F., 2015. Dynamics of carbon in degraded semiarid soils: effects of organic amendments and associated soil microbial communities. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Murcia.
- Trasar Cepeda, C., Gil Sotres, F., Leiros De la Peña, M.C., 2003. Determinación de la actividad deshidrogenasa del suelo. En: García, C, Gil F, Hernández T, Trasar C. (Eds.). Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Ed. Mundi-Prensa, pp.211-227.
- Trevors, J.T., 1984. Rapid gas chromatographic method to measure H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidoreductase (catalase) activity in soil. *Soil Biol. Biochem.* 16, 525-526.
- Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A., Itävaara, M., 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresour. Technol.* 72 (2), 169-183.
- UNCED.,1992. Report of the United Nations Conference on Environment and Development, Chapter 12: Managing fragile ecosystems: Combating desertification and drought-(Rio de Janeiro, 3-14 June 1992), Gmneral A/CONF.151/26 (Vol.II), Chapter 12. (<http://www.unccd.ch>).
- UNEP., 1992. United Nations Environment Programme. World Atlas of Desertification. London.
- Usodomenech, J.L., Villacampaesteve, Y., Stubingmartinez, G., Karjalainen, T., Ramo, M.P., 1995. MARIOLA: a model for calculating the response of Mediterraneanbush ecosystem to climatic variations. *Ecol. Model.* 80, 113-129.
- Van Camp, L., Bujarrabal, B., Gentile, A.R., Jones, R.J.A., Montanarella, L., Olazabal, C., Selvaradjou, S.K., 2004. Volume III-Organic matter and biodiversity. Reports of the Technical Working Groups established under the Thematic Strategy for Soil Protection. EUR 21319 EN/1, 872 pp. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- Van der Wal, A., Geydan, T.D., Kuyper, T.W., de Boer, W., 2013. A thread affair: linking fungal diversity and community dynamics to terrestrial decomposition processes. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 477-494. doi: 10.1111/1574-6976.12001.

- Veeresh, H., Tripathy, S., Chaudhuri, D., Ghosh, B.C., Hart, B.R., Powell, M., 2003. Changes in physical and chemical properties of three soil types in India as a result of amendment with fly ash and sewage sludge. *Env. Geol.* 43, 513-520. doi: 10.1007/s00254-002-0656-2.
- Vicente-Serrano, SM., 2016. Foreword: Drought complexity and assessment under climate change conditions. *Cuadernos de Investigación Geográfica* 42, 7-11.
- Vizcaíno Garzón, P.A., 2008. Aplicación de técnicas de inducción de árboles de decisión a problemas de clasificación mediante el uso de WEKA (Waikato Environment for Knowledge Analysis). *Fundación Universitaria Konrad Lorenz facultad de ingeniería de sistemas*, pp. 22-23.
- von Lutzow, M., Joegel-Knabner, I., Ekschmitt K, Matzner, E., Guggenberger, G., Marscher, B., Flessa, H., 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions- a review. *Eur. J. Soil Sci.* 57, 426-445. doi: 10.1111/j.1365.2006.00809.x.
- Walter, J., Hein, R., Beierkuhnlein, C., Hammerl, V., Jentsch, A., Schädler, M., Schverings, J., Kreyling, J., 2003. Combined effects of multifactor climate change and land-use on decomposition in temperate grassland. *Soil Biol. Biochem.* 60, 10-18. doi: 10.1016/j.soilbio.2013.01.018.
- Walter, I., Martínez, F., Cuevas, G., 2006. Plant and soil responses to the application of composted MSW in a degraded, semiarid shrubland in central Spain. *Compost Sci. Util.* 14(2), 147-154.
- Wang, H., Brown, S.L., Magesan, G.N., Slade, A.H, Quintern, M., Clinton, P.W., Payn, T.W., 2008. Technological options for the management of biosolids. *Env. Sci. Pollut. Res. Int.* 15, 308-317. doi: 10.1007/s11356-008-0012-5.
- Warren, A., 2003. Wind erosion on agricultural land in Europe: research results for land managers. Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg.
- Watson, C., Atkinson, D., Gosling, P., Jackson, I., Ryans, F.W., 2002. Managing soil fertility in organic farming systems. *Soil Use Manage.* 18, 239-247. doi: 10.1111/j.1475-2743.2002.tb06265.x.
- Webb, N.P., McGowan, H.A., Phin, S.R., McTainsh, G.H., 2006. AUSLEM (Australian Land Erodibility Model): a tool for identifying wind erosion hazard in Australia. *Geomorphology* 78, 179-200. doi: 10.1016/j.geomorp.2006.01.012.
- Weigelt, P., Jetz, W., Krefl, H., 2013. Bioclimatic and physical characterization on the world's islands. *PNAS* 110 (38): 15307-15312. doi: 10.1073/pnas.13006309110.
- West, A.W., Sparling, G.P., Grant, W.P., 1988. Relationships between mycelium and bacterial populations in stored, air dried and glucose-amended arable and grassland soils. *Soil Biol. Biochem.* 19, 599-605.
- Whalen, J.K., Willms, W.D., Dourmaar, J.F., 2003. Soil carbon, nitrogen and phosphorous in modified rangeland communities. *J. Range Manage.* 56, 666-672.
- Woods, A.F., 1989. The destruction of Chlorophyll by oxidizing enzymes. *Centralbl. F. Bakt* 5, 745-754.

- Wu, X., Zhang, X., Yu, J., Sun, X.M., Liang, W.J., 2012. Impact of organic amendments on distribution with aggregate fractions in Aeolian sandy soil. *J. Nematol.* 44 (4), 497-497.
- Yazdanpanah, N., Mahmoodabadi, M., Cerdá, A., 2016. The impact of organic amendments on soil hydrology, structure and microbial respiration in semiarid lands. *Goederma* 266, 58-65. doi: 10.1016/j.goederma.2015.11.032.
- Zalidis, G., Stamatiadis, S., Takavaoglou, V., Eskridge, K., Misopolinos, N., 2002. Impacts of agricultural practices on soil and water quality in the Mediterranean region and proposed assessment methodology. *Agr. Ecosyst. Environ.* 88(2), 137-146. doi: 10.1016/S0167-8809(01)00249-3.
- Zaman, M., Cameron, K.C., Di, H.J., Inubushi, K., 2002. Changes in mineral N, microbial biomass and enzyme activities in different soil depths after surface applications of dairy shed effluent and chemical fertilizer. *Nutr. Cycl. Agroecosyst* 63, 275-290.
- Zdruli, P., Jones, R.J.A., Montanarella, L., 2004. Organic Matter in the Soils of Southern Europe. In: European Soil Bureau Technical Report, EUR 21083 EN. Office for Official Publications of the European Communities. Luxembourg, pp.16.
- Zelles, L., 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterization of microbial communities in soil: a review. *Biol. Fert. Soils* 29, 111-129.
- Zeytin, S., Baran, A., 2003. Influences of composted hazelnut husk on some physical properties of soils. *Bioresour. Technol.* 88, 241-244. doi:10.1016/S0960-8524(03)00005-1.
- Zhang, M., Heaney, D., Henriquez, B., Solberg, E., Bittner, E., 2006. A Four-Year Study on Influence of Biosolids/MSW Cocompost Application in Less Productive Soils In Alberta: Nutrient Dynamics. *Compost Science & Utilization* 14(1), 68-80. doi: 10.1080/1065657x.2006.10702265.
- Zhang, K., Qu, J., Han, Q., Xie, S., Kai, K., Niu, Q-H., An, Z., 2014. Wind tunnel simulation of windblown sand along China's Qinghai-Tibet railway. *Land Degrad Dev.* 25, 244-250. doi: 10.1002/ldr.2137.
- Zhang, J., Wang, J., An, T., Wei, D., Chi, F., Zhou, B., 2017a. Effect of long-term fertilization on humic acid composition and structure in black soil. *PLoS ONE* 2. doi:10.1371/journal.pone.0186918.
- Zhang, X., Wang, X-Q., Wang, D.F., 2017 b. Immobilization of heavy metals in sewage sludge during land application process in China: A review. *Sustainability* 9, 1-19. doi:10.3390/su9112020.
- Zoghalmi, L.R., Hamdi, H., Mokni-Tlilis, S., Khelil, M.N., Ben Aissa, N., Jedidi, N., 2016. Changes in light-textured soil parameters following two successive annual amendments with urban sewage-sludge. *Ecol. Eng.* 95,604-611. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.06.103.