



Universitat
de les Illes Balears

TESIS DOCTORAL
2016

**INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN
SOBRE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL SUELO.
ESTUDIO COMPARATIVO DE DIFERENTES
FUENTES DE MATERIA ORGÁNICA**

Edelweiss Farrús Miró



Universitat
de les Illes Balears

TESIS DOCTORAL
2016

Programa de Doctorado en Biología

**INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN
SOBRE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL SUELO.
ESTUDIO COMPARATIVO DE DIFERENTES
FUENTES DE MATERIA ORGÁNICA**

Edelweïss Farrús Miró

Director: Jaume Vadell Adrover

Doctora por la Universitat de les Illes Balears



Universitat
de les Illes Balears

**INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN
SOBRE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL SUELO.
ESTUDIO COMPARATIVO DE DIFERENTES
FUENTES DE MATERIA ORGÁNICA**

Memoria presentada por Edelweïss Farrús Miró, licenciada
en Biología, para optar al título de Doctora en Biología
de la Universitat de les Illes Balears

Firmado: Edelweïss Farrús Miró

Director de la Tesis:

Dr. Jaume Vadell Adrover, Profesor Titular de la Universitat
de les Illes Balears, Departament de Biologia.

Firmado: Jaume Vadell Adrover



**Universitat de les
Illes Balears**

Dr. Jaume Vadell Adrover de la Universitat de les Illes Balears,

DECLARO:

Que la tesis doctoral que lleva por título "Influencia de la fertilización sobre la actividad biológica del suelo. Estudio comparativo de diferentes fuentes de materia orgánica", presentada por Edelweiss Farrús Miró para la obtención del título de doctora, ha sido dirigida bajo mi supervisión.

Y para que quede constancia de ello firmo este documento.

Firma,

Palma de Mallorca, 30 de noviembre de 2015.

Agradecimientos

Redactar este apartado de la memoria no resulta fácil, supone echar una mirada atrás, más de una década, a un período de mi vida que ahora me supone ciertamente lejano. Es un ejercicio complicado a la vez que entrañable, ya que de continuo surgen vivencias y emociones que se entremezclan.

Primero quiero agradecer la colaboración de la finca experimental *sa Canova*, en el momento en que se realizaron las experiencias, propiedad de la *Caja de Ahorros sa Nostra*, actualmente integrada en *Banco Mare Nostrum* y ya desvinculada de esta finca. Agradecer la colaboración del director de la finca Pere Miralles y la ayuda de sus trabajadores Tomeu Trias, Jaume Estrany y Sebastià Torrandell.

También mi gratitud hacia Remedio Albiach, por su ayuda en la puesta a punto de distintas determinaciones analíticas.

En distintas fases del trabajo de campo y de laboratorio fue importante la colaboración de Maria Adrover, Jeroni Vera, Toni Forss y Margalida Colombàs, que participaron en diferentes tareas, en los muestreos de campo y apoyo en determinaciones analíticas de laboratorio.

La colaboración de Pep Sastre en las tareas de campo y en las tareas de apoyo en la preparación de material fue también muy importante.

También, quiero agradecer a Joan Rita por la revisión del inventario florístico de Xorrigo.

Quiero aprovechar estas líneas para agradecer a Cata Cabot, Lleonard Llorens, Maria Alorda, Helena Montero y a Vicenç Forteza todo lo que me enseñaron tanto a nivel profesional como a nivel personal, su carisma y cariño que siempre me mostraron.

Por último quiero agradecer toda la implicación de Jaume Vadell, desde el momento en que se inició el trabajo de campo y de laboratorio y, sobre todo, en la fase final, que ha posibilitado que finalmente pueda cerrar este trabajo.

Laura y Sandra también merecen un hueco aquí, ya que aún y no entender el motivo de tantas horas delante del ordenador, han tenido mucha paciencia. Por su cariño, frescura y admiración.

Es cierto que ha pasado mucho tiempo desde que finalicé los trabajos de campo y de laboratorio hasta ahora, momento de redacción de la memoria. Tal dilatado tiempo se ha debido a obligaciones personales, deberes y oportunidades laborales,... No quiero acabar sin decir que, haciendo una mirada retrospectiva desde la puesta en marcha de la tesis hasta hoy, constato que ésta ha supuesto mucho en mi bagaje profesional y personal, dándome una seguridad y un punto de partida hacia nuevos aprendizajes de incalculable valor.

Índice

	página
Abreviaciones y siglas	7
Resumen	11
Resum	13
Abstract	15
1. Introducción	17
1.1. Calidad del suelo	17
1.1.1. Parámetros indicadores de la calidad del suelo	19
1.2. La materia orgánica como indicadora de calidad del suelo	22
1.2.1. Constituyentes de la materia orgánica	22
Acidos húmicos y ácidos fúlvicos	24
Carbohidratos	25
Gomas microbianas	25
Carbono orgánico soluble	26
1.3. Estabilidad estructural	28
1.4. La actividad microbiana en el suelo como indicadora de calidad del suelo	29
1.4.1. Biomasa microbiana	29
1.4.2. Respiración microbiana e índices asociados	30
1.4.3. Actividades enzimáticas	31
Relación de las enzimas con los ciclos bioquímicos del suelo	32
Origen y localización de las enzimas en los suelos	32
1.4.4. Tipos de enzimas	35
Deshidrogenasa	35
β-glucosidasa	36
Proteasa	37
Ureasa	38
Fosfatasa alcalina	39
Arilsulfatasa	40
2. Objetivos y plan de trabajo	43
2.1. Objetivos	43
2.2. Plan de trabajo	44
3. Material y métodos	47
3.1. Recogida y preparación de las muestras de tierra	47
3.1.1. Recogida y preparación de las muestras para la caracterización físico-química	47
3.1.2. Recogida y preparación de las muestras para la caracterización biológica	47
3.2. Parámetros físicos	48
3.2.1. Contenido en elementos gruesos	48

3.2.2. Textura.....	48
3.2.3. Estabilidad estructural.....	49
3.2.4. Humedad del suelo.....	50
3.2.5. Agua retenida a capacidad de campo.....	50
3.2.6. Agua retenida en el punto de marchitez permanente.....	51
3.3. Parámetros químicos.....	51
3.3.1. pH real y potencial.....	51
3.3.2. Conductividad eléctrica del extracto 1:5 (prueba previa de salinidad).....	52
3.3.3. Carbonato cálcico equivalente.....	52
3.3.4. Caliza activa.....	52
3.3.5. Materia orgánica en los horizontes orgánicos.....	53
3.3.6. Carbono orgánico total en los horizontes minerales.....	53
3.3.7. Contenido en carbono del extracto húmico total y de los ácidos húmicos.....	54
3.3.8. Determinación de la relación E4/E6 del extracto húmico total.....	55
3.3.9. Carbono orgánico soluble en agua.....	55
3.3.10. Gomas microbianas.....	56
3.3.11. Nitrógeno total.....	57
3.3.12. Nitrógeno inorgánico.....	57
3.3.13. Fósforo total.....	58
3.3.14. Fósforo orgánico.....	59
3.3.15. Fósforo inorgánico.....	60
3.3.16. Fósforo soluble Olsen.....	60
3.3.17. Azufre total.....	60
3.3.18. Capacidad de intercambio catiónico.....	61
3.4. Parámetros biológicos.....	62
3.4.1. Biomasa microbiana.....	62
3.4.2. Respiración microbiana del suelo.....	63
3.4.3. Actividad deshidrogenasa.....	63
3.4.4. Actividad β -glucosidasa.....	64
3.4.5. Actividad fosfatasa alcalina.....	65
3.4.6. Actividad arilsulfatasa.....	65
3.4.7. Actividad BAA-proteasa.....	66
3.4.8. Actividad ureasa.....	67
3.5. Análisis estadístico.....	68
4. Influencia de la fertilización orgánica y mineral sobre la actividad biológica del suelo en cultivos de lechuga.....	69
4.1. Introducción.....	69
4.2. Material y métodos de campo.....	71
4.2.1. Localización y características de la zona del estudio.....	71
4.2.2. Características edáficas e historial agronómico.....	71
4.2.3. Características de los fertilizantes utilizados.....	72
4.2.4. Riego.....	75
4.2.5. Especie cultivada.....	76
4.2.6. Diseño experimental.....	77
4.2.7. Características de los diferentes ensayos.....	78

Ensayo 1.....	78
Ensayo 2.....	79
Ensayo 3.....	81
Ensayo 4.....	82
4.3. Resultados y discusión.....	86
4.3.1. Parámetros químicos.....	86
Carbono orgánico total.....	86
Gomas microbianas.....	89
Nitrógeno total.....	89
Relación C/N.....	90
Fósforo Olsen.....	90
4.3.2. Biomasa microbiana y actividades enzimáticas.....	91
Biomasa microbiana.....	91
Actividad deshidrogenasa.....	93
Actividad β -glucosidasa.....	94
Actividad fosfatasa alcalina.....	95
Actividad arilsulfatasa.....	96
4.3.3. Producción vegetal.....	97
4.3.4. Relaciones entre parámetros.....	99
4.3.5. Comparación entre los distintos materiales ensayados y la fertilización mineral.....	100
5. Estudio comparativo de la influencia de diferentes enmiendas orgánicas sobre la actividad biológica del suelo.....	119
5.1. Introducción.....	119
5.2. Material y métodos de campo.....	121
5.2.1. Localización y características de la zona del estudio.....	121
5.2.2. Características de los fertilizantes utilizados.....	121
5.2.3. Riego.....	122
5.2.4. Especie cultivada.....	122
5.2.5. Diseño experimental.....	123
5.2.6. Características de los ensayos.....	124
Ensayo 1.....	124
Ensayo 2.....	126
5.3. Resultados y discusión.....	127
5.3.1. Parámetros químicos.....	127
pH del suelo y salinidad.....	127
Carbono orgánico total.....	128
Extracto húmico total.....	128
Carbono orgánico soluble.....	129
Nitrógeno total.....	129
Relación C/N.....	130
Fósforo.....	130
5.3.2. Índice de estabilidad estructural.....	131
5.3.3. Biomasa microbiana y actividades enzimáticas.....	131
5.3.4. Producción vegetal.....	133

5.3.5. Relaciones entre parámetros.....	134
6. Influencia de la vegetación natural y el cultivo sobre los parámetros físicos, químicos y biológicos del suelo.....	153
6.1. Introducción.....	153
6.2. Zona de estudio.....	154
6.3. Preparación de las muestras.....	157
6.4. Resultados y discusión: horizontes minerales.....	161
6.4.1. Parámetros físicos y químicos.....	161
pH del suelo.....	161
Conductividad eléctrica.....	161
Carbonato cálcico equivalente y caliza activa.....	161
Retención de agua del suelo.....	162
Carbono orgánico total.....	163
Extracto húmico total y ácidos húmicos.....	163
Relación E4/E6.....	164
Carbono orgánico soluble.....	164
Gomas microbianas.....	165
Nitrógeno total y relación C/N.....	165
Nitratos y amonio.....	165
Fósforo.....	166
Índice de estabilidad estructural.....	167
6.4.2. Biomasa microbiana y respiración.....	167
Biomasa microbiana.....	167
Respiración basal.....	168
6.4.3. Actividades enzimáticas.....	168
Actividad deshidrogenasa.....	168
Actividad β -glucosidasa.....	169
Actividad fosfatasa alcalina.....	169
Actividad arilsulfatasa.....	170
Actividad ureasa.....	170
Actividad proteasa.....	170
6.4.4. Relaciones entre los parámetros.....	171
6.5. Resultados y discusión: horizontes orgánicos.....	173
7. Caracterización física, química y biológica de una población de suelos agrícolas de Mallorca.....	197
7.1. Introducción.....	197
7.2. Material y métodos.....	198
7.2.1. Localización de las muestras.....	198
7.2.2. Preparación de las muestras.....	199
7.3. Resultados y discusión.....	199
7.3.1. Caracterización físico-química.....	199
Características básicas.....	199
Caracterización de la fracción orgánica.....	200
Nitrógeno.....	201
Fósforo.....	201

Índice de Estabilidad Estructural.....	202
7.3.2. Biomasa microbiana y respiración.....	202
Biomasa microbiana.....	202
Respiración basal.....	203
7.3.3. Actividades enzimáticas.....	203
7.3.4. Relaciones entre los parámetros.....	204
8. Discusión general.....	211
8.1. Relación de la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas con los tratamientos de fertilización orgánica.....	212
8.2. Efecto de la fertilización mineral sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas.....	216
8.3. Relación entre el crecimiento microbiano, las actividades enzimáticas y la producción vegetal.....	217
8.4. Comparación de las diferentes fuentes de materia orgánica sobre la biología del suelo y la producción vegetal.....	218
8.5. Efecto de la vegetación sobre la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas y la respiración basal: horizontes minerales.....	220
8.6. Efecto de la vegetación sobre la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas y la respiración basal: horizontes orgánicos.....	222
8.7. Efecto del laboreo sobre la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas y la respiración basal.....	223
8.8. Evaluación de los suelos agrícolas de Mallorca a partir de los parámetros biológicos: biomasa microbiana, actividades enzimáticas y respiración basal.....	224
8.9. Efecto del estado hídrico del suelo sobre los parámetros químicos y biológicos.....	225
8.10. Evaluación global de las relaciones entre los parámetros físicos, químicos y biológicos estudiados.....	226
9. Conclusiones.....	231
10. Bibliografía.....	235

Abreviaciones y siglas

AF: Ácidos fúlvicos [g C kg⁻¹ suelo].

AH: Ácidos húmicos [g C kg⁻¹ suelo].

AS: Actividad arilsulfatasa [mmol PNP kg⁻¹ suelo h⁻¹].

ASe: Actividad arilsulfatasa específica [mmol PNP kg⁻¹ COT h⁻¹].

BAA: N-benzoil-L-arginina-amida.

BG: Actividad β-glucosidasa [mmol PNP kg⁻¹ suelo h⁻¹].

BGe: Actividad β-glucosidasa específica [mmol PNP kg⁻¹ COT h⁻¹].

BM: Biomasa microbiana [mg C kg⁻¹ suelo].

CA: Caliza activa [g CaCO₃ kg⁻¹ suelo].

CC: Capacidad de campo. Contenido de humedad retenida a un nivel de succión igual o superior a 33 kPa (potencial hídrico del agua: -33 kPa) [g H₂O kg⁻¹ suelo].

CCE: Carbonato cálcico equivalente [g CaCO₃ kg⁻¹ suelo].

CE: Conductividad eléctrica [extracto 1:5; dS m⁻¹, 25 °C].

CEQ: Compost de equinácea (*Echinacea purpurea*). Tratamiento de fertilización incorporando compost de equinácea.

CIC: Capacidad de intercambio catiónico [cmol₍₊₎ kg⁻¹ suelo].

CL: Compost de lodos de depuradora. Tratamiento de fertilización incorporando compost de lodos de depuradora.

CLA: Compost de lodos de depuradora de Ariany. Tratamiento de fertilización incorporando compost de lodos de depuradora.

CLP: Compost de lodos de depuradora de Sa Poblá. Tratamiento de fertilización incorporando compost de lodos de depuradora.

CME: Coeficiente de mineralización endógena [g C-CO₂ kg⁻¹ COT d⁻¹].

CO: Carbono orgánico [g C kg⁻¹ suelo].

CON: Control. Tratamiento testigo o control.

COS: Carbono orgánico soluble (identificado como *WSC: water soluble carbon* y *DOC: dissolved organic carbon*) [mg C kg⁻¹ suelo].

COT: Carbono orgánico total [g C kg⁻¹ suelo]. Se ha usado con preferencia esta expresión a CO, que también se emplea para indicar el contenido de carbono orgánico total.

CRM: Compost de recogida municipal. Tratamiento de fertilización incorporando compost de recogida municipal.

CRMS: Compost de recogida municipal selectiva en origen. Tratamiento de fertilización incorporando compost de recogida municipal selectiva.

DH: Actividad deshidrogenasa [$\mu\text{mol TPF kg}^{-1}$ suelo h⁻¹].

DHe: Actividad deshidrogenasa específica [mmol TPF kg⁻¹ COT h⁻¹].

DUE: *Duetto*. Tratamiento de fertilización incorporando el fertilizante comercial *Duetto*.

EHT: Extracto húmico total [g C kg⁻¹ suelo].

EV: Estiércol de vacuno. Tratamiento de fertilización incorporando estiércol de vacuno.

F: Fertirrigación. Aportación de fertilizantes minerales mediante el riego.

F+CL: Tratamiento de fertirrigación y aporte de compost de lodos de depuradora.

F+CON: Tratamiento de fertirrigación sin aporte de otros fertilizantes orgánicos.

F+DUE: Tratamiento de fertirrigación y aporte del fertilizante comercial *Duetto*.

F+EV: Tratamiento de fertirrigación y aporte de estiércol de vacuno.

F+HUM: Tratamiento de fertirrigación y aporte del fertilizante comercial "AHULUQ 15".

GM: Gomas microbianas [g kg⁻¹ suelo]. Se ha tomado como patrón de referencia agar.

Hm: Humedad expresada en unidades de masa [g agua kg⁻¹ suelo].

HUM: Fertilizante rico en ácidos húmicos. Tratamiento de fertilización incorporando el fertilizante comercial "AHULUQ 15".

IEE: Índice de estabilidad estructural [g agregados estables 100 g⁻¹ suelo; %].

mf: Masa fresca (masa con el contenido hídrico completo).

MO: Materia orgánica [g kg⁻¹ suelo ó g 100 g⁻¹] (MO = CO \times 1,724).

ms: Masa seca (masa del material desecado).

MSL: Contenido en masa seca de las lechugas [g ms kg⁻¹ mf].

NT: Nitrógeno total [g N kg⁻¹ suelo].

Oa: Horizonte orgánico con el material muy descompuesto sin poder identificar su origen.

Oi: Horizonte orgánico con el material poco descompuesto pudiendo identificar su origen.

PA: Actividad fosfatasa alcalina [mmol PNP kg⁻¹ suelo h⁻¹].

PAe: Actividad fosfatasa alcalina específica [mmol PNP kg⁻¹ COT h⁻¹].

Pi: Fósforo inorgánico [mg P kg⁻¹ suelo].

PLF: Producción de lechugas en masa fresca [g masa fresca planta⁻¹].

PLS: Producción de lechugas en masa seca [g masa seca planta⁻¹].

PMP: Punto de marchitez permanente. Contenido de humedad retenida a un nivel de succión igual a 1500 kPa (potencial hídrico del agua: -1500 kPa) [g H₂O kg⁻¹ suelo].

PNP: p-nitrofenol (peso molecular: 139,10 g mol⁻¹).

PO: Fósforo asimilable determinado mediante el método Olsen [mg P kg⁻¹ suelo].

Por: Fósforo orgánico [mg P kg⁻¹ suelo].

PR: Actividad proteasa BAA (actividad de la proteasa que hidroliza la N-benzoil-L-arginina-amida) [mmol NH₄⁺ kg⁻¹ suelo h⁻¹].

PRe: Actividad proteasa BAA específica [mmol PNP kg⁻¹ COT h⁻¹].

PT: Fósforo total [mg P kg⁻¹ suelo].

qCO₂: Cociente respiratorio o metabólico [g C-CO₂ kg⁻¹ C_{microbiano} d⁻¹].

RB: Respiración basal [mg C-CO₂ kg⁻¹ suelo d⁻¹].

ST: Azufre total [mg S kg⁻¹ suelo].

TPF: Trifenilformazan (peso molecular: 300,35 g mol⁻¹).

UR: Actividad ureasa [mmol NH₄⁺ kg⁻¹ suelo h⁻¹].

URe: Actividad ureasa específica [mmol PNP kg⁻¹ COT h⁻¹].

Resumen

Se ha comparado el efecto de diferentes fuentes de materia orgánica y la fertilización mineral sobre el suelo, analizando parámetros de fertilidad física, química y biológica. Los fertilizantes ensayados incluyen compost de recogida municipal, compost de lodos de depuradora, compost de restos vegetales, estiércol de ganado vacuno y enmiendas orgánicas comerciales. La fertilización mineral se ha combinado con la fertilización orgánica, estableciendo los mismos tratamientos de fertilización orgánica y control, con y sin fertilización mineral.

También se ha estudiado el efecto de la vegetación natural y el cultivo sobre las características físicas, químicas y biológicas del suelo. Para este objetivo se ha estudiado el suelo en un bosque esclerófilo mediterráneo con una distribución de la vegetación en mosaico. Se han comparado cinco situaciones: suelo bajo *Pinus halepensis*, bajo *Olea europaea* var. *sylvestris*, bajo *Pistacia lentiscus*, bajo plantas herbáceas y un suelo cultivado.

Para disponer de una primera información sobre la calidad de los suelos agrícolas de Mallorca se han analizado 24 muestras correspondientes a una población de suelos agrícolas que incluye distintos tipos de gestión (regadío y secano) y cultivos.

El objetivo principal es evaluar la actividad biológica a través de la cuantificación de la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa, ureasa, proteasa-BAA y la respiración basal. Además se han determinado otros parámetros físicos y químicos del suelo, que incluyen la estabilidad de los agregados al agua, los contenidos de nitrógeno total, nitratos y amonio, el fósforo total, incluyendo las formas orgánicas, inorgánicas y fósforo Olsen, y el azufre total. En todos los casos se ha cuantificado el contenido en carbono orgánico total y, en la mayoría de muestras, los contenidos de diferentes fracciones orgánicas: extracto húmico total, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, carbono orgánico soluble y gomas microbianas. En los ensayos de fertilización orgánica y mineral se ha utilizado la lechuga (*Lactuca sativa* var. *longifolia*) como cultivo de referencia y se ha cuantificado la producción de las plantas.

En las muestras correspondientes a los estudios con vegetación natural y suelos agrícolas se han realizado las determinaciones de carbono orgánico soluble, gomas microbianas, nitratos, amonio, biomasa microbiana, actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa, ureasa y proteasa-BAA en dos condiciones de humedad: las muestras del suelo seco en el momento de la recogida y húmedas a capacidad de campo.

En general se observa una correlación elevada del contenido de carbono orgánico total con la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa y proteasa-BAA. Esta relación es extensible a otros parámetros de caracterización de la materia orgánica como el extracto húmico total, ácidos húmicos, gomas microbianas y el carbono orgánico soluble. La actividad ureasa presenta un comportamiento diferenciado sin mostrar una correlación con el contenido en materia orgánica. La respiración basal y el índice de estabilidad estructural son otros dos parámetros que presentan una alta correlación con el carbono orgánico total y coeficientes más moderados, pero estadísticamente significativos, con la mayoría de actividades enzimáticas estudiadas.

La fertilización mineral no ha afectado a la biomasa microbiana, manteniendo valores similares en las parcelas con y sin fertilización mineral. El comportamiento de las actividades enzimáticas ha sido más irregular, presentando en algunos ensayos ligeras reducciones mientras que en otros ensayos no se han apreciado diferencias.

Las relaciones de los parámetros biológicos con la producción de los cultivos es escasa: la actividad de los microorganismos edáficos tiene una mayor dependencia de los compuestos de carbono orgánico mientras que el crecimiento de los cultivos depende de la disponibilidad de elementos minerales.

La biomasa microbiana muestra valores mucho más elevados en las muestras húmedas que en las secas. De forma inversa ocurre con el carbono orgánico soluble, que muestra un descenso en las muestras húmedas, probablemente debido a su consumo por la microflora. Las actividades enzimáticas presentan un comportamiento variable pero, en general, muestran tasas más elevadas en las muestras húmedas.

Resum

S'ha comparat l'efecte de diferents fonts de matèria orgànica i la fertilització mineral sobre el sòl, analitzant paràmetres de fertilitat física, química i biològica. Entre els fertilitzants assajats hi ha compost de recollida municipal, compost de llots de depuradora, compost de restes vegetals, fems de ramaderia vacuna i esmenes orgàniques comercials. La fertilització mineral s'ha combinat amb la fertilització orgànica, establint els mateixos tractaments de fertilització orgànica i control, amb i sense fertilització mineral.

També s'ha estudiat l'efecte de la vegetació natural i el cultiu sobre les característiques físiques, químiques i biològiques del sòl. Per a aquest objectiu s'ha estudiat el sòl a un bosc esclerofil·le mediterrani amb una distribució de la vegetació en mosaic. S'han comparat cinc situacions: sòl baix *Pinus halepensis*, baix *Olea europaea* var. *sylvestris*, baix *Pistacia lentiscus*, baix plantes herbàcies i un sòl cultivat.

Per a disposar d'una primera informació sobre la qualitat dels sòls agrícoles de Mallorca s'han analitzat 24 mostres corresponents a una població de sòls agrícoles que inclou distints tipus de gestió (regadiu i secà) i cultius.

L'objectiu principal és avaluar l'activitat biològica a través de la quantificació de la biomassa microbiana, les activitats enzimàtiques deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa, ureasa, proteasa-BAA i la respiració basal. A més a més, s'han determinat altres paràmetres físics i químics del sòl, que inclouen l'estabilitat dels agregats a l'aigua, els continguts de nitrogen total, nitrats i amoni, el fòsfor total, incloent les formes orgàniques, inorgàniques i fòsfor Olsen, i el sofre total. En tots els casos s'ha quantificat el contingut en carboni orgànic total i, a la majoria de mostres, els continguts de diferents fraccions orgàniques: extracte húmic total, àcids húmics, àcids fúlvics, carboni orgànic soluble i gomes microbianes. En els assajos de fertilització orgànica i mineral s'ha emprat la lletuga (*Lactuca sativa* var. *longifolia*) com a cultiu de referència i s'ha quantificat la producció de les plantes.

A les mostres corresponents als estudis amb vegetació natural i sòls agrícoles s'han realitzat les determinacions de carboni orgànic soluble, gomes microbianes, nitrats, amoni, biomassa

microbiana, activitats enzimàtiques deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa, ureasa i proteasa-BAA a dues condicions d'humitat: les mostres del sòl sec en el moment de la recollida i humides a capacitat de camp.

En general s'observa una correlació elevada del contingut de carboni orgànic total amb la biomassa microbiana i les activitats enzimàtiques deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa i proteasa-BAA. Aquesta relació és extensible a altres paràmetres de caracterització de la matèria orgànica com l'extracte húmic total, àcids húmics, gomes microbianes i el carboni orgànic soluble. L'activitat ureasa presenta un comportament diferenciat sense mostrar correlació amb el contingut de matèria orgànica. La respiració basal i l'índex d'estabilitat estructural són altres dos paràmetres que presenten una alta correlació amb el carboni orgànic total i coeficients més moderats, però estadísticament significatius, amb la majoria d'activitats enzimàtiques estudiades.

La fertilització mineral no ha afectat a la biomassa microbiana, mantenint valors similars a les parcel·les amb i sense fertilització mineral. El comportament de les activitats enzimàtiques ha estat més irregular, presentant a alguns assaigs lleugeres reduccions mentre que a altres assaigs no s'han apreciat diferències.

Les relacions dels paràmetres biològics amb la producció dels cultius és escassa: l'activitat dels microorganismes edàfics té una major dependència dels composts de carboni orgànic mentre que el creixement dels cultius depèn de la disponibilitat d'elements minerals.

La biomassa microbiana mostra valors molt més elevats a les mostres humides que a les seques. De forma inversa passa amb el carboni orgànic soluble, que presenta un descens a les mostres humides, probablement degut al seu consum per la microflora. Les activitats enzimàtiques presenten un comportament variable però, en general, mostren taxes més elevades a les mostres humides.

Abstract

The effect of different organic matter sources and mineral fertilization on soil was compared, analysing physical, chemical and biological fertility. Fertilisers used were municipal solid waste compost, sewage sludge compost, green compost, cattle manure and organic commercial amendment. Mineral fertilization was combined with organic fertilization, thus control and amended soils were obtained.

Effect of natural vegetation and cultivation on physical, chemical and biological soil properties was also studied. For this purpose a soil in a Mediterranean sclerophyll forest with vegetation in mosaic patterns was examined. Five situations were analysed: soils under *Pinus halepensis*, under *Olea europaea* var. *sylvestris*, under *Pistacia lentiscus*, under herbaceous plants and a cultivated soil.

In order to obtain an approach to Mallorcan agricultural soils quality, 24 samples of agricultural soils were analysed. These soils included different kinds of management (irrigated and non-irrigated land) and crops.

The main objective of this work was to evaluate biological activity through the quantification of microbial biomass, dehydrogenase, β -glucosidase, alkaline phosphatase, arylsulfatase, urease and protease-BAA enzymatic activities, and basal respiration. Furthermore, other physical and chemical soil parameters were determined, including aggregate stability in water, total nitrogen content, nitrate, ammonium, total phosphorus (including organic and inorganic forms and Olsen phosphorus) and total sulphur content. In all samples total organic carbon was quantified and, in most of samples, different organic fractions content also were analysed: total humic extract, humic acids, fulvic acids, soluble organic carbon and microbial gums. In organic and mineral assays lettuce plants (*Lactuca sativa* var. *longifolia*) were used as reference crop and plant production was quantified.

In samples corresponding to assays of natural vegetation and agricultural soils, different parameters were determined at two humidity conditions: samples collected from dry soils and samples at field capacity soil water content. Parameters analysed were: soluble organic

Abstract

carbon, microbial gums, nitrate, ammonium, microbial biomass, dehydrogenase, β -glucosidase, alkaline phosphatase, arylsulfatase, urease and protease-BAA enzymatic activities.

The results obtained from the statistical analysis revealed high correlations between total organic carbon and microbial biomass and between total organic carbon and dehydrogenase, β -glucosidase, alkaline phosphatase, arylsulfatase and protease-BAA enzymatic activities. This relationship extended to other parameters related to the organic matter characterization such as total humic extract, humic acids, microbial gums and soluble organic carbon. Urease activity did not show correlation with organic matter content. Basal respiration and structural stability index also showed a high correlation with total organic carbon. Furthermore, both parameters showed lower coefficients, but statistically significant, with the majority of the enzymatic activities studied.

Mineral fertilization did not affect microbial activity, with similar values in both fertilized and non-fertilized plots. The behavior of enzymatic activities was irregular, showing a light reduction in some assays and no differences in other assays.

Correlations between biological parameters and crop production were low: edaphic microorganisms activity had a higher dependence of organic carbon while crop growth depended on mineral availability.

According to humidity assays, microbial biomass showed much higher values in wet samples rather than in dry samples. Inversely, soluble organic carbon showed a decrease in wet samples, probably due to its consumption by microflora. Enzymatic activities showed a variable behaviour but, in general, showed higher rates in wet samples.

1. Introducción

1.1. Calidad del suelo

El suelo es un ente natural, dinámico y vivo con una influencia clave en los ecosistemas terrestres. Es un componente importante, tanto para la producción de alimento como para el mantenimiento de la calidad ambiental (Doran y Parkin, 1994). La sensibilización de la necesidad de su preservación está ligada a la fuerte degradación a la que se le ha sometido en las últimas décadas. La capacidad productiva de muchos suelos se ha visto afectada negativamente, debido a la disminución o pérdida de alguna propiedad física, química o biológica implicada en la fertilidad de los suelos (Arshad y Martin, 2002).

Rees *et al.* (2000) relacionan numerosos casos donde se cifran las pérdidas de productividad del suelo durante las últimas décadas: hasta 1990 unas 562 millones de hectáreas (38 % del suelo cultivado en el mundo) sufrieron procesos de degradación importantes por prácticas agrarias inadecuadas, y durante la década de 1990, estas pérdidas en superficies agrícolas siguieron a un ritmo de 5-6 millones de hectáreas anuales.

El modelo agrario implantado a mediados del siglo XX se está cuestionado en numerosos estudios, en donde se compara la agricultura intensiva convencional con prácticas agrarias de bajo impacto sobre el medio: mínimo laboreo, inclusión de rotaciones de cultivo, cubiertas vegetales o sistemas de cultivo como el propuesto a través de la agricultura ecológica (Doran 1980; Bolton *et al.*, 1985; Dick, 1992; Karlen *et al.*, 1994; Canet *et al.*, 2000; Fließbach *et al.*, 2007; Lagomarsino *et al.*, 2009; Pritchett *et al.*, 2011). Además, a partir de la década de de 1990 se han intensificado los trabajos dirigidos a evaluar el estado de los suelos para cuantificar o cualificar a través de índices de salud o calidad (Doran y Parkin, 1994; Karlen *et al.*, 2001, Andrews *et al.*, 2004).

1. Introducción

Los límites entre calidad y salud del suelo no son claros, pero actualmente se acepta que la calidad hace referencia a la aptitud de un suelo para realizar una función concreta mientras que la salud se refiere a su estado general (Doran, 2002).

Doran y Parkin (1994) realizan un planteamiento global interesante por su síntesis, definiendo la calidad de un suelo como “la capacidad de un suelo para mantener la productividad biológica, mantener la calidad ambiental y facilitar la salud animal y vegetal”. Este concepto se discutió a través del Comité para la Calidad del Suelo de la Sociedad Americana de Ciencia del Suelo (Karlen *et al.*, 1997) alcanzando una definición de consenso: "La calidad del suelo es la capacidad, que tiene cada tipología de suelo en particular, para desarrollar sus funciones en ecosistemas naturales o gestionados, manteniendo la productividad vegetal y animal, conservando o mejorando la calidad del agua y del aire, al mismo tiempo que ofrece buenas condiciones para la salud humana y los asentamientos humanos."

Otros autores plantean la valoración de un suelo en función de su capacidad de resolver sus funciones fundamentales: asegurar el crecimiento vegetal, regular el flujo hídrico en los medios terrestres y atenuar los efectos nocivos de contaminantes mediante procesos físicos, químicos y biológicos.

No existe acuerdo en el establecimiento de unos parámetros indicadores únicos de la calidad del suelo. Básicamente se diferencian dos planteamientos: considerar el suelo de máxima calidad al suelo que está en equilibrio ecológico; por ejemplo: un suelo clímax desarrollado bajo una vegetación clímax. El segundo planteamiento considera que los suelos de referencia de máxima calidad son los suelos capaces de mantener alta productividad causando un mínimo de distorsión ambiental (Gil-Sotres *et al.*, 2005).

Considerar los suelos clímax requiere establecer formas típicas para cada región biogeográfica para establecer cada suelo ideal. Aunque es una propuesta aceptada y usada por muchos investigadores (Sánchez-Marañón *et al.*, 2002), es criticada por otros que argumentan que los potenciales suelos ideales no siempre alcanzan niveles de máxima calidad (Sojka y Upchurch, 1999). Gil-Sotres *et al.* (2005) argumentan que uno de los motivos del no uso de los suelos clímax está en su escasez, sobre todo en los países desarrollados, donde muchas veces casi han desaparecido. Estas situaciones han llevado a que la mayoría de trabajos publicados sobre suelos agrícolas toman como principal referencia de calidad edáfica el potencial productivo.

1.1.1. Parámetros indicadores de la calidad del suelo

Históricamente, las características fisicoquímicas del suelo han sido los indicadores principales de la fertilidad de los suelos. Entre ellos, la materia orgánica se ha perfilado como el mejor indicador de la capacidad de un suelo para ser cultivado. Las múltiples funciones en las que interviene la materia orgánica le confieren un papel determinante en la funcionalidad del suelo. Tanto la calidad como la cantidad de compuestos orgánicos de un suelo influyen en las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo, en la disponibilidad de nutrientes y en la capacidad productiva del suelo, entre otros parámetros. Actualmente los parámetros físico-químicos siguen siendo los más utilizados. Askari y Holden (2015) hacen una selección de parámetros para establecer un índice de calidad del suelo aplicable a zonas templadas. Los parámetros seleccionados a partir de un análisis de componentes principales son: densidad aparente, resistencia a la penetración, magnesio extraíble, relación C/N, nitrógeno total, respiración del suelo y distribución del tamaño de los agregados. Ponen de manifiesto el efecto positivo del mínimo cultivo combinado con rotación de cultivos subrayando el efecto negativo de los monocultivos. Armenise *et al* (2013) establecen una relación inicial de parámetros físico-químicos adecuados para la evaluación de suelos si bien no permiten por si solos realizar una buena predicción de la productividad agrícola. Los parámetros físicos seleccionados son: índice S (Dexter, 2004), agua disponible para los cultivos (a tres niveles: 33, 800 y 1500 kPa), contenido en arcilla y arena y densidad de las partículas. Los parámetros químicos que contemplan son: materia orgánica, nitrógeno total, carbono orgánico soluble, nitrógeno soluble, pH, conductividad eléctrica, fósforo asimilable y bases intercambiables (Ca, Mg, K).

En el Marco de Evaluación del manejo del suelo (*Soil Management Assessment Framework*) promovido por el Departamento de Recursos Naturales del USDA (Andrews *et al.*, 2004; Stott *et al.*, 2010) consideran 10 parámetros básicos: estabilidad estructural, capacidad de retención de agua disponible para las plantas, densidad aparente, conductividad eléctrica, pH, porcentaje de sodio intercambiable, fósforo, materia orgánica, biomasa microbiana y nitrógeno potencialmente mineralizable; incluyendo propuestas de uso de algunas actividades enzimáticas como la β -glucosidasa.

Actualmente y como consecuencia de la preocupación por preservar los recursos naturales, existe un interés en encontrar parámetros o indicadores del suelo que muestren sensibilidad ante cualquier perturbación del sistema edáfico (ya sea por factores ambientales, cambios en su gestión, etc). Por ejemplo, la materia orgánica siendo el parámetro más determinante de

1. Introducción

calidad en muchos suelos, es un parámetro que varía lentamente, teniendo que pasar mucho tiempo (años) para poder percibir variaciones significativas debido a cambios en el medio. Este hecho ha planteado la necesidad de conocer procesos biológicos que tienen lugar en el suelo indicadores de estos cambios (Dick, 1994; Omay, *et al.*, 1997).

El uso de indicadores biológicos está permitiendo detectar cambios de gestión tempranos: comparando sistemas agrícolas convencionales y ecológicos. Lagomarsino *et al.* (2009) demuestran que los primeros parámetros diferenciadores son los biológicos, especialmente la actividad β -glucosidasa, indicando cambios funcionales del suelo que no son apreciables a partir de las determinaciones químicas habituales.

Desde un punto de vista ecológico, en los procesos edáficos, la diversidad de funciones que realizan las comunidades microbianas es más importante que la diversidad de especies de microorganismos que hay presentes en el suelo (Degens *et al.*, 2001). La redundancia que existe en las comunidades descomponedoras hace que, en condiciones no extremas, la biodiversidad de los suelos no sea el regulador primario de la dinámica de la materia orgánica (Griffiths *et al.*, 2001). La presencia de una comunidad microbiana activa y diversa en el suelo, es un indicador de la salud del suelo y de su funcionamiento. Y es su alta actividad metabólica y el corto período de vida que poseen, lo que les confiere el papel de indicadores rápidos de los cambios del medio (Tabatabai y Dick, 2002).

La respiración del suelo, constituye otro parámetro indicador muy utilizado, especialmente, el cociente metabólico (qCO_2 ; respiración referida al carbono de la biomasa microbiana), ampliamente utilizado para evaluar el desarrollo de los ecosistemas, las perturbaciones o la madurez del sistema (Bastida *et al.*, 2008b). Sin embargo el qCO_2 y otros índices que integran pocos parámetros proporcionan insuficiente información sobre la calidad o la degradación del suelo. Por ello, en los últimos años ha habido un amplio desarrollo de los índices multiparamétricos. Estos índices integran diferentes parámetros, entre los cuales los más importantes son los biológicos y químicos, tales como la estabilidad estructural, la materia orgánica, el nitrógeno, la biomasa microbiana, la respiración o las actividades enzimáticas.

En la Tabla 1.1 se indican los parámetros más significativos usados en la actualidad como indicadores de la calidad de los suelos.

Tabla 1.1: Principales parámetros indicadores usados en la evaluación de la calidad de los suelos. Elaborado a partir de diferentes fuentes (Doran y Parkin, 1994; Arshad y Martin, 2002; Andrews *et al.*, 2004; Bastida *et al.*, 2008b; Armenise *et al.*, 2013; Askari y Holden, 2015).

Indicador	Motivos de selección
Propiedades físicas	
Profundidad del suelo	Estimación del volumen radicular.
Estructura	Resistencia a la erosión, germinación de los cultivos, indicador temprano en los cambios de manejo
Textura	Retención y transporte de agua, nutrientes y otros químicos.
Densidad aparente	Penetración de las raíces, porosidad.
Infiltración	Escorrentía, lavado y erosión potencial
Agua disponible	Capacidad de retención de agua disponible para las plantas y la actividad microbiana.
Propiedades químicas	
Materia orgánica	Define la fertilidad del suelo, la estructura, la retención de agua, los nutrientes y adsorción de plaguicidas.
pH	Disponibilidad de nutrientes, adsorción y movilidad de plaguicidas.
Conductividad eléctrica y Na intercambiable	Afecta al crecimiento de los cultivos, estructura del suelo, infiltración de agua.
Contaminantes potenciales	Calidad de los cultivos y salud humana y animal.
Formas de nitrógeno	Disponibilidad para los cultivo, lixiviación potencial.
P, K, Ca y Mg extraíbles	Desarrollo de los cultivos, indicadores de la calidad de los cultivos, efecto sobre el pH.
Propiedades biológicas	
Fauna edáfica	Lombrices de tierra y otros grupos zoológicos, indicadores del estado ambiental.
Biomasa microbiana	Indicador del potencial biológico.
Actividades enzimáticas	Indicadores tempranos del estado del suelo.
Nitrógeno mineralizable	Tasas de mineralización e inmovilización.
Respiración del suelo	Indicador de la actividad biológica y cambios del manejo sobre la materia orgánica.

1.2. La materia orgánica como indicadora de calidad del suelo

La importancia de la materia orgánica en el suelo es un hecho ampliamente reconocido, sobre todo en los sistemas agrícolas. El contenido en materia orgánica de los suelos agrícolas constituye uno de sus puntos débiles, hecho que repercute en las propiedades del suelo indicadas en la Tabla 1.1. Los cambios de uso del suelo que han supuesto una reducción de la cubierta vegetal y la vegetación permanente, se ha traducido en una disminución del contenido de materia orgánica del suelo (Guo y Gifford, 2002). Aunque la mayoría de agricultores es sensible a la contribución de la materia orgánica, la gestión dirigida a mejorar el contenido de materia orgánica de los suelos es escasa sobre todo porque las fuentes de materia orgánica son limitadas (estiércoles animales, compost,...) y las vías alternativas de mejora requieren acciones específicas (abonos verdes, aprovechamiento de residuos de cultivos,...) y muchos resultados no son inmediatos.

Mejorar el contenido de materia orgánica en los suelos agrícolas es una necesidad, tanto en sistemas de agricultura ecológica, que requieren de volúmenes importantes para asegurar el suministro de nutrientes como en sistemas convencionales, que aunque pueden aportar requerimientos nutricionales a través de los fertilizantes minerales, la contribución de la materia orgánica va más allá de los balances de nutrientes, contribuyendo en muchas propiedades del suelo que aseguran su funcionalidad (Loveland y Webb, 2003; Larney y Angers, 2012).

1.2.1. Constituyentes de la materia orgánica

A pesar de la importancia de este componente del suelo, el nivel de conocimiento sobre su composición y características incluye numerosas incertidumbres, estando en un momento donde el concepto de materia orgánica está cambiando, auspiciado por el uso de nuevas técnicas de estudio (Kleber y Johnson, 2010; Schmidt *et al.*, 2011).

Tabla 1.2: Propiedades de la materia orgánica del suelo (elaborado a partir de diferentes fuentes: Stevenson, 1994; Loveland y Webb, 2003; Diacono y Montemurro, 2010).

Cualidad	Efectos
Mejora la nutrición mineral	Aumenta la disponibilidad de elementos minerales como el N, P, S y los micronutrientes para las plantas y la microflora. Es fundamental la acción de los microorganismos edáficos que mineralizan los compuestos orgánicos.
Reduce las pérdidas de nutrientes	Las sustancias húmicas mejoran la capacidad de intercambio catiónico del suelo, al mismo tiempo que, también reducen la percolación debido a una mayor capacidad de retención de agua, factores que contribuyen a la reducción de las pérdidas de elementos minerales. La retención de metales pesados y otras sustancias contaminantes es otra cualidad asociada.
Facilita el cultivo	Favorece la estructuración y la estabilidad de los agregados adquiriendo una consistencia suelta, facilitando la preparación del terreno y las labores de cultivo
Mayor estabilidad estructural	Constituye un factor de estructuración básico, formando agregados poco vulnerables al impacto de las gotas de agua, reduciendo los problemas de encostramiento superficial y erosión hídrica, repercutiendo en una mejor distribución de la porosidad, que contribuye a una mejor circulación de los fluidos: agua y aire.
Reduce la densidad aparente	La mejora de la estructuración se traduce en un aumento y buena distribución de la porosidad, con un equilibrio entre macro y microporos, facilitando la circulación del agua, la aireación y la expansión del sistema radicular.
Mejora la capacidad de retención de agua	La alta capacidad de retención de agua permite aumentar la reserva de agua aprovechable para las plantas del suelo, especialmente en niveles de succión bajos, que constituyen el agua más disponible.
Disminución del albedo del suelo	Las sustancias húmicas confieren colores más oscuros al suelo lo cual se traduce en un calentamiento más rápido. En primavera este hecho adelanta procesos biológicos como la germinación y la actividad biológica del medio edáfico. Tiene importancia en latitudes septentrionales donde la temperatura edáfica constituye un factor limitante para el desarrollo de los cultivos.

Ácidos húmicos y ácidos fúlvicos

La separación clásica de la materia orgánica se hace en función de la solubilidad en medios ácidos y básicos, separando tres fracciones principales: ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas (Figura 1.1) (Kononova, 1982; Schnitzer, 1982) que constituyen agregados moleculares con unas características químicas diferenciadas, asociadas al proceso de extracción (Stevenson, 1994). Este procedimiento de extracción ha sido ampliamente usado y se sigue aplicando en la actualidad, como método de aproximación para la caracterización de la materia orgánica de los suelos. Los mayores inconvenientes de estos métodos está en la posible formación de artefactos en la extracción alcalina que puede incluir moléculas modificadas respecto a la situación original en el suelo y la inclusión de pequeñas moléculas en las fracción de ácidos húmicos y fúlvicos (Piccolo, 2002). Cuando los materiales a caracterizar son sustratos orgánicos el procedimiento clásico puede llevar a una sobreestimación de la fracción de ácidos fúlvicos, incluyendo materiales no humificados. Sequi *et al.* (1986) proponen separar la fracción no humificada, diferenciando en el material extraído ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y material no humificado. A partir de esta diferenciación definen índices de humificación específicos para evaluar la madurez de los sustratos orgánicos (Sequi *et al.*, 1986; Govi *et al.*, 1993).

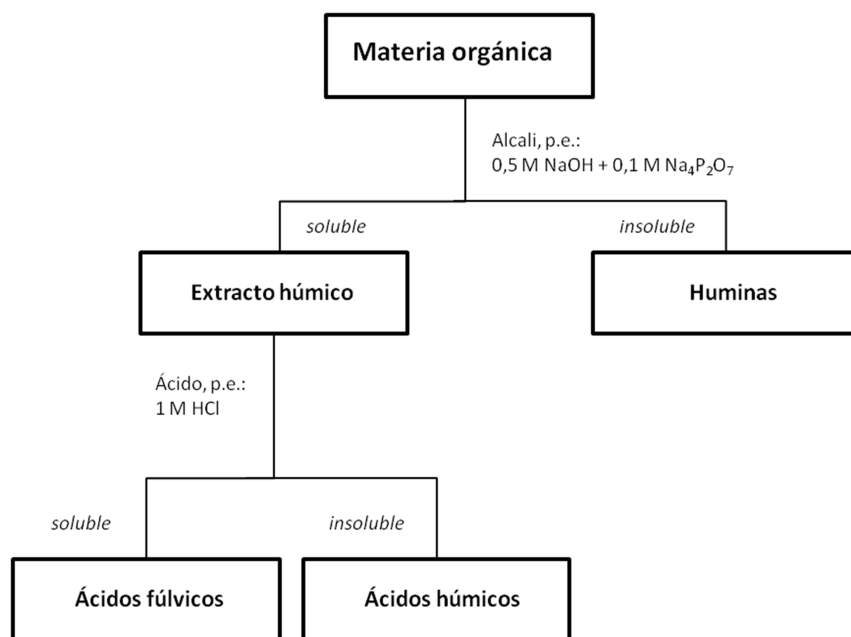


Figura 1.1: Separación clásica de las sustancias húmicas en función de su solubilidad en medios ácidos y básicos.

Un parámetro de caracterización de los agregados moleculares que constituyen los ácidos húmicos y fúlvicos es la relación E4/E6, que da información genérica sobre las características específicas de estos materiales: básicamente tamaño y peso molecular, contenidos de C, O y acidez total (Chen *et al.*, 1977).

Carbohidratos

Constituyen una fracción importante de la materia orgánica del suelo que puede suponer entre el 5 y el 25% del carbono orgánico total del suelo (Cheshire, 1979). Su origen es básicamente vegetal (hojarasca y rizodeposiciones) y de origen microbiano. Los polisacáridos son los carbohidratos más abundantes, dominando habitualmente las hexosas sobre las pentosas, poniendo de manifiesto la abundancia de compuestos de origen microbiano (Gunina y Kuzyakov, 2015). Los carbohidratos son importantes como fuente energética para la microflora y también como elementos estructurantes del suelo (Debosz *et al.*, 2002).

Gomas microbianas

Chesters *et al.* (1957) evalúan la contribución de varios constituyentes edáficos sobre la estructuración. Estos autores establecen que las gomas microbianas son uno de los factores de estructuración más destacado. Los polisacáridos, que constituyen una fracción más amplia de la materia orgánica del suelo han sido, juntamente a las gomas microbianas objetivo de interés. Así, Acton *et al.* (1963a) sostienen que los polisacáridos junto a las gomas microbianas, desempeñan una importante función de agregación. Estos mismos autores (Acton *et al.*, 1963b) ponen de manifiesto la importancia de estos polímeros, estudiados a partir de aportaciones de paja, aumentando el nivel de agregación, siempre y cuando el nitrógeno y fósforo se mantengan en valores bajos ya que una alta fertilidad se traduce en una disminución de los contenidos de polisacáridos y gomas microbianas, disminuyendo el nivel de agregación.

Lynch y Bragg (1985) constatan que las gomas microbianas son el principal factor de estabilización en muchos suelos, especialmente en los cultivados.

La evaluación de las gomas microbianas como factor de estructuración no ha constituido un objetivo relevante en los últimos años, siendo escasos los trabajos que hacen referencia a este

1. Introducción

parámetro, que si bien puede ser un factor predictor de la estabilidad estructural, puede estar superado por otros parámetros indicadores como el contenido de carbono orgánico, el extracto húmico o los carbohidratos (Albiach *et al.*, 2001a). En este sentido Tejada y Gonzalez (2007) también alcanzan mejores predicciones de la estabilidad estructural a partir de los ácidos húmicos que con los ácidos fúlvicos, carbohidratos y gomas microbianas. Uno de estos motivos puede estar en la composición de los diferentes componentes. Es importante constatar que se encuentran polisacáridos en cantidades importantes en las fracciones húmicas, especialmente en las enmiendas orgánicas (Senesi *et al.*, 1996).

Carbono orgánico soluble

El carbono orgánico soluble (COS) es el carbono constituyente de la materia orgánica, que está en solución y pasa a través de un filtro de 0,45 μm (Bolan *et al.*, 2011). A pesar de que el COS representa sólo una pequeña fracción de la materia orgánica de los suelos, está involucrados en muchos procesos (Chantigny, 2003). Los contenidos de COS dependen de procesos biológicos, originándose a partir de la descomposición de la hojarasca, del humus, de la biomasa microbiana o a partir de los exudados radiculares (Kalbitz *et al.*, 2000). Mucho del COS del suelo es consumido por los microorganismos y retornado a la atmósfera a través de la respiración.

En la bibliografía es común además de usar el término DOC (*dissolved organic carbon*) o DOM (*dissolved organic matter*), usar los términos WSOM (*water-soluble organic matter*) o WEOM (*water-extractable organic matter*), para referirse a la fracción de materia orgánica del suelo extraída con agua o con una solución salina que pase a través de un filtro de 0,45 μm .

La materia orgánica disuelta está constituida por diversidad de compuestos orgánicos que incluye, entre otros compuestos, cadenas alifáticas, carbohidratos (compuestos prevalentes) y formas aromáticas (Grosso *et al.*, 2014). Marschner y Kalbitz (2003) diferencian entre COS lábil y COS recalcitrante. El COS lábil está constituido básicamente por carbohidratos simples (por ejemplo: glucosa y fructosa), ácidos orgánicos de bajo peso molecular, aminoazúcares y proteínas. Entre los compuestos recalcitrantes se incluyen: polisacáridos (por ejemplo: fragmentos de celulosa y hemicelulosas), compuestos vegetales y otros derivados de la degradación microbiana.

En ecosistemas forestales, la capa orgánica superficial y el humus son las fuentes más importantes de COS, lo cual se ha constatado tanto en estudios de campo como en laboratorio (Kalbitz *et al.*, 2007; Muller *et al.*, 2009).

En los sistemas agrícolas, la mayoría del COS edáfico se origina a partir de la solubilización de la materia orgánica generada a partir de las plantas y la incorporación de composts y estiércoles animales (McDowell, 2003). La aplicación de estiércoles animales, gallinaza o lodos de depuradora incrementa el contenido de COS en los suelos al constituir una fuente de materia orgánica soluble y también, activando la solubilización de la materia orgánica propia del suelo (Bolan *et al.*, 2011).

La rizosfera constituye un entorno con importantes flujos de compuestos orgánicos procedentes de exudados y degradación de estructuras radiculares (Müller *et al.*, 2009), favoreciendo la actividad microbiana al aumentar la disponibilidad de compuestos simples de carbono que constituyen una excelente fuente energética para los organismos edáficos (Paterson *et al.*, 2007; Phillips *et al.*, 2008).

El COS es una pequeña fracción del COT de los suelos, pero es una fuente importante de carbohidratos, sobre todo mono y oligosacáridos (Gunina y Kuzyakov, 2015). La concentración de monosacáridos en el COS, variando en función de los ecosistemas, es de alrededor del 30%, siendo el principal componente (30% de dichos monosacáridos) glucosa (Fischer *et al.*, 2007). En los suelos agrícolas, el contenido típico se puede situar, entre 0,5 y 4% del total de CO del suelo (Bolan *et al.*, 2011).

Haciendo uso de isótopos (^{13}C), Gregorich *et al.* (2000) observaron que estas formas solubles son próximas a las sustancias húmicas mientras que la biomasa microbiana está constituida por un carbono más próximo a residuos vegetales recientes. Estos autores hipotetizan que aunque se trate de un compartimento pequeño, tiene una alta tasa de renovación y está en equilibrio con el humus del suelo.

Senesi y Loffredo (1999) subrayan la relevancia que pueden tener los ácidos fúlvicos (AF) como componentes del COS, habiéndose centrado muchos trabajos en el estudio de la estructura y composición de estos ácidos en el COS. En compost, el contenido de COS es un indicador del estado de madurez, disminuyendo a lo largo del proceso de compostaje para estabilizarse alrededor de valores característicos (Zmora-Nahum *et al.*, 2005).

Boyer y Groffman (1996) sugieren que la diferencia entre COS y carbono biodegradable entre suelos agrícolas y forestales es debido a los incrementos de sustancias húmicas solubles en los agrícolas.

1.3. Estabilidad estructural

La estructuración del suelo es un factor clave para asegurar una distribución equilibrada de la porosidad del suelo facilitando la circulación de los fluidos líquidos y gaseosos. La formación de los agregados es altamente dependiente de los contenidos de materia orgánica junto a otros factores como las arcillas, los óxidos e hidróxidos o los carbonatos (Bronick y Lal, 2005). Diferentes fracciones orgánicas contribuyen a la estabilización de los agregados: la biomasa microbiana, especialmente los hongos, polisacáridos de origen microbiano, sustancias húmicas y lípidos (Lynch y Bragg, 1985; Annabi *et al.*, 2007). Se consideran básicamente dos mecanismos de estabilización de los agregados: incremento de la cohesión a través de la unión de partículas minerales con sustancias orgánicas o atrapadas entre el entramado de hifas fúngicas y la disminución de la humectabilidad (aumento de la repelencia al agua) atenuando la dispersión durante la humectación del suelo (Annabi *et al.*, 2007).

Además del beneficio directo sobre la infiltración del agua i aireación del suelo, la estabilidad de los agregados tiene un efecto directo atenuante de la escorrentía superficial y la erosión asociada, contribuyendo a la conservación del suelo (Barthès y Roose, 2002).

Muchos autores han descrito efectos beneficiosos de la aplicación de enmiendas orgánicas como compost de recogida municipal o de lodos de depuradora sobre la estabilidad de los agregados (Albiach *et al.*, 2001b; Caravaca *et al.*, 2001; Tejada y González, 2007), destacando mayoritariamente la contribución de la materia orgánica y más específicamente, los carbohidratos y las sustancias húmicas.

1.4. La actividad microbiana en el suelo como indicadora de calidad del suelo

Desde un punto de vista bioquímico y microbiológico, el estado del suelo puede ser evaluado a partir de su comunidad microbiana (Trasar-Cepeda *et al.*, 1998; Bastida *et al.*, 2006b). Los microorganismos están involucrados en la descomposición de la materia orgánica y los ciclos de los elementos minerales, requeridos en la nutrición microbiana y vegetal. Parámetros como la biomasa microbiana proporcionan información sobre el tamaño de estas comunidades, mientras que otros, como la respiración o la actividad deshidrogenasa, son indicadores directos de la actividad de la población microbiana. A estos indicadores hay que añadir las actividades enzimáticas relacionadas con el ciclo de elementos en el suelo, tal es el caso de la ureasa, la fosfatasa o la β -glucosidasa (García *et al.*, 2002). Uno de los principales argumentos de la ventaja de estos parámetros reside en su sensibilidad a los cambios. Sin embargo, debido a la bioquímica del suelo y la complejidad microbiológica no se dispone de un parámetro biológico indicador del conjunto de la actividad, siendo necesario recurrir a varios parámetros para evaluar el estado del suelo desde la perspectiva microbiana y bioquímica (Nannipieri *et al.*, 1990).

1.4.1. Biomasa microbiana

La biomasa microbiana contribuye en el mantenimiento de la fertilidad y la calidad de los suelos naturales y cultivados, desempeñando un papel fundamental en las funciones del suelo (Turco *et al.*, 1994). Brookes (2001) define la biomasa microbiana del suelo como los organismos que no son tejidos vegetales, con un volumen inferior a $5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$, pudiendo considerarse la componente viva de la materia orgánica. Constituye entre el 1 y 5% del carbono orgánico total de los suelos. En suelos agrícolas puede suponer entre el 2 y el 3% (Anderson y Domsch, 1989). Se ha calculado que puede suponer alrededor del 25 % de la biomasa total de los ecosistemas terrestres (Roper y Gupta, 1995; Pankhurst *et al.*, 1995). Respecto a la biomasa total del suelo, la biomasa microbiana supone el 60-80 %, mientras que la biomasa de la fauna edáfica y la biomasa radicular suponen un 15-30 % y un 5-10 % respectivamente (Theng *et al.*, 1989).

1. Introducción

La biomasa microbiana está relacionada con los ciclos de la energía y de los nutrientes del suelo (Carter, 2002). Al ser la fracción activa de la materia orgánica, responde más rápidamente que el conjunto de la materia orgánica a cambios en la gestión del medio y frente a cambios climáticos. Presenta una correlación positiva con el contenido de materia orgánica del suelo y mantiene una respuesta positiva asociada a las épocas de crecimiento de los vegetales, asociándose con las entradas de sustancias orgánicas en forma de exudados radiculares, restos de raíces y residuos de cultivos (Lynch y Panting, 1980). Los microorganismos edáficos actúan también como fuente y destino de los nutrientes minerales y substratos orgánicos a corto plazo, y como catalizadores de los procesos de transformación de formas orgánicas a solubles y asimilables por los vegetales, a medio y largo plazo. Los nutrientes que temporalmente forman parte de la biomasa microbiana son potencialmente aprovechables posteriormente por los vegetales (Gregorich *et al.*, 1994).

La intervención de la flora microbiana no se limita al suministro de nutrientes minerales, jugando un papel fundamental en la formación de la estructura del suelo al contribuir en la producción de polisacáridos. Estos compuestos son fundamentales en la formación de agregados estables (Abiven *et al.*, 2009).

Como parámetro biológico, la biomasa microbiana muestra sensibilidad a las condiciones del medio: temperatura, humedad, pH, estructura, textura y presencia de materiales orgánicos. En áreas semiáridas, los contenidos de biomasa microbiana son habitualmente muy bajos (García *et al.*, 1994; García-Gil *et al.*, 2000). Estos autores argumentan que la biomasa microbiana puede ser un buen indicador de las variaciones de fertilidad del suelo, más rápido que el carbono orgánico total.

1.4.2. Respiración microbiana e índices asociados

La respiración de los microorganismos edáficos es uno de los índices de actividad microbiana más usados (Insam y Haselwandter, 1989). La medida del desprendimiento de CO₂ se ha empleado para estimar la biomasa microbiana del suelo activa (West *et al.*, 1986). La respiración es una medida del carbono potencialmente mineralizable en el suelo y refleja la actividad global de la población microbiana (Anderson y Domsch, 1990) siendo un indicador de la actividad descomponedora de la microflora edáfica (Kennedy y Papendick, 1995). El coeficiente metabólico o respiración específica (qCO₂) es un indicador del CO₂ desprendido

por unidad de biomasa microbiana (Anderson y Domsch, 1990), habiendo sido utilizado para evaluar la eficacia con que la biomasa microbiana está empleando el carbono disponible para la biosíntesis (Wardle y Ghani, 1995). En general, el qCO_2 decrece a medida que el ecosistema madura (Insam y Domsch, 1988; Anderson y Domsch, 1990). En general el qCO_2 es más elevado cuanto más alto es el estrés del ecosistema, aunque los datos de qCO_2 deben interpretarse con precaución ya que pueden responder a diferentes causas: nivel de estrés, un ecosistema inmaduro o disponer de un sustrato más fácilmente mineralizable (Sparling, 1997). El coeficiente microbiano (relación entre el carbono de la biomasa microbiana y el carbono orgánico total) proporciona una medida de la dinámica de la materia orgánica del suelo y puede ser empleado como indicador de las pérdidas o ganancias netas de carbono (Anderson y Domsch, 1993). Este coeficiente facilita la comparación de las tendencias en suelos con distinto contenido de materia orgánica (Sparling, 1997).

El coeficiente de mineralización endógena (cociente entre la respiración basal y el contenido en carbono orgánico total) también nos permite una buena medida de los procesos de mineralización de la materia orgánica (Rutigliano *et al.*, 2004).

1.4.3. Actividades enzimáticas

Las enzimas del suelo desempeñan funciones clave en los procesos de descomposición de la materia orgánica del suelo. Catalizan reacciones necesarias para los microorganismos edáficos, la descomposición de la materia orgánica y la formación de las sustancias húmicas, en los ciclos de nutrientes y la estabilización de la estructura. Estas enzimas son constantemente sintetizadas, acumuladas, inactivadas o descompuestas en el suelo (Tabatabai, 1982, Dick, 1994; Burns *et al.*, 2013).

Los niveles enzimáticos varían en función del tipo de suelo, la cantidad de materia orgánica, composición, la actividad de los organismos vivos y la intensidad de los procesos biológicos (Nannipieri *et al.*, 2002; Adrover *et al.*, 2012). En la práctica las reacciones bioquímicas se realizan mediante la participación catalítica de las enzimas y los distintos sustratos, que sirven de fuentes de energía para los microorganismos. Las enzimas del suelo pueden ser liberadas por plantas, animales y microorganismos, encontrándose ligadas a células vivas o adsorbidas o retenidas en el suelo, sobre todo a través del complejo arcillo-húmico (Tabatabai y Dick, 2002). Un mejor conocimiento del papel de las actividades enzimáticas en el ecosistema

1. Introducción

permitirá integrar procesos biológicos en la evaluación de los suelos, por el papel crucial que desarrollan, siendo además detectores de los cambios que se van generando a través de las prácticas de manejo (Dick, 1994; Bandick and Dick, 1999).

Relación de las enzimas con los ciclos bioquímicos del suelo

Las reacciones que tienen lugar en el ambiente están relacionadas con procesos químicos, bioquímicos y físicos. Muchas de estas reacciones bioquímicas están catalizadas por las enzimas y entre ellas se incluyen los procesos relacionados con el ciclo del carbono, nitrógeno, fósforo, azufre y otros nutrientes (Tabatabai y Dick 2002). En el suelo, las enzimas mayoritariamente se encuentran asociadas, ya sea de forma directa o indirecta, a los microorganismos del suelo. Es por ello, que la determinación de las actividades enzimáticas en el suelo parece ser una herramienta útil en el estudio de los procesos bioquímicos del suelo, en el estudio de la diversidad funcional y para establecer índices de calidad de un suelo (Nannipieri *et al.*, 2002).

Las actividades enzimáticas referidas al contenido de carbono orgánico total del suelo (actividades enzimáticas específicas) permiten normalizar las tasas absolutas, facilitando las comparaciones entre suelos con distinto contenido en materia orgánica. Por ejemplo, las alteraciones del sistema edáfico pueden reflejarse a través de incrementos de las actividades enzimáticas específicas (Trasar-Cepeda *et al.*, 2008).

Origen y localización de las enzimas en los suelos

Se considera que las enzimas del suelo son mayoritariamente de origen microbiano, pudiendo proceder también de la vegetación (raíces y restos vegetales) y de la fauna edáfica. La mayor biomasa que constituyen los microorganismos, junto a su alta actividad metabólica y su corta vida, se traduce en una mayor producción y emisión de enzimas, respecto a las plantas y la fauna edáfica (Tabatabai y Dick, 2002).

La persistencia de las enzimas en el suelo oscila entre unos pocos días y varios años, dependiendo de su localización y condiciones edáficas como la temperatura, el pH, la fracción edáfica o la profundidad (Bastida *et al.*, 2006a; Ekenler *et al.*, 2003; Kandeler *et al.*, 1999). Cuando son liberadas al exterior celular pueden ser metabolizadas por microorganismos

edáficos si no quedan estabilizadas, típicamente, a través de los complejos arcillo-húmicos. La estabilidad de las enzimas extracelulares depende de la protección que les ofrece el entramado húmico, creando idealmente estructuras que permitan la difusión de los sustratos pero no de las enzimas proteolíticas (Nannipiri *et al.*, 1996; Burns *et al.*, 2013).

Las enzimas también pueden clasificarse según su localización en el suelo. Skujins (1978) estableció toda una serie de categorías, según la localización y el origen de las enzimas en el suelo (Figura 1.2): enzimas intracelulares en vegetales, animales, hongos y bacterias, enzimas extracelulares unidas a restos celulares, enzimas extracelulares presentes en la solución del suelo y enzimas unidos a los complejos arcillo-húmicos. De todo este conjunto de enzimas, las que más información dan respecto a la actividad microbiana son las que se encuentran a nivel intracelular de los microorganismos (Nannipieri *et al.*, 2002).

Para asegurarse la determinación de las actividades de las enzimas de origen microbiano, en la preparación de las muestras de suelo, se elimina toda presencia visible de raíces y de macrofauna edáfica. Aún así, factores como la estrecha relación que hay entre plantas y microorganismos a nivel de la rizosfera dificultan esta diferenciación; las raíces ejercen un estímulo sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas, no sólo por la mayor presencia de material orgánico sobre el que actuar, sino también, por los exudados de las raíces y por la creación de un microambiente favorable (Lynch y Panting, 1980; Dick, 1994).

La determinación del origen y la localización de una enzima en el suelo con los métodos actuales es difícil, ya que una misma enzima puede pertenecer a más de una categoría a la vez (Figura 1.2), y además, puede cambiar con relativa rapidez de una a otra categoría (Nannipieri *et al.*, 1990). Normalmente, se mide la actividad de las enzimas acumuladas en el suelo, mediante la eliminación, durante el periodo de incubación de las muestras de suelo, de la producción de enzimas y la asimilación de los productos de la reacción por microorganismos en activo. Los principales recursos para ello son, el uso de agentes bacteriostáticos y establecer periodos cortos de incubación. Para diferenciar la contribución de diferentes categorías en la actividad total de una enzima, sobre todo intracelulares y extracelulares, se han propuesto diferentes tratamientos de las muestras (almacenamiento, períodos de incubación y utilización de agentes inhibidores), aún así, la diferenciación no es precisa, al no coincidir el cese del crecimiento microbiano con el cese de la actividad de las enzimas intracelulares (Nannipieri *et al.*, 2002).

		Actividad enzimática del suelo					
		Enzimas abióticas					
Localización en el suelo	Origen	Masa enzimática		Enzimas extracelulares continuamente liberadas	Enzimas endocelulares de microorganismos activos, raíces de las plantas y fauna edáfica		
		Adheridas a componentes celulares microbianas				No asociadas con componentes celulares	
		En células inactivas	En células muertas intactas	En fragmentos celulares		Enzimas endocelulares liberadas por células rotas	Originadas por microorganismos y fauna edáfica
						Enzimas extracelulares	
						Originadas por las raíces de las plantas	De microorganismos
			En la fase acuosa				
			Adheridas a los componentes del suelo				
		En organismos					

Figura 1.2. Esquema conceptual de la composición de las actividades enzimáticas del suelo (Tabatabai y Dick, 2002; Skujins, 1978).

1.4.4. Tipos de enzimas

Las enzimas mayormente estudiadas son las oxidoreductasas, especialmente la deshidrogenasa y la catalasa, por su vinculación con los procesos oxidativos de la materia orgánica, y las hidrolasas por su papel en la descomposición de determinados compuestos orgánicos, y por su relación con el ciclo de nutrientes como el carbono, el nitrógeno, el fósforo y el azufre (Dick, 1994; Nannipieri *et al.*, 2002; Caldwell, 2005).

En este trabajo las actividades enzimáticas objeto de estudio son:

Oxidoreductasa	Deshidrogenasa
Hidrolasas	
Ciclo de carbono	β-glucosidasa
Ciclo del nitrógeno	Proteasa-BAA y Ureasa
Ciclo del fósforo	Fosfatasa alcalina
Ciclo del azufre	Arilsulfatasa

Deshidrogenasa

La actividad deshidrogenasa es un indicador de la actividad biológica del suelo (Burns, 1978). Esta enzima forma parte de células vivas y no se acumula de forma extracelular en el suelo. Oxida compuestos orgánicos transfiriendo protones y electrones desde sustratos a aceptores. Estas acciones forman parte de los procesos respiratorios de los microorganismos edáficos y están directamente relacionadas con la tipología de suelo y estado hídrico (Kandeler *et al.*, 1996). Esta actividad es indicadora del potencial del suelo para mantener procesos bioquímicos, esenciales para mantener la fertilidad del suelo.

La deshidrogenasa, representa a un conjunto de enzimas, que forman parte del sistema del transporte de electrones del metabolismo del oxígeno. Son enzimas oxidoreductasas que participan en la oxidación biológica de la materia orgánica, transfiriendo hidrogeniones desde sustratos a aceptores (Tabatabai, 1982). Las deshidrogenasas son enzimas que sólo se encuentran activas en el interior de las células vivas (Dick, 1994), siendo frecuentes los

1. Introducción

trabajos que consideran adecuado su uso como indicador del estado de la actividad microbiana del suelo (García *et al.*, 1997).

La actividad deshidrogenasa es más alta en suelos inundados, hecho asociado al incremento de este enzima al disminuir el potencial redox (Brzezinska *et al.*, 1998). Con la inundación del suelo se pasa a una situación anaeróbica, condicionando los procesos respiratorios microbianos. Esta actividad enzimática se puede considerar un indicador de la actividad microbiana oxidativa (Casida, 1977; Tabatabai, 1982). La relación entre actividad deshidrogenasa, potencial redox y contenido de hierro ferroso (Fe^{2+}) es un buen ejemplo para ilustrar las respuestas de los microorganismos a los cambios ambientales (Makoi y Ndakidemi, 2008).

También la actividad deshidrogenasa es usada como indicador de la alteración de la actividad microbiana ante plaguicidas (Baruah y Mishra, 1986), metales pesados (Wilke, 1991), prácticas culturales o indicador directo de la actividad microbiana (García y Hernández, 1997).

β -glucosidasa

La β -glucosidasa (EC 3.2.1.21) es una enzima relacionada con el ciclo del carbono, que pertenece al grupo de las glucosidasas, enzimas que catalizan la hidrólisis de diferentes glucósidos. En concreto la β -glucosidasa está implicada en la hidrólisis de la celobiosa, catalizando la hidrólisis de los β -D-glucopiranosidos en el suelo o en residuos vegetales, el producto es la glucosa, fuente energética para los microorganismos. Las glucosidasas están ampliamente distribuidas por la naturaleza, se han encontrado en suelos, microorganismos y plantas. En el suelo, las β -glucosidasas son las glucosidasas que más predominan (Tabatabai, 1982).

Cuantitativamente, la celulosa es el compuesto orgánico más importante, y el proceso de su transformación en el suelo es el más importante del ciclo del carbono (Sinsabaugh *et al.*, 1991). Los vegetales contienen entre un 40 y 70% de celulosa, la cual es continuamente repuesta mediante la fotosíntesis. La descomposición microbiana de la celulosa es un proceso en el que intervienen secuencialmente tres grupos de enzimas (Alexander, 1980; Busto y Perez-Mateos, 1995): primero actúan (1) endo- β -1,4-glucanasas que catalizan la hidrólisis de enlaces β -1,4 en la molécula de celulosa. En los extremos libres de las cadenas, la

intervención de (2) exo- β -1,4 glucanasas libera celobiosa (disacárido), el cual es finalmente descompuesto por (3) β -1,4-glucosidasa dando glucosa.

La descomposición completa de la celulosa a glucosa requiere la presencia de β -glucosidasas que catalizan el paso limitante de la degradación de la celulosa, eliminando celobiosa (la celobiosa actúa inhibiendo la actuación de las exo- β -glucanasas). Según García *et al.* (1994) la actividad β -glucosidasa es un indicador de la biomasa microbiana del suelo, pudiendo reflejar además, el estado de la materia orgánica en el suelo y posibles desequilibrios entre la mineralización y la humificación.

Hay muchas evidencias de que la actividad β -glucosidasa se origina a partir de enzimas abióticos (enzimas de origen biológico excretados al medio edáfico) que están, mayoritariamente, inmovilizadas adsorbidas al complejo arcillo-húmico (Busto y Perez-Mateos, 1995; Hopes y Burns, 1987).

Bandick y Dick (1999) proponen el uso de la actividad β -glucosidasa como indicador de la calidad del suelo, al reflejar la capacidad del suelo de estabilizar la materia orgánica, detectando cambios en el contenido de la materia orgánica del suelo no perceptibles mediante otros métodos rutinarios de análisis de suelos (Dick, 1994). En esta línea, Stott *et al.* (2010) proponen el uso de la actividad BG como indicador de calidad del suelo, estableciendo niveles de actividad específica (actividad absoluta del enzima referido al contenido de carbono orgánico del suelo) para evaluar de forma temprana la tendencia del suelo a aumentar o disminuir la reserva de materia orgánica.

Acosta-Martinez y Tabatabai (2000) argumentan el interés de esta actividad para medir cambios provocados por la acidificación del suelo, debidos al manejo agronómico.

Los metales pesados también inciden negativamente sobre la actividad β -glucosidasa: Geiger *et al.* (1993) constatan una fuerte reducción de la actividad β -glucosidasa afectando a la descomposición de los residuos vegetales cuando el suelo está contaminado con metales pesados.

Proteasa

En los ecosistemas naturales y en los sistemas agrícolas que prescinden del uso de fertilizantes nitrogenados de síntesis (por ejemplo la agricultura ecológica) el nitrógeno que

1. Introducción

aprovecha la vegetación y los propios microorganismos procede de la mineralización del nitrógeno orgánico. Las enzimas encargadas de catalizar la transformación del nitrógeno proteico a peptídico y, posteriormente, a aminoácidos son las proteasas y peptidasas. La actividad proteásica del suelo proviene de distintos tipos de residuos de plantas, microorganismos y animales edáficos (Bonmatí *et al.*, 2003). Entre las proteasas se pueden diferenciar las capaces de degradar sustratos proteicos (por ejemplo la gelatina, caseína y la albúmina) y proteasas que degradan sustratos más sencillos (por ejemplo N-benzoil-L-arginina amida y N-benziloxycarbonil derivados de L-fenilalanil L-leucina y glicil L-fenilalanina) (Bonmatí *et al.*, 2003).

Las proteasas desempeñan un papel importante en la mineralización de las moléculas proteínicas, proceso regulador de la disponibilidad de nitrógeno para las plantas y los microorganismos. Estas enzimas esta generalmente asociadas a coloides orgánicos e inorgánicos (Burns, 1982; Nannipieri *et al.*, 1996). Se ha constatado la actividad proteasa a partir del complejo húmico, en suelos agrícolas (Hayano *et al.*, 1987), en compost de recogida municipal (Rad *et al.*, 1995) o en bosques o praderas permanentes (Nannipieri *et al.*, 1980,1982).

Ureasa

La ureasa (EC 3.5.1.5) es responsable de la hidrólisis de la urea formando NH_4^+ y CO_2 . El amoniaco, en condiciones básicas se puede volatilizar, pero en suelos biológicamente activos es oxidado a nitrato, forma preferente de asimilación del nitrógeno por las plantas. En agricultura la función de la ureasa es crucial en la regulación del suministro de nitrógeno, sobre todo si se aplican fertilizantes ureicos, hecho que ha favorecido que sea una de las enzimas más estudiadas (Sastre y Lobo, 2003).

La ureasa, originada por plantas (Polacco, 1977) y microorganismos se encuentra en el interior de células vivas y también en forma extracelular asociada a complejos arcillo-húmicos (Burns, 1986; Mobley y Hausinger, 1989). La estabilidad de este enzima está afectada por varios factores: la ureasa asociada a complejos arcillo-húmicos es más estable que si se encuentra en la solución del suelo (Burns, 1986); además los complejos ureasa-humus son muy resistentes a agentes desnaturalizadores como son altas temperaturas o ataques proteolíticos (Nannipieri *et al.*, 1978). En cambio, la ureasa extraída de plantas o microorganismos y aplicada al suelo es rápidamente degradada por enzimas proteolíticas

(Zantua y Bremner, 1977). Este hecho hace suponer que una fracción significativa de actividad ureolítica es realizada por ureasa extracelular estabilizada en el complejo arcillo-húmico. La actividad ureasa puede estar influida por muchos factores: prácticas agronómicas, contenido en materia orgánica (Tabatabai, 1977), enmiendas orgánicas, metales pesados (Yang *et al.*, 2006) o temperatura (Kissel *et al.*, 1988).

Fosfatasa alcalina

Las formas de absorción más común del fósforo en el suelo por los vegetales es H_2PO_4^- (supone el 94% a pH=6). Al aumentar el pH aumenta la forma soluble dominante pasa a ser HPO_4^{2-} (supone el 86% a pH=8). Estas formas se reparten entre la solución del suelo, en el medio acuoso y adsorbidas al complejo de cambio, a los coloides de hierro y aluminio y a los carbonatos de calcio. Existe un equilibrio entre el fósforo adsorbido al complejo adsorbente y el presente en la solución del suelo, constituyendo las formas de fósforo asimilables (Brady y Weil, 2010).

Una parte mayoritaria del fósforo presente en el suelo no es directamente asimilable por las plantas formando compuestos altamente insolubles (formas típicas en el suelo como el apatito) y otros compuestos formados por precipitación de formas solubles, ya sea a pH muy ácido, formando fosfatos de hierro y aluminio o a pH básico, formando fosfatos cálcicos cristalizados de tipo apatito (Frossard *et al.*, 1995). También, los fosfatos pueden integrarse o quedar inmovilizados en redes cristalinas de minerales de arcilla. Otra forma en que se encuentra el fósforo es como integrante de la materia orgánica, estando sometido a la dinámica de mineralización, igual que ocurre, por ejemplo, con el nitrógeno. Las formas orgánicas incluyen mono y diésteres de fosfato, fosfatos de inositol, polifosfatos orgánicos y fosfonatos (Condrón *et al.*, 2005).

En suelos agrícolas con alta fertilización química y pocas aportaciones de residuos orgánicos, con poca materia orgánica, domina la fracción inorgánica (típicamente alrededor del 70%), mientras que en sistemas más equilibrados combinando fertilizantes orgánicos y minerales las fracciones orgánicas e inorgánicas se equilibran (50% cada fracción) y en los sistemas seminaturales, con escasas aportaciones de fertilizantes el fósforo inorgánico solo supone alrededor de un tercio del total (Stutter *et al.*, 2015).

1. Introducción

Aunque los microorganismos son los principales productores de fosfatasa, las plantas también pueden excretar fosfatasa ácida. Las plantas han desarrollado mecanismos para tolerar bajas disponibilidades de fósforo, aumentando la síntesis de dichas fosfatasa ácida, que se incrementan en condiciones de baja disponibilidad de fósforo (Miller *et al.*, 2001; George *et al.*, 2011). Del mismo modo, las leguminosas secretan mayores cantidades de fosfatasa ácida que los cereales, probablemente debido a sus altas exigencias de fósforo en el proceso de fijación simbiótica de nitrógeno (Li *et al.*, 2004). A pesar de la síntesis de fosfatasa ácida por las plantas, hay evidencias de que en suelos con altos contenidos de fósforo orgánico y alta actividad biológica se facilita la asimilación de fósforo a los cultivos herbáceos (Simpson *et al.*, 2012). Precisar esta contribución es muy difícil ya que, a nivel microbiológico, se dan continuos procesos de inmovilización, remineralización e hidrólisis extracelular a través de las fosfatasa (Bünemann, 2015).

Las fosfatasa incluyen un amplio grupo de enzimas capaces de catalizar la hidrólisis de ester y anhídridos del ácido fosfórico, desempeñando un papel crucial en el ciclo del fósforo (Speir y Ross, 1978; Juma y Tabatabai, 1978), estando correlacionadas con la disponibilidad de fósforo para las plantas y el crecimiento vegetal por lo que se consideran buenos indicadores de la fertilidad del suelo (Eivazi y Tabatabai, 1977; Dick *et al.*, 2000).

La fosfatasa alcalina (fosfohidrolasa monoéster ortofosfórico, EC 3.1.3.1) presenta un óptimo de actividad en pH alcalino (Tabatabai, 1982). La actividad de la fosfatasa alcalina en los suelos tiene un origen microbiano, debido a la ausencia de esta enzima en las plantas superiores.

Arilsulfatasa

La asimilación de azufre por las plantas es en forma de sulfato (SO_4^{2-}). En el suelo el azufre inorgánico está mayoritariamente en forma de SO_4^{2-} , ya sea en forma soluble o adsorbido a los coloides del suelo. Además en los suelos calcáreos puede encontrarse asociado a carbonatos de calcio y en ocasiones los suelos están enriquecidos en este elemento, formando horizontes gípsicos o petrogípsicos. A pesar de la presencia de suelos enriquecidos en este elemento, en la mayoría de casos los sulfatos disponibles para las plantas ya sea en forma soluble o adsorbida no suele sobrepasar el 10% del total (Marschner, 2011). El azufre presente en la

materia orgánica del suelo o de los fertilizantes orgánicos requiere del proceso de la mineralización para pasar a las formas inorgánicas.

Nguyen y Goh (1994) señalan que la mayoría del azufre de los suelos esta en forma orgánica y en praderas de clima templado el azufre orgánico supone más del 95% del total mientras que el resto está en formas solubles o adsorbidas. Los procesos de mineralización e inmovilización dependen de las tasas de mineralización del carbono por lo que cambios en el manejo del suelo o aplicaciones de materia orgánica afectan a la disponibilidad de este elemento (Knights *et al.*, 2001). La disponibilidad del azufre de las formas orgánicas dependerá de la hidrólisis extracelular de los ésteres de sulfato u oxidación intracelular de materia orgánica soluble absorbida por microorganismos edáficos para obtener energía, aprovechando el sulfato como subproducto (Dodgson *et al.*, 1982). En general, estos procesos dependen de sulfatasas, las cuales pueden ser de origen animal, vegetal y microbiano, aunque son mayoritariamente de origen microbiano (Kertesz, 1999). En la naturaleza se encuentran diversos tipos de sulfatasas: arilsulfatasas, alquilsulfatasas, esteroidesulfatasas, mirosulfatasas, etc.

Las arilsulfatasas (EC 3.1.6.1) son enzimas muy extendidas en la naturaleza y en los suelos (Gupta *et al.*, 1993); son responsables de la hidrólisis de los ésteres de sulfato en el suelo (Kertesz y Mirleau, 2004) siendo secretadas por bacterias, en respuesta a limitaciones de azufre, presentando una relación directa con la biomasa microbiana y las tasas de inmovilización (Klose y Tabatabai, 1999; Vong *et al.*, 2003). Catalizan la hidrólisis de éster sulfatos, aromáticos y no aromáticos, mediante división de los enlaces O-S (Tabatabai, 1982).

Teniendo en cuenta la importancia del azufre en la nutrición vegetal, el conocimiento sobre el papel que desempeñan las fosfatasas así como los grupos de microorganismos específicos que intervienen en el ciclo orgánico del azufre, son aspectos claves para asegurar un suministro adecuado de este elemento (Kertesz y Mirleau, 2004).

2. Objetivos y plan de trabajo

2.1. Objetivos

La materia orgánica constituye el principal componente de fertilidad de los suelos. En agricultura las enmiendas orgánicas constituyen un recurso muy valorado, siendo la base de fertilidad en sistemas agrícolas que no hacen uso de fertilizantes minerales nitrogenados como es el caso de la agricultura ecológica (Reglamento CE 834/2007). El efecto de los materiales orgánicos aplicados en el suelo dependerá de su naturaleza, de los tratamientos y evolución, así como de las características del suelo receptor.

La aplicación de materiales orgánicos afecta a propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo: desde la estructuración al contenido mineral y la vida microbiana, que dispone de sustratos adicionales como fuente energética y estructural.

El objetivo general de este trabajo es evaluar el efecto de la fertilización orgánica sobre la actividad biológica del suelo, comparando el efecto de la fertilización orgánica con la mineral. Tomando como referencia los ecosistemas naturales se evalúa el efecto de la materia orgánica incorporada a través del ciclo natural sobre propiedades físicas, químicas y biológicas. Del mismo modo se realiza un diagnóstico de una población de suelos agrícolas representativos de la isla de Mallorca.

Las propiedades biológicas estudiadas son: la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidas, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa, ureasa y proteasa BAA y la respiración basal.

2. Objetivos y plan de trabajo

Los objetivos específicos son:

1. Comparar diferentes fuentes de materia orgánica solas o complementadas con fertilización mineral, evaluando sus efectos sobre propiedades físicas, químicas y biológicas, en cultivos hortícolas (lechugas).
2. Tomando como referencia suelos forestales con mínima intervención humana, con unas condiciones edafoclimáticas características y representativas de una amplia zona de la isla de Mallorca, evaluar los efectos de la vegetación y el cultivo sobre propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.
3. Realizar una primera evaluación de la calidad de los suelos agrícolas de Mallorca a partir de parámetros físicos, químicos y, especialmente, biológicos (contenido en biomasa microbiana, actividades enzimáticas y respiración basal).
4. Evaluar la influencia del estado hídrico del suelo sobre la cuantificación de parámetros químicos (carbono orgánico soluble, gomas microbianas, nitratos y amonio) y biológicos (biomasa microbiana y actividades enzimáticas).

2.2. Plan de trabajo

Para alcanzar estos objetivos específicos se ha desarrollado el siguiente plan de trabajo:

Objetivo 1:

Se han realizado cuatro ensayos en campo, comparando cinco tratamientos de fertilización orgánica (incluido el tratamiento control), con y sin fertilización mineral. Se han realizado dos ensayos de otoño y otros dos de primavera o primavera-verano. En cada ensayo se han establecido 40 parcelas elementales, repartidas en cuatro bloques con y sin fertilización mineral, con cultivo de lechugas, sobre las cuales se ha determinado el contenido de carbono orgánico total, gomas microbianas, fósforo soluble Olsen, nitrógeno total, producción del

cultivo de lechugas, contenido en biomasa microbiana y las actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y arilsulfatasa.

Paralelamente, a partir del segundo año, se han realizado dos ensayos adicionales, comparando siete tratamientos orgánicos. Se ha realizado un ensayo de otoño-invierno y otro de primavera-verano. En cada ensayo se han establecido 28 parcelas elementales repartidas en 4 bloques, con cultivos de lechuga. Se han realizado las mismas determinaciones que en el primer estudio y adicionalmente pH, prueba previa de salinidad, contenidos de nitratos y amonio, extracto húmico total, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, relación E4/E6, carbono orgánico soluble, índice de estabilidad estructural, actividad enzimática ureasa y actividad proteasa-BAA.

Objetivo 2:

En una masa forestal asimilable a una maquia muy abierta que define una vegetación en mosaico se ha estudiado el efecto de la vegetación y el laboreo ocasional sobre el suelo. Constituye una formación esclerófila representativa de una ampliazona de Mallorca. Se han definido cinco situaciones: suelo bajo pino, bajo acebuche, bajo lentisco, con herbáceas anuales y suelo cultivado. En las cinco situaciones se ha estudiado en horizonte mineral y en dos de ellas (bajo pinos y lentiscos) también el horizonte orgánico al estar bien constituidos. Para cada situación se ha realizado una descripción de campo del suelo y la vegetación, y se han cuantificado parámetros físicos (textura, estabilidad estructural en agua), químicos (pH, prueba previa de salinidad, carbonatos, caliza activa, nitrógeno total e inorgánico, fósforo total, orgánico, inorgánico y fósforo soluble Olsen, azufre total, extracto húmico total, ácidos húmicos, gomas microbianas y carbono orgánico soluble) y biológicos (biomasa microbiana, deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa, ureasa, proteasa-BAA y respiración basal).

Objetivo 3:

Se han recogido 24 muestras correspondientes a suelos agrícolas representativos de Mallorca. Incluyen distintos manejos (secano y regadío), y cultivos. Sobre estas muestras se han

2. Objetivos y plan de trabajo

realizado las mismas determinaciones analíticas que en los suelos correspondientes a la masa forestal (Objetivo 2).

Objetivo 4:

Sobre las muestras correspondientes al sistema forestal y las correspondientes a suelos agrícolas que se recogieron todas en verano, con un nivel bajo de humedad se han realizado todas las determinaciones a partir de las muestras secas. Paralelamente, se han humectado a capacidad de campo y mantenido a este nivel hídrico durante 10 d, momento en que se han repetido parámetros susceptibles de variación. Los parámetros suantificados, además del contenido hídrico, han sido: carbono orgánico soluble, gomas microbianas, nitratos, amonio, biomasa microbiana, deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa, ureasa, proteasa-BAA y respiración basal.

3. Material y métodos

3.1. Recogida y preparación de las muestras de tierra

3.1.1. Recogida y preparación de las muestras para la caracterización físico-química

Las muestras se han recogido con una pala o una azadilla, depositando el material en bolsas de plástico identificadas. Una vez trasladadas al laboratorio se procede al secado a temperatura ambiente, realizando, preferentemente, el tamizado antes de que las muestras estén completamente secas para facilitar la disgregación. Una vez tamizadas se exponen nuevamente al secado para reducir al mínimo la humedad residual. En este momento se produce el almacenaje de las muestras para los análisis posteriores.

Se pulveriza una pequeña fracción (habitualmente entre 20 y 40 g) para aquellas determinaciones que lo requieran.

En todas las muestras se determina la humedad residual para poder referir los resultados a masa seca.

3.1.2. Recogida y preparación de las muestras para la caracterización biológica

Las muestras destinadas a la determinación de parámetros biológicos: biomasa microbiana y actividades enzimáticas se recogen igual que el resto, procurando en este caso mantener las condiciones de humedad de las muestras. En el laboratorio se procede a la separación de los elementos gruesos, realizando las determinaciones de contenido de carbono de la biomasa microbiana de forma inmediata. Las muestras destinadas a la cuantificación de las actividades enzimáticas se conservan en nevera a 4 °C.

3.2. Parámetros físicos

3.2.1. Contenido en elementos gruesos

Para determinar el contenido en elementos gruesos se recoge una muestra amplia, de varios kg de peso, la cual se seca hasta 105 °C, pesando su contenido total (tierra fina + elementos gruesos). Posteriormente, con ayuda de una corriente de agua se elimina toda la tierra fina que pasa a través de un tamiz de 2 mm de luz y se cuantifica el contenido de elementos gruesos, después de secarlos nuevamente a 105 °C.

3.2.2. Textura

Para determinar las diferentes fracciones de la textura se hace un análisis granulométrico a partir del método de la pipeta sin destrucción de los carbonatos (Porta *et al.*, 1986), consistente en la dispersión de una muestra tamizada, a la que previamente se le ha eliminado la materia orgánica, separando las fracciones más finas mediante sedimentación discontinua.

Se pesan 20 g de muestra tamizada (< 2 mm) y secada a temperatura ambiente, en un matraz *erlenmeyer* de 250 ml, se añaden 20 ml de peróxido de hidrógeno al 30% para la dispersión de las partículas minerales y 150 ml de agua destilada, y se deja actuar un mínimo de 24 h a temperatura ambiente. Posteriormente se calienta por debajo de 80 °C en un baño de arena hasta que la muestra deja de reaccionar a la adición del peróxido de hidrógeno al 30%. Si se produce efervescencia que pueda rebosar del *erlenmeyer* o adherirse a las partes altas, con el riesgo de pérdida de muestra, se añaden unas gotas de etanol para romper las burbujas.

Acabado el tratamiento con peróxido de hidrógeno se pasa a la dispersión de las partículas finas, transfiriendo el contenido de los matraces a botes de plástico de 1 L de capacidad, añadiendo agua a fin de limpiar y recoger el contenido de las paredes de los matraces y diluir la muestra de tierra sin sobrepasar los 500 ml de agua destilada. A continuación se añaden 10 ml de hexametáfosfato de sodio (122,4 g L⁻¹) y se agitan los botes en un agitador rotatorio durante 2 h.

Tras la dispersión, se procede a determinar el peso de las diferentes fracciones. Se pasa la suspensión a través de un tamiz de 0,05 mm, para separar la fracción de las arenas y se

introduce en una probeta de sedimentación de 1 L. Se añade agua destilada hasta un volumen de 1 L. La fracción que queda dentro del tamiz se introduce en vasos de aluminio previamente tarados y se ponen a secar a 105°C hasta peso constante.

La probeta se agita para conseguir una perfecta homogenización y se pone sobre la mesa para iniciar el proceso de sedimentación de las partículas. Después de un tiempo determinado, que varía en función de la temperatura, se pipetea 20 ml de la suspensión a una profundidad de 10 cm con una pipeta con llave cerrada (pipeta Robinson) y se vierte el contenido de la pipeta dentro de un bote de aluminio previamente tarado. Este proceso se repite dos veces a diferentes tiempos para recoger las suspensiones correspondientes a limos y arcillas (<0,05mm) y arcillas (<0,002 mm).

Para cuantificar el peso del hexametáfosfato de sodio aportado a la muestra, se hace un blanco con 10 ó 20 ml de la solución de hexametáfosfato de sodio (según el volumen usado) enrasado a 1 L, igual que en las muestras.

Los botes de aluminio con los contenidos de las pipeteadas se secan en una estufa a 105 °C hasta peso constante. La textura se calcula a partir de los pesos de las diferentes fracciones.

3.2.3. Estabilidad estructural

La determinación de la estabilidad estructural del suelo se ha realizado siguiendo el método de agregados húmedos descrito por Kemper y Rosenau (1982). Se parte de una muestra de tierra tamizada (< 2 mm), separando con un tamiz de 1 mm los agregados que tienen un tamaño entre 1 y 2 mm.

Se pesan 4,2 g de estos agregados y se ponen en un tamiz de 0,25 mm de luz, repartidos uniformemente. A continuación, dentro de un recipiente cerrado, se humedecen l con un humidificador de vapor durante 30 min.

En un agitador diseñado para este fin, se colocan unos recipientes de aluminio con 70 ml de agua destilada, previamente tarados, debajo de los tamices con los agregados. El agitador sube y baja los tamices una altura de 1,3 cm, de forma que estos se introducen y se sacan de los recipientes con agua destilada 35 veces por min. Esta operación dura 3 min. Pasado este tiempo se dejan escurrir los tamices en los recipientes de agua destilada los cuales se ponen a secar en la estufa a 105°C.

3. Material y métodos

A continuación se vuelven a colocar otros recipientes de aluminio que contienen 70 ml de una solución de hexametáfosfato de sodio (2g L^{-1}) y se vuelve a poner en marcha el agitador hasta que sólo quedan partículas de arena. Después, los recipientes de aluminio, también, se ponen a secar a 105°C hasta que se evapora todo el líquido.

El índice de estabilidad estructural es igual a la tierra no dispersada, que se ha mantenido en los tamices con agua, respecto al total de tierra que pasa a través de los tamices en el conjunto de los dos procesos (primero con agua y después con hexametáfosfato de sodio). Se expresa en porcentaje (índice = 100% equivale a dispersión nula con agua y 0% sería dispersión de toda la tierra).

3.2.4. Humedad del suelo

El contenido hídrico del suelo se realiza a partir de la diferencia de pesada entre la muestra húmeda y la desecada en estufa a 105°C hasta peso constante.

Se utilizan botes de aluminio con tapa, los cuales se secan previamente en estufa a 105°C y se taran. Posteriormente se añade la muestra húmeda o con humedad residual, registrando el peso. Las muestras se introducen en la estufa a 105°C , habitualmente 24 h y se registra el peso seco. A partir de estas pesadas se obtiene el contenido de humedad de la muestra que se refiere a la masa seca de tierra.

Cuando el objetivo de la determinación es para corregir los resultados, de los distintos parámetros, para referirlos a masa seca el contenido de humedad de la muestra de suelo se refiere a la muestra húmeda o con humedad residual.

3.2.5. Agua retenida a capacidad de campo

La capacidad de campo hace referencia al contenido de agua que retiene un suelo una vez que ha drenado el agua gravitacional. Es una determinación que habitualmente se realiza sobre muestras inalteradas.

En este estudio se ha trabajado con muestras de tierra fina previamente tamizadas, realizando una humectación y posterior succión a 33 kPa.

La tierra fina se ha colocado en cilindros de plástico (de 7 cm de diámetro y 7 cm de altura, 269,4 cm³). Se han saturado con agua durante dos días y después han sometido a una succión de 33 kPa en un banco de arena y caolín (*Eijkelkamp*). Una vez que el drenaje ha cesado (3 d), se ha determinado el contenido hídrico de la muestra.

3.2.6. Agua retenida en el punto de marchitez permanente

El agua retenida a -1500 kPa indica la reserva de agua que, teóricamente, no es aprovechable por las plantas.

Para la determinación del agua retenida a -1500 kPa se han saturado las muestras de tierra fina con agua y se las ha sometido a una presión de 1500 kPa en un aparato de membrana de presión (*Eijkelkamp*) hasta que el drenaje ha cesado (3 d). Posteriormente se determina el contenido hídrico de la muestra.

3.3. Parámetros químicos

3.3.1. pH real y potencial

La medida del pH se realiza mediante un electrodo de pH *Crison 52-02*. Para determinar el pH real se pesan 20 g de muestra tamizada (< 2 mm) en un bote de polietileno con tapa de rosca, se añaden 50 ml de agua destilada (proporción tierra:agua 1:2,5). A continuación se agitan los botes en un agitador rotatorio durante 20 min y se dejan reposar otros 30 min. Pasado este tiempo se agita el bote manualmente y se introduce el electrodo permitiendo el contacto con la tierra.

Para determinación del pH potencial se sigue el mismo procedimiento que el descrito para el pH real, sustituyendo los 50 ml de agua destilada por 50 ml de cloruro potásico 1 M.

3.3.2. Conductividad eléctrica del extracto 1:5 (prueba previa de salinidad)

La conductividad eléctrica del suelo se mide sobre un extracto tierra:agua 1:5. Se pesan 5 g de muestra tamizada (< 2 mm) dentro de un tubo de centrífuga, se añaden 25 ml de agua destilada, se agita durante 30 min y se centrifuga a 3000 rpm durante 10 min. Finalmente se filtra y se mide la conductividad eléctrica con un conductímetro *Crison 524*. Esta medida se conoce con el nombre de prueba previa de salinidad.

3.3.3. Carbonato cálcico equivalente

El carbonato de calcio equivalente se mide mediante el calcímetro de Bernard (Portal *et al.*, 1986). Se pesan entre 0,2 y 1 g de muestra pulverizada, según el contenido previsto y se pone en un matraz *kitasato* que está conectado al calcímetro. Dentro del mismo matraz se coloca una cubeta con 2 ml de ácido clorhídrico al 50% de tal forma que el ácido no entre en contacto con la muestra de tierra. Se enrasa la bureta del calcímetro a cero y a continuación se agita el matraz *kitasato* para poner en contacto el ácido con la muestra. La reacción provoca el desprendimiento de dióxido de carbono, registrando el volumen desplazado.

Para calcular el carbonato de calcio equivalente previamente se preparan muestras patrón para calcular la equivalencia entre el volumen desplazado y el contenido equivalente de carbonato de calcio.

3.3.4. Caliza activa

La caliza activa se ha determinado siguiendo el método de Nijelsohn descrito por Porta *et al.* (1986). Se pesan entre 2-4 g de muestra tamizada (< 2 mm), en función de su contenido en carbonatos, en un bote de polietileno con tapa de rosca de 100 ml. Se añaden 100 ml de oxalato amónico 0,2 N y se agita durante 2 h. A continuación se filtra con papel de filtro en un matraz *erlenmeyer*, recogiendo una alícuota (habitualmente 10 ml) que se pone dentro del matraz *kitasato* del calcímetro. Seguidamente se procede de la misma manera que para los carbonatos, se pone una cubeta con ácido clorhídrico 50 % dentro del matraz *kitasato*, se enrasa el calcímetro, se hace reaccionar el extracto poniéndolo en contacto con el ácido y se mide el volumen de líquido desplazado dentro del calcímetro. Igual que en el caso de la determinación del carbonato de calcio equivalente, se preparan muestras patrón para calcular

la equivalencia entre el volumen desplazado y el contenido equivalente de carbonato de calcio.

3.3.5. Materia orgánica en los horizontes orgánicos

La cuantificación de la materia orgánica en las muestras de las capas orgánicas del suelo, se ha realizado mediante el procedimiento de ignición en horno de mufla y cálculo de la diferencia gravimétrica de las muestras antes y después del proceso de ignición.

Se han puesto en una estufa a 105 °C durante 1 h los crisoles correspondientes a las muestras a analizar; se han tarado y se ha añadido a cada uno 3 g de muestra pulverizada. Se han colocado en un horno de mufla a 550 °C durante 3 h. Una vez enfriados los crisoles se han extraído del horno mufla y vuelto a pesar. Se han corregido los pesos de las muestras en función de la humedad residual y la diferencia de pesos constituye el contenido de materia orgánica.

Cuando el contenido de materia orgánica se ha expresado en forma de carbono orgánico, se ha aplicado el coeficiente 1,724 g MO g⁻¹ COT.

3.3.6. Carbono orgánico total en los horizontes minerales

El carbono orgánico de los horizontes minerales se determina por oxidación con dicromato potásico en medio ácido (ácido sulfúrico y ácido fosfórico) y valorando el exceso de oxidante con sal de *Mohr* [Fe(NH₄)₂SO₄·6H₂O], utilizando el método de *Walkley-Black*, descrito por Nelson y Sommers (1982).

Se pesan entre 0,5 y 1 g de tierra pulverizada y se introducen en un matraz *erlenmeyer* de 250 ml. Se añaden 10 ml de una solución de dicromato potásico 1N y 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se mezcla todo con suavidad y se deja reaccionando la mezcla 30 min. Pasado este tiempo se para la reacción añadiendo 100 ml de agua destilada y se deja unos minutos para que ésta se enfríe. Una vez enfriada la mezcla se añaden 10 ml de ácido fosfórico concentrado y unas gotas de ortofenantrolina. Se valora el exceso de oxidante con la sal de *Mohr*. El viraje se produce de verde azulado a rojo oscuro. Se realizan varios blancos sin muestra.

3. Material y métodos

El contenido en carbono orgánico total se calcula a partir de la diferencia del volumen de sal de *Mohr* utilizado en el blanco y del volumen utilizado en la muestra. En el cálculo final se aplica el factor de recuperación de 1,29.

El contenido en materia orgánica se estima a partir del contenido de COT multiplicando por el factor de conversión 1,724.

3.3.7. Contenido en carbono del extracto húmico total y de los ácidos húmicos

Para la determinación del contenido en carbono del extracto húmico total y de los ácidos húmicos se ha seguido el método de extracción del humus con soluciones acuosas básicas y la posterior acidificación de una alícuota del mismo, para la determinación de los ácidos húmicos por precipitación (MAPA, 1994; Stevenson, 1994).

Para la extracción, se pesan entre 2 y 4 g de muestra de tierra tamizada (< 2 mm), se añaden a un tubo de centrífuga junto con 25 ml de solución extractante (NaOH 0,1M + Na₄P₂O₇ 0,1M) preparada diariamente. Se ha agitado la muestra durante 6 h y centrifugado 10 min a 5000 rpm, recogiendo el sobrenadante en un matraz *erlenmeyer*. Se vuelven a añadir a la muestra 25 ml de solución extractante y se agita de nuevo durante 15 min, volviéndose a centrifugar y a recoger el sobrenadante. Esta misma operación se ha repetido hasta que el extracto ha dejado de tener color (8 extracciones). Se reúne el volumen total de extracción.

Para la cuantificación del carbono del extracto húmico total, se recoge una alícuota de 20-40 ml, en función del contenido en carbono orgánico total de la muestra, en un matraz *erlenmeyer* y se pone a secar en una estufa a 80 °C. Sobre el extracto seco y una vez llevado a temperatura ambiente, se determina el contenido en carbono orgánico siguiendo el mismo procedimiento que para la determinación del carbono orgánico total del suelo.

Para muestras orgánicas se trabaja con cantidades más reducidas de muestra (0,5 g).

La determinación del carbono de los ácidos húmicos se realiza a partir una nueva alícuota del extracto húmico total, de 20-40 ml, en función del contenido en carbono orgánico total de la muestra. Se coloca la alícuota en un tubo de centrífuga y se lleva a un pH de 1 mediante una mezcla ácida de ácido sulfúrico y agua destilada en una proporción 1:1. Se deja reposar la muestra una noche (tiene lugar la precipitación de los ácidos húmicos). Posteriormente se centrifugan los tubos a 5000 rpm durante 10 min y se desecha el sobrenadante. Para la

purificación de los ácidos húmicos, se añaden 10 ml de ácido sulfúrico 0,001 N y se centrifuga de nuevo, desechando de nuevo el sobrenadante. Finalmente se disuelven los ácidos húmicos con una solución de hidróxido de sodio 0,5 N en un vaso de precipitados. La muestra se pone a desecar en estufa a 80 °C, para posteriormente determinar el contenido en carbono de los ácidos húmicos siguiendo el mismo procedimiento que el descrito para el extracto húmico total.

3.3.8. Determinación de la relación E4/E6 del extracto húmico total

La relación E4/E6 del extracto húmico total nos permite tener una estimación del tamaño, peso molecular y acidez total de las moléculas presentes (Chen *et al.*, 1977). Es indicador del grado de humificación.

Para cada muestra, se ha recogido una alícuota del extracto húmico total en un tubo de centrífuga y se ha centrifugado a 5000 rpm durante 10 min, pasando posteriormente a realizar una lectura de la absorbancia de la muestra a 465 nm y a 665 nm. Para la lectura se ha utilizado como blanco la solución extractante (hidróxido de sodio 0,1M + pirofosfato de sodio 0,1M).

3.3.9. Carbono orgánico soluble en agua

El contenido en carbono orgánico soluble en agua presente en el suelo se ha determinado según el método descrito por Burford y Bremner (1975).

Se prepara una suspensión de tierra:agua 1:5. Se pesan 5 g de muestra tamizada (< 2 mm) dentro de un tubo de centrífuga y se añaden 25 ml de agua destilada, se agitan los tubos durante 30 min, se centrifugan a 3000 rpm durante 10 min y se filtra el sobrenadante (filtro de <0,45 µm). Se acidifica el extracto a un pH inferior a 2 con ácido clorhídrico. Para eliminar el carbón inorgánico se purgan las muestras con nitrógeno puro (se inyecta N₂ durante 1 min).

Se mide el carbono orgánico soluble mediante un analizador de carbono orgánico total *Shimadzu 5000 A*.

Para muestras orgánicas se trabaja con cantidades más reducidas de muestra realizando una suspensión de muestra:agua 1:10.

3.3.10. Gomas microbianas

Para la determinación de las gomas microbianas del suelo se ha seguido el método descrito por Álvarez *et al.* (1984) que se basa en la extracción de las gomas microbianas del suelo en medio alcalino, posterior floculación de los ácidos húmicos en medio ácido y análisis colorimétrico del sobrenadante resultante.

Se ponen entre 3,5 y 7,5 g de muestra de tierra tamizada (en función del contenido en carbono orgánico total de la muestra) en un tubo de ensayo junto a 30 ml de hidróxido de sodio 0,5 N y se agita durante 3 h. Posteriormente, se ajusta el pH de la mezcla a 2 con ácido clorhídrico concentrado. La efervescencia se ha controlado con unas gotas de etanol para romper las burbujas y evitar su ascenso, y se centrifuga a 2400 rpm durante 5 min para precipitar los ácidos húmicos. El sobrenadante se filtra con papel de filtro (para eliminar los restos vegetales de la muestra de suelo). En un tubo de centrífuga se coge una alícuota de 14 ml del filtrado y se añaden 28 ml de acetona. Se deja reposar la mezcla durante 30 min y se centrifuga a 2400 rpm durante 5 min. Se descarta el sobrenadante y se lava el precipitado con una mezcla de acetona-agua (1:1, V:V) para eliminar el cloruro de sodio ya que interfiere en la coloración. Se agita intensamente y después de dejar reposar 10 min se centrifuga de nuevo. Se elimina de nuevo el sobrenadante y se colocan los tubos en la estufa a 80 °C a fin de eliminar la acetona.

Para la determinación de las gomas se añade al tubo con el precipitado 1 ml de dicromato potásico 1N y 2 ml de ácido sulfúrico concentrado, se mezcla todo con suavidad y se ha deja reaccionando la mezcla durante 20 min, pasados los cuales se para la reacción añadiendo 5 ml de agua y se deja unos minutos para que ésta se enfríe.

Se lee la absorbancia de las muestras a 600 nm en un espectrofotómetro *Perkin-Elmer 552* . Como referencia, se utiliza un blanco sin muestra.

El contenido de gomas microbianas se calcula a partir de una recta patrón que contiene 1, 2, 3, 4 y 5 mg de agar. Se prepara una dilución de agar en agua a una concentración de 1 mg ml⁻¹. Se añaden en diferentes tubos, de 1 a 5 ml de la solución y se ponen a secar en estufa, para pasar a la determinación colorimétrica descrita anteriormente.

Para muestras orgánicas se trabaja con cantidades más reducidas de muestra (0,3-0,5 g).

3.3.11. Nitrógeno total

Para determinar el nitrógeno total del suelo se sigue el método *Kjeldahl* (Bremner y Mulvaney, 1982). Se pesa 1 g de muestra pulverizada y se envuelve en un papel de fumar al que previamente se le ha quitado la banda adhesiva. A continuación se introduce en un tubo *Kjeldahl* juntamente con 200 mg de catalizador (mezcla de selenio, sulfato de cobre y sulfato de potasio en la proporción 1:10:100) y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Los tubos con las muestras se calientan en un digestor hasta 390 °C, subiendo la temperatura gradualmente, a intervalos de 50 °C aproximadamente. Al llegar a la temperatura deseada se mantiene durante 30 min y a continuación se deja enfriar.

Las muestras digeridas se diluyen con 50 ml de agua destilada y son destiladas con un destilador automatizado *Gerhardt Vapodest 45*, que añade una solución receptora de ácido bórico al 2% y una solución de hidróxido de sodio al 40% que neutraliza el ácido sulfúrico. Después de la destilación se valora la muestra con ácido clorhídrico 0,1N. Se realizan unos cuantos blancos con papel de fumar y todos los reactivos. El volumen del valorador gastado con el blanco se resta al gastado con la muestra en el cálculo final.

Para muestras orgánicas se trabaja con cantidades más reducidas de muestra (0,3 g).

3.3.12. Nitrógeno inorgánico

Para la determinación del nitrógeno inorgánico (N-NO_3^- y N-NH_4^+) se requiere una extracción previa con cloruro potásico 2M siguiendo la metodología descrita Keeney y Nelson (1982).

Se ponen 10 g de muestra tamizada (<2 mm) en un bote de polietileno con tapón de rosca de 100 ml de capacidad, se añaden 50 ml de cloruro potásico 2M y se agita con un agitador rotatorio durante 2 h. La determinación del contenido en N-NO_3^- y N-NH_4^+ del extracto se realiza mediante un autoanalizador de inyección de flujo *Lachat*, siguiendo las metodologías descritas por el fabricante. En el caso del N-NO_3^- se prepara una recta patrón hasta 20 mg L⁻¹ de N-NO_3^- . Para el N-NH_4^+ , los puntos de la recta patrón llegan a 3 mg L⁻¹ de N-NH_4^+ .

3.3.13. Fósforo total

El fósforo total se mide a partir de una digestión con ácido nítrico y ácido perclórico para disolver todas las formas de fósforo orgánicas e inorgánicas insolubles minerales. Se sigue el método de la determinación del fósforo mediante amonio vanadomolibdato siguiendo el protocolo de Olsen y Sommers (1982) con una digestión previa con ácido perclórico al 60%.

Se pesa 1 g de muestra pulverizada y se envuelve en un papel de fumar al que previamente se le ha quitado la cinta adhesiva. Se introduce en un tubo de digestión. Se añaden 10 ml de ácido nítrico 60% y se deja durante una noche para que oxide la materia orgánica. A continuación se añaden 15 ml de ácido perclórico 60% y unas cuantas bolas de vidrio para favorecer la ebullición. Los tubos se ponen a calentar en un bloque digestor, y se sube la temperatura gradualmente hasta llegar a los 180 °C. Se digiere la muestra hasta que aparece un humo blanco, Si es necesario se utiliza ácido perclórico para limpiar las paredes del tubo. Se sigue calentando a temperatura de ebullición durante 15-20 min hasta que aparece un material insoluble con aspecto de arena blanca. Se para la digestión y se deja enfriar. Una vez enfriado se añade agua destilada hasta un volumen de 100 ml y se filtra con papel de filtro *Whatman 1*.

Para determinar la concentración de fósforo se pipetea 5 ml de la muestra digerida y se introducen en un tubo de ensayo, se añaden 10 ml de vanadomolibdato de amonio y agua destilada hasta un volumen final de 50 ml. El vanadomolibdato de amonio se prepara disolviendo por un lado 22,5 g de heptamolibdato de amonio en 400 ml de agua destilada y, por otro lado, 1,25 g de metavanadato de amonio en 300 ml de agua destilada caliente. Las dos disoluciones se mezclan en un matraz aforado de 1 L, dejando enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente. A continuación se añade poco a poco un volumen de 250 ml de ácido nítrico concentrado y se deja enfriar hasta temperatura ambiente.

Se prepara un blanco con 10 ml de vanadomolibdato de amonio y enrasado a 50 ml con agua destilada.

Finalmente se mide la concentración de fósforo del tubo de ensayo previamente agitado a la absorbancia de 410 nm, después de 10 min, mediante un espectrofotómetro DU640 de *Beckman*. A la vez se prepara una recta patrón hasta 10 mg L⁻¹ de fósforo.

3.3.14. Fósforo orgánico

El contenido de fósforo orgánico del suelo se determina por el método de ignición, mediante la diferencia entre los contenidos de fósforo determinado en una muestra de suelo quemada a 550 °C y el extraído con ácido sulfúrico 1N de la misma muestra de suelo no quemada, correspondiendo a la fracción inorgánica del fósforo del suelo.

Se pesan 0,5 g de muestra pulverizada en un crisol de porcelana para quemar la muestra a 550 °C en un horno de mufla y por otro lado 0,5 g en un bote de polietileno de tapón de rosca de 50 ml de capacidad para la muestra que no se quema.

La incineración de las muestras se realiza en el horno de mufla a 550 °C durante 1 hora, subiendo la temperatura de forma gradual. Una vez quemadas las muestras se dejan enfriar. Después se añaden 25 ml de ácido sulfúrico 1N a las muestras quemadas i no quemadas en botes de plástico de 50 ml de capacidad y se agitan durante 16 h. Una vez agitadas las muestras se centrifugan durante 15 min a 5000 rpm. En el caso que el extracto no sea claro, se filtra con papel de filtro resistente a ácidos.

Para la medida del fósforo extraído tanto en las muestras quemadas como en las no quemadas, se pipetea 2 ml del extracto claro en un *erlenmeyer* de 50 ml de capacidad, se añaden 5 gotas de *p*-nitrofenol 0,25% y se neutraliza virando el color del extracto a color amarillo añadiendo unas gotas de hidróxido sódico 5N. Se diluye el extracto con 40 ml de agua destilada y se añaden 8 ml del reactivo formado por una disolución de ácido L-ascórbico en una mezcla de heptamolibdato amónico y antimonio tartrato potásico. Se enrasa a 50 ml con agua destilada. Pasados 15 min se lee la absorbancia a una longitud de onda de 882 nm.

Al mismo tiempo se prepara un blanco de la misma manera que las muestras, substituyendo los 2 ml de muestra por 2 ml de ácido sulfúrico 1N.

El contenido de fósforo de las muestras se determina tomando como referencia una recta patrón de concentraciones conocidas de fósforo realizada a partir de una solución de 500 mg L⁻¹ de fósforo.

La diferencia entre la muestra incinerada y la no incinerada constituye el contenido en fósforo orgánico.

3. Material y métodos

3.3.15. Fósforo inorgánico

El contenido en fósforo inorgánico se obtiene de la diferencia entre el contenido en fósforo total y el contenido en fósforo orgánico de cada muestra.

3.3.16. Fósforo soluble Olsen

Para la determinación del fósforo soluble se sigue el método de Olsen *et al.* (1954). Se pesan 5 g de muestra de tierra tamizada (< 2 mm) dentro de un bote de polietileno con tapa de rosca. Se añaden 100 ml de bicarbonato de sodio 0,5 N y se agita en un agitador rotatorio durante 30 min. Pasado este tiempo se añaden 5,6 g de carbón en polvo, se agita manualmente durante unos segundos el bote a fin de que el carbón se mezcle bien con la muestra y se pasa a filtrar mediante un filtro *Wathman* 40 en un matraz *erlenmeyer* de 250 ml utilizando un embudo *Büchner*.

A continuación se coge una alícuota de 5 ml de extracto y se pone en un tubo de ensayo, junto a 5 ml de molibdato amónico 1 N, 14 ml de agua destilada y 1 ml de cloruro estagnoso diluido (1 ml de solución concentrada y 66 ml de agua destilada). La solución concentrada se prepara disolviendo 10 g de cloruro estagnoso en 25 ml de ácido clorhídrico 36%. Al mismo tiempo se prepara un blanco de la misma forma que las muestras substituyendo los 5 ml del extracto por 5 ml de bicarbonato sódico. Después de 15 minutos se lee la absorbancia a 660 nm con un espectrofotómetro *Perkin-Elmer* 552. Finalmente, para calcular el contenido de fósforo soluble se realiza una recta patrón con concentraciones conocidas de fósforo (hasta 1,8 mg L⁻¹ de fósforo).

3.3.17. Azufre total

La determinación del azufre se ha realizado junto a otros elementos, no incluidos en este trabajo, a partir de una digestión ácida y posterior lectura en un espectrofotómetro de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) siguiendo el método descrito por *Marin et al.* (2008).

Se han pesado 0,3 g de tierra pulverizada a los cuales se les ha añadido, dentro de un vaso de teflón, 7,5 ml de ácido clorhídrico concentrado y 2,5 ml de ácido nítrico concentrado. La

digestión se ha realizado mediante un horno de microondas (15 min a 200 °C). Finalizado el proceso se filtra el contenido de cada vaso con un filtro libre de cenizas y se enrasa a 100 ml con agua purificada tipo 1 (agua *milli-Q*). Las muestras se han determinado mediante un espectrofotómetro de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) (*PerkinElmer, Massachusetts*) con un nebulizador neumático.

3.3.18. Capacidad de intercambio catiónico

La capacidad de intercambio catiónico y los cationes intercambiables se determinan mediante el método del acetato amónico (Rhoades, 1982).

Se pesan 2 g de muestra tamizada (< 2 mm) en un tubo de ensayo de 20 ml de capacidad, se añade una cucharada de arena de cuarzo y 15 ml de acetato amónico 1 N, preparado utilizando agua purificada tipo 1 (resistividad a 25 °C de 18,2MΩ cm y 2 ppb de CO; ASTM, 1991), también conocida como *milli-Q*. Se agitan los tubos durante 10 min en un agitador horizontal y seguidamente se centrifugan a 3000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se decanta en un bote de polietileno con tapa de rosca. Se repite el proceso 3 veces más. Seguidamente se realizan cuatro lavados con etanol 96%. El lavado consiste en añadir 15 ml de etanol en el tubo, resuspender la tierra, agitar 10 min y centrifugar durante 10 min a 3000 rpm. Se descarta el sobrenadante. Finalmente se repite el proceso con cloruro potásico 1 N. El extracto de cloruro potásico se guarda en un bote de polietileno con tapa de rosca i se acidifica. Ambos extractos se congelan si no se pueden medir inmediatamente.

La capacidad de intercambio catiónico se obtiene midiendo el contenido en amonio del extracto de cloruro potásico 1 N mediante el método Kjendahl, ya indicado en la determinación del nitrógeno total. En este caso, en lugar de una muestra digerida se mide una alícuota de 25 ml del extracto.

3.4. Parámetros biológicos

3.4.1. Biomasa microbiana

El carbono de la biomasa microbiana se mide siguiendo el procedimiento de fumigación-extracción descrito por Vance *et al.* (1987). El método se basa en que la fumigación con cloroformo provoca la muerte de las células microbianas del suelo por la ruptura de las membranas celulares, de tal forma que el contenido citoplasmático pasa al suelo y se extrae con sulfato potásico 0,5 M para cuantificar el contenido en carbono. Este método consta de tres fases: fumigación con cloroformo libre de etanol, extracción con sulfato potásico y determinación analítica del carbono de la biomasa microbiana.

Se pesan 25 g de muestra de tierra tamizada (< 2 mm) dentro de un bote de vidrio que se coloca en un desecador, juntamente con un vaso de precipitados que contiene carbonato de sodio. Por otro lado se colocan 25 ml de cloroformo libre de etanol en un vaso de precipitados juntamente con bolas de vidrio y se calienta hasta que empieza a hervir el cloroformo. A continuación se introduce el vaso de precipitados en el desecador que se tapa y se conecta a una bomba de vacío. Se hace el vacío durante 3 min, agitando suavemente el desecador para favorecer la ebullición del cloroformo. A continuación se cierra la llave del desecador y se para la bomba de vacío. Las muestras se incuban con atmosfera de cloroformo durante 24 h a temperatura ambiente y en oscuridad. Pasado este tiempo se abre poco a poco la llave del desecador para que vuelva a entrar aire, se retira el vaso de cloroformo y se hace el vacío varias veces durante 2 min para acabar de eliminar el cloroformo de las muestras.

La extracción se realiza en las muestras fumigadas y también en muestras sin fumigar. Se ponen los 25 g de muestra en un bote de polietileno con tapa de rosca al que se le añaden 100 ml de sulfato potásico 0,5 M (relación suelo:solución extractante 1:4) y se agitan durante 30 min en un agitador rotatorio. Las suspensiones se filtran y se analizan inmediatamente, o bien se guardan a 1-2 °C durante un máximo de dos semanas o a -20 °C durante más tiempo.

La determinación del carbono de la biomasa microbiana se realiza mediante digestión húmeda con dicromato a reflujo. Para ello se cogen 8 ml del extracto de sulfato potásico 0,5 M y se introducen en un matraz de fondo redondo. Se añaden 2 ml de solución de dicromato potásico 66,7 mM, 70 mg de óxido de mercurio y 15 ml de mezcla ácida (ácido sulfúrico:ácido fosfórico, 2:1). La mezcla se pone a hervir a reflujo durante 20 min, se deja enfriar y se diluye

con 20-25 ml de agua destilada que se añaden a través del condensador de reflujo, limpiándolo. El carbono orgánico se determina mediante una valoración volumétrica con sulfato amónico ferroso 33,3 mM en una solución de ácido sulfúrico 0,4 M, utilizando como indicador una solución de 1,10-fenantrolina ferrosa 25 mM. El viraje se produce de verde a rojo. Se hacen varios blancos con los reactivos y sin muestra.

3.4.2. Respiración microbiana del suelo

La respiración del suelo se determina a partir del método descrito por Alef (1995), que consiste en la estimación del dióxido de carbono emitido durante la incubación de una muestra de suelo en un sistema cerrado. El dióxido de carbono emitido es atrapado en una solución de hidróxido de sodio y posteriormente valorado con ácido clorhídrico.

Se utilizan frascos cerrados herméticamente dentro de los que se introducen 20 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y un tubo de plástico suspendido al cuello del frasco con 20 g de muestra de tierra. El tubo suspendido está perforado en los laterales para facilitar el intercambio de gases. En los frascos que se utilizan como blancos no se introduce muestra. Una vez cerrados herméticamente, los frascos se incuban a 25 °C en oscuridad durante 72 h. Pasado este tiempo, se retira el vial con la muestra de suelo y se pone en una flanera en la estufa para determinar el peso seco de la muestra de suelo. Se añaden al frasco 10 ml de cloruro de bario 3 N y unas gotas de indicador de fenolftaleína (1 g de fenolftaleína disuelto en 100 ml de etanol al 95 %) y se valora con ácido clorhídrico 0,1 N, agitando la muestra continuamente hasta que cambia de color. De esta forma se determina la cantidad de base que no ha reaccionado con el dióxido de carbono.

3.4.3. Actividad deshidrogenasa

La determinación de la actividad deshidrogenasa consiste en una extracción con metanol y posterior determinación colorimétrica del 2,3,5-trifenilformazan (TPF) producido por la reducción del cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) en el suelo por acción de la deshidrogenasa (Tabatabai, 1982).

Se pesan 6 g de muestra de tierra fresca tamizada (< 2mm) que se mezclan con 60 mg de carbonato de calcio. La mezcla se introduce en un tubo de ensayo, añadiendo además 1 ml de

3. Material y métodos

solución acuosa de TTC al 3% y 4 ml de agua destilada y se mezcla con una varilla de vidrio. Se tapa cada tubo y se incuban a 37 °C durante 24 h. Pasado este tiempo se sacan los tubos, se les añade a cada uno 10 ml de metanol y se agitan durante 1 min. La suspensión de cada tubo se filtra con un filtro *Wathman* 42 y se recoge en un matraz aforado de 100 ml. Se va añadiendo metanol a través del filtro hasta enrasar el matraz a 100 ml. Se tapa el matraz, se agita y al cabo de 20 min se mide la cantidad de TPF que se ha formado, leyendo las muestras a una longitud de onda de 485 nm en un espectrofotómetro *Perkin-Elmer* 552, usando como blanco metanol. La cantidad de TPF formado se calcula por referencia a una recta patrón preparada con diferentes concentraciones que contienen 0, 5, 10, 15 y 20 mg de TPF L⁻¹.

3.4.4. Actividad β-glucosidasa

La actividad β-glucosidasa se mide mediante la determinación colorimétrica del p-nitrofenol liberado por la β-glucosidasa cuando el suelo es incubado con una solución tamponada de nitrofil-β-D-glucósido (PNG) (Tabatabai, 1982).

Se pesa 1 g de muestra de tierra tamizada (<2 mm) dentro de un matraz *erlenmeyer* de 50 ml al que se le añaden 0,25 ml de tolueno, 4 ml de tampón universal modificado pH 6 y 1 ml de solución de PNG.

El tampón universal modificado pH 6 se prepara a partir de una solución madre de tampón universal modificado: se disuelven 12,1 g de tris(hidroximetil)aminometano (THAM), 11,6 g de ácido maleico, 14,0 g de ácido cítrico y 6,3 g de ácido bórico en 488 ml de hidróxido de sodio 1 N y se diluye la solución con agua destilada hasta un volumen de 1 L. Se añaden 200 ml de esta solución madre en un vaso de precipitados de 500 ml, se ajusta el pH hasta 6 con ácido clorhídrico 0,1 N y se diluye hasta un volumen de 1 L. La solución de PNG se prepara disolviendo 0,377 g de PNG en 50 ml de tampón universal modificado pH 6.

Los matraces *erlenmeyer* con la muestra y los reactivos mencionados anteriormente se tapan y se incuban a 37 °C durante 1h. Al acabar la incubación se destapan y se añaden 1 ml de cloruro de calcio 0,5 M y 4 ml de THAM 0,1 N pH 12, se agitan durante unos segundos y la suspensión se filtra a través de un doble filtro ordinario. Finalmente se mide la intensidad de color con un espectrofotómetro *Perkin-Elmer* 552 realizando una lectura de la absorbancia a 420 nm. El mismo procedimiento se repite para las muestras control, con las mismas condiciones, si bien añadiendo el PNG después de la incubación.

Para calcular el contenido de p -nitrofenol se prepara una recta patrón con 0, 2, 4, 6, 8 i 10 mg L⁻¹ de p -nitrofenol que se mide siguiendo el mismo procedimiento que para las muestras incubadas una vez filtradas.

3.4.5. Actividad fosfatasa alcalina

La medida de la actividad fosfatasa alcalina se basa en el mismo principio que el de la determinación de la actividad β -glucosidasa (Tabatabai, 1982).

Se pesa 1 g de muestra de tierra tamizada (< 2 mm) en un matraz *erlenmeyer* de 50 ml, se añaden 0,25 ml de tolueno, 4 ml de tampón universal modificado pH 11 y 1 ml de solución p -nitrofenil fosfato.

El tampón universal modificado se prepara de la misma forma que el que se utiliza en la determinación de la β -glucosidasa, con la única diferencia que el pH se ajusta hasta 11 con hidróxido de sodio 0,1 N. La solución de p -nitrofenil fosfato se prepara disolviendo 0,420 g de p -nitrofenil fosfato tetrahidrato disodio en 50 ml de tampón universal modificado pH 11.

A continuación el procedimiento es similar al descrito para la actividad β -glucosidasa: los matraces se incuban a 37 °C durante 1 h y se extrae el p -nitrofenol formado. La extracción se realiza añadiendo 1 ml de cloruro de calcio 0,5 M y 4 ml de hidróxido de sodio 0,5 M, se agitan los matraces durante unos segundos y la suspensión se filtra con un doble filtro ordinario. Se hacen controles con las mismas muestras pero añadiendo 1 ml de solución p -nitrofenil fosfato después de la incubación.

Para calcular el contenido de p -nitrofenol se prepara una recta patrón con 0, 2, 4, 6, 8 y 10 mg L⁻¹ de p -nitrofenol que se mide siguiendo el mismo procedimiento que para las muestras incubadas una vez filtradas.

3.4.6. Actividad arilsulfatasa

La actividad arilsulfatasa se mide con un método similar al de las actividades β -glucosidasa y fosfatasa alcalina, también descrito por Tabatabai (1982). Se pesa 1 g de muestra de tierra

3. Material y métodos

tamizada (< 2 mm) en un matraz Erlenmeyer de 50 ml, se añaden 0,25 ml de tolueno, 4 ml de tampón acetato y 1 ml de solución ρ -nitrofenil sulfato.

Para preparar el tampón acetato se disuelven 68 g de acetato de sodio trihidrato en 700 ml de agua destilada, se añaden 1,7 ml de ácido acético glacial (99 %) y se diluyen con agua destilada hasta un volumen de 1 L. La solución de ρ -nitrofenil sulfato se prepara disolviendo 0,312 g de ρ -nitrofenil sulfato potasio en 50 ml de tampón acetato.

Los matraces con la muestra y los reactivos se incuban a 37 °C durante 1 h pasado este tiempo se añade 1 ml de cloruro de calcio 0,5 M y 4 ml de hidróxido de sodio 0,5 M, se agitan durante unos segundos y la suspensión se filtra con un doble filtro ordinario. Finalmente se mide la intensidad de color con un espectrofotómetro *Perkin-Elmer 552* realizando una lectura de la absorbancia a 420 nm. El mismo procedimiento se repite para las muestras control, con las mismas condiciones, si bien añadiendo 1 ml de ρ -nitrofenil sulfato después de la incubación.

Para calcular el contenido de ρ -nitrofenol se prepara una recta patrón con 0, 2, 4, 6, 8 i 10 mg L⁻¹ de ρ -nitrofenol que se mide siguiendo el mismo procedimiento que para las muestras incubadas una vez filtradas.

3.4.7. Actividad BAA-proteasa

Para la determinación de la actividad BAA-proteasa se ha seguido el método colorimétrico descrito por Ladd y Butler (1972) consistente en la estimación del amonio formado por la actividad proteasa durante la hidrólisis de la amida correspondiente al carboxil terminal del substrato BAA (N- α -benzoil-L-argininamida) después de incubar el suelo con una solución de este substrato.

Se pesan 0,5 g de muestra de tierra tamizada (< 2 mm) dentro de un tubo de centrífuga, se añaden 2 ml de solución tampón fosfato 0,1 M pH 7 y 0,5 ml de solución substrato de N- α -benzoil-L-argininamida 0,03 M (preparado al momento). Se repite el proceso para cada muestra analizada pero sin añadir la solución substrato. También se prepara un blanco, únicamente con el tampón fosfato y el substrato, incubándose en las mismas condiciones.

La solución tampón se prepara mezclando 39 ml de fosfato de sodio monobásico 0,2 M y 61 ml de fosfato de sodio dibásico 0,2 M y llevándolo hasta un volumen de 200 ml con agua destilada. La solución sustrato se prepara disolviendo 0,248 g de N- α -benzoil-L-argininamida (BAA) en 25 ml de agua destilada.

Las muestras se agitan suavemente y se ponen a incubar durante 2 h a 40 °C. Pasado este tiempo se añaden 0,5 ml de solución sustrato a las muestras control (a las cuales no se les había puesto anteriormente). Tras la incubación, se procede a la extracción y determinación; así, se añaden 3 ml de una solución de cloruro potásico, se tapan los tubos de centrifuga y se agitan durante 30 min. Pasado este tiempo se centrifugan durante 10 min a 3000 rpm. La solución de cloruro potásico se prepara disolviendo 74,6 g de cloruro potásico en agua destilada con 10 ml de ácido clorhídrico 1 M y llevándolo a 1 L con agua destilada.

Después de centrifugar, se añaden 0,5 ml del extracto claro en un tubo de ensayo junto a 4,5 ml de agua destilada, 2,5 ml de una mezcla de salicilato sódico e hidróxido de sodio y 1 ml de solución de dicloroisocianuro sódico (0,1 g de dicloroisocianuro sódico en 100 ml de agua destilada). Se agita y se deja reposar durante 30 min en oscuridad, a fin de que desarrolle el color.

La mezcla de salicilato sódico e hidróxido sódico se prepara mezclando volúmenes iguales de una disolución de salicilato sódico (85 g de salicilato sódico y 600 mg de nitroprusiato sódico hasta un volumen de 500 ml con agua destilada), de hidróxido de sodio 0,3 M y de agua.

Pasados los 30 min, se realiza la lectura de la intensidad de color verde desarrollado en un espectrofotómetro *Perkin-Elmer 552*, a 690 nm.

3.4.8. Actividad ureasa

Para la determinación de la actividad ureasa se sigue el método de Kandeler y Gerber (1988). Consiste en la estimación del amonio formado por la actividad ureasa a partir de una muestra de suelo incubada con una solución de urea.

Se pesan 0,5 g de muestra de tierra tamizada (< 2 mm) en un tubo de centrifuga, se añaden 2 ml de solución tampón borato pH 10 y 0,25 ml de una solución de urea al 0,48 % (preparado al momento). Para los controles se pesa la misma cantidad de muestra sin poner la solución de urea. Se agita suavemente y se pone a incubar durante 2 h en estufa a 37 °C. Después de la

3. Material y métodos

incubación se añade el sustrato a los controles. Se procede a la extracción y determinación, así, se añaden 3 ml de cloruro potásico al 7,4% en medio ácido (se prepara de la misma manera que para la actividad BAA-proteasa) y se agita mecánicamente durante 30 min. Pasado este tiempo se centrifugan las muestras durante 10 min a 3000 rpm. A continuación se añaden 0,5 ml de extracto claro en un tubo de ensayo y se sigue el mismo procedimiento descrito para la actividad BAA-proteasa.

3.5. Análisis estadístico

Los procedimientos estadísticos básicos usados han sido: para describir las poblaciones de datos se han utilizado la media aritmética y la mediana para describir la tendencia central. Para la dispersión de los valores se ha utilizado la desviación estándar, el valor mínimo, el máximo y los percentiles 25 y 75.

Para la comparación de los tratamientos se ha utilizado el análisis de la varianza (ANOVA), realizando análisis de dos y tres vías cuando se han comparado varios factores. Cuando la comparación se ha extendido a más de dos tratamientos se ha aplicado el test de *Tukey* para diferenciar tratamientos.

Para las comparaciones de dos poblaciones de medias se ha realizado el test de *Student*. Cuando las poblaciones de muestras relacionadas no se han ajustado a una distribución normal, se ha utilizado la prueba de los rangos con signo de *Wilcoxon*.

Para el análisis de las correlaciones lineales, si no se ha podido garantizar la distribución normal de las variables estudiadas se ha aplicado el coeficiente de correlación ρ de *Spearman*.

Para evaluar las relaciones entre las variables estudiadas, también, se han realizado análisis de componentes principales.

Para los análisis estadísticos se ha utilizado el programa SPSS 22.0 de IBM.

4. Influencia de la fertilización orgánica y mineral sobre la actividad biológica del suelo en cultivos de lechuga

4.1. Introducción

La aplicación de fertilizantes o enmiendas orgánicas al suelo, aporta compuestos de carbono y elementos minerales que son puestos a disposición de las plantas y de los microorganismos en función de las características de partida de estos materiales y de la acción de los propios microorganismos. En cambio, la fertilización mineral supone un suministro de elementos minerales que pueden ser usados de forma inmediata o después de periodos cortos de tiempo, excepto en casos que estén expresamente diseñados para una liberación lenta. En el caso de los fertilizantes minerales la intervención de la microflora se focaliza en la transformación de compuestos minerales, como es el caso de la nitrificación (Porta *et al.*, 2003; Brady y Weil, 2010).

Entre los materiales o recursos para aumentar el contenido de materia orgánica de los suelos y aportar nutrientes están los estiércoles animales. Aunque las características y la calidad de estos materiales varía mucho entre el tipo de ganado y el proceso de transformación o almacenaje que sufre (Moral *et al.*, 2005). La disponibilidad de estos materiales está en función de las correspondientes cabañas ganaderas y el manejo de los animales (sistemas extensivos e intensivos). En la isla de Mallorca, el estiércol de ganado vacuno ha constituido una fuente de materia orgánica muy usada en agricultura, si bien, la reducción paulatina de la cabaña vacuna condiciona la disponibilidad de este recurso (MAGRAMA, 2014). Junto a la disminución de las cabañas ganaderas durante los últimos 20 años han emergido nuevos materiales como es el compost de recogida municipal y el compost de lodos de depuradora. Estos materiales ofrecen una alternativa para mantener los niveles de materia orgánica de los suelos.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

La escasez de fuentes de materia orgánica ha propiciado también la aparición de fertilizantes orgánicos comerciales que se caracterizan por una alta riqueza mineral. Sectores con alta exigencia en el uso de materiales orgánicos como es la agricultura ecológica [Reglamentos (CE) 834/2007 y 889/2008] son demandantes de estos productos.

Las sustancias húmicas constituyen la componente de la materia orgánica que más directamente incide sobre las características físicas, químicas y biológicas del suelo (Stevenson, 1994). Estos materiales, que de forma natural se integran en la matriz edáfica a partir de la intervención de la microflora, también se pueden obtener a partir de materiales especialmente ricos en sustancias equivalentes (por ejemplo la leonardita). Sus cualidades han despertado el interés agronómico, constituyendo materiales que se comercializan a través de preparados que requieren la aplicación de volúmenes de muestra reducidos (son habituales aplicaciones entre 40 y 100 L ha⁻¹).

La fertilización mineral constituye la vía más inmediata para suministrar los elementos minerales a las plantas con el fin de posibilitar un crecimiento rápido de las plantas.

Se ha diseñado una experiencia para evaluar el efecto de la fertilización orgánica y mineral, solas o combinadas, sobre la actividad biológica del suelo y la producción de cultivos de lechuga. Se compara la aplicación de un estiércol de ganado vacuno usado en la zona donde se ha realizado la experiencia, un compost de lodos de depuradora, un fertilizante orgánico comercial (*Duetto*) y un preparado comercial de ácidos húmicos. La fertilización mineral se ha aportado mediante el riego (fertirrigación). En el diseño experimental se han establecido los cuatro tratamientos orgánicos más un tratamiento control, en cuatro bloques duplicados: regados con agua subterránea y los mismos tratamientos con fertirrigación.

Se han realizado cuatro cultivos de lechuga, dos de otoño y otros dos de primavera, realizando un seguimiento del contenido de materia orgánica, contenido en fósforo asimilable mediante el método Olsen (PO), biomasa microbiana (BM) y las actividades enzimáticas deshidrogenasa (DH), β -glucosidasa (BG), fosfatasa alcalina (PA) y arilsulfatasa (AS). Como parámetro de producción se ha cuantificado la biomasa total aérea de las lechugas.

El objetivo principal es evaluar el efecto de los fertilizantes orgánicos y minerales sobre el suelo, especialmente en la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas y sobre la producción de las lechugas, analizando las relaciones entre los parámetros químicos, biológicos y de producción vegetal.

4.2. Material y métodos de campo

4.2.1. Localización y características de la zona del estudio

Los ensayos se han realizado en una parcela de la finca experimental agrícola *sa Canova* (sa Pobla). Las coordenadas de la parcela donde se han realizado los ensayos son: datum ETRS89, uso 31N, X:501400, Y:43998840). La finca se sitúa en una llanura aluvial, constituida a nivel geológico por limolitas y arcillas rojas con cantos rodados de caliza del Cuaternario (IGME, 1991a).

Las condiciones climáticas de la zona son típicamente mediterráneas, con precipitaciones de unos 650 mm distribuidos, de forma irregular, en los meses de otoño, invierno e inicio de primavera (Tabla 4.1). La temperatura media en verano es de alrededor de 25 °C y en invierno en torno a 10-12 °C. Durante los meses de invierno hay riesgo de que se produzcan algunas heladas.

Tabla 4.1: Características climáticas de la finca experimental *sa Canova* (Guijarro, 1986).

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Anual
P	59,3	50,3	48,8	52,2	42,6	21,5	10,1	31,5	53,1	95,9	84,6	78,1	628,0
T	10,3	10,7	11,6	13,8	17,6	21,6	25,0	25,5	22,7	18,5	13,9	11,1	16,9
TM	15,5	16,0	17,3	19,5	23,7	28,0	31,6	31,8	28,7	24,0	19,3	16,1	31,8
Tm	5,1	5,4	6,0	8,1	11,5	15,3	18,4	19,1	16,8	13,0	8,5	6,2	5,1
Tma	0,3	0,3	0,7	2,9	6,8	10,7	14,4	15,0	11,9	7,4	2,8	0,8	0,3
ETP	21,4	23,6	32,5	47,4	81,6	117,6	154,3	149,0	106,7	68,8	36,0	23,6	862,5

P: precipitación (mm); T: temperatura media (°C); TM: temperatura media de las máximas diarias (°C); Tm: temperatura media de las mínimas diarias (°C); Tma: temperatura media de las mínimas mensuales (°C); ETP: evapotranspiración potencial según Thorntwaite (mm).

4.2.2. Características edáficas e historial agronómico

El suelo de la parcela donde se ha realizado las experiencia es un *Skeletal Calcisol* (*Aric*, *Hypercalcic*, *Loamic*) (IUSS Working Group WRB, 2014). Es un suelo modificado, con profundidades variables, debido a antiguos trabajos de desfonde, apertura de zanjas o excavaciones de hoyos para plantar árboles. La profundidad oscila entre 30 y 70 cm. Su característica más relevante es el alto contenido en elementos gruesos que supera el 50%

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

(Tabla 4.2), en su mayoría de tamaño gravas. El material sobre el que se ha formado este suelo está constituido por depósitos aluviales de diferentes tamaños y de material fino sin estructurar.

Tabla 4.2: Características edáficas de la parcela del estudio.

Capa (cm)	0-30	30-45
Elementos gruesos (g kg ⁻¹)	553	658
Tierra fina (g kg ⁻¹)	447	342
Arenas (2-0,05 mm, g kg ⁻¹)	344	408
Limos (0,05-0,002 mm; g kg ⁻¹)	325	299
Arcillas (< 0,002mm; g kg ⁻¹)	331	292
Textura USDA	Franco arcillosa	Franco arcillosa
CCE (g kg ⁻¹)	410	550
COT (g kg ⁻¹)	22,0	18,1
CIC (cmol kg ⁻¹)	16,7	17,3
Porosidad total (%)	27,5	43,0
Porosidad tierra fina (%)	45,9	67,5

CCE: carbonato cálcico equivalente; CIC: capacidad de intercambio catiónico; COT: carbono orgánico total.

La parcela donde se han establecido los cultivos se ha destinado a agricultura intensiva de regadío, pasando por periodos de cultivos forrajeros y hortícolas, sobretodo patata. Las aportaciones de fertilizantes minerales y estiércoles animales ha sido una práctica común. En los años previos a la experiencia se ha destinado al cultivo de plantas aromáticas y a la floricultura. Los aperos más utilizados han sido la vertedera, los cultivadores y el subsolador.

4.2.3. Características de los fertilizantes utilizados

Para el estudio se han utilizado fertilizantes orgánicos, que se han aplicado solos y complementados con fertilizantes minerales de síntesis, estos últimos aplicados con el agua de riego (fertirrigación). En total, se han establecido diez tratamientos de fertilización.

Los cuatro fertilizantes orgánicos ensayados son: estiércol de vacuno, compost de lodos de depuradora, el fertilizante orgánico comercial *Duetto* y un preparado comercial de ácidos húmicos. La fertilización mineral se ha basado en una mezcla de nitrato amónico, nitrato potásico y fosfato amónico.

El estiércol de vaca usado es un estiércol muy maduro, que se presenta mezclado con paja y en menor proporción con fragmentos de *Posidonia oceanica* (material utilizado como cama para los animales).

El compost de lodos de depuradora es una mezcla de lodos procedentes de la depuración de aguas residuales, procesados en la planta de compostaje de sa Pobla, usando como sustrato de mezcla (soporte) serrín y restos vegetales troceados, procedentes de podas de árboles y setos. La proporción de soporte y lodos es de 2:1.

El fertilizante orgánico comercial utilizado se denomina *Duetto*, de la casa comercial Agro-Nutrientes Especiales S.L. Este fertilizante es una mezcla de diferentes materiales orgánicos, gallinaza, guano de las islas y vinaza de melaza de remolacha, y se presenta en forma de “pellets”.

Los ácidos húmicos utilizados, con el nombre comercial de AHULUQ 15, son de la casa comercial LUQSA (Lérida Unión Química S.A). El producto contiene ácidos húmicos y oligoelementos y se presenta en forma líquida. Su aplicación se ha hecho a lo largo del ciclo vegetativo activo del cultivo de lechuga, realizando una aplicación semanal.

Los fertilizantes orgánicos sólidos se han incorporado mediante motocultor, realizando una labor de unos 12-15 cm de profundidad. Los ácidos húmicos se han aplicado de forma manual, una vez a la semana y justo antes del riego, disueltos con una cantidad mínima de agua para asegurar una aplicación uniforme.

Los fertilizantes minerales se han aplicado mediante fertirrigación. La fertilización mineral, con una proporción N:P:K 2:0,8:2 (Tabla 4.6) presenta una concentración final de la solución de riego, expresada en conductividad eléctrica, de 2,5 dS m⁻¹ a 25 °C.

Las dosis que se han aplicado son las habituales en la zona: 40 t ha⁻¹ en el caso del estiércol de vacuno y el compost de lodos de depuradora. Para el fertilizante *Duetto* se han aplicado 2,4 t ha⁻¹, dosis recomendada por el fabricante; del mismo modo los ácidos húmicos se han aplicado a razón de 20 L ha⁻¹, de acuerdo a las indicaciones del producto.

En las Tablas 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6 se indican las principales características de los fertilizantes utilizados.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

Tabla 4.3: Caracterización química de los fertilizantes orgánicos sólidos: estiércol vacuno y compost de lodos de depuradora. El compost de lodos de depuradora I se ha utilizado en los ensayos 1 y 2, y el compost de lodos de depuradora II se ha utilizado en los ensayos 3 y 4.

	Estiércol vacuno	Compost lodos depuradora- I	Compost lodos depuradora- II
Materia seca (%)	93,0	66,6	80,7
pH (1:5)	7,2	6,6	7,2
CE (1:5 25 °C; dS m ⁻¹)	7,84	1,04	0,64
Materia Orgánica (%)	32,5	44,2	58,4
N total (%)	1,63	1,93	1,2
N-NH ₄ ⁺ (%)	0,14	nd	0,1
Relación C/N	9,2	18,4	22,5
P (%)	0,63	0,24	0,67
K (%)	2,14	nd	0,56
Ca (%)	12,09	nd	7,31
Mg (%)	1,31	nd	1,15
Fe (%)	1,29	nd	0,86
Cr (mg kg ⁻¹)	17	77	125
Ni (mg kg ⁻¹)	20	17	20
Pb (mg kg ⁻¹)	29	134	49
Cu (mg kg ⁻¹)	49	174	151
Zn (mg kg ⁻¹)	238	440	381
Hg (mg kg ⁻¹)	0,22	0,2	0,37
Cd (mg kg ⁻¹)	1,5	0,9	1,5

CE: conductividad eléctrica.

Tabla 4.4: Caracterización química del fertilizante orgánico comercial *Duetto*, según información ofrecida por la casa comercial Agro-Nutrientes Especiales S.L.

Fertilizante orgánico comercial <i>Duetto</i>			
Humedad máxima (%)	11	CaO soluble en agua (%)	4,3
pH (1:5)	7,3	MgO soluble en agua (%)	2
Materia orgánica total (%)	55	Microelementos (%)	1,3
Ácidos húmicos (%)	3	Cr (mg/kg)	30
Ácidos fúlvicos (%)	7	Ni (mg/kg)	15
N total (%)	5	Pb (mg/kg)	4
N-NH ₄ ⁺ (%)	0,2	Cu (mg/kg)	130
Relación C/N	6,7	Zn (mg/kg)	400
P ₂ O ₅ total (%)	5	Cd (mg/kg)	4
K ₂ O total (%)	8		

Tabla 4.5: Caracterización química del preparado comercial de ácidos húmicos, según información ofrecida por la casa comercial.

AHULUQ 15	
Extracto húmico total (%)	15
Ácidos húmicos (%)	10
Ácidos fúlvicos (%)	5
B (%)	0,02
Cu (%)	0,05
Fe (%)	0,1
Mg (%)	0,07
Mo (%)	0,003
Zn (%)	0,015

El B y el Mo se encuentran en forma mineral, el resto de microelementos se encuentran en forma de quelatos EDTA y HEDTA.

Tabla 4.6: Composición de la fertilización mineral (aplicada mediante fertirrigación).

Fertilización mineral (mg L⁻¹)	
PO ₄ H ₂ (NH ₄)	150
NO ₃ K (%)	150
NO ₃ NH ₄	100

4.2.4. Riego

El sistema de riego utilizado ha sido la microaspersión. La primera semana de cada ensayo todas las parcelas se han regado únicamente con agua, a fin de que el cultivo se asentara bien; posteriormente ya se ha pasado a aplicar de forma regular los tratamientos de fertirrigación y de ácidos húmicos, en las parcelas correspondientes.

El agua de riego presenta un nivel de salinidad moderadamente bajo pero el contenido de nitratos es importante. La conductividad eléctrica es de 1,2 dS m⁻¹ (25 °C) y el contenido en nitratos de 26,5 mg N-NO₃⁻ L⁻¹.

4.2.5. Especie cultivada

El cultivo que se ha utilizado en los cuatro ensayos ha sido la lechuga tipo romana (*Lactuca sativa*, var. *longifolia* Lam.). En los dos primeros ensayos se ha utilizado el cv. 'Invierno de Mallorca Estefania', y en los dos restantes el cv. 'Mikel RZ'. La elección del cultivo de lechuga tipo romana para el estudio se debe al corto ciclo vegetativo que posee esta planta, desde algo más de un mes (calendario de ciclo estival) hasta casi cuatro meses (calendario de ciclo invernal) (Miguel *et al.*, 2000) y por la buena relación que mantiene la biomasa de sus hojas (fracción de interés comercial) con los nutrientes absorbidos por la planta.

La lechuga tipo romana, pertenece al grupo de las lechugas que no forman cogollo, si bien, se cierran ligeramente mostrando un aspecto alargado (hojas lanceoladas). Crece bien en diversos tipos de suelos, siendo los de textura franco arcillosa con niveles altos de materia orgánica y con buen drenaje los más adecuados. Resiste valores medios de salinidad (Maroto *et al.*, 2000). Es un cultivo poco tolerante a las enmiendas orgánicas frescas, recomendándose los fertilizantes orgánicos compostados o maduros (Pomares, 2000).

Actualmente, el principal problema que presenta el cultivo de la lechuga es el virus del Bronceado del Tomate, afectándole de manera grave, sobre todo en épocas estivales y de principios de otoño. Sa Pobla es una zona que se ve muy afectada por las virosis, pudiendo ocasionar importantes mermas en las producciones. El principal vector transmisor de este virus es el trips *Frankliniella occidentalis* y allí donde el trips adquiere poblaciones importantes, la incidencia del virus puede ser generalizada. Los pulgones (*Myzus persicae*), orugas (*Spodoptera* sp.), los caracoles y el gusano de alambre (*Agriotes* sp.), son las plagas más habituales que afectan al cultivo de la lechuga, mientras que las enfermedades más frecuentes son el mildiu (*Bremia lactucae*) y la botritis (*Botrytis cinerea*) (García, 2000).

Según la empresa comercializadora (*Sluis & Groot*), el cv. 'Invierno de Mallorca Estefania' posee hojas verde claras, es muy voluminoso y uniforme. Se puede cultivar todo el año, presentando tolerancia a la necrosis marginal y al espigado, también resulta resistente a períodos fríos

El cv. 'Mikel RZ' es de gran rusticidad y resistente a la subida. Es de gran homogeneidad y de buen comportamiento en cultivos de primavera tardía, verano y principios de otoño. Es muy resistente al mildiu (*Bremia lactucae*), al *tip-burn* (necrosis en las puntas de las hojas jóvenes por una deficiente translocación de calcio hacia ellas) y a podredumbres internas. Se

adapta bien al riego por aspersión (información aportada por la empresa comercializadora *Rijk Zwaan*).

4.2.6. Diseño experimental

Se han establecido cuatro bloques, manteniendo separadas las parcelas regadas con agua subterránea de las fertirrigadas por exigencia del diseño del sistema de riego de acuerdo al esquema representado en la Figura 4.1. Las parcelas elementales miden $1,5 \times 2$ m.

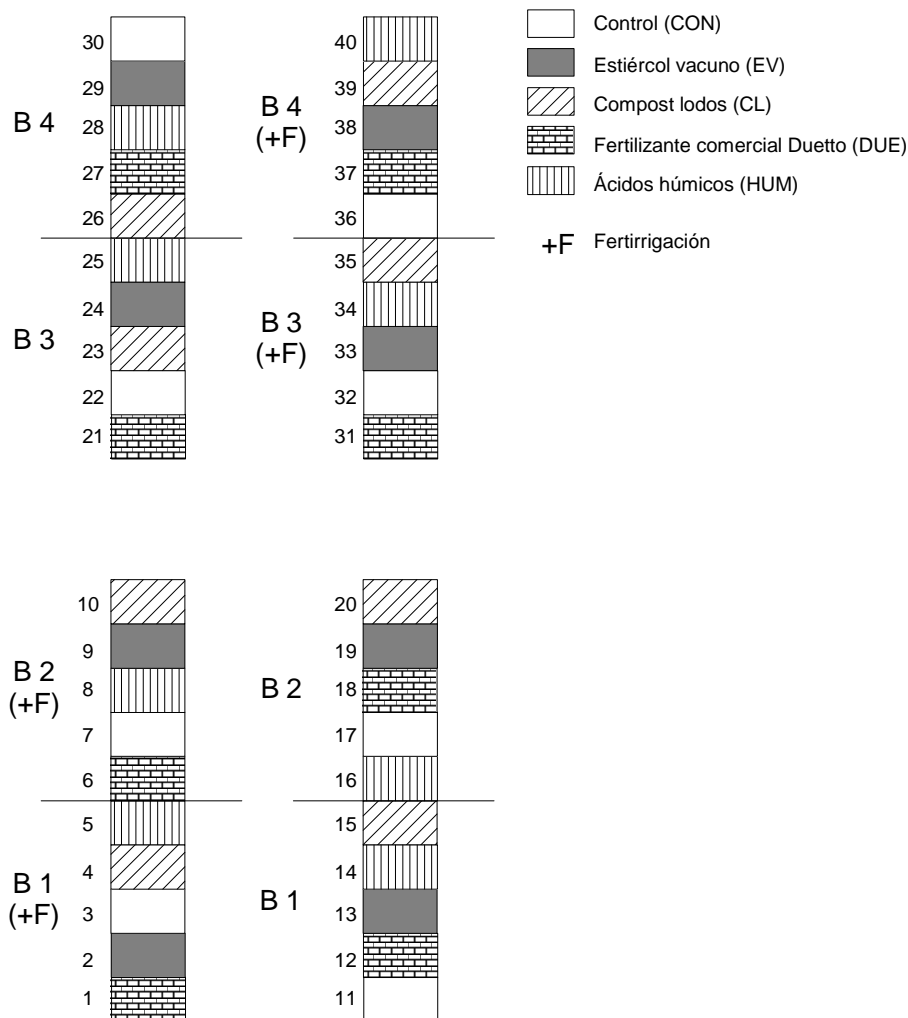


Figura 4.1: Distribución de los bloques (B) y parcelas seguídas en los cuatro ensayos. Los dos primeros ensayos se realizaron en las mismas parcelas mientras que el tercero y cuarto se realizaron en un lugar colindante, manteniendo la misma distribución de las parcelas.

4.2.7. Características de los diferentes ensayos

Durante el estudio se han realizado cuatro ensayos, distribuidos en los siguientes periodos de cultivo: otoño de 1999, primavera de 2000, otoño de 2000 y primavera-verano de 2001. A continuación se detallan las características de los diferentes ensayos así como, también, el modelo de gestión que se ha seguido.

Ensayo 1 (Otoño de 1999, 11/10/1999 hasta 1/12/1999)

Fertilización: realizada el 22 de septiembre de 1999. Se han aplicado e incorporado con motocultor los diferentes fertilizantes orgánicos en sus respectivas parcelas, hasta una profundidad de 12-15 cm. El estiércol de vacuno (EV) y el compost de lodos de depuradora a razón de 40 t ha⁻¹. La dosis del fertilizante *Duetto* ha sido 2,4 t ha⁻¹. La aplicación de los ácidos húmicos y la fertirrigación se ha iniciado una semana después de la plantación.

Cultivo: Veinte días después, el 11/10/1999, se ha plantado el cultivo de lechuga tipo romana cv. 'Estefania'. A lo largo de los bloques, se han plantado cuatro hileras de lechugas, con un marco de plantación de 37,5 x 50 cm, conteniendo así cada parcela 16 lechugas (unas 5 plantas m⁻²; 53300 plantas ha⁻¹).

Riego: Realizada la plantación, se ha aplicado un riego abundante para asegurar la humectación del suelo, pasando a regar posteriormente con una dosis de 2,5 mm d⁻¹ con microaspersores.

Tratamientos fitosanitarios: desde el inicio del cultivo se ha ido realizando un tratamiento fitosanitario aproximadamente semanal, para combatir el ataque de oruga (*Spodoptera* sp.) Durante las dos primeras semanas se han repuesto las plantas afectadas.

Muestreo de suelo: Al alcanzar el pleno desarrollo las lechugas se ha realizado el muestreo de la capa arable suelo (15 cm) en las cuarenta parcelas (18/11/1999). Las muestras son compuestas, constituidas a partir de cinco muestras parciales.

Muestreo de producción: El 1/12/1999 se ha realizado el muestreo de producción de las lechugas, recogiendo cuatro plantas por parcela. Se ha registrado el peso fresco de cada planta y se ha recogido una fracción representativa de la planta para cuantificar el porcentaje de masa seca después de secar la muestra a 80 °C hasta peso constante.

Labores post-cosecha, una vez finalizado el muestreo de producción se ha cosechado el resto de lechugas y se ha labrado el terreno, manteniendo los diferentes tratamientos de fertilización, a fin de preparar el terreno para el ensayo posterior de primavera.

Condiciones ambientales: En la Figura 4.2 se representan las temperaturas máximas y mínimas diarias durante el primer ensayo.

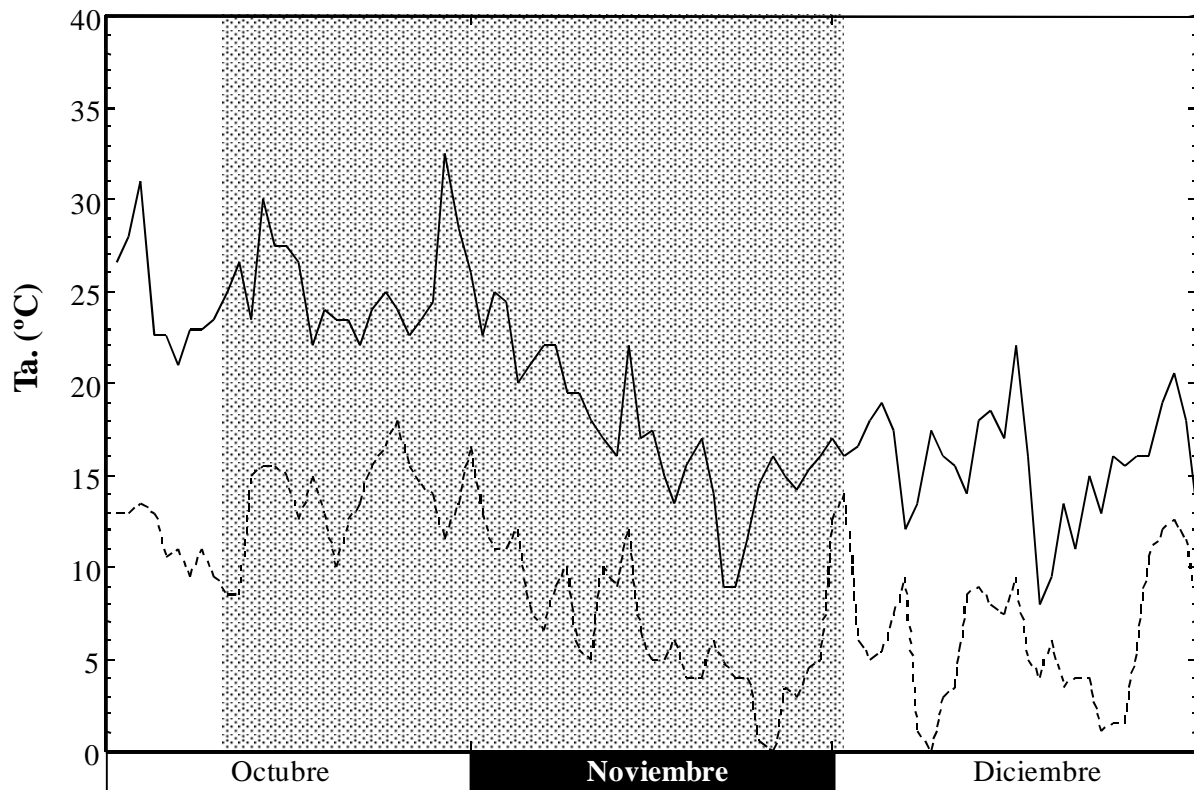


Figura 4.2: Temperaturas máximas y mínimas diarias durante el primer cultivo (área sombreada), entre los meses de octubre y diciembre de 1999.

Ensayo 2 (Primavera de 2000, desde el 20/03/2000 al 17/05/2000)

En este segundo ensayo se pretende estudiar la evolución en el tiempo de los parámetros de fertilidad del suelo, la dinámica de la actividad biológica en épocas contrastadas y evaluar los diferentes fertilizantes orgánicos en el tiempo.

Este segundo ensayo se ha realizado en las mismas parcelas que el primero. En este segundo ensayo no se ha incorporado material orgánico en los tratamientos de EV, CL y DUE. En los tratamientos de ácidos húmicos y fertirrigación sí se han aplicado de nuevo y con la misma frecuencia y dosis que en el primer ensayo.

Cultivo: Lechuga tipo romana cv. 'Estefania'. La plantación de lechugas se ha realizado el 20/03/2000, siguiendo la misma distribución que para el ensayo 1.

Dosis de riego: Se han seguido las mismas pautas que en el ensayo 1. En este segundo ensayo la dosis de riego se ha incrementado a 5 mm d^{-1} .

Tratamientos fitosanitarios: Al inicio del cultivo se han realizando dos tratamientos con diazinon y sales de cobre, para combatir el ataque de oruga (*Spodoptera* sp.) y posibles ataques fúngicos. También se han repuesto durante las primeras semanas las lechugas más afectadas. Además, este ensayo se ha visto afectado por el virus del bronceado del tomate, que se ha combatido mediante la retirada de las plantas afectadas.

Muestreo de suelo: Las muestras se han cogido el 8/05/2000, siguiendo los mismos criterios que en el primer ensayo.

Muestreo de producción: Un mes y medio después de la plantación (17/05/2000) se ha realizado el muestreo de producción, siguiendo el mismo procedimiento que para el ensayo 1.

Condiciones ambientales: En la Figura 4.3 se representan las temperaturas máximas y mínimas diarias durante el segundo ensayo.

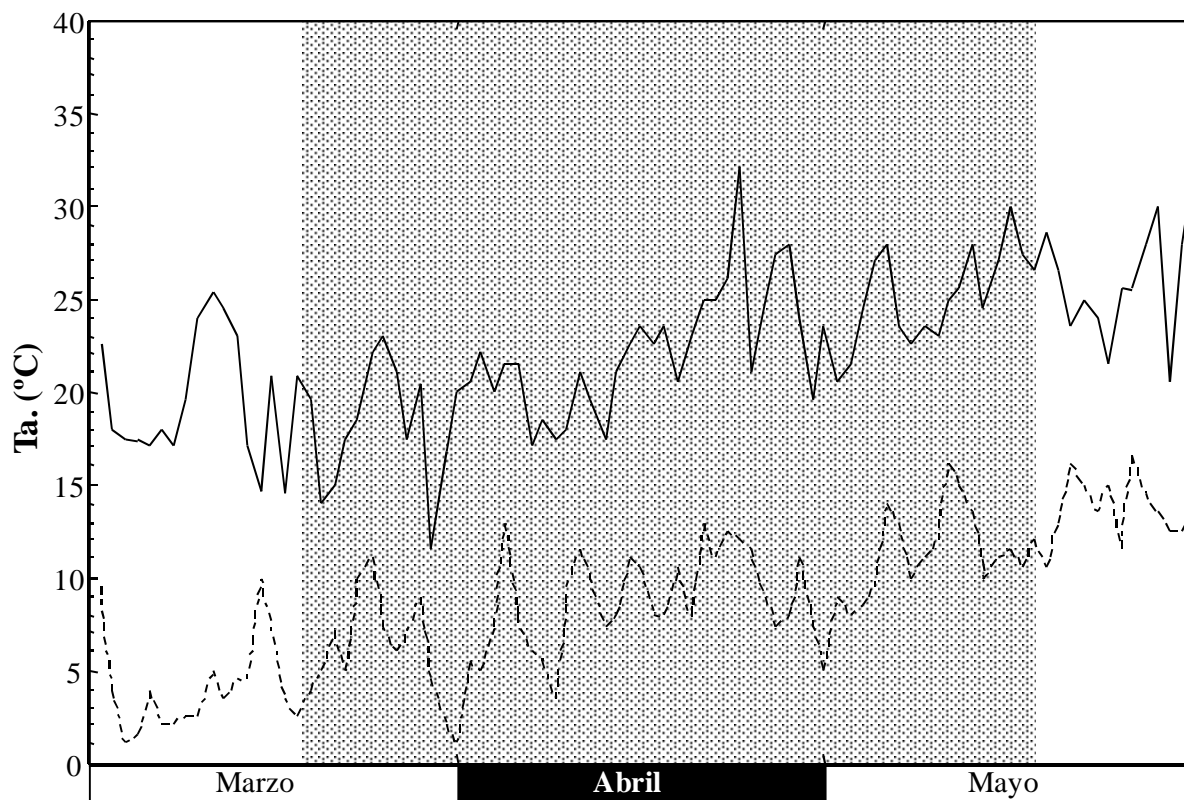


Figura 4.3: Temperaturas máximas y mínimas diarias durante el segundo cultivo (área sombreada), entre los meses de marzo y mayo de 2000.

Ensayo 3 (Otoño de 2000, desde el 17/10/2000 hasta el 21/12/2000)

El tercer ensayo se ha realizado en un área colindante, donde se desarrollaron los dos primeros cultivos, que presenta las mismas características edáficas y de gestión que las de los ensayos anteriores. Se han marcado nuevos bloques y se han incorporado de nuevo los materiales orgánicos, siguiendo el mismo criterio que en el primer ensayo.

Fertilización: El 3/10/2000 se han aplicado e incorporado los diferentes fertilizantes orgánicos. El estiércol de vacuno y el compost de lodos de depuradora a razón de 40 t ha⁻¹. La dosis del fertilizante *Duetto* ha sido 2,4 t ha⁻¹. La aplicación de los ácidos húmicos y de la fertirrigación se ha iniciado una semana después de la plantación.

Cultivo: La plantación de lechugas se ha realizado el 17/10/2000. Se ha plantado lechuga romana cv. 'Mikel'.

Dosis de riego: se ha seguido el mismo proceso que el establecido en los dos cultivos anteriores. La dosis de riego es de 2,5 mm d⁻¹.

Tratamientos fitosanitarios: Al inicio del cultivo se han realizando dos tratamientos con Limer, 5 G de Mercampo, cebo granulado a base de metaldehido al 5 % y de Dipsol 5 CG de Luqsa, cebo granulado a base de triclorfon al 5% Luqsa, como helicida e insecticida respectivamente, para el control de caracoles y orugas. También ha habido un ataque del virus del bronceado del tomate, por lo que se han retirado y reemplazado las lechugas afectadas durante las dos primeras semanas.

Muestreo de suelo: Al alcanzar el pleno desarrollo las lechugas, el 12/12/2000 se ha realizado el muestreo de suelo.

Muestreo de producción: El 21/12/2000 se ha realizado el muestreo de producción de las lechugas, de la misma forma que se ha seguido para los ensayos anteriores.

Finalizado el cultivo: Se han realizado las mismas labores que en el ensayo 1 a fin de preparar el terreno para un siguiente ensayo.

Condiciones ambientales: En la Figura 4.4 se representan las temperaturas máximas y mínimas diarias durante el tercer ensayo.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

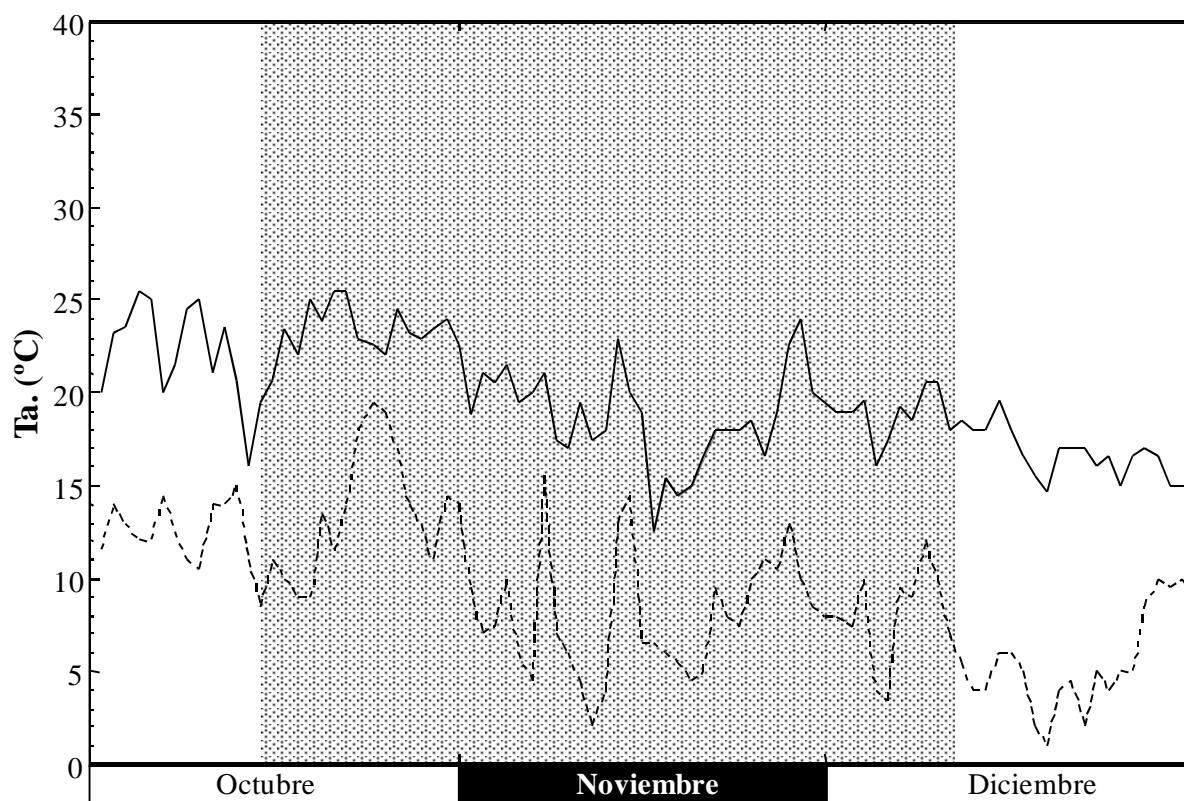


Figura 4.4: Temperaturas máximas y mínimas diarias durante el tercer cultivo (área sombreada), entre los meses de octubre y diciembre de 2000.

Ensayo 4 (Primavera-verano de 2001, desde el 15/05/2001 al 4/07/2001))

El cuarto ensayo se ha realizado en las mismas parcelas que el tercero.

Fertilización: El 6/04/2000 se han aplicado e incorporado con motocultor los diferentes fertilizantes orgánicos en sus respectivas parcelas (tratamientos EV, CL y DUE, con las mismas dosis que en el primer y tercer ensayos), incorporándolo hasta una profundidad de 12-15 cm. La aplicación de los ácidos húmicos y de la fertirrigación se ha iniciado una semana después de la plantación.

Cultivo: La plantación de lechugas se ha realizado el 15/05/2001. Se ha usado la lechuga romana cv. 'Mikel'.

Dosis de riego: Se ha seguido el mismo proceso que el establecido en los anteriores cultivos, con una dosis de 5 mm d⁻¹.

Tratamientos fitosanitarios: Se ha hecho un tratamiento con herbicida *Finale* de la casa AgrEvo, a base de glufosinato 15% SL para la eliminación de la vegetación arvense. Para evitar el ataque de caracoles, el mismo día de la plantación de las lechugas, se ha hecho una aplicación de *Mesuro 1* de la casa Bayer, a base de metiocarb 1% GB, como cebo granulado para el control de caracoles y orugas. El cultivo también se ha visto afectado por el virus del bronceado del tomate. Durante la primera semana del cultivo las plantas más afectadas han sido reemplazadas y durante el cultivo, las plantas viróticas se han eliminado del cultivo.

Muestreo de suelo: Al alcanzar el pleno desarrollo las lechugas, el 2/07/2001, se ha realizado el muestreo de la capa arable suelo, al igual que en los ensayos anteriores.

Muestreo de producción: el 4/07/2001 se ha realizado el muestreo de producción de las lechugas. El cultivo se ha visto afectado por el virus del bronceado del tomate, descartando las plantas afectadas para la estimación de producción.

Condiciones ambientales: En la Figura 4.5 se representan las temperaturas máximas y mínimas diarias durante el cuarto ensayo.

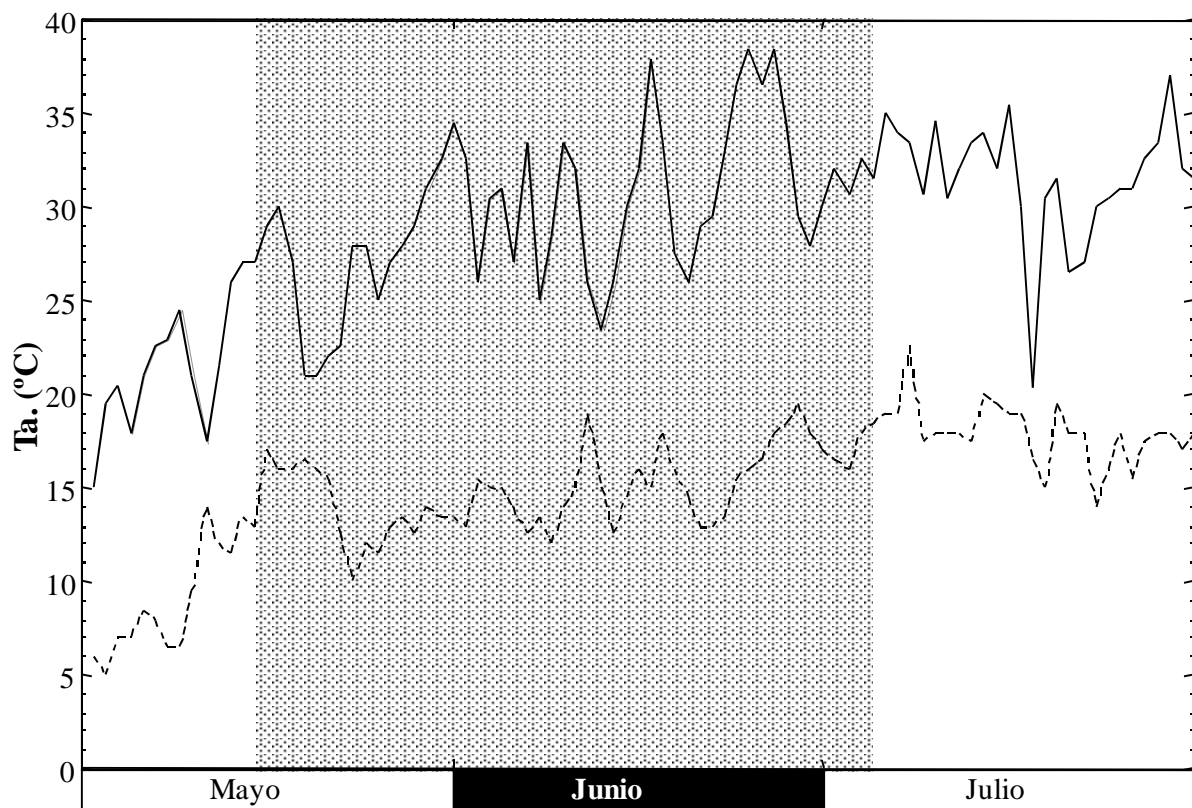


Figura 4.5: Temperaturas máximas y mínimas diarias durante el cuarto cultivo (área sombreada), entre los meses de mayo y julio de 2001.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral



Fotografía 4.1: Preparación del terreno e incorporación de las enmiendas orgánicas en el primer ensayo.



Fotografía 4.2: Fase inicial del cultivo. En primer plano se observan los dos primeros bloques de los tratamientos con y sin fertirrigación, de acuerdo a la disposición representada en la Figura 4.1.



Fotografía 4.3: Disposición del cultivo, con las plantas distribuidas en 4 hileras, con 16 plantas en cada parcela experimental.



Fotografía 4.4: Desarrollo de las plantas en la fase final del cultivo.

4.3. Resultados y discusión

Se han diferenciado los dos primeros ensayos de los dos últimos. Esta diferenciación se debe a que los dos primeros ensayos se realizaron sobre las mismas parcelas, sin realizar una nueva aplicación de los fertilizantes orgánicos (estiércol de vacuno, compost de lodos y fertilizante *Duetto*) en el segundo cultivo (ensayo). La aplicación del preparado de ácidos húmicos y la fertirrigación se siguió igual en los dos ensayos, al tratarse de tratamientos de aplicación periódica. De esta manera se evalúa el efecto de los fertilizantes orgánicos a medio plazo.

En cambio, en los ensayos 3 y 4, realizados en las mismas parcelas, lindantes con el terreno donde se habían realizado los dos primeros ensayos, se aplicaron los mencionados fertilizantes en ambos ensayos para evaluar, en este caso, el efecto acumulativo de la aplicación de una segunda dosis de fertilizante orgánico.

En la Tabla 4.7 se indican los parámetros iniciales del suelo donde se han realizado los cuatro ensayos.

4.3.1. Parámetros químicos

Carbono orgánico total

El nivel base de materia orgánica de la capa arable del suelo sobre el que se ha realizado la experiencia está en torno a 21 g C kg⁻¹ (Figura 4.6.A y Tabla 4.7) Se trata de un valor elevado pero es habitual en la zona hortícola de Muro-Sa Pobra, donde se sitúa la finca experimental. Es una zona donde se ha venido realizando una horticultura intensiva en el que destaca el cultivo de la patata. Para mantener la fertilidad del suelo se hace uso de aportaciones regulares de materia orgánica (habitualmente estiércol de vacuno y mezclas con otros materiales como la gallinaza) y abonos minerales. Esto se traduce en niveles de materia orgánica elevados, como es el caso del terreno donde se han realizado los diferentes ensayos y, también, contenidos de fósforo total y fósforo soluble Olsen, también muy altos.

Tabla 4.7: Estado inicial del suelo donde se han realizado las dos primeras experiencias. Valores medios y desviación estándar de 4 muestras compuestas correspondientes a la capa arable (0-15 cm) de la parcela de la finca de sa Canova (sa Pobla) donde se han realizado las experiencias.

	$\bar{x} \pm de$
pH H ₂ O (1:2,5)	8,3±0,0
pH KCl (1:2,5)	7,5±0,0
CE (1:5 25 °C; dS/m)	0,14±0,00
Arenas (g kg ⁻¹)	344,5±10,6
Limos (g kg ⁻¹)	325,0±22,6
Arcillas (g kg ⁻¹)	330,5±12,0
CCE (g kg ⁻¹)	410,3±76,5
CA (g kg ⁻¹)	77,5±7,3
CIC (mmol ₍₊₎ kg ⁻¹)	181±27
COT (g C kg ⁻¹)	20,8±0,4
EHT (g C kg ⁻¹)	7,6±0,9
AH (g C kg ⁻¹)	4,2±0,5
COS (mg C kg ⁻¹)	61,0±8,1
GM (g kg ⁻¹)	0,69±0,10
E4/E6	4,6±0,1
PT (mg P kg ⁻¹)	2150±117
Por (mg P kg ⁻¹)	1599±79
Pi (mg P kg ⁻¹)	552±81
PO (mg P kg ⁻¹)	79,5±9,6
DH (μmol TPF kg ⁻¹ h ⁻¹)	27,8±3,9
BG (mmol PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	0,26±0,05
PA (mmol PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	1,49±0,18
AS (mmol PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	0,39±0,06

CE: conductividad eléctrica; CCE: carbonato cálcico equivalente; CA: caliza activa; CIC: capacidad de intercambio catiónico; COT: carbono orgánico total; GM: gomas microbianas; E4/E6 del EHT; PT: fósforo total; Por: fósforo orgánico; Pi: fósforo inorgánico; PO: fósforo soluble Olsen; DH: actividad deshidrogenasa; BG: actividad β-glucosidasa; PA: actividad fosfatasa alcalina; AS: actividad arilsulfatasa.

En los cuatro ensayos realizados se puede observar como la aplicación del fertilizante comercial *Duetto* (DUE) y el preparado comercial de ácidos húmicos (HUM) no suponen un aumento significativo del contenido de carbono orgánico total (COT) respecto al tratamiento control (CON) (Figura 4.6.A). En cambio, los incrementos son notorios al aplicar el estiércol de vacuno (incremento inicial en torno a 8 g C kg⁻¹, expresado en valores absolutos) o compost de lodos de depuradora (incremento de 16 g C kg⁻¹). Estas diferencias son el resultado de las diferentes dosis aplicadas, de acuerdo a valores de referencia típicos y agrónomicamente viables: 40 t ha⁻¹ en el caso del estiércol de vacuno (EV) y el compost de lodos de depuradora (CL), 2,4 t ha⁻¹ el fertilizante orgánico *Duetto* (DUE) y 20 L ha⁻¹

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

semanales (2 ml m^{-2}) del preparado comercial de ácidos húmicos (HUM), durante el periodo de cultivo. Además hay que tener en cuenta que más de la mitad de la masa mineral del suelo receptor está constituido por elementos gruesos (Tabla 4.2).

Al comparar el primer y segundo ensayos se constata una clara disminución del contenido de COT, debido a la no aplicación de nuevo material. Los valores registrados en todos los tratamientos son inferiores, con una reducción en torno al 10% en los tratamientos CON, HUM y DUE y en torno al 18% en las parcelas fertilizadas con EV y del 30% en los tratamientos con CL. Durante este periodo de tiempo, la presencia de materiales orgánicos no estabilizados, tanto en el suelo en forma de restos de cultivos anteriores, como en los aportes de EV y CL, han favorecido esta mineralización.

En el tercer ensayo, realizado en otoño de 2000 en una parcela adyacente, el suelo presenta unos niveles de partida similares a los de los ensayos anteriores (Figura 4.6.B). El incremento de COT sigue la misma pauta que en los ensayos anteriores, registrándose incrementos importantes con las aportaciones de EV y el CL. En el cuarto ensayo, realizado entre primavera y principios de verano sobre las mismas parcelas que el tercer ensayo, se han magnificado las diferencias con el resto de tratamientos al realizar una nueva aportación de EV y CL (junto a la aportación de otoño en el tercer ensayo, suponen 80 t ha^{-1} , en ambos tratamientos), alcanzándose valores de alrededor de 50 g C kg^{-1} en las parcelas fertilizadas con CL (Figura 4.6.B). En las parcelas fertilizadas con DUE no se han producido incrementos significativos de carbono orgánico, del mismo modo que ha ocurrido con la aplicación del preparado de HUM.

Al comparar los contenidos de COT entre las parcelas regadas con agua subterránea y las fertirrigadas no se aprecia ninguna diferencia, con contenidos prácticamente idénticos (Tabla 4.8).

Respecto los distintos materiales ensayados, el compost de lodos (CL) ha supuesto un mayor incremento de COT del suelo debido a la mayor riqueza de materia orgánica de este material (Tabla 4.3). El incremento registrado en las parcelas de EV ha sido inferior al ser un material con un menor contenido en materia orgánica (325 g MO kg^{-1}). El fertilizante comercial *Duetto* aplicado a razón de $2,4 \text{ t ha}^{-1}$ ha registrado ligeros incrementos sin alcanzar significación estadística. En el caso del preparado de ácidos húmicos (HUM) el contenido de COT es muy similar al tratamiento control (CON), sin bien, la función de este preparado no

reside en incrementar el contenido de materia orgánica, sino facilitar la nutrición mineral de las plantas.

Gomas microbianas

Las gomas microbianas (GM) constituyen una fracción orgánica constituida por polisacáridos y otros compuestos orgánicos extraídos de la fracción equivalente a los ácidos fúlvicos y que flocula y precipita al añadir acetona (Acton *et al.*, 1963a). El interés de esta fracción reside en el papel que pueden desempeñar estas sustancias en la estructuración del suelo (Acton *et al.*, 1963b; Tisdall y Oades, 1982), además que pueden albergar compuestos fácilmente degradables y aprovechables por los microorganismos edáficos. Los contenidos de esta fracción, expresada en masa equivalente de agar (usado como material de referencia) se sitúan entre 0,6 y 1,2 g kg⁻¹, siendo similares a los descritos por otros autores (Albiach *et al.*, 2000; Tejada y González, 2007) y alcanzando los valores más elevados, en todos los ensayos, el suelo enmendado con EV, seguido del tratamiento de CL, que aunque suponen una mayor aportación de materia orgánica total, el contenido en gomas microbianas es menor. Tanto en las parcelas que se ha aplicado el DUE como las enmendadas con el preparado de HUM se mantienen en los mismos niveles que las parcelas CON. Mientras que en los dos primeros ensayos no se detectan diferencias estadísticamente significativas entre las parcelas fertirrigadas y las no fertirrigadas, en el tercer ensayo, si se alcanza una diferencia entre ambos tratamientos de fertilización mineral, a favor de las parcelas fertirrigadas que, globalmente, presentan un contenido en GM, un 7% superior (Tabla 4.8), atribuible a un mayor contenido en los tratamientos de EV y CL, que en los bloques fertirrigados presentan valores superiores a los no fertirrigados (Figura 4.7).

Nitrógeno total

El contenido en nitrógeno total (NT) presenta una pauta muy parecida a la de la materia orgánica, con los mayores contenidos en EV y CL, si bien no se diferencian estadísticamente los tratamientos en los dos primeros ensayos (Figura 4.8.A). El aporte del fertilizante *Duetto* (DUE) no ha supuesto un incremento significativo de nitrógeno del mismo modo que ha ocurrido con la aplicación de ácidos húmicos (HUM).

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

Al comparar los distintos ensayos, en el segundo y cuarto se han dado los contenidos más elevados; en el segundo se puede deber a la presencia de fertilizante nitrogenado en el suelo proveniente del agua subterránea y la fertirrigación, parte del cual se puede incorporar a la materia orgánica a través de procesos biológicos (Hodge *et al.*, 2000; Kuzyakov y Xu, 2013). En el cuarto ensayo el incremento es atribuible, además, a la nueva aplicación de materia orgánica. De todas formas, no se dispone de argumentos sólidos para asociar estas variaciones a un proceso concreto. Por otra parte, no se aprecia un incremento del contenido de nitrógeno total consistente, en las parcelas fertirrigadas (Tabla 4.8).

Relación C/N

La relación C/N se sitúa en una franja estrecha, con pocas diferencias entre tratamientos, excepto el compost de lodos (CL). Este material presenta en todos los ensayos la relación más elevada lo cual pone de manifiesto su naturaleza. El material de soporte constituido por materiales leñosos con un alto contenido en lignina y bajo contenido en nitrógeno queda reflejado en una alta relación C/N (Tabla 4.3) que se manifiesta de forma atenuada en el suelo (Tabla 4.8).

Otro hecho constatable son las diferencias en la relación C/N entre los dos primeros ensayos, con una clara disminución en el segundo (Figura 4.9.A y Tabla 4.8). Este hecho es atribuible a los procesos de mineralización producidos desde el momento en que se aplicaron estos materiales al suelo, a lo que hay que añadir los restos vegetales del cultivo anterior a estos ensayos, que sufrió un proceso de mineralización equivalente. Estos resultados se constatan en la misma línea, al comparar el contenido de carbono orgánico entre los dos primeros ensayos, donde la reducción del contenido de COT es altamente significativo (Tabla 4.8).

En cambio, entre el 3r. y 4o. ensayos las diferencias desaparecen debido a la nueva aplicación de material orgánico.

Fósforo Olsen

Como se ha indicado en el apartado del carbono orgánico, el fósforo soluble o asimilable determinado mediante el método Olsen (PO) presenta valores muy elevados, característicos de la zona agrícola de sa Pobla, donde se sitúa la finca experimental en que se han realizado

los ensayos. El suelo de partida tiene un contenido de alrededor de $79,5 \text{ mg P kg}^{-1}$ (Tabla 4.7), nivel muy alto que supera ampliamente el nivel crítico de PO establecido (Poulton *et al.*, 2013).

Aunque el CL presenta los contenidos más elevados de fósforo total (PT), los incrementos más destacados en el suelo se producen en las parcelas fertilizadas con EV y fertirrigación (F+). En las parcelas que se ha aportado CL el incremento también ha sido importante. De forma similar ha ocurrido en las parcelas fertilizadas con DUE que presentan niveles similares a las fertilizadas con CL. La aplicación de ácidos húmicos (HUM) no ha supuesto ninguna variación significativa respecto a las parcelas control.

La fertirrigación supone una aportación de fósforo disponible muy elevado ($150 \text{ mg PO}_4\text{H}_2(\text{NH}_4) \text{ L}^{-1}$). En estos ensayos se refleja a través de un incremento significativo del PO en todas las parcelas con fertirrigación, suponiendo incrementos de entre el 20 y 35% respecto a las parcelas no fertirrigadas (Tabla 4.8 y Figura 4.10). De acuerdo a los criterios agronómicos y ambientales las concentraciones que se han alcanzado en estos ensayos, por encima de 90 mg P kg^{-1} y superando en algunos tratamientos 300 mg P kg^{-1} (Figura 4.10), son excesivas (Hooda *et al.*, 2001; Bai *et al.*, 2013).

Ordenando los fertilizantes orgánicos en función de su contribución sobre la fracción soluble de fósforo (método Olsen), el EV se presenta como la mejor opción, seguido del CL y de DUE.

4.3.2. Biomasa microbiana y actividades enzimáticas

Biomasa microbiana

La biomasa microbiana (BM) presenta los contenidos más altos en los dos tratamientos de mayor aporte de materia orgánica: estiércol vacuno (EV) y compost de lodos de depuradora (CL). Las parcelas fertilizadas con *Duetto* (DUE) y las enmendadas con ácidos húmicos (HUM) no presentan diferencias significativas con las parcelas control CON. Este patrón se repite en los cuatro ensayos realizados. Destaca, también, la ausencia de diferencias entre los bloques fertirrigados con los no fertirrigados, presentando valores globales, prácticamente idénticos en todos los casos (Figura 4.11 y Tabla 4.9).

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

Los valores de biomasa microbiana se sitúan dentro de los rangos descritos en otros trabajos (Lynch y Panting, 1980; Fraser *et al.*, 1988 y Carpenter-Boggs *et al.*, 2000), registrándose diferencias entre tratamientos de fertilización orgánica comparables. La materia orgánica del suelo, a la cual se añaden las aportaciones radiculares (efecto rizosfera) constituyen las fuentes principales de compuestos orgánicos fácilmente aprovechables para la microflora (Müller *et al.*, 2009).

Estos resultados están en concordancia con los obtenidos por Plaza *et al.* (2004), que no constatan diferencias entre los tratamientos control y con fertilización mineral, o Biau *et al.* (2012) que tampoco registran aumentos consistentes de la BM al aumentar la aplicación de fertilizantes minerales.

Al comparar los ensayos de otoño con los de primavera y verano, el comportamiento es diferente la primera temporada (ensayos 1 y 2) de la segunda (ensayos 3 y 4). Mientras que en el segundo ensayo se registra una disminución de alrededor del 25%, atribuible a la no aportación de nuevo material orgánico y reflejado a través del contenido de COT que sufre una reducción significativa, en el cuarto ensayo se produce un efecto opuesto: al realizar una aportación adicional en el cuarto ensayo, se produce un incremento global del 17%. Cabe indicar que este incremento no se da por igual en todas las parcelas, siendo atribuible, sobre todo a los aumentos en los tratamientos EV y CL (Figura 4.11), tratamientos dónde el incremento del COT del suelo es relevante.

Cuando referimos el contenido de BM al contenido de COT, la relación está muy ajustada, moviéndose en un rango de valores muy estrecho (valores medios de los tratamientos entre 11,0 y 12,9 g C kg⁻¹ C, en los dos primeros ensayos y entre 9,1 y 13,4 g C kg⁻¹ C en los otros dos ensayos) (Tabla 4.10), sin apreciarse diferencias entre ensayos y fertirrigación. Esta relación, indicadora de la contribución de la biomasa microbiana a la materia orgánica del suelo pone de manifiesto que la BM supone alrededor del 1% del carbono orgánico de estos suelos (globalmente, entre 0,9 a 1,3%). Estos valores, comparados con los descritos por Anderson y Domsch (1989) en regiones templadas son bajos, suponiendo entre el 30 y 40% del registrado por estos. Del mismo modo son muy inferiores a los descritos por Jorge-Mardomingo *et al.* (2013) en suelos semiáridos de Madrid, donde se alcanzan porcentajes de BM entre el 3 y 4% tanto en suelos control como después de altas aplicaciones de compost de recogida municipal. Plaza *et al.* (2004), en suelos tratados con estiércol y purines hacen referencia a porcentajes de BM entre el 2 y 3,6%. Las formas en que se encuentra la materia orgánica y el papel que juegan los carbonatos pueden ser responsables de estas diferencias.

En los suelos mediterráneos con un alto contenido de carbonatos y minerales de arcilla se favorece la estabilización de la materia orgánica (Duchaufour, 1984; Fernández-Ugalde *et al.*, 2014), ralentizando los procesos de mineralización, comparado con otros suelos sobre materiales descarbonatados donde las tasas de mineralización son mucho más elevadas (Castells y Peñuelas, 2003).

Actividad deshidrogenasa

La actividad deshidrogenasa (DH) ha presentado los valores más elevados, en todos los ensayos, en las parcelas enmendadas con compost de lodos de depuradora (CL) (Figura 4.12). El estiércol de vacuno (EV) produce un efecto más reducido sobre el aumento de la DH, alcanzando valores globales entre un 30 y 38% más bajos que CL. Los otros tres tratamientos: control (CON), enmienda de ácidos húmicos (HUM) y fertilizante orgánico *Duetto* (DUE) presentan contenidos de DH estadísticamente diferenciados de los dos primeros, siendo las parcelas con DUE las que presentan valores ligeramente más elevados, atribuible al aporte de un material fácilmente aprovechable por la microflora edáfica (Nannipieri *et al.*, 1990).

Los tratamientos con fertirrigación presentan actividades ligeramente más reducidas, alcanzando significación estadística a nivel de $p=0,018$ en el global de los dos primeros ensayos (Tabla 4.9). En los otros dos ensayos se aprecia una tendencia similar, con una ligera reducción en los tratamientos de fertirrigación (Figura 4.12) pero los altos valores del tratamiento de fertirrigación con compost de lodos (F+CL) eclipsa la tenue reducción de los otros tratamientos.

Estos resultados muestran como la DH se ve favorecida por la presencia de materiales orgánicos menos estables, más frescos. Nannipieri *et al.* (1990) indican que la adición de compuestos de carbono en el suelo incrementa la DH, al estimular la proliferación de células microbianas. Perucci (1990) y García *et al.* (1998) también describen un incremento en la DH en el suelo tras la aplicación de residuos orgánicos urbanos tanto compostados como sin compostar. De hecho, la DH se considera un buen indicador para evaluar la actividad biológica del suelo (Brookes *et al.*, 2008).

Los incrementos de DH en el segundo ensayo, respecto al primero, se debe probablemente, a una mayor disponibilidad de sustancias fácilmente biodegradables (procedentes de restos del cultivo anterior, como por ejemplo, las raíces). Bergstrom *et al.* (1998) asocian diferencias en

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

la DH en cultivos de diferentes especies por la distinta biomasa radicular que producen; estas diferencias en la biomasa radicular se traducen en diferentes entradas de carbono orgánico. También, puede haber una componente de variación estacional, ligada a cambios en las condiciones climáticas (como por ejemplo la temperatura).

Los cambios climáticos en el suelo son más marcados en la capa arable. Nannipieri *et al.* (1990) indican que la DH varía a lo largo del año para un mismo tipo de suelo. Esta variación temporal puede deberse a variaciones en el ritmo de descomposición de los substratos orgánicos por parte de los microorganismos. Rao y Tarafdar (1992) también mencionan esta variabilidad de esta actividad enzimática en función de las condiciones climáticas, siendo la disponibilidad de agua en el suelo y su temperatura los factores más relevantes.

La actividad deshidrogenasa específica (DHe; Tabla 4.10) presenta un rango de variación reducido, valores medios extremos de los cinco tratamientos en los cuatro ensayos entre 1,1 y 1,7 mmol kg⁻¹ C h⁻¹, diferenciándose entre sí los dos primeros ensayos, con ratios más elevadas en el segundo ensayo, con menor contenido de COT y mayor actividad DH absoluta.

Actividad β-glucosidasa

Igual que sucede con la DH los valores más elevados de la actividad β-glucosidasa (BG) se registran en las parcelas dónde se ha aplicado compost de lodos de depuradora (CL), con valores medios en los distintos ensayos entre 0,57 y 0,92 mmol PNP kg⁻¹ h⁻¹ frente a 0,34-0,53 mmol PNP kg⁻¹ h⁻¹ del tratamiento control) (Figura 4.13). Las parcelas fertilizadas estiércol de vacuno (EV) presentan siempre valores ligeramente más bajos que el CL, si diferenciarse, ambos tratamientos, a nivel estadístico en la mayoría de ensayos (Figura 4.13). Las parcelas con fertilizante *Duetto* se sitúan en tercer lugar, con valores ligeramente más elevados que las parcelas control (CON) pero, también, sin llegar a diferenciarse a nivel estadístico entre ellas.

Los incrementos de la BG registrados con las aportaciones orgánicas son del mismo orden al descrito por García-Gil *et al.* (2000) y Iovieno *et al.* (2009).

Mientras que en el conjunto de los dos primeros ensayos los tratamientos sin fertirrigación han presentado actividades más elevadas (16% más) alcanzando significación estadística al

nivel de $p=0,005$, en los dos últimos ensayos, la diferencia es a favor de las parcelas fertirrigadas aunque no hay diferencias estadísticamente significativas (Tabla 4.9).

Al comparar los ensayos de otoño con los de primavera y verano, los valores más elevados corresponden a los ensayos de primavera y primavera-verano alcanzando significación estadística, sobretodo en la primera temporada (ensayos 1 y 2) (Tabla 4.9).

En los dos primeros ensayos, la BGe presenta globalmente valores muy similares en todos los tratamientos, con una diferencia al límite de la significación estadística a favor de los tratamientos sin fertirrigar (Tabla 4.10). En cambio si muestra diferencias altamente significativas entre los dos ensayos, a favor del segundo, respondiendo a un incremento de la actividad BG acompañada de una reducción del contenido de CO.

Actividad fosfatasa alcalina

En los dos primeros ensayos, la actividad enzimática fosfatasa alcalina (PA) sigue la misma pauta que las actividades β -glucosidasa y deshidrogenasa, con valores más altos en el suelo con aportación de compost de lodos (CL), con valores muy similares en el tratamiento de estiércol de vacuno (EV). La aplicación del fertilizante *Duetto* supone un ligero aumento de la actividad respecto al control pero no alcanza significación estadística (Figura 4.14.A).

En los dos últimos ensayos se mantienen las mismas diferencias entre tratamientos, destacando el incremento generalizado en el cuarto ensayo, sobre todo en los tratamientos que supusieron la incorporación de nuevo material (EV, CL y, en menor medida, DUE) (Figura 4.14.B).

El efecto de la fertirrigación sobre la PA ha sido variable: mientras que en los dos primeros ensayos se constata una clara reducción, en el tercero y cuarto los valores medios de las parcelas fertirrigadas y sin fertirrigar son idénticos (Tabla 4.9). La disminución registrada en los dos primeros ensayos es similar a la descrita por Plaza *et al.* (2004) que muestran un comportamiento similar al aumentar las dosis de purines de cerdo con un alto contenido en fósforo. En cambio Iovieno *et al.* (2009) no constatan diferencias de la actividad PA, o incluso presenta valores ligeramente más elevados en los tratamientos de fertilización mineral.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

El comportamiento de la PA referido al contenido de CO (PAe) presenta un comportamiento variable. Entre tratamientos no se aprecian diferencias estadísticamente significativas, entre los cinco tratamientos, con valores medios muy similares (entre 80 y 89 mmol kg⁻¹ C h⁻¹; Tabla 4.10). En cambio si se aprecian diferencias, los dos años a favor de los tratamientos de primavera-verano, con tasas notablemente más elevadas.

Actividad arilsulfatasa

Al igual que en las otras actividades enzimáticas, las parcelas con CL han presentado la tasa de actividad arilsulfatasa (AS) más elevada en los cuatro ensayos, con valores medios que duplicaban los valores de referencia del tratamiento CON (Figura 4.15). En una posición intermedia entre estos dos tratamientos se ha situado el EV, seguido de DUE que ha presentado valores de AS ligeramente más elevados que el tratamiento CON, si bien en casi todos los casos no se ha desmarcado estadísticamente del CON. En cambio el tratamiento HUM ha mantenido valores muy similares al CON.

La fertirrigación ha tenido un efecto negativo sobre la AS, con valores estadísticamente distintos al nivel de $p=0,002$, en los dos primeros ensayos conjuntos y sin alcanzar el nivel de $p<0,05$ en el conjunto de los dos últimos, pero con una tendencia apreciable al descenso de actividad con la fertirrigación (Tabla 4.9), similar a la descrita por Iovieno *et al.* (2009).

Entre ensayos de otoño y primavera o primavera-verano, no se aprecian diferencias entre los dos primeros, por lo que no se detecta una disminución de la AS al no aportar nueva materia orgánica. En cambio, en el cuarto ensayo si se aprecia un incremento de actividad respecto al tercero, atribuible a la aportación de nuevo material (Tabla 4.9).

La actividad ASe presenta claramente las tasas más elevadas en las parcelas enmendadas con CL (valores medios de 24 y 27 mmol kg⁻¹ C h⁻¹, el primer y segundo año, respectivamente), mientras que las tasas más bajas corresponden a los tratamientos CON y HUM (valores medios de 17 y 18 mmol kg⁻¹ C h⁻¹, el primer y segundo año, respectivamente) (Tabla 4.10).

En esta actividad, la fertirrigación parece tener un ligero efecto inhibitor, constatable los dos años, alcanzando significación estadística (Tabla 4.10).

Globalmente la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas cuantificadas presentan las tasas más altas en los tratamientos con mayores contenidos de COT, de forma similar a otros trabajos (Marinari *et al.*, 2000; Marcote *et al.*, 2001; Plaza *et al.*, 2004; Chang *et al.*, 2007; Iovieno *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2010). En cambio la respuesta de las actividades enzimática ante la fertilización mineral es más variable: mientras que Plaza *et al.* (2004) e Iovieno *et al.* (2009) constatan bajo la fertilización mineral, tasas iguales o ligeramente más bajas, de forma similar a las obtenidas en el presente trabajo, Marinari *et al.* (2000) y Liu *et al.* (2010) registran incrementos entre importantes y moderados con la fertilización mineral. En estos trabajos, la duración de los ensayos es un aspecto fundamental; en ensayos de larga duración (varios años) la fertilización mineral puede tener un efecto positivo en el crecimiento de los cultivos, generando más residuos vegetales que pueden favorecer una mayor actividad biológica.

4.3.3. Producción vegetal

El comportamiento de los diferentes tratamientos ha variado mucho en función del ensayo. Del mismo modo y, al margen del cultivar utilizado, en los ensayos de otoño el desarrollo de las plantas ha sido más reducido pero produciéndose una mayor diferenciación entre tratamientos. En los cultivos de primavera o primavera-verano el desarrollo de las lechugas ha sido muy superior pero se han atenuado notablemente las diferencias entre tratamientos (Figura 4.16). Las diferencias de desarrollo constatadas responden a las particularidades del cultivo de la lechuga, constituyendo el comportamiento habitual en muchos cultivares (Miguel *et al.*, 2000).

En el primer ensayo de otoño, las producciones más elevadas han correspondido al tratamiento F+EV (881 g mf planta⁻¹), seguido de F+DUE (828 g mf planta⁻¹). Las producciones más bajas han correspondido a los tratamientos CON, HUM y CL, sin fertirrigación. Comparando los tratamientos con y sin fertirrigación, las producciones de los primeros han sido, globalmente, un 26% superiores (Tabla 4.11.A).

En el segundo ensayo, las plantas han alcanzado gran desarrollo, especialmente en los tratamientos con fertirrigación (un 66% superiores a los tratamientos que prescindían del aporte inorgánico). Las mayores producciones han correspondido al tratamiento F+EV, si

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

bien, no se han detectado diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de fertirrigación.

En el tercer ensayo, las producciones más elevadas han correspondido también a los tratamientos con fertirrigación (producciones un 65% superiores a los tratamientos sin fertirrigación). Los cinco tratamientos con fertirrigación han presentado valores muy próximos (entre 921 y 1009 g mf planta⁻¹), sin presentar diferencias estadísticamente significativas al nivel de $p < 0,05$ entre ellos (Tabla 4.11.B). Entre los tratamientos sin fertirrigación ha destacado el escaso desarrollo de las plantas del tratamiento CL, que se diferencia estadísticamente al nivel de $p < 0,05$ de los tratamientos DUE y EV.

En el cuarto ensayo, el desarrollo inicial del cultivo ha sido satisfactorio, pero una infección posterior por el virus del bronceado del tomate ha afectado al cultivo que aunque globalmente haya alcanzado un tamaño comercial, puede haber afectado a la diferenciación de tratamientos de fertilización.

Los resultados de producción, expresados en masa seca, presentan un patrón muy similar al obtenido con las producciones frescas, si bien en algunos casos, aunque se mantiene el patrón de diferenciación entre tratamientos han desaparecido algunas diferencias estadísticamente significativas (Tabla 4.11).

En cuanto a los contenidos en masa seca del material vegetal (MSL) sólo se han constatado diferencias estadísticamente significativas entre los dos primeros ensayos, con un mayor contenido en masa seca en el segundo (correspondiente a primavera; 42,1 g ms kg⁻¹ mf en el primer ensayo frente a 52,0 g ms kg⁻¹ mf en el segundo. En el resto de tratamientos, con y sin fertirrigación los valores se sitúan entre 40,1 y 55,6 g ms kg⁻¹ mf (Tabla 4.11).

Los resultados de producción vegetal obtenidos presentan diferencias más notorias en los ensayos de otoño, que en los de primavera o primavera-verano, donde las diferencias entre tratamientos quedan atenuadas. Entre las razones que pueden dar explicación a este hecho hay que tener en cuenta dos factores claves: la fertilidad de base del suelo donde se han realizado los ensayos, con un contenido en materia orgánica importante y, también, de elementos minerales como el fósforo. El otro factor es el agua de riego, la cual se ha utilizado a bajas dosis y en función de las lluvias, en los ensayos de otoño y el uso mucho más elevado en los ensayos de primavera, con requerimientos en torno a 5 mm d⁻¹ con la particularidad de que esta agua de riego llevaba incorporada una concentración de nitrógeno en forma de nitratos de

26,5 mg N-NO₃ L⁻¹, recibiendo adicionalmente todas las parcelas experimentales una cantidad de nitrógeno inorgánico importante.

Casado-Vela *et al.* (2006) relatan incrementos de la producción de cultivos de coliflor a partir de diferentes dosis de compost de hasta 40 t ha⁻¹. Estos aumentos en la producción van acompañados a nivel edáfico de incrementos de BM, NT, PT y nitratos.

Lee *et al.* (2004), en un ensayo equivalente pero realizado en macetas en invernadero constatan las mayores producciones de lechugas en las dosis de compost de recogida municipal que también presenta incrementos importantes en las actividades DH y PA. En este caso, las producciones con compost son mayores que con fertilización mineral.

4.3.4. Relaciones entre parámetros

Reuniendo las 160 muestras correspondientes a los cuatro ensayos se han analizado las correlaciones entre los distintos parámetros (Tabla 4.12). En general la significación estadística entre los distintos parámetros es muy elevada, con significaciones estadísticas mayoritariamente de $p < 0,001$. Los coeficientes de correlación correspondientes se distribuyen en un amplio rango. En general, el parámetro que lleva asociado los mayores coeficientes de correlación es el carbono orgánico (CO), destacando las altas correlaciones con las actividades enzimáticas DH, PA y AS. Las correlaciones del CO con la BM y BG, si bien presenta una significación de $p < 0,001$, los coeficientes de correlación son ligeramente más bajos (0,647 y 0,680, respectivamente).

Las gomas microbianas (GM) presenta correlaciones parecidas al CO, en general más bajas, excepto cuando se compara la correlación de ambos parámetros con el NT y el PO, dónde las GM presentan unos coeficientes de correlación más elevados que el COT.

Las correlaciones del NT con las diferentes actividades enzimáticas y la BM sigue un comportamiento similar al COT y GM, con coeficientes, en general, más bajos que las GMB pero manteniendo en todos los casos una significación estadística de $p < 0,001$.

La BM presenta correlaciones positivas moderadas con las cuatro actividades enzimáticas cuantificadas, presentando coeficientes de correlación similares con los parámetros orgánicos (COT y GMB) (Tabla 4.12).

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

Las cuatro actividades enzimáticas analizadas presentan entre ellas, en todos los casos, correlaciones positivas altas (entre 0,721 y 0,803).

Cabe indicar que la relación C/N presenta correlaciones positivas (entre bajas y moderadas) con todas las actividades enzimáticas y la biomasa microbiana, siendo indicador de que las mayores actividades biológicas están asociadas a los mayores contenidos de materia orgánica, a pesar de que, algunos materiales como el CL tenga relaciones C/N más elevadas.

El fósforo soluble determinado mediante el método Olsen (PO) presenta, también correlaciones positivas moderadas. A pesar de que el nivel de base de fósforo del suelo es muy elevado sin suponer aparentemente ninguna limitación biológica, los materiales orgánicos aportados al suelo que estimulan las actividades enzimáticas, también suponen un incremento en la disponibilidad del fósforo, reflejado a través del PO.

La producción vegetal (referido en la Tabla 4.12 como producción fresca de lechuga, PFL) ha tenido un comportamiento desigual en función de los ensayos. Con las actividades enzimáticas DH, BG y PA presenta correlaciones positivas entre bajas y muy bajas pero alcanzando significación estadística al nivel de $p < 0,01$ y $0,05$, respectivamente. Con la AS, la correlación es muy baja sin alcanzar significación estadística. En este caso, la ausencia de diferencias entre tratamientos en los ensayos de primavera-verano (2o. y 4o.), condiciona a nivel estadístico el establecimiento de correlaciones y los correspondientes niveles de significación.

Las mayores correlaciones alcanzadas por la PFL son con el NT, C/N y, sobretodo, con el PO. Con la relación C/N presenta una correlación negativa, con un coeficiente similar al registrado con el NT.

4.3.5. Comparación entre los distintos materiales ensayados y la fertilización mineral

El estiércol de vacuno (EV) y el compost de lodos de depuradora (CL) son los dos tratamientos que han supuesto una mayor modificación del contenido de materia orgánica, sobretodo en el segundo (Tabla 4.8). Esto se ha traducido en un aumento de la actividad biológica expresada a partir de BM y las diferentes actividades enzimáticas, siendo más elevadas en CL. En cambio, los contenidos de NT y PO son más altos en EV lo cual se ha reflejado en la mayor producción de lechugas en este tratamiento, reflejando una mayor

disponibilidad de nitrógeno y fósforo. El CL, con un contenido de NT más bajo y una relación C/N más elevada se ha traducido en una menor disponibilidad de nitrógeno traduciéndose en una menor producción vegetal.

El fertilizante comercial *Duetto* (DUE) ha supuesto un incremento de materia orgánica que no ha alcanzado significación estadística, aumentando los contenidos de PO de forma significativa y, también, incrementando el contenido de NT. Comparando los contenidos de BM y las cuatro actividades enzimáticas cuantificadas de este tratamiento respecto al control se perciben incrementos, sin alcanzar, en la mayoría de casos diferenciación estadística. En los dos primeros ensayos este tratamiento ha seguido al EV en cuanto a producción de lechugas, mientras que en los dos últimos ensayos las diferencias entre tratamientos se han atenuado.

La aplicación de ácidos húmicos (HUM) no ha supuesto un cambio en ninguno de los parámetros evaluados respecto al control. De hecho, las cualidades atribuidas a este material, de acuerdo a la descripción que ofrece la empresa distribuidora, estriban en el aporte de materia orgánica en forma de ácidos húmicos, para favorecer el crecimiento más equilibrado y rápido de las plantas. En este sentido, Adani *et al.* (1998) indican que la aplicación de ácidos húmicos, en cultivos hidropónicos, en concentraciones entre 20 y 50 mg L⁻¹, en tomateras, estimula el crecimiento y la asimilación de nitrógeno, fósforo y, sobre todo, hierro. En nuestro caso, los resultados son similares a los descritos por Albiach *et al.* (2000), que tampoco encuentran variaciones de las actividades enzimáticas al aplicar HUM.

La fertilización mineral aportada mediante fertirrigación ha supuesto un incremento importante de la producción vegetal en todos los ensayos. La mayor disponibilidad de nutrientes minerales se ha traducido en un mayor crecimiento vegetal mientras que las actividades enzimáticas del suelo se han visto afectadas de distinta manera según los ensayos, siendo, a nivel global, la mayor diferencia entre el riego con agua subterránea y con fertirrigación del 16% (Tablas 4.9 y 4.10).

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

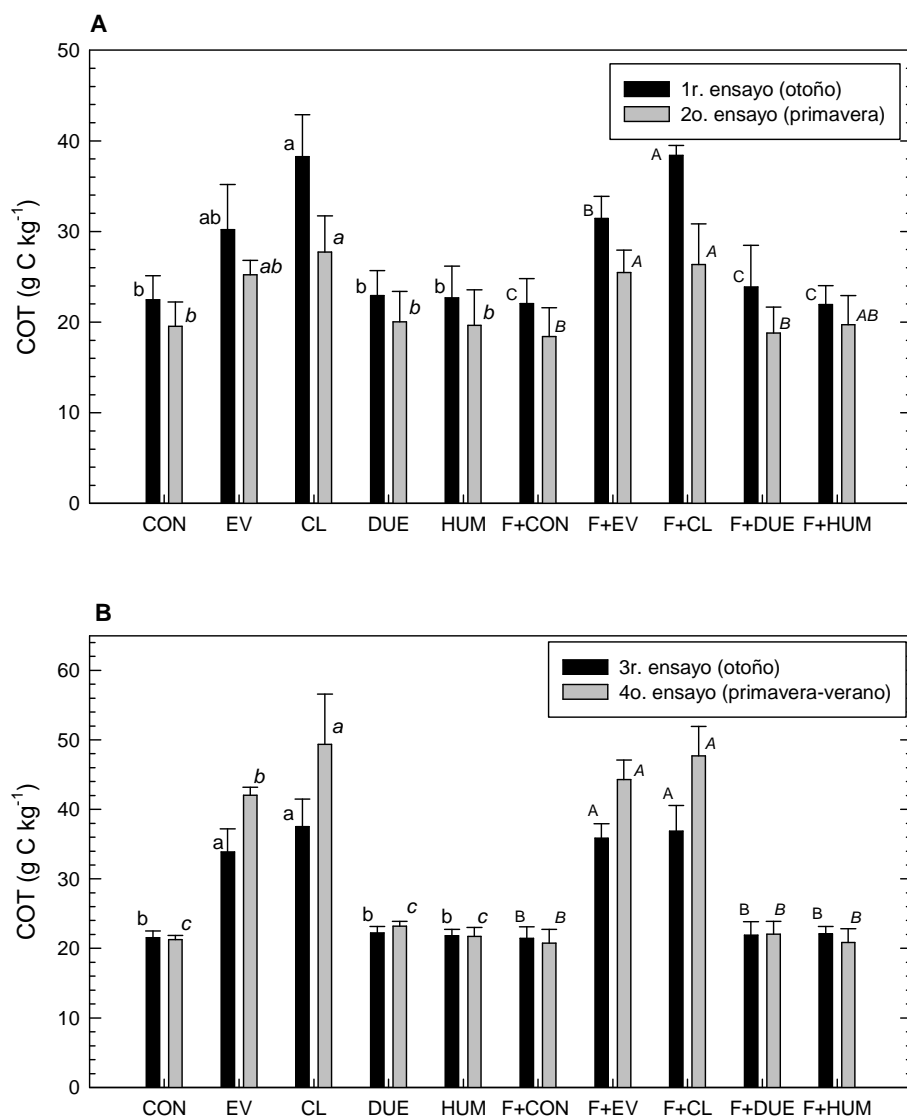


Figura 4.6: Contenido en carbono orgánico total (COT) del suelo en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. y el 4o. Para los tratamientos con fertirrigación (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertirrigación: minúscula normal; 2o. y 4o. ensayos sin fertirrigación: minúscula cursiva; 1r. y 3r. ensayos con fertirrigación: mayúscula normal; 2o. y 4o. ensayos con fertirrigación: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertirrigación mineral.

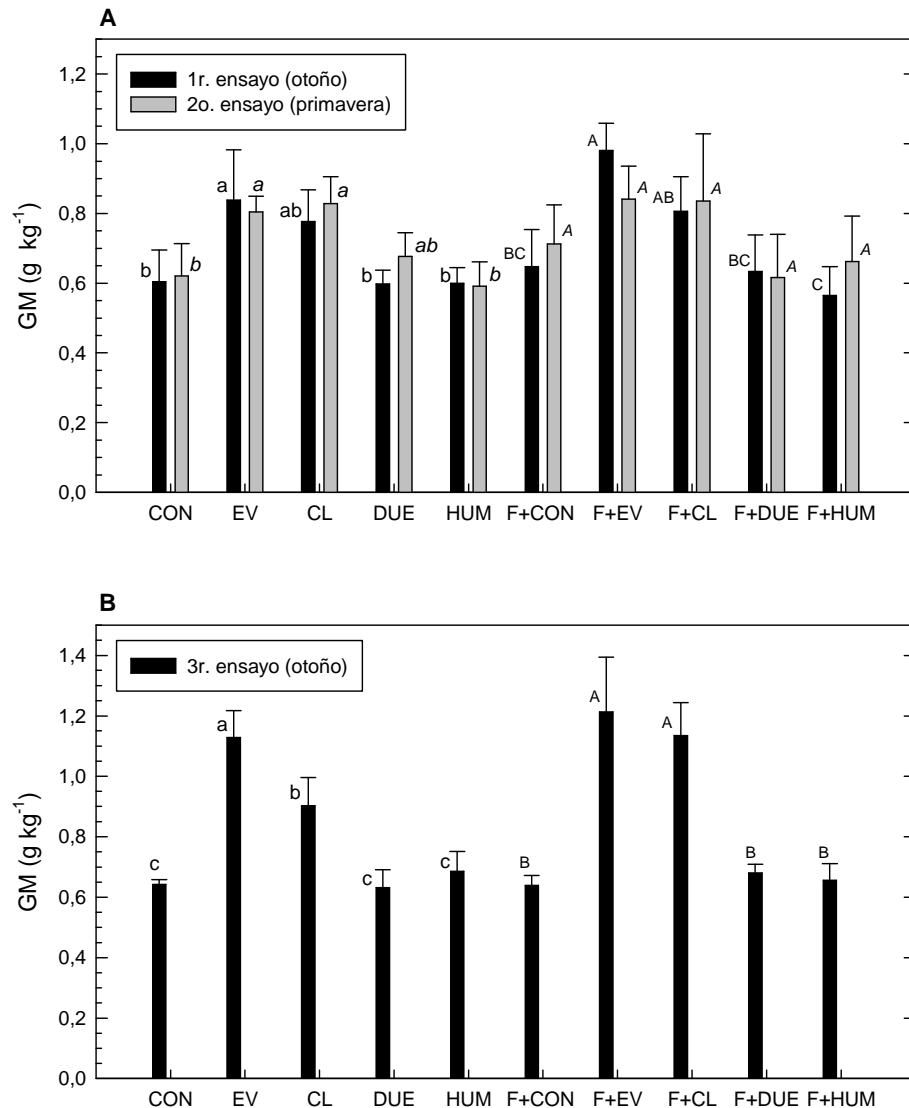


Figura 4.7: Contenido en gomas microbianas (GM) del suelo en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. Para los tratamientos con fertilización (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertilización: minúscula normal; 2o. ensayo sin fertilización: minúscula cursiva; 1r y 3r. ensayos con fertilización: mayúscula normal; 2o. ensayo con fertilización: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertilización mineral.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

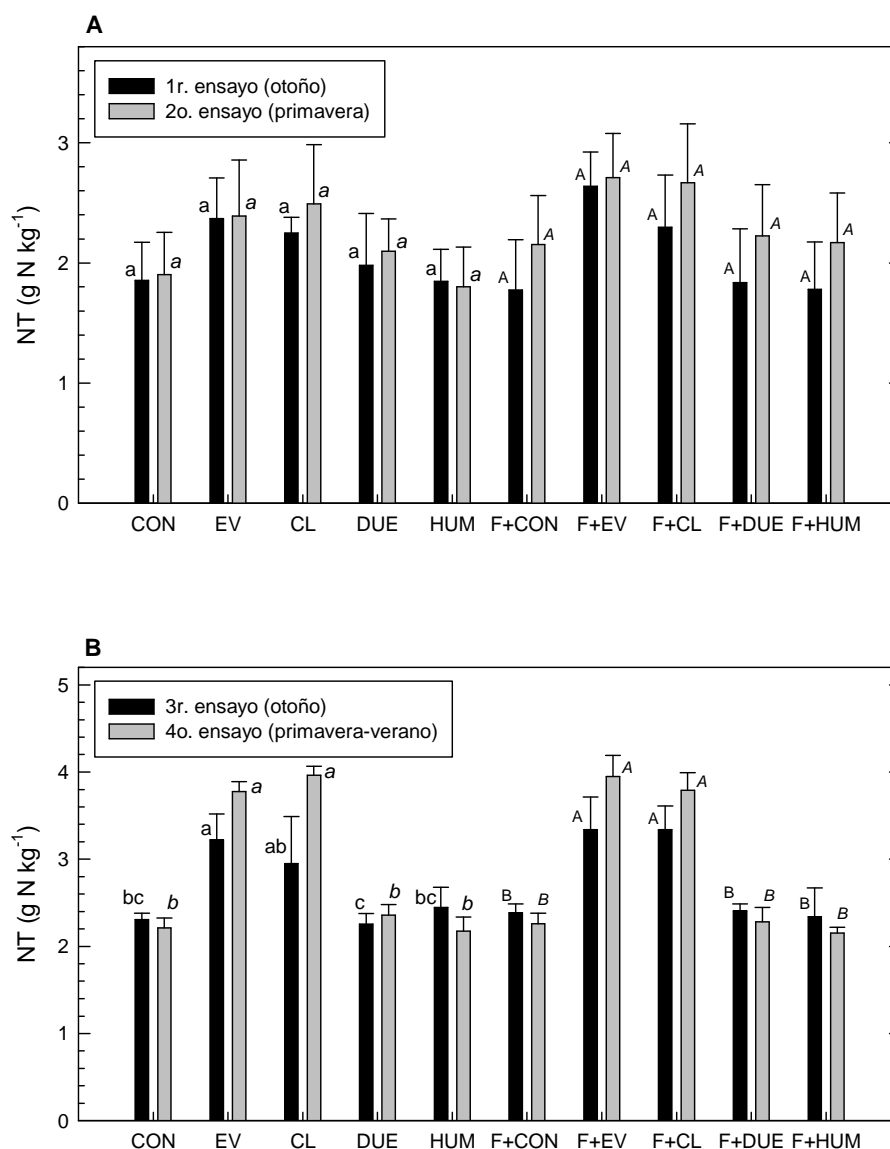


Figura 4.8: Contenido en nitrógeno total (NT) del suelo en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. y el 4o. Para los tratamientos con fertirrigación (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertirrigación: minúscula normal; 2o. y 4o. ensayos sin fertirrigación: minúscula cursiva; 1r y 3r. ensayos con fertirrigación: mayúscula normal; 2o. y 4o. ensayos con fertirrigación: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertirrigación mineral.

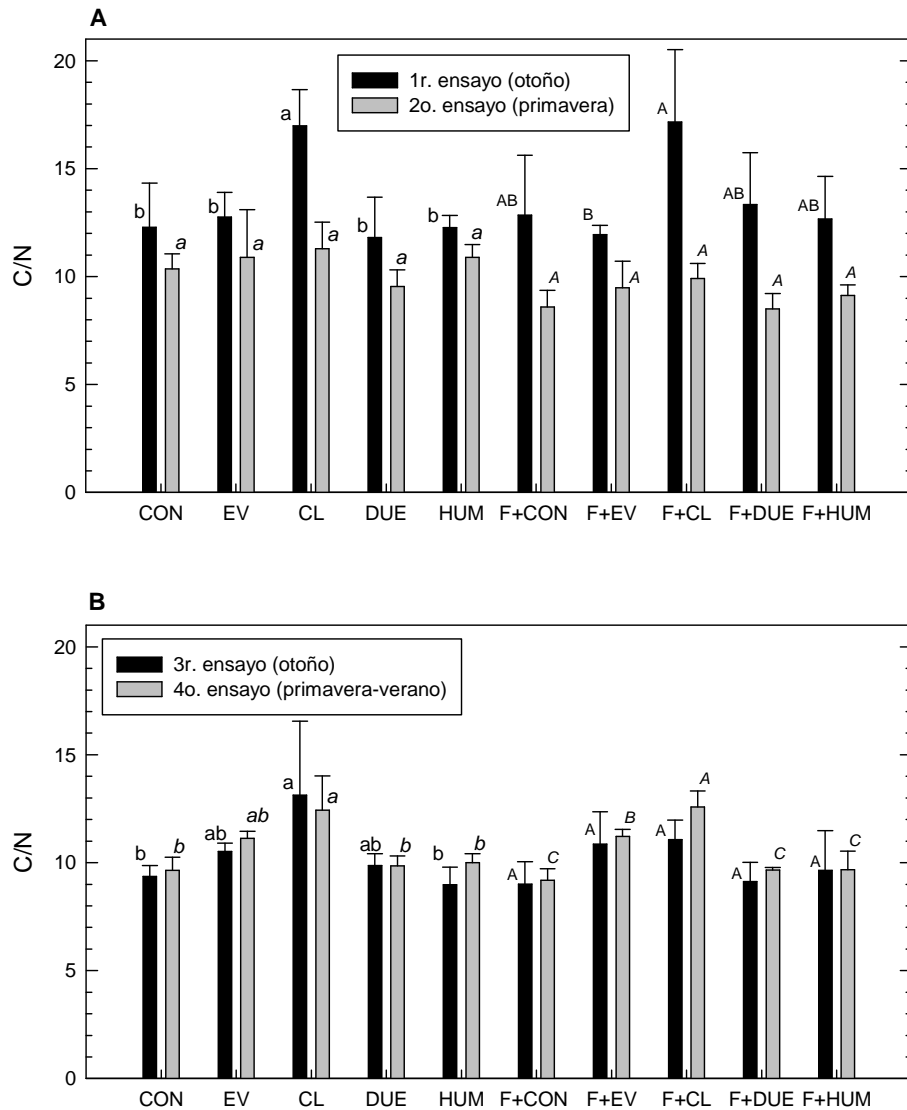


Figura 4.9: Relación C/N del suelo en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. y el 4o. Para los tratamientos con fertirrigación (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertirrigación: minúscula normal; 2o. y 4o. ensayos sin fertirrigación: minúscula cursiva; 1r y 3r. ensayos con fertirrigación: mayúscula normal; 2o. y 4o. ensayos con fertirrigación: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertirrigación mineral.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

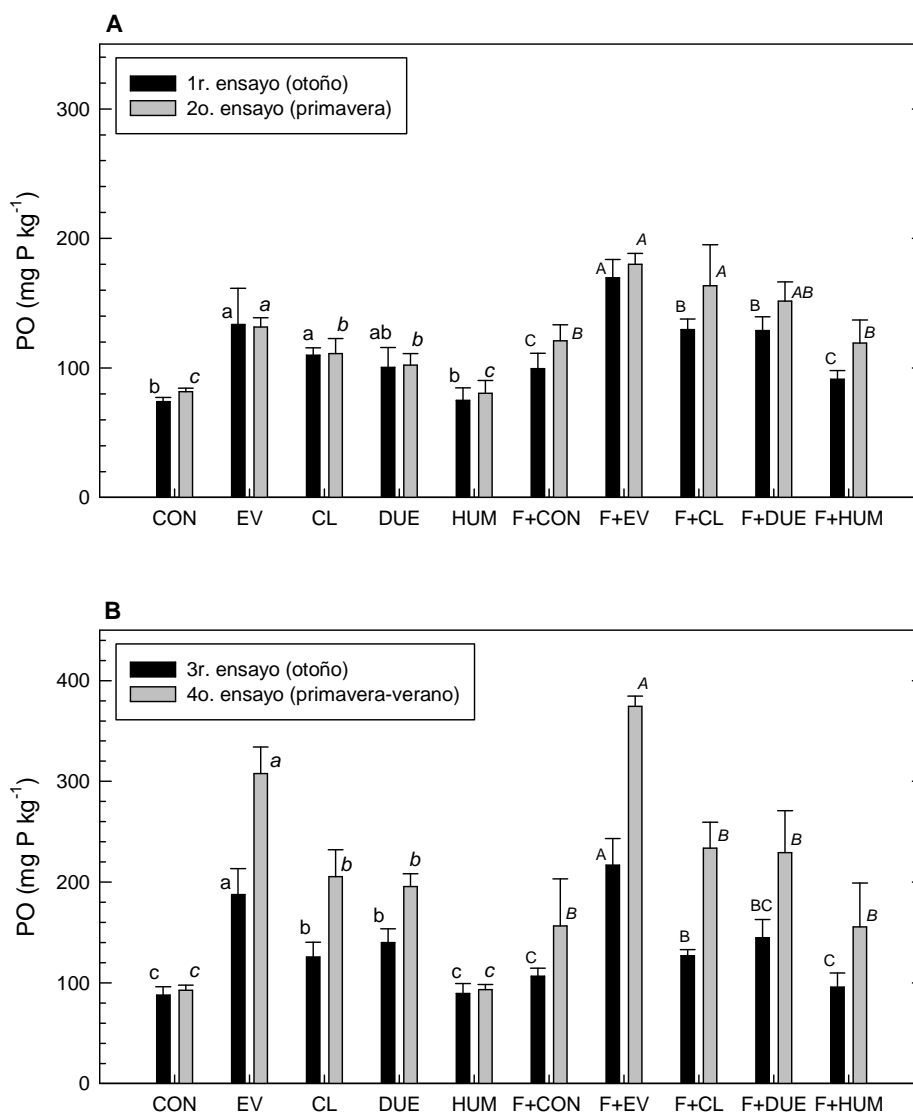


Figura 4.10: Contenido en fósforo soluble Olsen (PO) en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. y el 4o. Para los tratamientos con fertirrigación (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertirrigación: minúscula normal; 2o. y 4o. ensayos sin fertirrigación: minúscula cursiva; 1r. y 3r. ensayos con fertirrigación: mayúscula normal; 2o. y 4o. ensayos con fertirrigación: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertirrigación mineral.

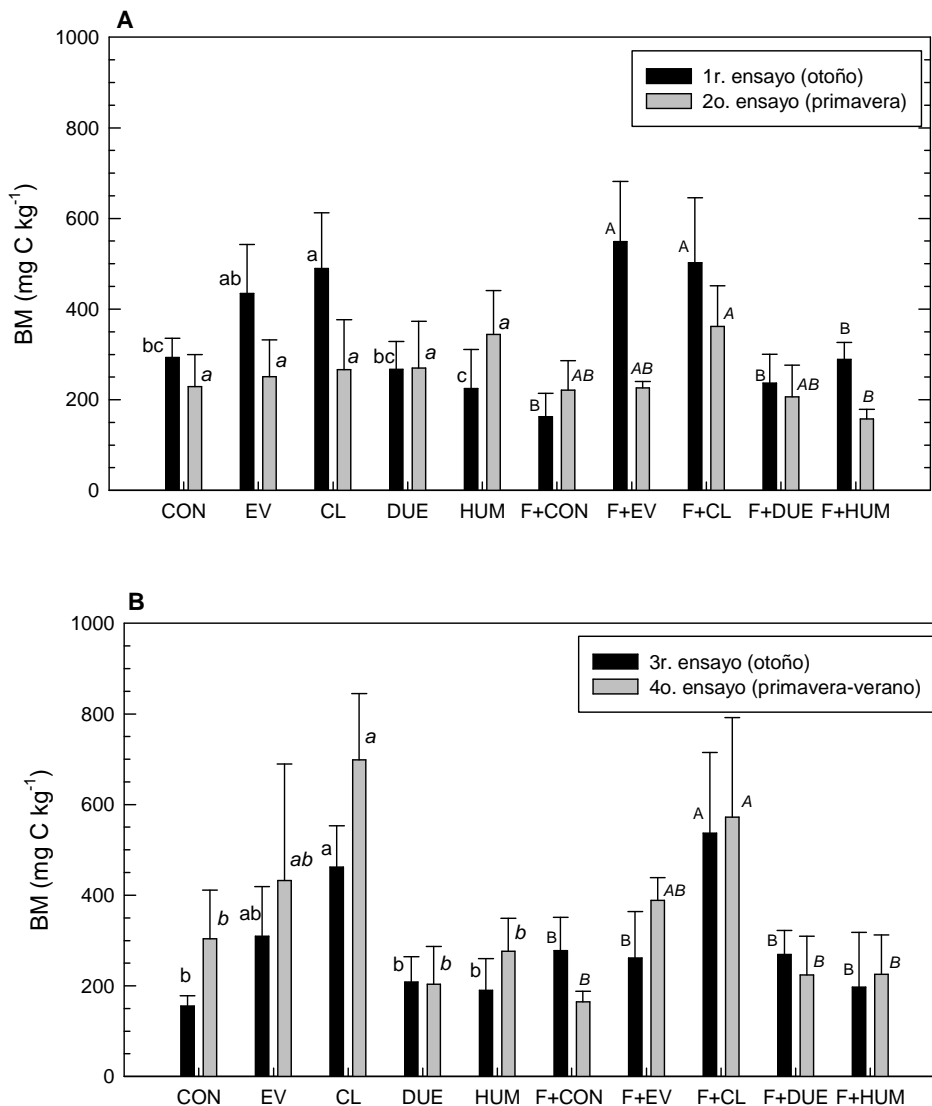


Figura 4.11: Biomasa microbiana (BM) en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. y el 4o. Para los tratamientos con fertirrigación (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertirrigación: minúscula normal; 2o. y 4o. ensayos sin fertirrigación: minúscula cursiva; 1r. y 3r. ensayos con fertirrigación: mayúscula normal; 2o. y 4o. ensayos con fertirrigación: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertirrigación mineral.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

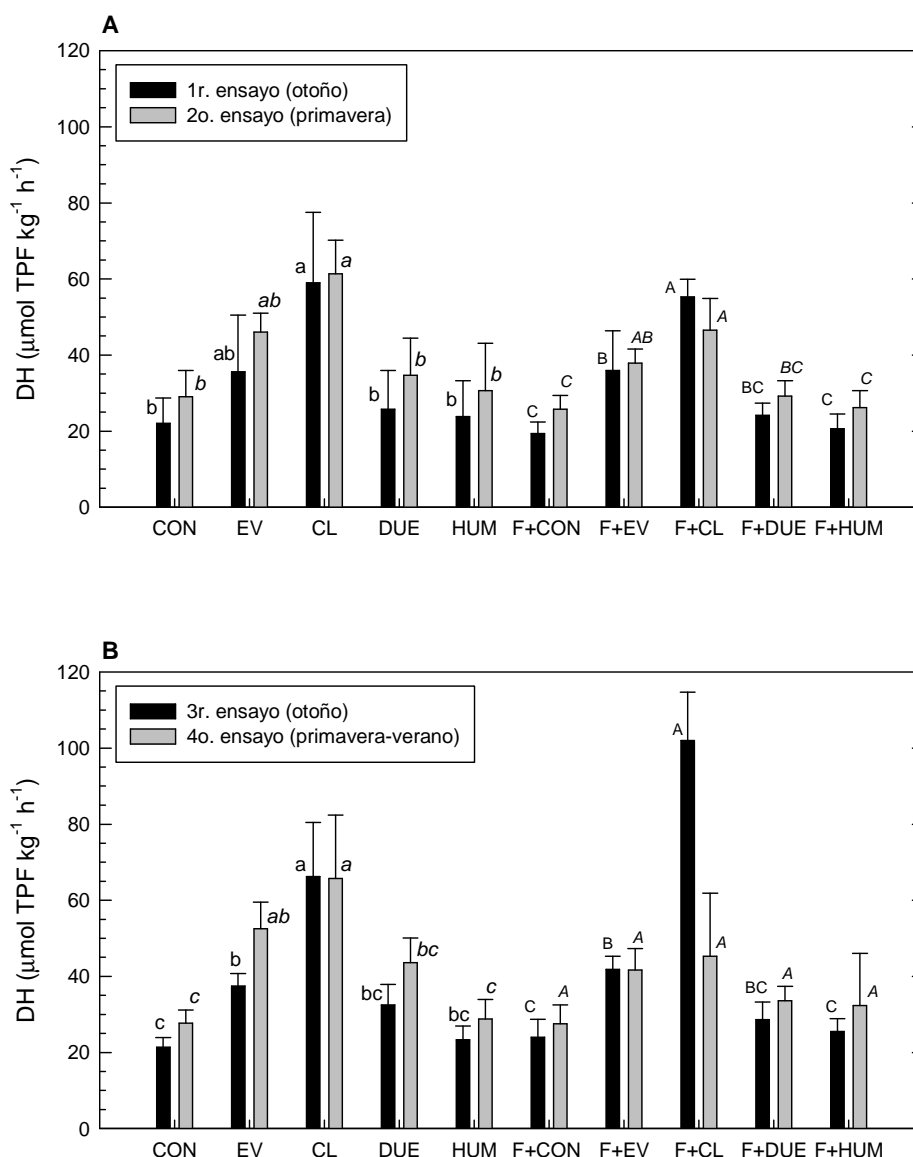


Figura 4.12: Actividad deshidrogenasa (DH) en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. y el 4o. Para los tratamientos con fertirrigación (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertirrigación: minúscula normal; 2o. y 4o. ensayos sin fertirrigación: minúscula cursiva; 1r. y 3r. ensayos con fertirrigación: mayúscula normal; 2o. y 4o. ensayos con fertirrigación: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertirrigación mineral.

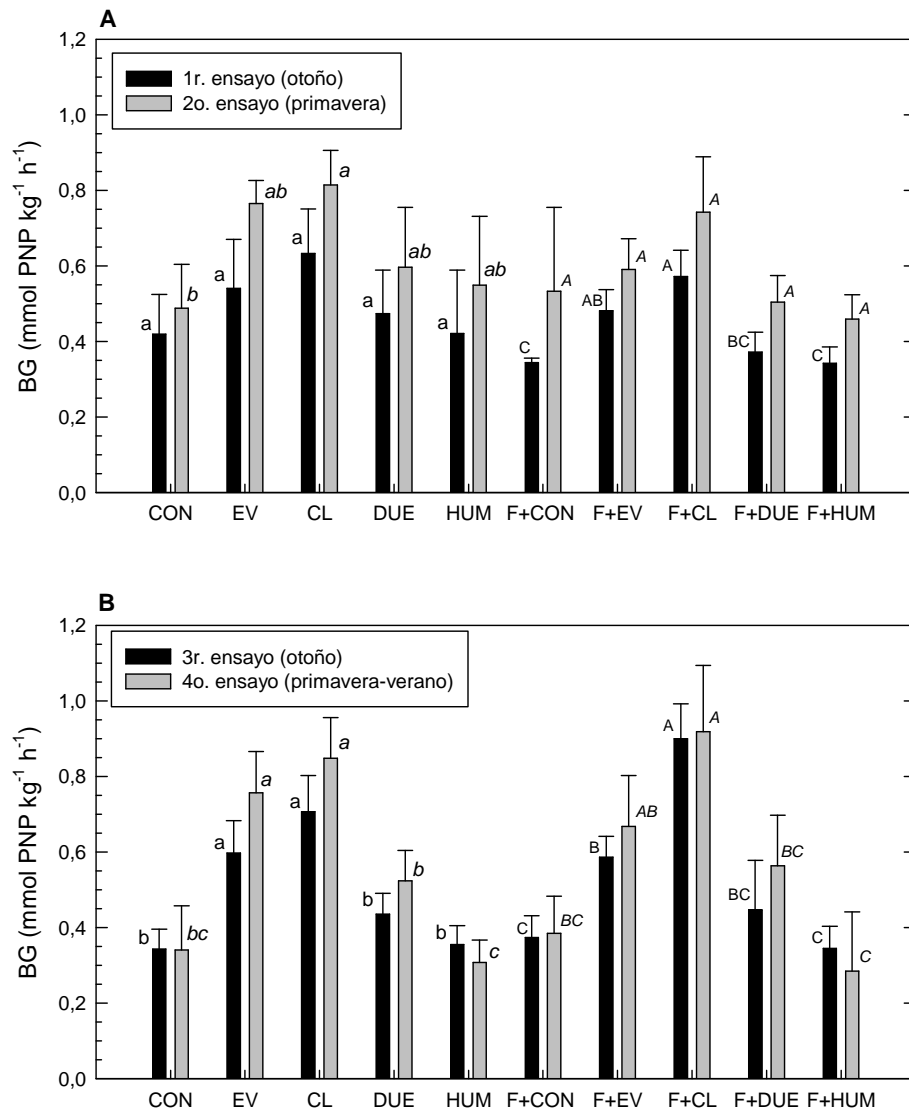


Figura 4.13: Actividad β -glucosidasa (BG) en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar ($n=4$).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p<0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. y el 4o. Para los tratamientos con fertirrigación (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertirrigación: minúscula normal; 2o. y 4o. ensayos sin fertirrigación: minúscula cursiva; 1r y 3r. ensayos con fertirrigación: mayúscula normal; 2o. y 4o. ensayos con fertirrigación: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertirrigación mineral.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

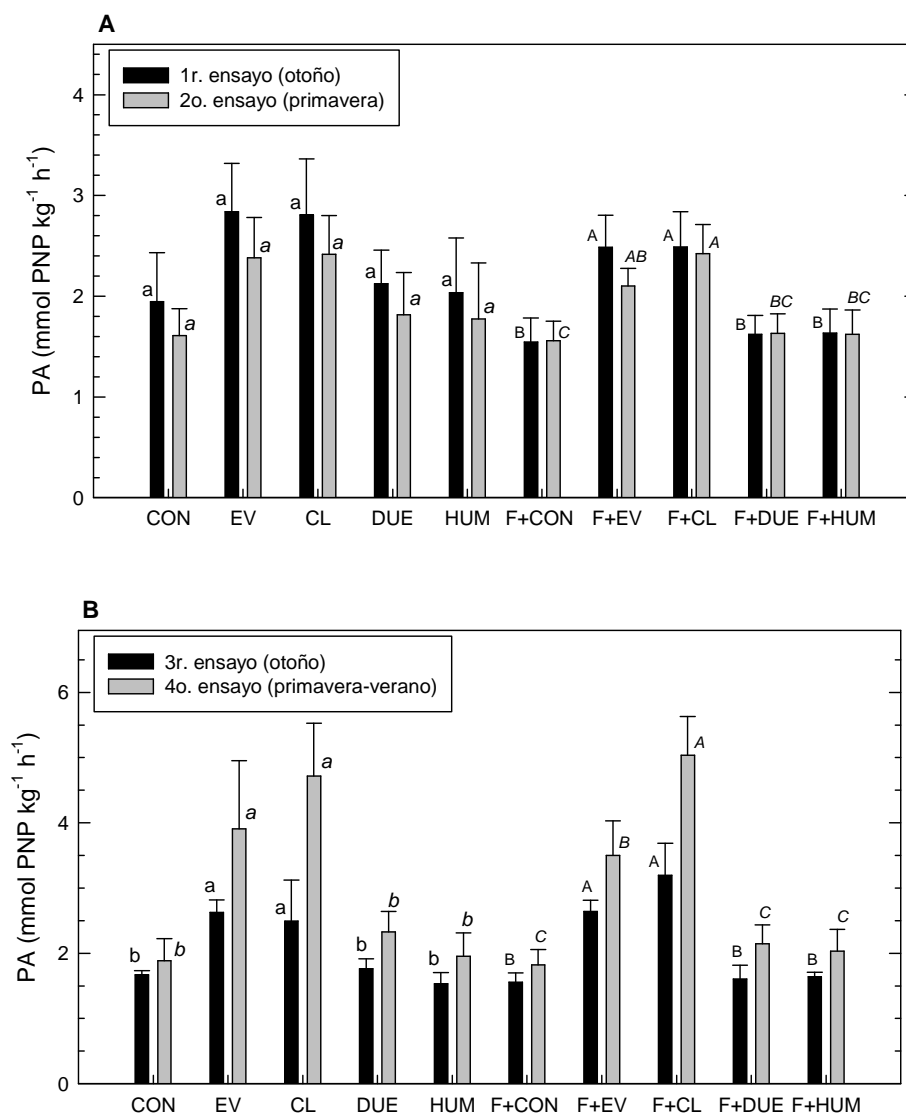


Figura 4.14: Actividad fosfatasa alcalina (PA) en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. y el 4o. Para los tratamientos con fertirrigación (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertirrigación: minúscula normal; 2o. y 4o. ensayos sin fertirrigación: minúscula cursiva; 1r. y 3r. ensayos con fertirrigación: mayúscula normal; 2o. y 4o. ensayos con fertirrigación: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertirrigación mineral.

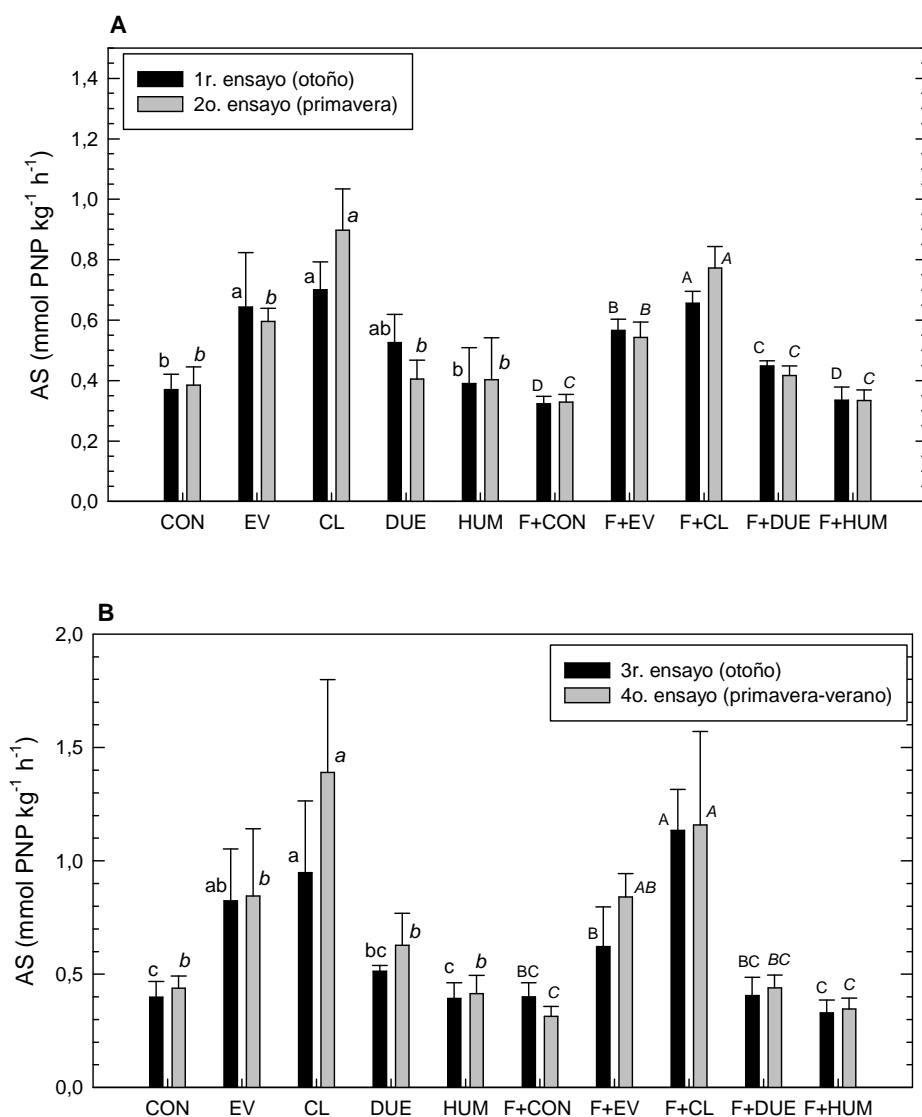


Figura 4.15: Actividad arilsulfatasa (AS) en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. y el 4o. Para los tratamientos con fertirrigación (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertirrigación: minúscula normal; 2o. y 4o. ensayos sin fertirrigación: minúscula cursiva; 1r y 3r. ensayos con fertirrigación: mayúscula normal; 2o. y 4o. ensayos con fertirrigación: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertirrigación mineral.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

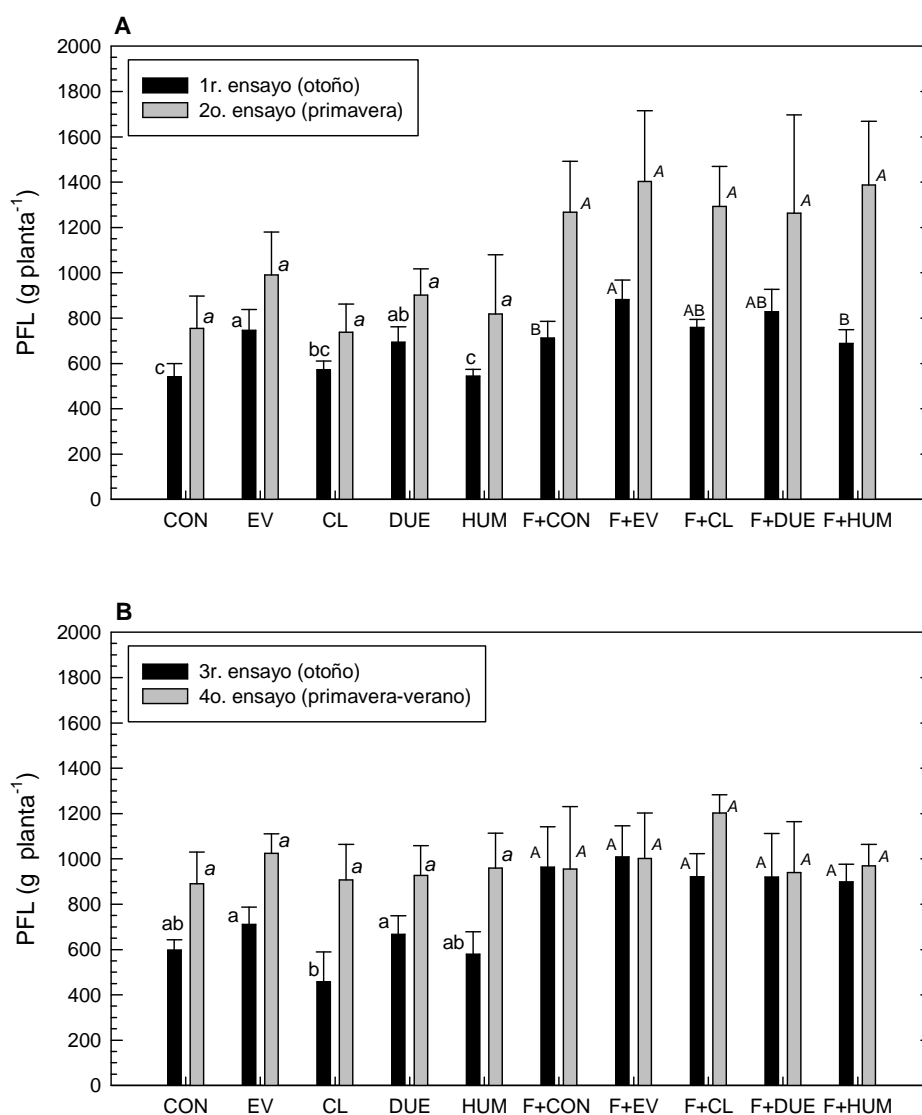


Figura 4.16: Producción de masa fresca de las lechugas (PFL) en los cuatro ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4, correspondiendo cada una de las muestras al valor medio de 4 plantas por parcela).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo y fertilización mineral se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos sin fertilización mineral se han indicado con letra minúscula normal en el 1r. y el 3r. ensayos y minúscula cursiva para el 2o. y el 4o. Para los tratamientos con fertirrigación (F+) se ha seguido el mismo criterio usando letras mayúsculas (1r. y 3r. ensayos sin fertirrigación: minúscula normal; 2o. y 4o. ensayos sin fertirrigación: minúscula cursiva; 1r. y 3r. ensayos con fertirrigación: mayúscula normal; 2o. y 4o. ensayos con fertirrigación: mayúscula cursiva).

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos; F+: fertirrigación mineral.

Tabla 4.8: Análisis de la varianza (ANOVA) de tres vías (tratamiento orgánico, fertirrigación mineral y ensayo) para los parámetros químicos analizados (COT: carbono orgánico total, GM: gomas microbianas, PO: fósforo Olsen, NT: nitrógeno total y relación C/N).

En el 2o. ensayo no se realizó una nueva aplicación de las enmiendas orgánicas EV, CL y DUE, mientras que en el 3o. y 4o. se realizaron aplicaciones en ambos ensayos.

A. Ensayos 1 y 2

	n	COT (g C kg ⁻¹)	GM (g kg ⁻¹)	PO (mg kg ⁻¹)	NT (g N kg ⁻¹)	C/N	
Trat. (T):							
CON	16	20,6±3,1 c	0,65±0,10 b	94,1±20,2 c	1,92±0,37 b	11,0±2,4 b	
EV	16	28,1±4,0 b	0,87±0,11 a	153,6±26,7 a	2,53±0,37 a	11,3±1,8 b	
CL	16	32,7±6,8 a	0,81±0,11 a	128,4±27,3 b	2,43±0,41 a	13,8±3,8 a	
DUE	16	21,4±3,8 c	0,63±0,09 b	120,8±24,6 b	2,03±0,39 b	10,8±2,4 b	
HUM	16	21,0±3,2 c	0,60±0,09 b	91,5±20,5 c	1,90±0,36 b	11,2±1,7 b	
p		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
Fertir. (F)							
	0	40	24,9±6,4	0,69±0,12	100,0±23,7	2,10±0,40	11,9±2,3
	1	40	24,6±6,6	0,73±0,16	135,4±31,6	2,23±0,50	11,4±3,1
p			0,756	0,114	<0,001	0,144	0,134
Ensayo (E):							
	1	40	27,4±7,1	0,70±0,15	111,2±30,7	2,06±0,43	13,4±2,6
	2	40	22,1±4,5	0,72±0,13	124,2±34,3	2,26±0,46	9,9±1,3
p			<0,001	0,538	<0,001	0,024	<0,001
Interacciones:							
T x F			0,973	0,609	0,594	0,855	0,829
T x E			0,003	0,301	0,670	0,903	0,003
E x F			0,538	0,756	0,002	0,159	0,014
T x F x E			0,978	0,515	0,851	0,957	0,915

B. Ensayos 3 y 4

	n	COT (g C kg ⁻¹)	GM (g kg ⁻¹)	PO (mg kg ⁻¹)	NT (g N kg ⁻¹)	C/N	
Trat. (T):							
CON	16	21,2±1,3 c	0,64±0,02 c	110,9±35,5 c	2,29±0,12 b	9,3±0,7 c	
EV	16	39,0±4,9 b	1,17±0,14 a	271,7±79,3 a	3,57±0,39 a	10,9±0,8 b	
CL	16	42,9±7,4 a	1,02±0,16 b	172,9±52,4 b	3,51±0,50 a	12,3±1,9 a	
DUE	16	22,3±1,4 c	0,66±0,05 c	177,3±44,2 b	2,33±0,13 b	9,6±0,6 c	
HUM	16	21,6±1,3 c	0,67±0,06 c	108,4±35,2 c	2,28±0,23 b	9,6±1,1 c	
p		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
Fertir. (F)							
	0	40	29,5±10,3	0,80±0,21	152,4±70,4	2,77±0,68	10,5±1,7
	1	40	29,4±10,5	0,86±0,28	184,0±83,5	2,82±0,70	10,2±1,4
p			0,900	0,021	<0,001	0,256	0,264
Ensayo (E):							
	3	40	27,5±7,4	0,83±0,24	132,1±43,2	2,70±0,50	10,2±1,8
	4	40	31,3±12,5	-	204,3±88,8	2,89±0,82	10,5±1,3
p			<0,001	-	<0,001	<0,001	0,141
Interacciones:							
T x F			0,487	0,042	0,214	0,734	0,585
T x E			<0,001	-	<0,001	<0,001	0,994
E x F			0,614	-	<0,001	0,191	0,597
T x F x E			0,996	-	0,899	0,246	0,362

T: tratamiento orgánico; F: fertirrigación mineral (0:no, 1:sí). CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos.

p: significación estadística.

Los tratamientos orgánicos con distinta letra para un mismo parámetro se diferencian al nivel de p<0,05 con el test de *Tukey*.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

Tabla 4.9: Análisis de la varianza (ANOVA) de tres vías (tratamiento orgánico, fertirrigación mineral y ensayo) para la biomasa microbiana (BM) y las actividades enzimáticas deshidrogenasa (DH), β -glucosidasa (BG), fósfatasa alcalina (PA) y arilsulfatasa (AS).

En el 2o. ensayo no se realizó una nueva aplicación de las enmiendas orgánicas EV, CL y DUE, mientras que en el 3o. y 4o. se realizaron aplicaciones en ambos ensayos.

A. Ensayos 1 y 2

	n	BM (mg C kg ⁻¹)	DH (μ mol kg ⁻¹ h ⁻¹)	BG (mmol kg ⁻¹ h ⁻¹)	PA (mmol kg ⁻¹ h ⁻¹)	AS (mmol kg ⁻¹ h ⁻¹)	
Trat. (T):							
CON	16	227,3 \pm 71,7b	24,1 \pm 6,1c	0,45 \pm 0,14c	1,66 \pm 0,33b	0,35 \pm 0,05d	
EV	16	374,3 \pm 162,9a	38,9 \pm 9,6b	0,59 \pm 0,13ab	2,45 \pm 0,42a	0,59 \pm 0,10b	
CL	16	404,9 \pm 145,8a	55,5 \pm 11,7a	0,69 \pm 0,14a	2,53 \pm 0,40a	0,76 \pm 0,13a	
DUE	16	247,7 \pm 72,7b	28,4 \pm 7,9c	0,49 \pm 0,13bc	1,80 \pm 0,34b	0,45 \pm 0,07c	
HUM	16	253,6 \pm 94,6b	25,3 \pm 8,4c	0,44 \pm 0,14c	1,77 \pm 0,42b	0,37 \pm 0,09d	
p		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
Fertir. (F)							
	0	40	306,9 \pm 117,4	36,8 \pm 16,6	0,57 \pm 0,17	2,17 \pm 0,57	0,53 \pm 0,19
	1	40	299,2 \pm 154,4	32,1 \pm 12,2	0,49 \pm 0,15	1,91 \pm 0,45	0,47 \pm 0,15
p			0,445	0,018	0,005	0,002	0,002
Ensayo (E):							
	1	40	344,9 \pm 153,9	32,2 \pm 16,3	0,46 \pm 0,13	2,15 \pm 0,58	0,50 \pm 0,15
	2	40	257,0 \pm 93,0	36,7 \pm 12,7	0,60 \pm 0,17	1,93 \pm 0,45	0,51 \pm 0,20
p			<0,001	0,022	<0,001	0,009	0,508
Interacciones:							
T x F			0,151	0,838	0,770	0,954	0,925
T x E			<0,001	0,412	0,944	0,788	0,002
E x F			0,290	0,193	0,978	0,112	0,953
T x F x E			0,029	0,889	0,718	0,984	0,668

B. Ensayos 3 y 4

	n	BM (mg C kg ⁻¹)	DH (μ mol kg ⁻¹ h ⁻¹)	BG (mmol kg ⁻¹ h ⁻¹)	PA (mmol kg ⁻¹ h ⁻¹)	AS (mmol kg ⁻¹ h ⁻¹)	
Trat. (T):							
CON	16	220,7 \pm 87,7c	25,1 \pm 4,5d	0,36 \pm 0,08d	1,73 \pm 0,24c	0,39 \pm 0,07c	
EV	16	364,4 \pm 155,6b	43,4 \pm 7,3b	0,65 \pm 0,11b	3,17 \pm 0,78b	0,78 \pm 0,21b	
CL	16	567,3 \pm 172,3a	69,8 \pm 25,0a	0,84 \pm 0,14a	3,86 \pm 1,23a	1,16 \pm 0,35a	
DUE	16	220,3 \pm 68,8c	34,6 \pm 7,3c	0,49 \pm 0,11c	1,96 \pm 0,37c	0,50 \pm 0,12c	
HUM	16	225,9 \pm 80,7c	27,5 \pm 7,8cd	0,32 \pm 0,09d	1,79 \pm 0,32c	0,37 \pm 0,07c	
p		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
Fertir. (F)							
	0	40	329,5 \pm 194,1	39,9 \pm 17,5	0,52 \pm 0,20	2,49 \pm 1,10	0,68 \pm 0,36
	1	40	325,4 \pm 177,6	40,2 \pm 23,3	0,55 \pm 0,24	2,52 \pm 1,11	0,60 \pm 0,35
p			0,683	0,864	0,263	0,755	0,063
Ensayo (E):							
	3	40	299,2 \pm 153,7	40,3 \pm 25,2	0,51 \pm 0,19	2,07 \pm 0,63	0,60 \pm 0,30
	4	40	350,1 \pm 206,0	39,9 \pm 14,7	0,56 \pm 0,25	2,93 \pm 1,29	0,68 \pm 0,40
p			0,042	0,828	0,030	<0,001	0,050
Interacciones:							
T x F			0,919	0,150	0,135	0,142	0,907
T x E			0,366	<0,001	0,095	<0,001	0,360
E x F			0,068	<0,001	0,455	0,407	0,309
T x F x E			0,577	<0,001	0,809	0,902	0,246

T: tratamiento orgánico; F: fertirrigación mineral (0:no, 1:sí). CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos.

p: significación estadística.

Los tratamientos orgánicos con distinta letra para un mismo parámetro se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.

Tabla 4.10: Análisis de la varianza (ANOVA) de tres vías (tratamiento orgánico, fertirrigación mineral y ensayo) para la biomasa microbiana referida al carbono orgánico total del suelo ($\text{g C kg}^{-1} \text{C}$) y las actividades enzimáticas específicas: deshidrogenasa específica (DHe), β -glucosidasa específica (BGe), fosfatasa alcalina específica (PAe) y arilsulfatasa específica (ASe). Todas las actividades enzimáticas específicas expresadas en $\text{mmol kg}^{-1} \text{Ch}^{-1}$.

A. Ensayos 1 y 2

	n	BM/COT	DHe	BGe	PAe	ASe
Trat. (T):						
CON	16	11,0±3,6a	1,18±0,31c	22,3±9,1a	81,0±11,3 a	17,3±2,5c
EV	16	12,9±4,3a	1,40±0,35b	21,6±6,1a	87,5±10,5 a	21,0±2,7b
CL	16	12,3±3,2a	1,74±0,37a	22,6±8,9a	79,7±15,3 a	24,4±7,4a
DUE	16	11,4±2,3a	1,35±0,35bc	23,2±6,3a	84,7±11,4a	21,2±2,9b
HUM	16	12,2±4,4a	1,20±0,31bc	21,2±5,8a	83,5±9,7 a	17,3±2,9c
p		0,580	<0,001	0,792	0,139	<0,001
Fertir. (F)						
0	40	12,3±3,4	1,45±0,45	23,3±6,0	87,8±11,4	21,2±4,9
1	40	11,6±3,8	1,30±0,30	21,1±8,2	78,7±10,5	19,3±4,7
p		0,231	0,001	0,050	<0,001	0,001
Ensayo(E):						
1	40	12,3±3,5	1,12±0,29	16,9±2,9	79,1±12,6	18,0±3,0
2	40	11,6±3,7	1,63±0,29	27,5±6,3	87,4±9,5	22,5±5,3
p		0,300	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Interacciones:						
T x F		0,033	0,724	0,435	0,342	0,819
T x E		0,001	0,932	0,664	0,028	<0,001
E x F		0,286	0,073	0,626	0,002	0,444
T x F x E		<0,001	0,594	0,458	0,617	0,185

B. Ensayos 3 y 4

	n	BM/COT	DHe	BGe	PAe	ASe
Trat. (T):						
CON	16	10,4±4,0ab	1,19±0,21b	17,0±3,6bc	81,9±11,5a	18,3±3,3bc
EV	16	9,1±3,8b	1,12±0,18b	16,9±2,9bc	81,2±16,2a	20,4±6,6bc
CL	16	13,4±4,1a	1,72±0,79a	20,0±3,5ab	89,2±22,5a	27,0±6,2a
DUE	16	9,7±2,9ab	1,54±0,27a	22,0±4,5a	87,4±13,3a	22,2±5,1ab
HUM	16	10,5±3,8ab	1,27±0,36b	15,0±4,1c	83,1±15,7a	17,3±3,5c
p		0,029	<0,001	<0,001	0,341	<0,001
Fertir. (F)						
0	40	10,8±4,1	1,35±0,35	17,7±3,5	84,2±18,1	22,5±6,3
1	40	10,6±3,9	1,38±0,57	18,7±5,2	84,9±14,1	19,5±5,5
p		0,661	0,642	0,232	0,814	0,009
Ensayo(E):						
3	40	10,5±4,0	1,39±0,54	18,3±3,6	75,2±8,4	21,0±6,1
4	40	10,9±4,0	1,34±0,39	18,0±5,2	93,9±16,7	21,1±6,1
p		0,400	0,415	0,774	<0,001	0,964
Interacciones:						
T x F		0,796	0,044	0,175	0,134	0,438
T x E		0,679	<0,001	0,053	0,407	0,665
E x F		0,053	0,001	0,818	0,696	0,296
T x F x E		0,230	0,001	0,780	0,792	0,172

T: tratamiento orgánico; F: fertirrigación mineral (0:no, 1:sí). CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos.

p: significación estadística.

Los tratamientos orgánicos con distinta letra para un mismo parámetro se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.

4. Influencia fertilización orgánica y mineral

Tabla 4.11: Análisis de la varianza (ANOVA) de tres vías (tratamiento orgánico, fertirrigación mineral y ensayo) para la producción de las lechugas expresado en masa fresca (PLF), producción expresada en masa seca (PLS) y contenido en masa seca de las lechugas (MSL).

A. Ensayos 1 y 2

			PLF (g mf planta-1)	PLS (g ms planta-1)	MSL (g ms kg ⁻¹ mf)
Trat. (T):					
CON	16		819±307b	39,1±17,5a	46,7±6,3a
EV	16		1005±307a	47,2±18,2a	46,3±6,9a
CL	16		841±297ab	40,6±19,2a	47,3±7,6a
DUE	16		922±300ab	44,6±18,7a	47,6±8,6a
HUM	16		859±373ab	41,2±20,5a	47,1±6,5a
p			0,033	0,168	0,956
Fertir. (F)					
	0	40	730±184	35,4±12,4	47,8±7,6
	1	40	1048±344	49,7±21,0	46,2±6,4
p			<0,001	<0,001	0,184
Ensayo (E):					
	1	40	697±126	29,1±4,5	42,1±3,3
	2	40	1081±335	56,0±17,6	52,0±6,3
p			<0,001	<0,001	<0,001
Interacciones:					
T x F			0,833	0,703	0,685
T x E			0,749	0,972	0,290
E x F			<0,001	<0,001	0,947
T x F x E			0,944	0,848	0,488

B. Ensayos 3 y 4

Trat. (T):					
CON	16		852±223a	38,8±11,1a	45,3±7,5a
EV	16		936±181a	42,7±9,7a	45,3±6,2a
CL	16		872±296a	40,1±14,4a	45,7±3,1a
DUE	16		863±190a	38,6±9,1a	44,5±4,4a
HUM	16		852±192a	42,3±12,8a	49,5±7,3a
p			0,446	0,432	0,598
Fertir. (F)					
	0	40	772±212	36,6±12,9	46,6±6,6
	1	40	978±170	44,5±8,1	45,5±5,3
p			<0,001	<0,001	0,610
Ensayo (E):					
	3	40	772±213	34,4±9,8	44,4±3,6
	4	40	977±168	46,7±9,5	47,8±7,3
p			<0,001	<0,001	0,121
Interacciones:					
T x F			0,108	0,011	0,785
T x E			0,152	0,346	0,737
E x F			<0,001	<0,001	0,826
T x F x E			0,940	0,781	0,853

T: tratamiento orgánico; F: fertirrigación mineral (0:no, 1:sí). CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CL: compost de lodos de depuradora; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos.

p: significación estadística.

Los tratamientos orgánicos con distinta letra para un mismo parámetro se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.

Tabla 4.12: Coeficientes de correlación de *Spearman*, y significación estadística, obtenidos entre parámetros bioquímicos y químicos del suelo correspondiente a los cuatro ensayos de evaluación de diferentes fuentes de materia orgánica y fertirrigación.

	DH	BG	PA	AS	COT	GM	NT	C/N	PO	PFL
BM	0,575 ***	0,494 ***	0,652 ***	0,612 ***	0,647 ***	0,475 ***	0,427 ***	0,489 ***	0,253 **	0,064 -
DH		0,783 ***	0,773 ***	0,775 ***	0,752 ***	0,746 ***	0,637 ***	0,262 **	0,542 ***	0,222 **
BG			0,721 ***	0,767 ***	0,680 ***	0,640 ***	0,568 ***	0,265 **	0,490 ***	0,241 **
PA				0,803 ***	0,863 ***	0,724 ***	0,671 ***	0,419 ***	0,557 ***	0,166 *
AS					0,787 ***	0,683 ***	0,637 ***	0,383 ***	0,558 ***	0,075 -
COT						0,793 ***	0,704 ***	0,560 ***	0,532 ***	0,062 -
GM							0,760 ***	0,117 -	0,653 ***	0,191 *
NT								-0,084 -	0,640 ***	0,278 ***
C/N									0,011 -	-0,286 ***
PO										0,488 ***

BM: Biomasa microbiana; DH: actividad deshidrogenasa; BG: actividad β -glucosidasa; PA: actividad fosfatasa alcalina; AS: actividad arilsulfatasa; COT: carbono orgánico total; GM: gomas microbianas; NT: nitrógeno total; C/N: relación carbono-nitrógeno; PO: fósforo soluble Olsen; PFL: producción masa fresca de las lechugas.

Para el parámetro GM el número de muestras es 120, correspondiendo a los tres primeros ensayos. Para el resto de parámetros $n=160$, reuniendo las muestras de los cuatro ensayos.

*, **, ***: significación a los niveles de $p<0,05$, $p<0,01$ y $p<0,001$, respectivamente, de acuerdo al coeficiente de *Spearman*.

5. Estudio comparativo de la influencia de diferentes enmiendas orgánicas sobre la actividad biológica del suelo

5.1. Introducción

Las fuentes de materia orgánica han variado a lo largo del tiempo, en función del modelo agropecuario, constituyendo un recurso básico para la agricultura. La población animal ha marcado esta disponibilidad. Por ejemplo, en el siglo XIX, la cabaña equina constituía la más numerosa y los excrementos eran sumamente valorados, siendo una práctica común el recoger los excrementos de las caballerías en calles y caminos para la aplicación en los campos (Habsburg-Lorena, 1880). Hasta la generalización de las redes de saneamiento urbano, a lo largo del siglo XX (Miranda, 1995; Buj, 2003), los estiércoles domésticos han constituido un recurso utilizado en la agricultura y muchos campos son testimonio de estas prácticas al contener pequeños artefactos (sobretudo restos cerámicos, pequeños recipientes de vidrio, conchas de moluscos,..) indicadores de la aplicación de estos materiales.

En las Islas Baleares, sobre todo a lo largo de la segunda mitad del siglo XX, se han producido cambios importantes en las cabañas ganaderas y las disponibilidades de estiércol. Por lo que respecta a la producción de estiércol destaca el ganado vacuno que sigue siendo la principal fuente disponible, ya que a pesar de la dominancia del ganado ovino extensivo, es un estiércol que se esparce directamente por los campos (MAGRAMA, 2014).

En la actualidad, en un escenario donde las fuentes de materia orgánica son escasas, el compost de recogida municipal y el de lodos de depuradora constituyen alternativas muy interesantes para mejorar el nivel de materia orgánica de los suelos. Además, la gestión de estos materiales son una prioridad en el contexto de la Unión Europea (Directiva 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).

Desde la segunda mitad de la década de 1990 existe producción de compost de recogida municipal y de lodos de depuradora. La principal planta de compostaje de recogida municipal

se localiza en Menorca, mientras que la producción de compost de lodos se desarrolla sobre todo en Mallorca.

El compostaje de materiales de recogida municipal no es una tecnología nueva, pero sí supone un recurso interesante para mejorar o mantener la calidad del suelo, mejorando las propiedades físico-químicas (Reeves, 1977). El aprovechamiento de estos materiales ha sido un proceso complejo, para poder garantizar la inocuidad ambiental y ajustarse a las exigencias legislativas, ambientales, económicas y sociales en los países industrializados (Adani *et al.*, 2000; Hargreaves *et al.*, 2008; Araújo *et al.*, 2010).

Existen numerosos trabajos de evaluación agronómica de estos materiales desde distintas perspectivas agronómicas y ambientales (García *et al.*, 1993; Sastre *et al.*, 1996; Ingelmo *et al.*, 1998; Albiach *et al.*, 2000; Zbytniewski y Buszewski, 2005; Weber *et al.*, 2006; Pedra *et al.*, 2007; Barral *et al.*, 2009; Roca-Pérez *et al.*, 2009; Bastida *et al.*, 2012), con diferencias contrastadas en función de las particularidades de cada material.

Conocer el comportamiento de estos materiales en el suelo así como la respuesta de los cultivos es un primer paso para un aprovechamiento agronómico eficiente.

En esta experiencia se comparan dos compost de recogida municipal procedentes de la planta de compostaje de *es Milà* (Menorca). Uno corresponde al compost de recogida normal que se realizaba en Menorca el año 2000. El segundo compost de la planta de Menorca es un compost de recogida selectiva procedente de varias poblaciones de Menorca. La selección del material en origen constituye un importante valor añadido, con mayores garantías medioambientales, y habitualmente, con concentraciones de metales pesados más bajas.

El compostaje de los lodos de depuradora también constituye un proceso de valorización de los materiales de partida, permitiendo estabilizar los lodos de depuradora y así obtener un material altamente aprovechable en agricultura. En esta experiencia se han comparado dos compost de lodos procedentes de las dos plantas de compostaje que operaban en la zona: plantas de sa Pobra y de Ariany.

La elaboración propia de compost a partir de los residuos vegetales que se disponga a nivel de cada finca es otra opción interesante, mejorando la disponibilidad de este recurso siempre escaso en los ambientes mediterráneos. En esta línea, se ha ensayado un compost de elaboración propia a partir de restos vegetales de equinácea (*Echinacea purpurea*) procedentes de una industria farmacéutica que elabora extractos a partir de esta planta.

Se ha diseñado una experiencia para evaluar el comportamiento de seis fuentes de materia orgánica sobre la actividad biológica del suelo y la producción de cultivos de lechuga. Se compara la aplicación de un estiércol de ganado vacuno, un compost elaborado a partir de material vegetal de *Echinacea purpurea*, un compost de recogida municipal separando los materiales en planta, un compost de recogida selectiva en origen y dos compost de lodos de depuradora.

Se han realizado dos cultivos de lechuga, uno en otoño-invierno y el segundo en primavera-verano, realizando un seguimiento del contenido de materia orgánica, fracciones orgánicas, contenido en gomas microbianas, contenido en fósforo asimilable mediante el método Olsen (PO), biomasa microbiana (BM) y las actividades enzimáticas deshidrogenasa (DH), β -glucosidasa (BG), fosfatasa alcalina (PA) y arilsulfatasa (AS). Como parámetro de producción se ha cuantificado la biomasa total aérea de las lechugas.

El objetivo principal es comparar el efecto de las seis fuentes de materia orgánica utilizadas sobre parámetros de fertilidad químicos y biológicos del suelo y sobre la producción de las lechugas, analizando las relaciones entre dichos parámetros.

5.2. Material y métodos de campo

5.2.1. Localización y características de la zona del estudio

Los ensayos se han realizado en la misma parcela que la experiencia de comparación de fertilizantes orgánicos y minerales, siendo las características las indicadas en los apartados 4.2.1 y 4.2.2.

5.2.2. Características de los fertilizantes utilizados

La procedencia de las seis fuentes de materia orgánica usadas es la siguiente:

El estiércol de vacuno es muy maduro, que se presenta mezclado con paja y en menor proporción con fragmentos de *Posidonia oceanica*. Procede de granjas de Mallorca.

5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas

El compost de equinácea (*Echinacea purpurea*) se ha elaborado previamente en la misma finca de *sa Canova* a partir de una partida de residuos de material vegetal de esta planta después del procesamiento industrial para la extracción de extractos. Procede de una empresa ubicada en Mallorca.

El compost de recogida municipal, separando los materiales en planta, procede de la planta de compostaje de *es Milà* (Menorca).

El compost de recogida municipal selectiva en origen, también procede de la planta de compostaje de *es Milà* (Menorca).

Los compost de lodos de depuradora proceden de las plantas de compostaje de *sa Pobla* y *Ariany*, ambas gestionadas por la misma empresa. Usan como soporte serrín y restos vegetales troceados, procedentes de podas de árboles y setos. La proporción de soporte y lodos es de 2:1.

En la Tabla 5.1 se indican las principales características de estos materiales. Son materiales que se ajustaban a las exigencias legislativas vigentes en el momento de su producción en el año 2000 (Orden de 28 de mayo de 1998 sobre fertilizantes y afines; BOE de 2 de junio de 1998) pero no a la legislación actualmente vigente, mucho más restrictiva en cuanto a los contenidos de metales pesados (Real Decreto 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes; BOE de 10 de julio de 2013).

5.2.3. Riego

El sistema de riego utilizado ha sido la microaspersión. Las características del agua de riego utilizada son las indicadas en el apartado 4.2.4.

5.2.4. Especie cultivada

Se ha usado el cv. 'Mikel' de lechuga romana. Las características de este cultivar se indican en el apartado 4.2.5.

Tabla 5.1: Caracterización química de los materiales usados en la experiencia: estiércol vacuno (EV), compost de equinácea (CEQ), compost de recogida municipal (CRM), compost de recogida municipal selectiva (CRMS), compost de lodos de depuradora de sa Pobla (CLP) y compost de lodos de depuradora de Ariany (CLA).

	EV	CEQ	CRM	CRMS	CLP	CLA
Materia seca (%)	82,6	94,9	89,5	87,1	80,7	79,7
pH (1:5)	7,5	7,2	7,1	7,9	7,2	7,2
CE (1:5 25 °C; dS/m)	6,38	3,79	8,60	15,00	0,64	1,23
Materia Orgánica (%)	29,2	22,1	53,5	51,7	58,4	50,0
N total (%)	1,45	1,54	2,34	2,66	1,20	1,64
N-NH ₄ ⁺ (%)	0,12	0,08	0,24	0,31	0,10	0,15
Relación C/N	9,3	6,8	10,4	8,7	22,5	14,0
P (%)	0,55	0,4	0,50	0,76	0,67	0,78
K (%)	2,01	1,91	0,94	2,05	0,56	0,57
Ca (%)	12,6	13,5	9,02	9,24	7,31	12,04
Mg (%)	1,35	1,6	1,25	1,25	1,15	1,18
Fe (%)	1,45	2,07	0,59	0,93	0,86	0,65
Cr (mg kg ⁻¹)	19	23	272	200	125	40
Ni (mg kg ⁻¹)	20	20	62	42	<20	30
Pb (mg kg ⁻¹)	30	36	293	268	49	43
Cu (mg kg ⁻¹)	41	29	373	302	151	176
Zn (mg kg ⁻¹)	167	99	864	627	381	451
Hg (mg kg ⁻¹)	0,24	0,11	1,12	0,80	0,37	0,63
Cd (mg kg ⁻¹)	1,5	1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5

5.2.5. Diseño experimental

Se han establecido 4 bloques, divididos cada uno en 7 parcelas elementales de 1,5 × 2 m, donde están representados los 6 tratamientos de fertilización orgánica y el tratamiento control (Figura 5.1).

5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas

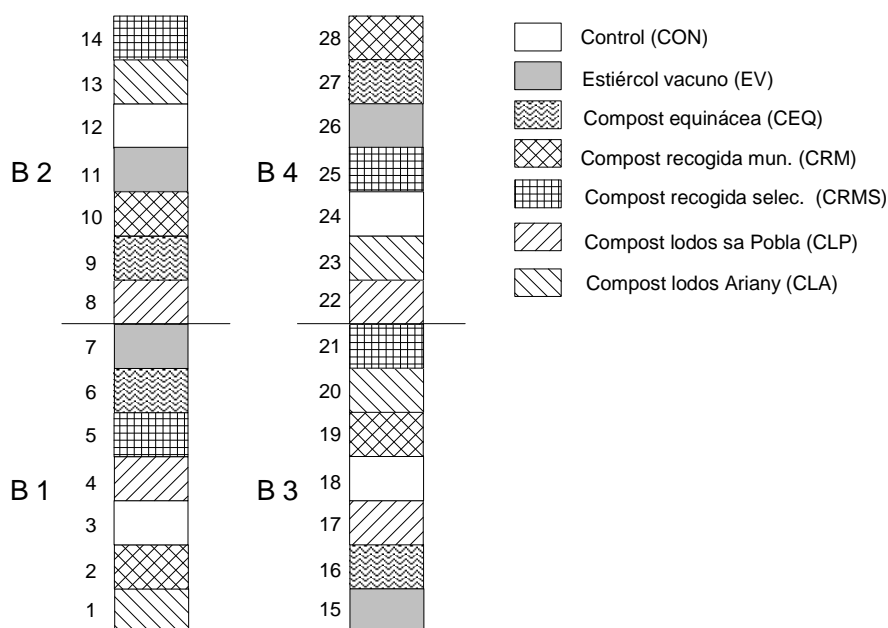


Figura 5.1: Diseño de la parcela experimental. En el campo experimental, los cuatro bloques (aquí representados en dos grupos) están situados en una única hilera de parcelas.

5.2.6. Características de los ensayos

Se han realizado dos ensayos. El primero en otoño-invierno (desde noviembre de 2000 a febrero de 2001) y el segundo en primavera-verano de 2001.

Ensayo 1 (3/11/2000 hasta 5/2/2001)

Fertilización: Los fertilizantes orgánicos se han aplicado en la segunda quincena de octubre de 2000, incorporándolos con motocultor, hasta una profundidad de 12-15 cm. Las dosis aplicadas en todos los tratamientos ha sido de 40 t ha^{-1} .

Cultivo: Unos veinte días después, el 3/11/2000 se ha plantado el cultivo de lechuga tipo romana cv. 'Mikel'. A lo largo de los bloques, se han plantado cuatro hileras de lechugas, con un marco de plantación de $37,5 \times 50 \text{ cm}$, conteniendo así cada parcela 16 lechugas.

Riego: Realizada la plantación, se ha aplicado un riego abundante para asegurar la humectación del suelo, pasando a regar posteriormente con una dosis de $1,5 \text{ mm d}^{-1}$ con microaspersores.

Tratamientos fitosanitarios: Desde el inicio del cultivo se han realizado dos tratamientos de Limer, 5 G de Mercampo, cebo granulado a base de metaldehído al 5 % y de Dipsol 5 CG de Luqsa, cebo granulado a base de triclorfon al 5% Luqsa, como helicida e insecticida respectivamente, para el control de caracoles y orugas. El cultivo también se ha visto afectado por el virus del bronceado del tomate. Durante las dos primeras semanas se han repuesto las plantas más afectadas y durante el cultivo las plantas viróticas han sido eliminadas del cultivo.

Muestreo de suelo: Al alcanzar el pleno desarrollo las lechugas, 22/01/2001, se ha realizado el muestreo de la capa arable del suelo en las 28 parcelas.

Muestreo de producción: El 5/02/2001 se ha realizado el muestreo de producción de las lechugas, recogiendo cuatro plantas por parcela. Para estimar la producción en masa seca se han recogido muestras representativas de cada lechuga para establecer el contenido en masa seca. Las muestras se han secado en estufa a 80 °C hasta peso constante.

Labores post-cosecha: una vez finalizado el muestreo de producción se ha cosechado el resto de lechugas y se ha labrado el terreno manteniendo los diferentes tratamientos de fertilización, a fin de poder realizar un segundo ensayo.

Condiciones ambientales: En la Figura 5.2 se representan las temperaturas máximas y mínimas diarias durante el ensayo.

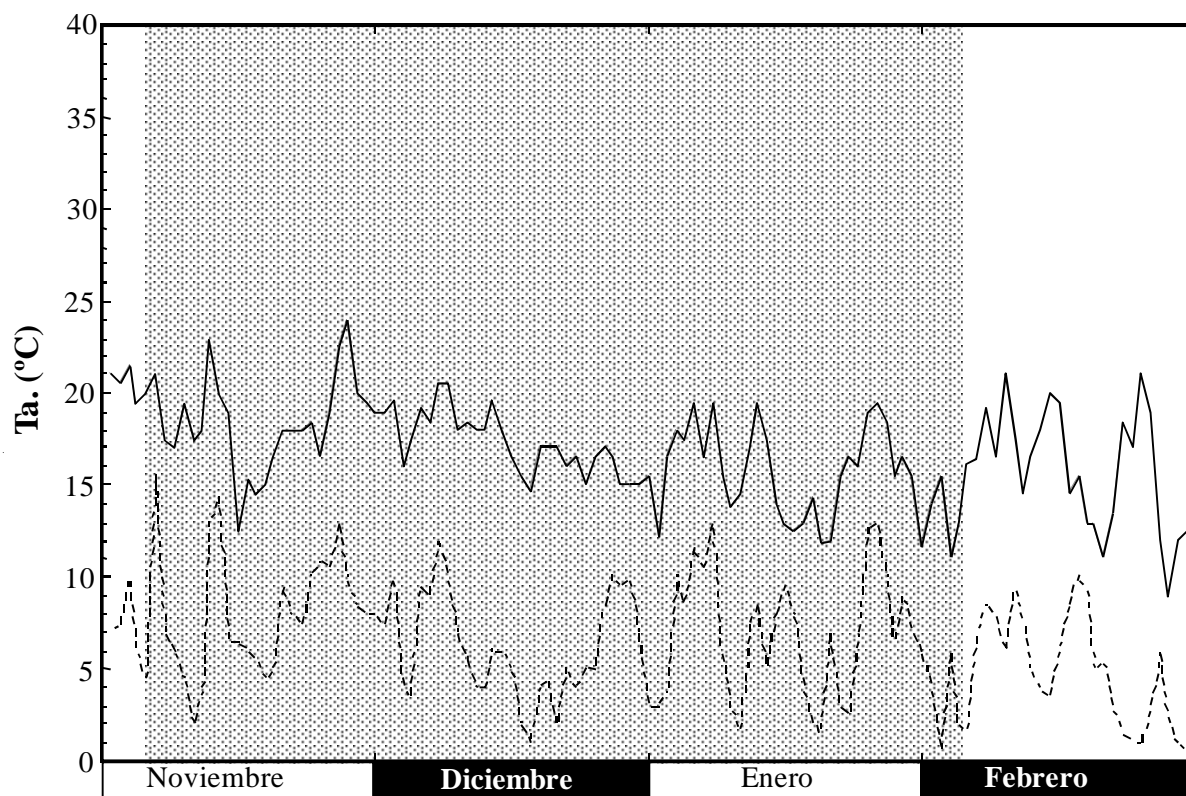


Figura 5.2: Temperatura máximas y mínimas diarias durante el ensayo (área sombreada), entre los meses de noviembre de 2000 y febrero de 2001.

Ensayo 2 (Primavera-verano de 2001, desde el 15/05/2001 al 4/07/2001)

El segundo ensayo se ha realizado en las mismas parcelas que el tercero.

Fertilización: El 6/04/2000 se han aplicado e incorporado con motocultor los diferentes fertilizantes orgánicos en sus respectivas parcelas hasta una profundidad de 12-15 cm, aplicando en todos los casos la cantidad equivalente a 40 t ha⁻¹.

Cultivo: La plantación de lechugas se ha realizado el 15/05/2001. Se ha usado la lechuga romana cv. 'Mikel'.

Dosis de riego: Se han aplicado 5 mm d⁻¹.

Tratamientos fitosanitarios: Se ha hecho un tratamiento con herbicida Finale de la casa AgrEvo, a base de glufosinato 15% SL para la eliminación de la vegetación arvense. Para evitar el ataque de caracoles, el mismo día de la plantación de las lechugas, se ha hecho una

aplicación de *Mesurool 1* de la casa Bayer, a base de metiocarb 1% GB, como cebo granulado para el control de caracoles y orugas. El cultivo también se ha visto afectado por el virus del bronceado del tomate. Durante la primera semana del cultivo las plantas más afectadas han sido reemplazadas y durante el cultivo, las plantas viróticas se han eliminado del cultivo.

Muestreo de suelo: Al alcanzar el pleno desarrollo las lechugas, el 2/07/2001, se ha realizado el muestreo de la capa arable suelo.

Muestreo de producción: el 4/07/2001 se ha realizado el muestreo de producción de las lechugas. El cultivo se ha visto afectado por el virus del bronceado del tomate, descartando las plantas afectadas para la estimación de producción.

Condiciones ambientales: En la Figura 4.5 se representan las temperaturas máximas y mínimas diarias durante este segundo ensayo que coincide, en el tiempo, con el cuarto ensayo de la experiencia sobre la influencia de la fertilización orgánica y mineral sobre el suelo (apartado 4).

5.3. Resultados y discusión

5.3.1. Parámetros químicos

pH del suelo y salinidad

El pH del suelo viene marcado, sobretodo, por su naturaleza calcárea. El tratamiento control es el que presenta el pH con agua más elevado que alcanza 8,5. Todos los tratamientos orgánicos han supuesto una reducción de este parámetro, siendo notorio en los compost de recogida municipal y, sobretodo el CLA se sitúa en torno a 8,0. El pH con KCl presenta la misma distribución entre tratamientos, reduciendo el rango de variación entre los valores máximo y mínimo (Figura 3.A).

En el primer ensayo de otoño-invierno, la conductividad eléctrica del extracto 1:5 presenta valores bajos en las parcelas control con incrementos notorios y estadísticamente significativos con los compost de recogida municipal (CRM y CRMS) (Figura 5.3.B), debido a la concentración de sales en el material de partida (Tabla 5.1). Esta situación es

5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas

característica de estos compost (Johnson *et al.*, 2006; De Lucia *et al.*, 2013) sin que se alcancen niveles conflictivos para los cultivos. En el ensayo de primavera-verano el comportamiento entre tratamientos es similar, con valores más elevados en todos los casos, reflejando el lavado de sales del suelo en otoño-invierno y el incremento de la salinidad en la primavera y verano debido a las aportaciones de los materiales orgánicos aplicados, sales asociadas al agua de riego y escasez o ausencia de agua de lluvia que, en condiciones percolantes, facilita el lavado de sales (Adrover, 2010; Ben-Hur *et al.*, 2001).

Carbono orgánico total

En los dos ensayos, los contenidos de materia orgánica más altos corresponden a los tratamientos de compost de lodos de depuradora (CLA y CLP) y compost de la fracción orgánica de la recogida municipal normal (CRM) y de recogida selectiva (CRMS) sin presentar diferencias significativas entre ellos (Figura 5.4.A). El compost de equinácea (CEQ) y el estiércol de vacuno (EV) han presentado valores más bajos (32 y 34 g C kg⁻¹, respectivamente, en el primer ensayo, alcanzando los 37 y 41 g C kg⁻¹ después de la segunda aplicación). Las diferencias entre tratamientos son atribuibles a los distintos contenidos en materia orgánica de los materiales aplicados (Tabla 5.1). El compost de equinácea y el estiércol de vacuno usados tienen un alto contenido de materiales no orgánicos (tierra).

Extracto húmico total

Del contenido en carbono orgánico del suelo, entre el 25 y 49% corresponde a las fracciones de ácidos húmicos y fúlvicos (Extracto Húmico Total; EHT) (Figuras 5.4.A,B). Los compost de recogida municipal son los que presentan la fracción de EHT más elevada, entre 47 y 49% respecto al COT y los compost de lodos de depuradora (CLA y CLP) los más bajos, entre 25 y 27% del COT, con una clara diferenciación estadística entre ellos (Tabla 5.6). Dentro de la fracción orgánica del EHT, los Ácidos Húmicos (AH) son en todos los casos el componente mayoritario, suponiendo entre el 56% en las parcelas control y el 75% en el compost de recogida municipal (Tabla 5.6). La diferencia entre el EHT y los AH constituyen los AF.

Los valores más bajos de la relación E4/E6 del EHT se da en las parcelas control (Figura 5.6.B), indicando un mayor peso molecular de los componentes del extracto húmico siendo

los valores más elevados, de esta relación, los correspondientes a los suelos fertilizados con compost de recogida municipal, lo que pone de manifiesto un bajo grado de polimerización en estos materiales (Chen *et al.*, 1977). Senesi *et al.* (2007) indican que las sustancias húmicas de las enmiendas orgánicas se caracterizan por un mayor carácter alifático, mayor heterogeneidad molecular y menores grados de policondensación de anillos aromáticos que las sustancias húmicas propias del suelo. Estas diferencias se van atenuando conforme avanza la humificación de estos materiales.

Carbono orgánico soluble

En el primer ensayo se ha realizado una cuantificación del COS, el cual supone un incremento notorio en todos los tratamientos con aportes orgánicos. Sobresalen los contenidos en COS de los dos tratamientos de compost de recogida municipal que son 3,5 veces superiores al tratamiento CON y duplican los contenidos registrados en los suelos fertilizados con EV y CEQ (Figura 5.6.A). Estos incrementos son atribuibles a los aportes a través de las propias enmiendas orgánicas y, en menor grado, al incremento de la solubilización de la materia orgánica del suelo que pueden provocar estos materiales (Bolan *et al.*, 2011).

El COS está constituido por materiales fácilmente biodegradables, siendo clave los compuestos nitrogenados que contiene. Estas formas orgánicas pueden tener tasas de mineralización variadas, desde menos de un día a procesos más lentos de varios meses. También es importante su papel en la estructuración del suelo, siendo clave, en periodos cortos de tiempo su efecto mejorador sobre los agregados de mayor tamaño. Los contenidos de COS están directamente relacionados con los aportes de materia orgánica fresca (Gregorich *et al.*, 2003).

Nitrógeno total

El contenido de NT presenta una clara diferenciación entre tratamientos: las parcelas fertilizadas con CRM (recogida no selectiva) presentan el contenido más elevado (7,2 g kg⁻¹ en el primer ensayo y 8,2 g kg⁻¹ en el segundo), diferenciadas a nivel estadístico de p<0,05 de las parcelas fertilizadas con CRMS (6,2 g kg⁻¹). Los dos tratamientos de compost de lodos de

5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas

depuradora, el de EV y las parcelas fertilizadas con CEQ han presentado valores muy similares, diferenciándose al nivel de $p < 0,05$ de los anteriores y de las parcelas control (Figura 5.7.A).

Relación C/N

La relación C/N ha presentado, también una clara diferenciación entre tratamientos (Figura 5.7.B). Los tratamientos con compost de recogida municipal han presentado relaciones muy bajas, indicadoras de un sobrante de nitrógeno que puede ser aprovechado por la microflora y los cultivos. Las parcelas fertilizadas con CEQ han presentado, también una relación baja (9,7 en el primer ensayo y 9,2 en el segundo), siendo más elevadas en las parcelas con compost de lodos y EV. El tratamiento control presenta una relación C/N equilibrada, entre 10,0 y 10,6, siendo indicador de un suelo con una materia orgánica bien humificada y una mineralización equilibrada (Brady y Weil, 2010).

Fósforo

Los contenidos de fósforo soluble Olsen (PO) son muy elevados. El nivel de partida es muy alto, como ya se ha indicado en el apartado 4.3.1. Los valores medios de las parcelas control presentan contenidos de PO de alrededor de 80 mg kg^{-1} . La aportación de las enmiendas orgánicas incrementa notablemente estos niveles, superando los 200 mg kg^{-1} en el tratamiento de CLA y, también, suponiendo incrementos notables en el EV, CLP, CRMS y CEQ. El tratamiento de CRM que aportaba los mayores contenidos en NT, es el tratamiento orgánico que presenta un incremento del PO más moderado (Figuras 5.9.A,B).

Estas aportaciones orgánicas no sólo afectan a la disponibilidad de PO sino que suponen un gran incremento del contenido de fósforo total (PT) del suelo. A los ya muy elevados contenidos de PT del suelo de la parcela donde se han realizado los ensayos, con valores que superan los 2 g kg^{-1} hay que añadir el fósforo aportado con las diferentes enmiendas orgánicas, suponiendo incrementos entre el 7 y 12% en el CEQ y EV, respectivamente. Más destacables son los incrementos registrados en los CRMS y CRM, con incrementos respecto al tratamiento control del 35 y 44% de PT, respectivamente. Estos incrementos son imputables, en la mayor parte a la fracción orgánica (Figura 5.9.A).

5.3.2. Índice de estabilidad estructural

La aplicación de compost de recogida municipal ha supuesto una mejora notoria del índice de estabilidad estructural (IEE), alcanzando valores muy elevados, superiores al 95%, presentando una baja variabilidad entre parcelas (Figura 5.5.A). Le siguen las parcelas fertilizadas con compost de lodos de depuración con valores medios, también superiores al 90%. Los tratamientos de EV, CEQ y CON no se diferencian entre sí, alcanzando un grado de estabilidad de los agregados menor a los otros tratamientos, entre el 81 y 84%, valores también elevados, propios del suelo donde se han realizado los ensayos. Estos valores, en conjunto son indicadores de que el suelo donde se ha realizado la experiencia mantiene unos agregados estables (Abiven *et al.*, 2009; Annabi *et al.*, 2011) y la aplicación de enmiendas orgánicas supone una mejora adicional.

5.3.3. Biomasa microbiana y actividades enzimáticas

En el ensayo de otoño-invierno, la biomasa microbiana (BM) presenta diferencias muy elevadas entre tratamientos, destacando los compost de residuos sólidos urbanos, con valores medios en los dos tratamientos superiores a $1000 \text{ mg C kg}^{-1}$ suelo. Les siguen los tratamientos de compost de lodos de depuradora y CEQ (valores medios alrededor de $350\text{-}450 \text{ mg C kg}^{-1}$). El EV es el tratamiento orgánico que presenta los valores más bajos (Figura 5.10.A). Comparando con las parcelas control, la aportación de estiércol de vacuno ha supuesto un incremento del 34% de la BM, entre un 64 y más de un 100% en los compost de lodos de depuradora y cuadruplicando o quintuplicando los contenidos en las parcelas fertilizadas con compost de recogida municipal (Tabla 5.3).

En el ensayo de primavera-verano se mantienen las mismas pautas siendo los valores de las parcelas enmendadas con compost de recogida municipal similares al primer ensayo y en los otros tratamientos, incluido las parcelas control, un notorio incremento del contenido del carbono microbiano. Estos incrementos en BM son similares a los descritos en otros ensayos con materiales similares (Pascual *et al.*, 1998; Bouzaiane *et al.*, 2007; Melero *et al.*, 2007; Bastida *et al.*, 2008a)

5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas

En el ensayo de otoño-invierno, las actividades DH y BG son muy elevadas en las parcelas fertilizadas con CRM (valores medios entre 120 y 130 $\mu\text{mol TPF kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de DH y entre 2,3 y 2,8 $\text{mmol PNP kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de BG) (Figuras 5.10.B y 5.11.A). Estos valores suponen para la DH, incrementos de entre 4 y 5 veces las tasas registradas en las parcelas CON y en el caso de la BG entre 6 y 8 veces más. En los otros tratamientos orgánicos (EV, CEQ, CLA y CLP) los incrementos son más moderados, poniendo de manifiesto una menor disponibilidad de sustratos orgánicos fácilmente degradables por la microflora (García *et al.*, 1994; Bandick y Dick, 1999). También pueden indicar una mayor participación de los hongos, al ser los principales productores de β -glucosidasa (Hayano y Tubaki, 1985).

En el ensayo de primavera-verano la pauta es similar, con tasas de actividad deshidrogenasa máximas en el CRMS y valores, también elevados en CRM, CLA y CLP. La actividad BG presenta un comportamiento muy similar al primer ensayo con valores muy elevados en los tratamientos de compost de recogida municipal, si bien más moderados que en el ensayo anterior.

La actividad PA presenta un comportamiento diferenciado en los dos ensayos; mientras que en el de otoño-invierno el tratamiento de fertilización con CRM presenta valores muy elevados (casi 7 mmol PNP /kg h) que casi triplican o cuadruplican, al resto de tratamientos (entre 2,7 y 1,6 mmol PNP/kg h) en el ensayo de primavera verano las altas tasas del tratamiento de CRM se amplía al CRMS y los compost de lodos de depuradora (CLA y CLP), sin que se aprecie ningún efecto inhibitor (Figura 5.11.B; Tabla 5.3). Nannipieri (1994) indica que la actividad fosfatasa se incrementa cuando se añaden fuentes de glucosa y nitrógeno al suelo. También indica que el fósforo añadido mediante fertilizantes orgánicos no deprime la actividad fosfatasa, la cual está adscrita mayoritariamente a la fracción enzimática extracelular.

La actividad AS presenta pautas similares, parcialmente coincidentes, a la PA. En el primer ensayo, es el CRM el que presenta las tasas más elevadas, seguido del CRMS. Todas las parcelas fertilizadas presentan niveles de esta actividad por lo menos 2,5 veces mayores al tratamiento control. En el segundo ensayo la pauta es similar con valores similares a los obtenidos anteriormente (Figura 5.12.A). Estos resultados demuestran la estrecha relación de la actividad AS con el contenido de COT (Castellano y Dick, 1988).

La actividad ureasa (UR) se ha cuantificado en el ensayo de otoño-invierno. No se aprecian incrementos de esta actividad con incorporación de enmiendas orgánicas como describen

Pascual *et al.* (2002) y Chang *et al.* (2007). Las tasas más elevadas han correspondido a las parcelas control y las fertilizadas con estiércol vacuno (EV) y compost de equinácea (CEQ) mientras que las tasas más bajas corresponden a las parcelas fertilizadas con compost de recogida municipal, sobretodo el tratamiento CRMS (Figura 5.12.B). Estas bajas tasas pueden ser debidas a los altos contenidos de amonio que actúa como factor inhibidor (Dick *et al.*, 1988), a otros componentes de estos materiales que puedan tener algún efecto inhibidor (Bremner y Douglas, 1971) o, menos probable debido a los contenidos de las aplicaciones realizadas, por el efecto de los metales pesados (Madejón *et al.*, 2001).

García-Gil *et al.* (2000), Marcote *et al.* (2001), Plaza *et al.* (2004), Ros *et al.* (2006b) y Jorge-Mardomingo *et al.* (2013) obtienen resultados similares al ensayar compost de recogida municipal a altas dosis (hasta 160 t ha⁻¹) con aumentos de la BM y las actividades BG y PA que suponen grandes incrementos respecto al suelo control; en cambio estos incrementos son más reducidos en la UR y proteasa (PR). Mientras que la PR presenta incrementos con aplicación de lodos de depuradora, la UR presenta, también, tasas más bajas en el compost de lodos que control. Miralles *et al.* (2012) en suelos calcáreos y bajo diferentes cubiertas vegetales naturales también obtienen correlaciones negativas de la UR con el COT y el NT. Marinari *et al.* (2000) y Marcote *et al.* (2001) constatan también un comportamiento ambiguo de la PR con los tratamientos orgánicos, mientras que la DH presenta, en ambos estudios, diferencias altamente significativas.

5.3.4. Producción vegetal

En el primer ensayo (otoño-invierno) las producciones más elevadas han correspondido a los tratamientos de fertilización con compost de recogida municipal (pesos medios de 633 y 530 g mf lechuga⁻¹ en los tratamientos de CRMS y CRM, respectivamente), seguidos de los tratamientos con EV y CEQ. Destacan las escasas producciones de los tratamientos con lodos de depuradora, que en CLP es inferior al tratamiento control. Los resultados de producción referidos a masa seca, presentan una distribución similar a los referidos a masa fresca (Tabla 5.5). El contenido medio de masa seca de las lechugas fue de 43±5 g ms kg⁻¹ mf sin presentar diferencias significativas entre tratamientos.

En el segundo ensayo (primavera-verano) las producciones son mucho más elevadas, más del doble a nivel global. La variabilidad entre plantas y parcelas de un mismo tratamiento es muy

elevada no pudiendo separar valores medios a nivel estadístico de acuerdo al test propuesto. De manera similar ocurre con las producciones expresadas en masa seca (Tabla 5.5).

Comparando los dos ensayos, al igual que ha ocurrido en el estudio del efecto combinado de la fertilización orgánica y mineral (capítulo 4) el desarrollo de las lechugas es mucho mayor en primavera-verano que en otoño invierno. Utilizando el mismo cultivar ('Mickel') adecuado para las dos estaciones alcanza un mejor desarrollo en primavera y verano (Miguel *et al.*, 2000)

Las bajas producciones de los compost de lodos de depuradora son atribuibles a la alta relación C/N de este material, con una biomasa microbiana en competencia con el cultivo por el nitrógeno disponible, limitando la mineralización neta de nitrógeno (Kaye y Hart, 1997; Robertson y Groffman, 2015), que también queda reflejada en muy bajos contenidos de nitratos en el suelo (Figura 5.8.A). Por otra parte, la lechuga se caracteriza por ser una especie sensible a materiales orgánicos no estabilizados (Pomares, 2000).

5.3.5. Relaciones entre parámetros

En la Tabla 5.7 se indican los coeficientes de correlación lineal y las significaciones estadísticas correspondientes entre los parámetros estudiados.

La BM ha presentado una correlación lineal significativa al nivel de $p < 0,001$ con todas las actividades enzimáticas, excepto la PR, con la cual no muestra ninguna relación lineal. El coeficiente de correlación entre la biomasa microbiana y el carbono orgánico es positivo moderado ($\rho = 0,690$) siendo más elevado con todas las fracciones orgánicas caracterizadas (EHT, AH, COS y GM), pudiendo considerar la correlación de positiva y alta. La razón de esta mejor relación con estas fracciones puede estar en la naturaleza de la materia orgánica: los tratamientos de fertilización que han supuesto un mayor incremento en el contenido de COT han sido los compost de recogida municipal y de lodos de depuradora. Estos últimos, con un contenido mucho más elevado de ligninas y más bajo en compuestos fácilmente biodegradables, además de una menor disponibilidad de nitrógeno, limitan la actividad microbiana. En cambio, los compost de recogida municipal, con un mayor contenido en nitrógeno y compuestos orgánicos lábiles favorecen la vida microbiana, traduciéndose en contenidos más elevados. De hecho, la BM presenta el coeficiente más elevado con el NT ($\rho = 0,836$). También presenta una correlación positiva destacable con el IEE, parámetro muy

dependiente de materia orgánica humificada. Como ponen de manifiesto, en un estudio similar Marinari *et al.* (2000) los parámetros biológicos se ven beneficiados de forma paralela a los parámetros físicos como la porosidad. Estos autores muestran correlaciones positivas significativas entre la BM y las actividades enzimáticas fosfatasa ácida, DH y PR en suelos mejorados con aportes orgánicos.

Schutter *et al.* (2001) y Acosta-Martínez *et al.* (2004) también destacan la relación directa del contenido en COT y la BM con la estabilidad de los agregados.

También es destacable, en estos dos ensayos la correlación moderada pero significativa, de la BM con la producción de las lechugas. Esta relación se sustenta en el hecho que todos los tratamientos de fertilización son orgánicos y los que suponen una mayor activación de la BM son los que disponen de un nivel más elevado de NT.

Las actividades enzimáticas DH, BG, PA y AS, presentan, entre ellas, coeficientes de correlación entre moderados y altos, con significaciones estadísticas al nivel de $p < 0,001$. La actividad UR presenta un comportamiento totalmente diferenciado, presentando correlaciones negativas con las actividades citadas, debido a que las tasas más bajas de esta actividad se dan en los tratamientos con compost de recogida municipal. La actividad PR no presenta una pauta diferenciada entre tratamientos y sólo presenta una correlación moderada con el COT y el PO.

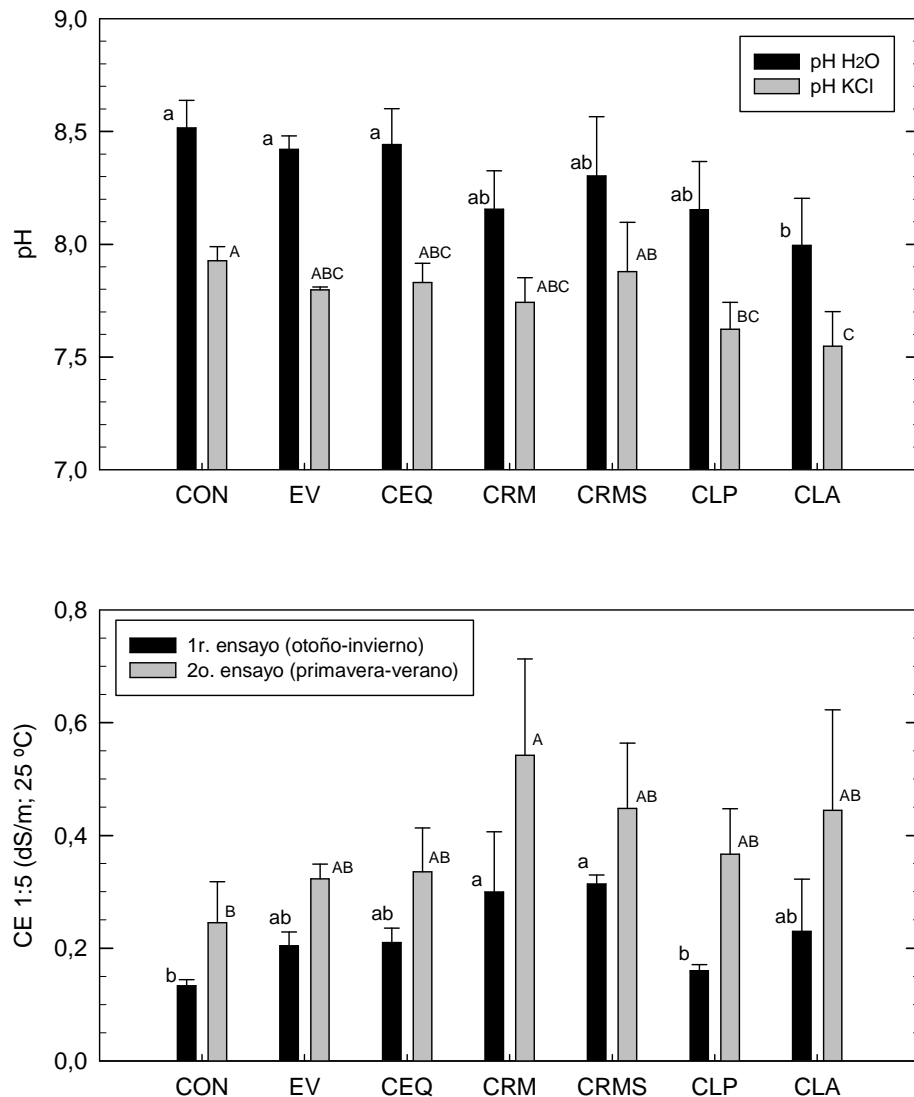
Entre los parámetros orgánicos cuantificados (COT, EHT, AH, COS, GM) las correlaciones son altas en todos los casos. Los AH es el parámetro que ha presentado coeficientes de correlación más elevados con el IEE.

Los elevados coeficientes de correlación de la BM y las actividades DH y BG con el COT se ven superados por los correspondientes a las correlaciones con el EHT, AH, COS y GM siendo estos últimos, también, indicadores de la actividad biológica del suelo. Por otra parte, la alta correspondencia entre la BM y las actividades DH y BG es indicadora de una alta proporción de enzimas asociados a células vivas (Nannipieri *et al.*, 1990; Perucci, 1992; García *et al.*, 1998).

Cuando referimos los contenidos de BM en función del COT son los compost de recogida municipal los que presentan los porcentajes más elevados (valores medios de 18 y 19 g kg⁻¹), mientras que el resto de tratamientos se sitúan entre 10 y 14 g kg⁻¹ (Tabla 5.4.A). Esta misma diferenciación, entre los compost de recogida municipal y el resto de tratamientos se da en la

5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas

BGe, con tasas que duplican, como mínimo, el resto (Tabla 5.4.A). En este sentido, los compost de lodos de depuradora son los que presentan las tasas específicas más bajas, poniendo de manifiesto la escasa disponibilidad de compuestos fácilmente descomponibles (Bandick y Dick, 1999). La DHe presenta un comportamiento diferenciado respecto a la BGe, con diferencias entre los composts de recogida municipal a favor del CRMS, mientras que el CRM no se diferencia estadísticamente de los compost de lodos y el control. En la PAe y ASe, los compost de recogida municipal presentan las tasas más elevadas pero no se alcanza significación estadística entre tratamientos (Tabla 5.4). Las bajas tasas de UR en los compost de recogida municipal y lodos se traduce en las tasas de URe más bajas (Tabla 5.4.B). De forma similar sucede con la PRe, donde las tasas más bajas corresponden a estos mismos tratamientos, de compost de recogida municipal y lodos de depuradora.

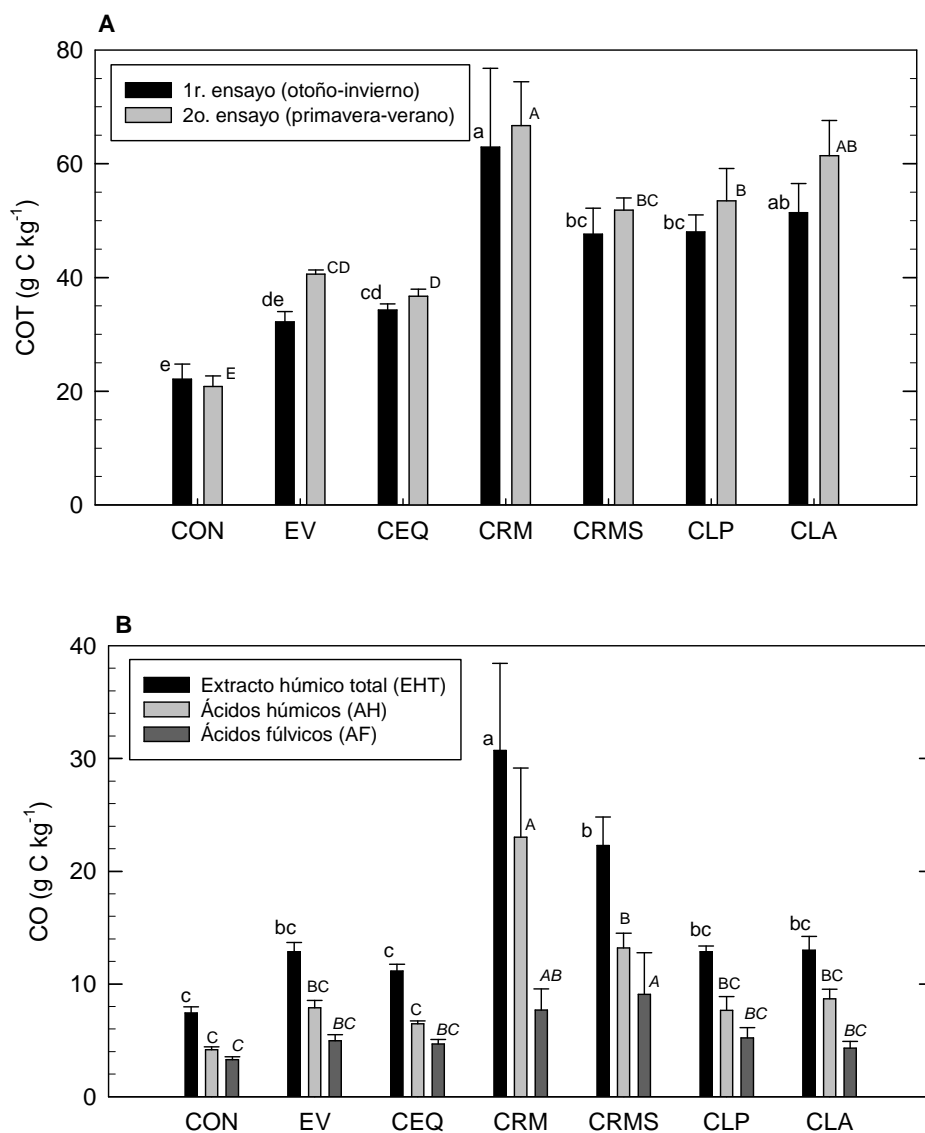


Figuras 5.3.A,B: pH en agua y en una solución de KCl correspondiente el 1r. ensayo (A). En la figura inferior (B), conductividad eléctrica del extracto 1:5, correspondiente a los dos ensayos. Valores medios acompañados de la desviación estándar ($n=4$).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior los valores de pH en agua se han diferenciado con letras minúsculas mientras que el pH con la solución de KCl se ha indicado con letras mayúsculas. En la figura inferior, los resultados del primer ensayo (otoño-invierno) se han indicado con letra minúscula y los del segundo con mayúsculas.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLP: compost de lodos de depuradora de Ariany.

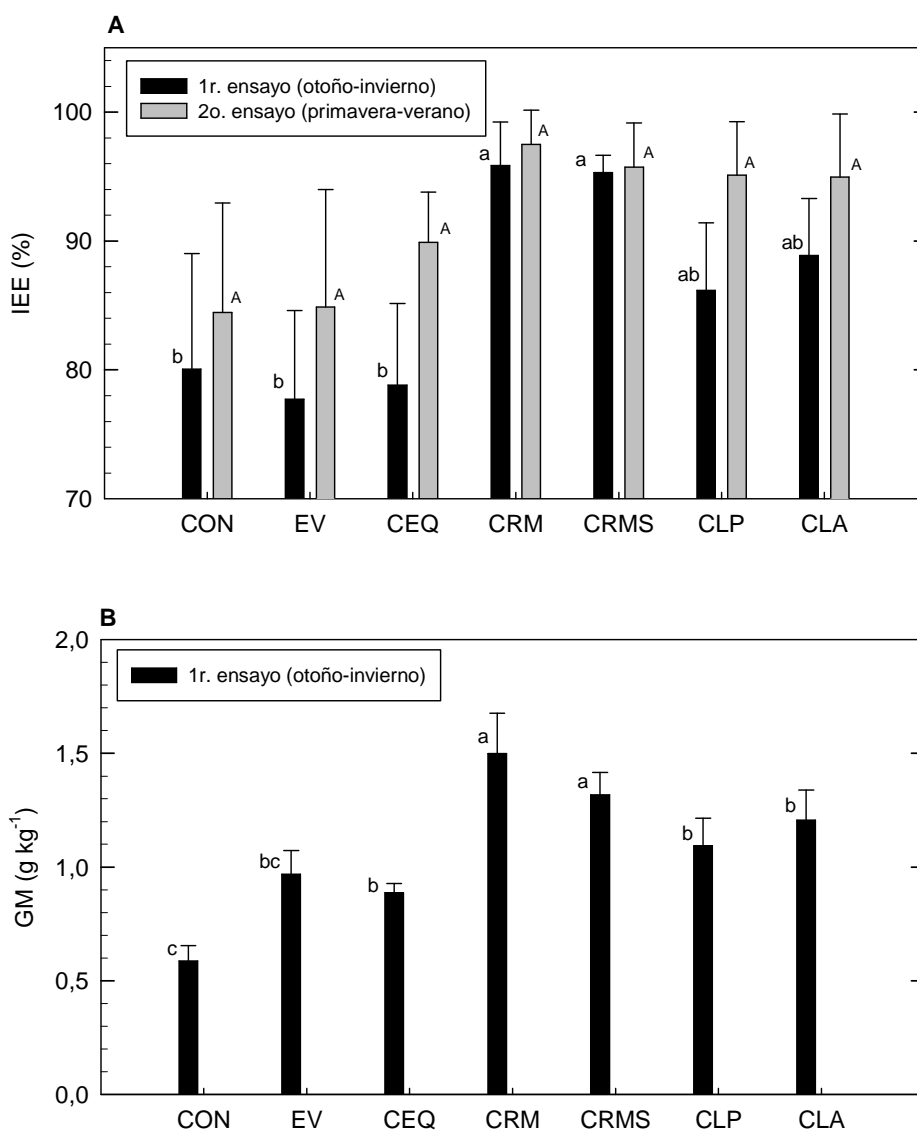
5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas



Figuras 5.4.A,B: En la figura superior, contenido en carbono orgánico (CO) y en la inferior, extracto húmico total (EHT) diferenciando las fracciones de ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF). Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior, los resultados del primer ensayo (otoño-invierno) se han indicado con letra minúscula y los del segundo con mayúsculas. En la figura inferior los valores del EHT se han diferenciado con letras minúsculas, los AH con mayúsculas normales y los AF con mayúsculas cursivas.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLP: compost de lodos de depuradora de Ariany.

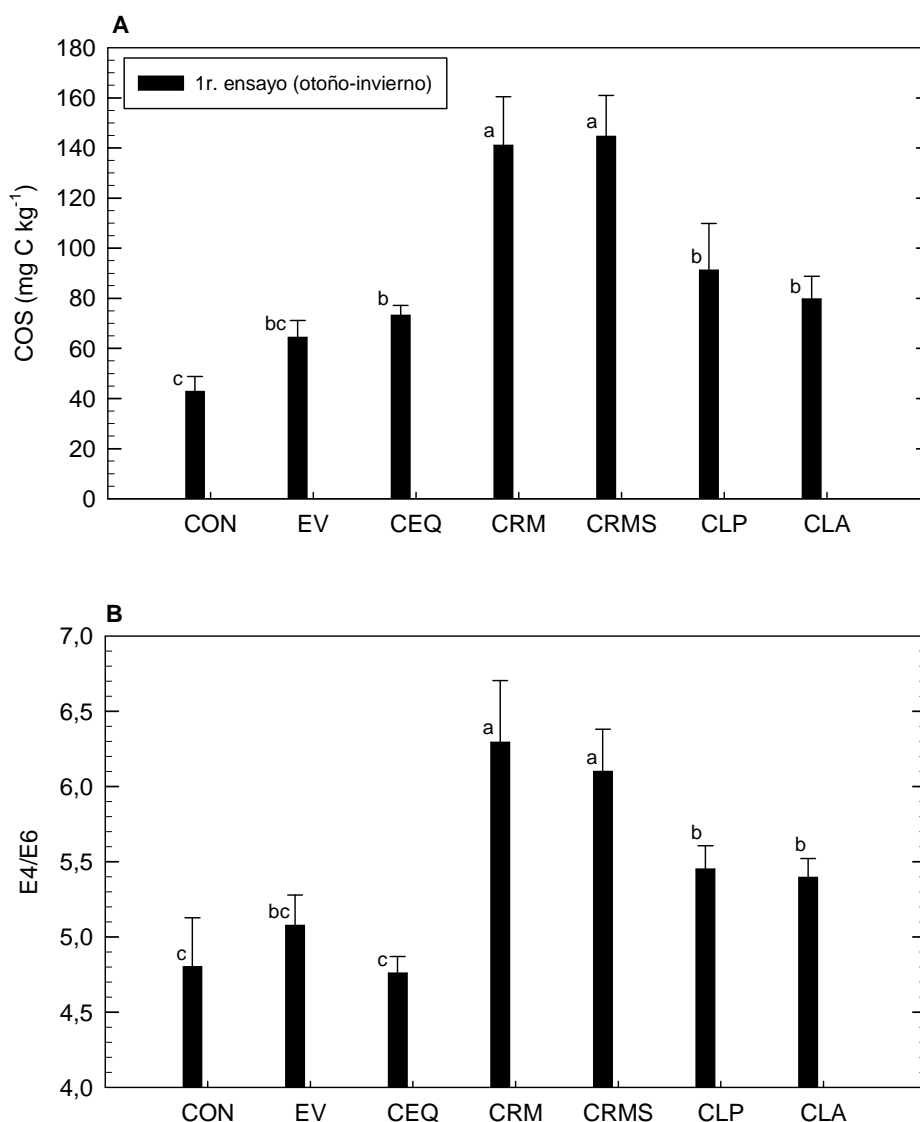


Figuras 5.5.A,B: En la figura superior, índice de estabilidad estructural (IEE) correspondiente a los dos ensayos y en la inferior, gomas microbianas (GM) correspondiente al primer ensayo. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior, los resultados del primer ensayo (otoño-invierno) se han indicado con letra minúscula y los del segundo con mayúsculas.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

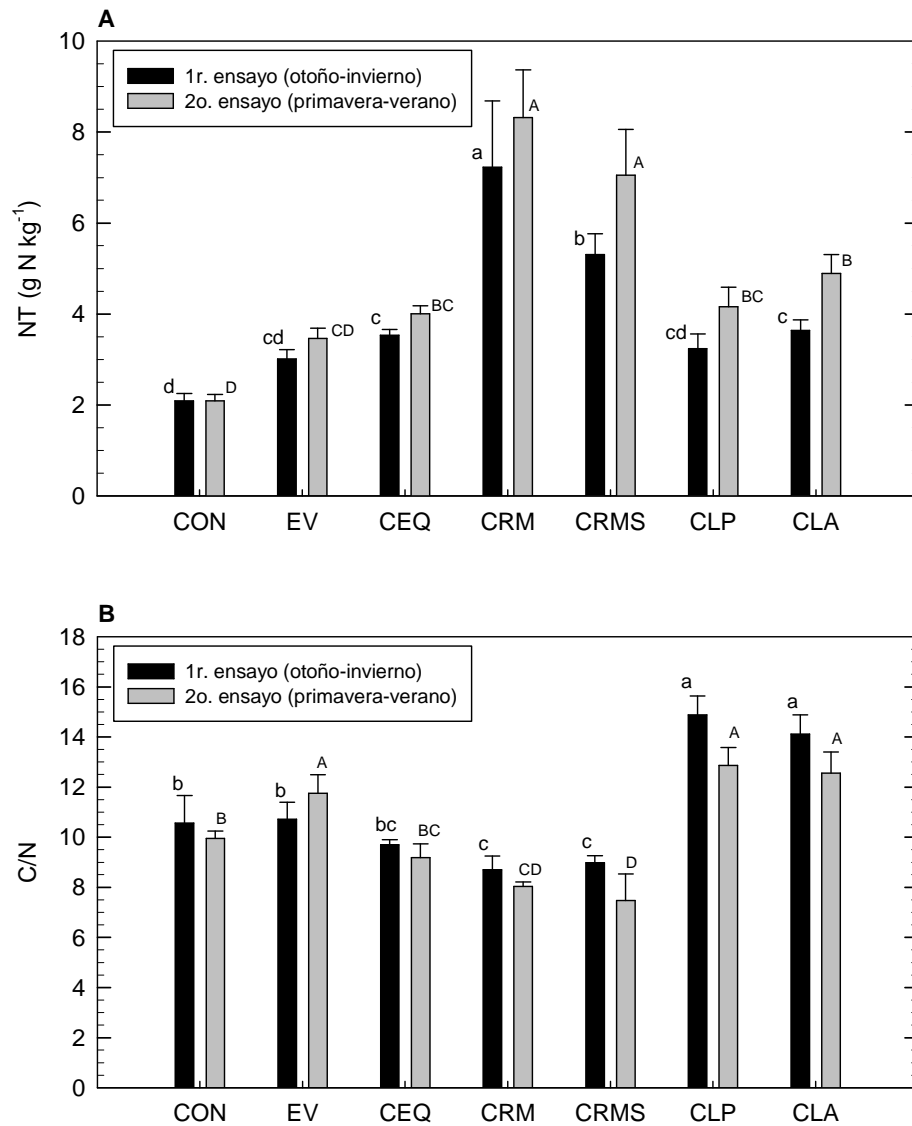
5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas



Figuras 5.6.A,B: En la figura superior, carbono orgánico soluble (COS) correspondiente al primer ensayo y en la inferior, representación gráfica de la relación E4/E6 del EHT. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

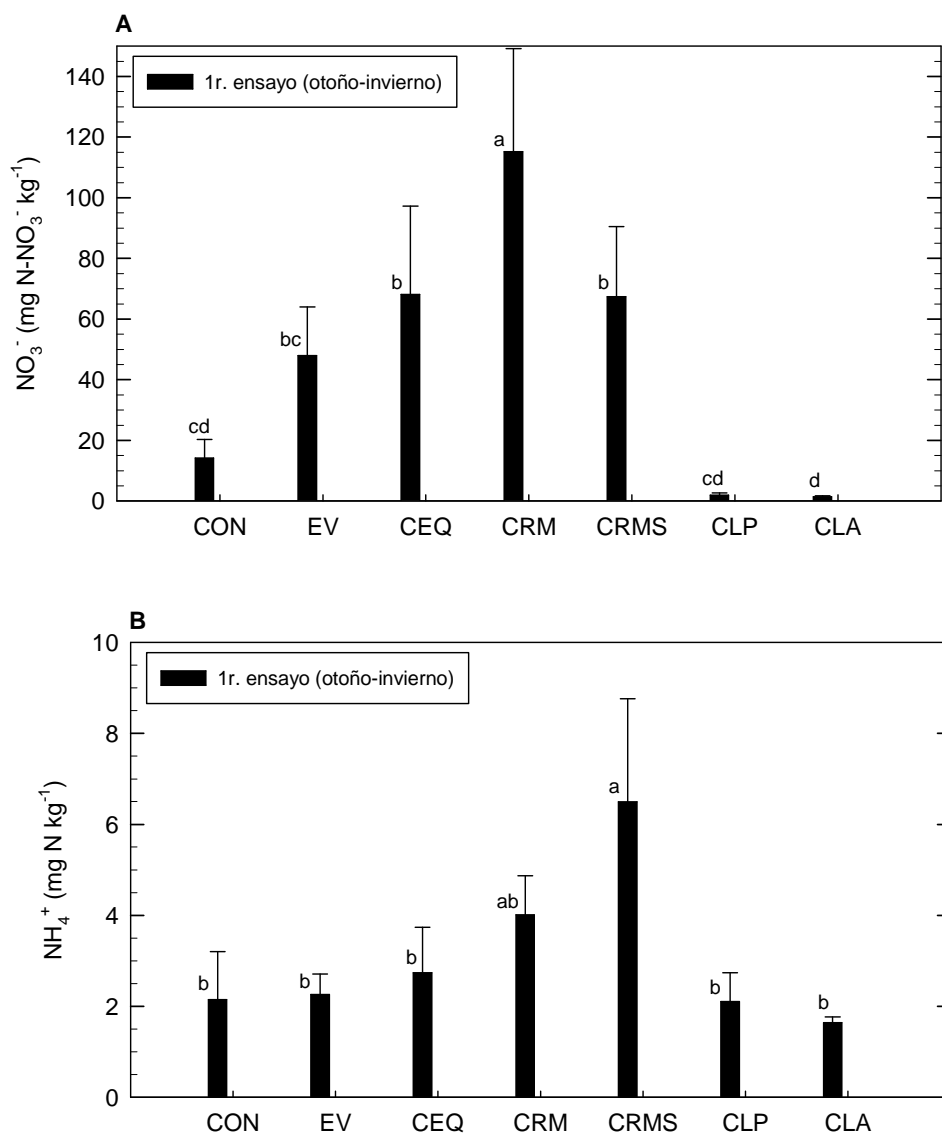


Figuras 5.7.A,B: Contenido en nitrógeno total (NT) y relación C/N. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los resultados del primer ensayo (otoño-invierno) se han indicado con letra minúscula y los del segundo con mayúsculas.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

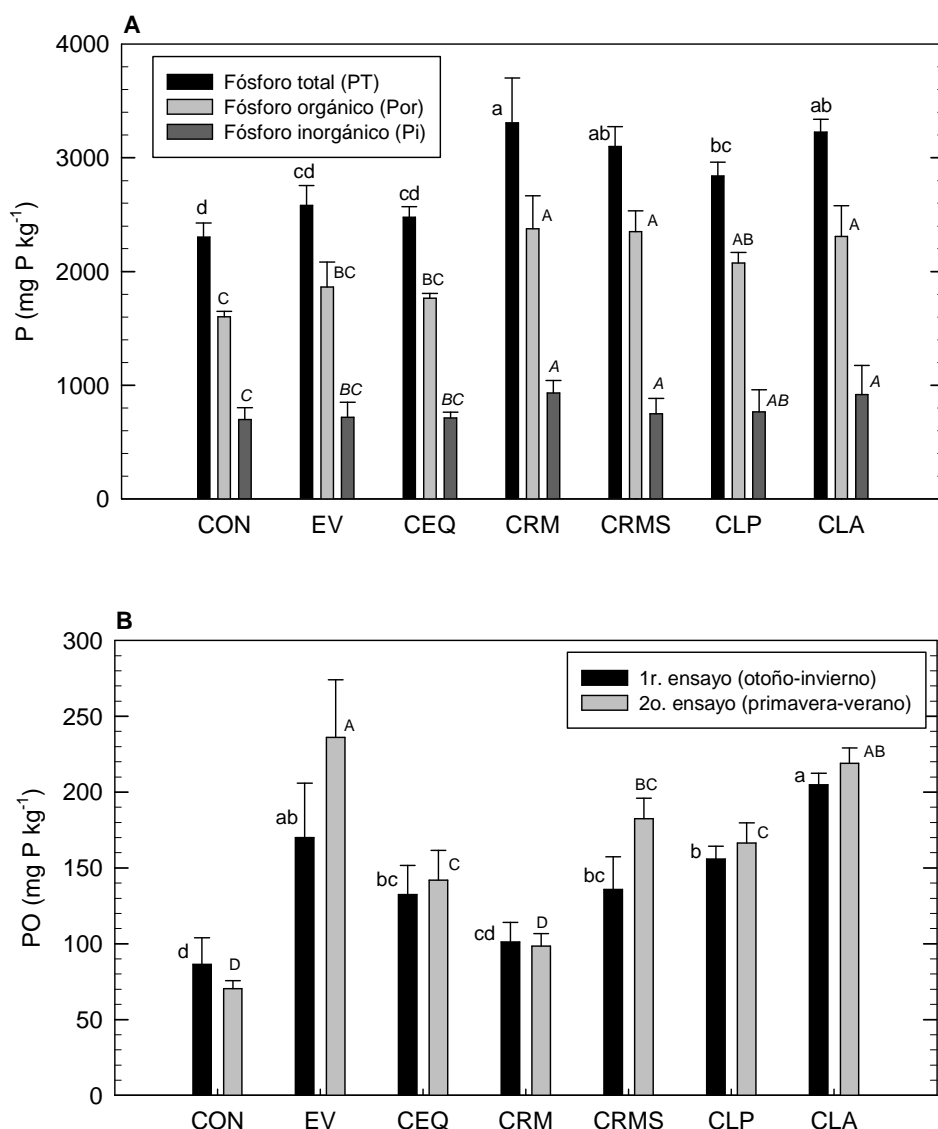
5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas



Figuras 5.8.A,B: Contenido en nitratos (NO₃⁻) y amonio (NH₄⁺). Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobra; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

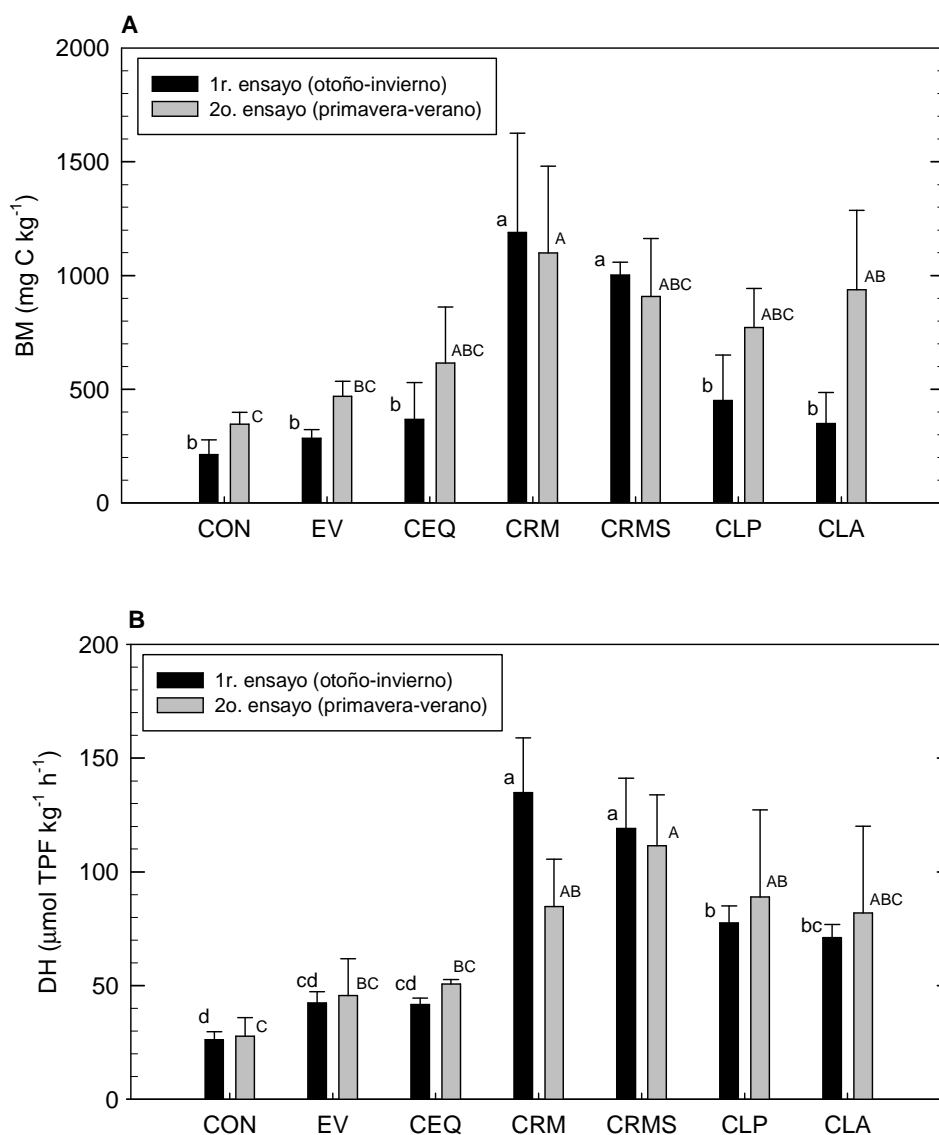


Figuras 5.9.A,B: Contenido en fósforo total (PT) desglosado en fósforo orgánico (Por) y fósforo inorgánico (Pi). En la figura inferior contenido en fósforo soluble obtenido mediante el método Olsen. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior (A) los valores del PT se han diferenciado con letras minúsculas, los de Por con mayúsculas normales y los correspondientes al Pi con mayúsculas cursivas. En la figura inferior, los resultados del primer ensayo (otoño-invierno) se han indicado con letra minúscula y los del segundo con mayúsculas.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobra; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

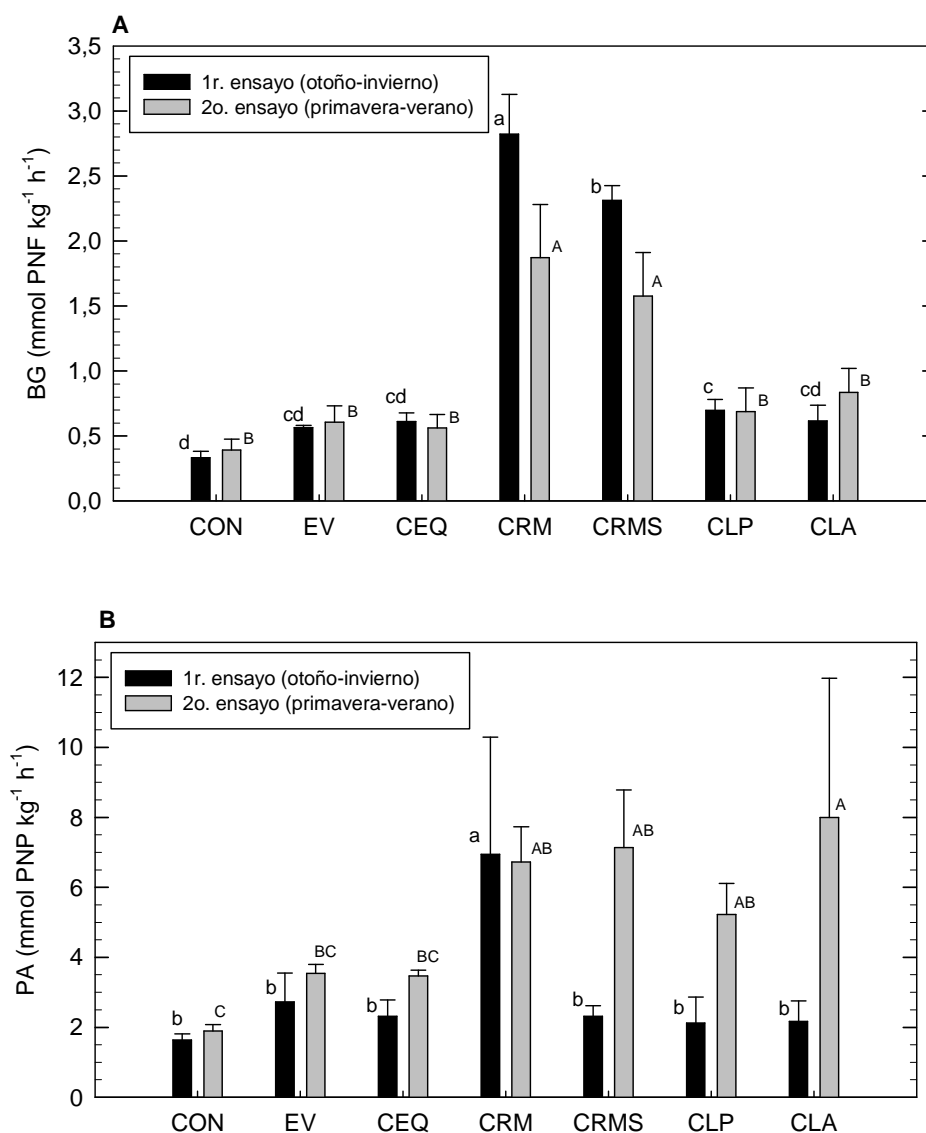
5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas



Figuras 5.10.A,B: En la figura superior, biomasa microbiana (BM) y en la inferior actividad deshidrogenasa (DH), correspondientes a los dos ensayos. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los resultados del primer ensayo se han indicado con letra minúscula y los del segundo con mayúsculas.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobra; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

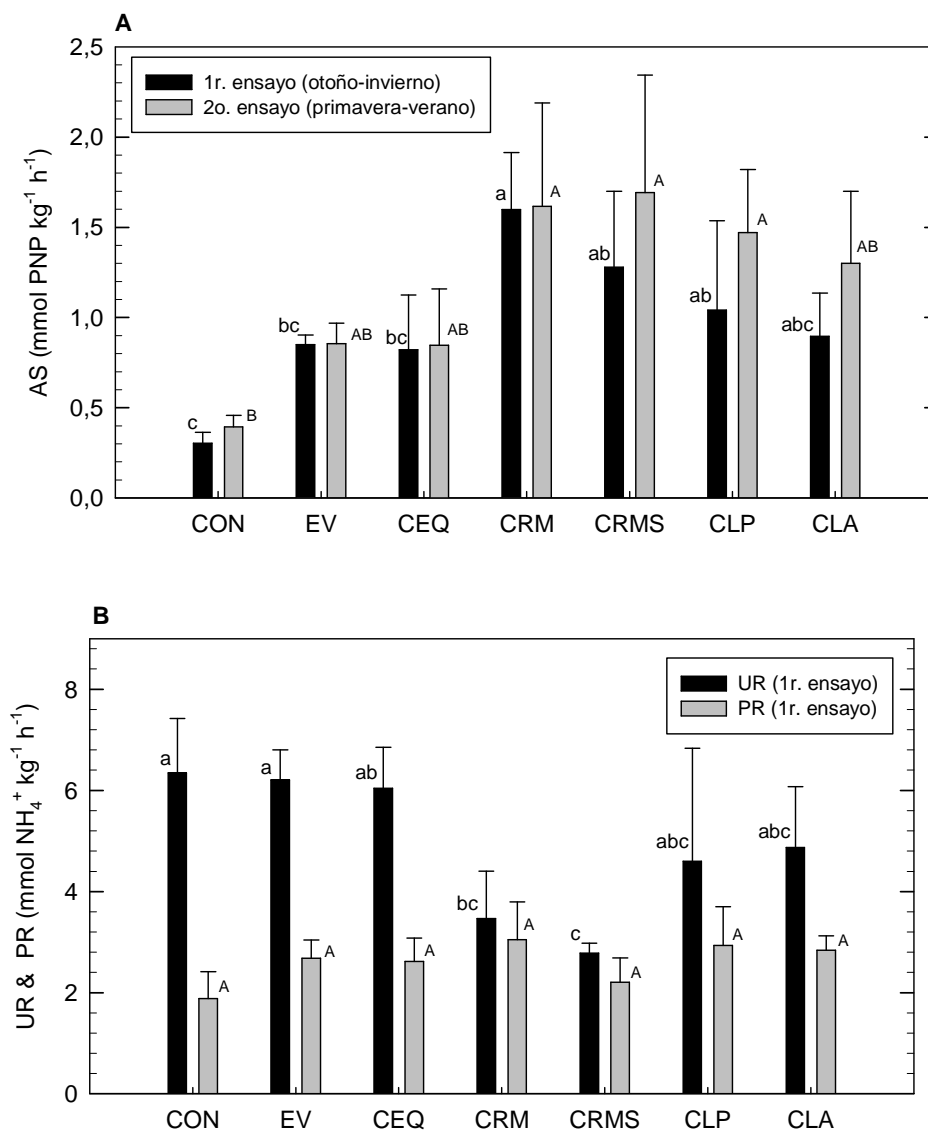


Figuras 5.11.A,B: En la figura superior, actividad β -glucosidasa (BG) y en la inferior actividad fosfatasa alcalina (PA), correspondientes a los dos ensayos. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los resultados del primer ensayo se han indicado con letra minúscula y los del segundo con mayúsculas.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas



Figuras 5.12.A,B: En la figura superior, actividad arilsulfatasa (AS) correspondiente a los dos ensayos y en la inferior actividades ureasa (UR) y proteasa (PR) correspondiente al primer ensayo. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior, los resultados del primer ensayo se han indicado con letra minúscula y los del segundo con letra mayúscula. En la figura inferior se han usado letras minúsculas para diferenciar las tasas de la UR y letras mayúsculas para la PR.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobra; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

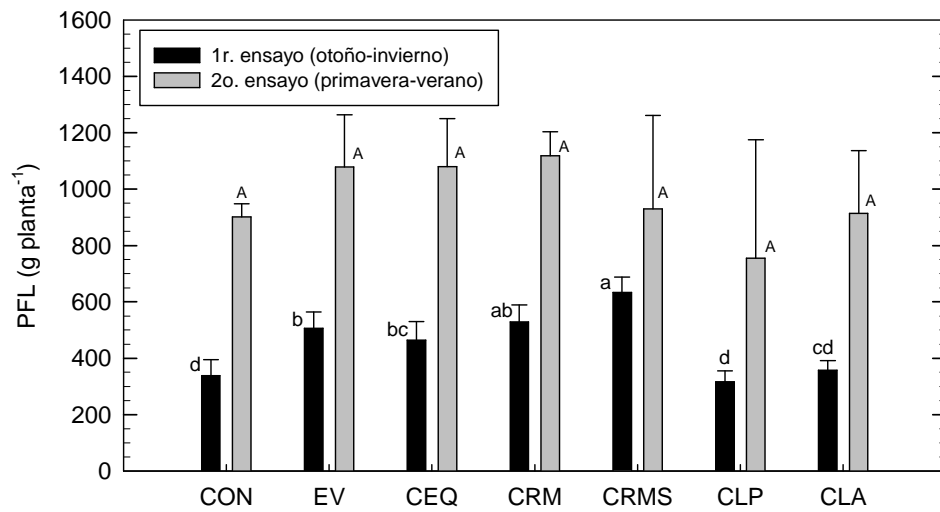


Figura 5.13: Producción de masa fresca de las lechugas (PFL) en los dos ensayos realizados. Valores medios acompañados de la desviación estándar ($n=4$, correspondiendo cada una de las muestras al valor medio de 4 plantas por parcela). Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p<0,05$ con el test de *Tukey*. Los tratamientos del primer ensayo (otoño-invierno) se han indicado con letra minúscula y los del segundo con mayúsculas.

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLP: compost de lodos de depuradora de Ariany.

5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas

Tabla 5.2: Análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías (tratamiento orgánico y ensayo) para los parámetros químicos: carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (NT), relación C/N, fósforo soluble Olsen (PO) e índice de estabilidad estructural (IEE).

		COT	NT	C/N	PO	IEE
n		(g C kg ⁻¹)	(g N kg ⁻¹)		(mg P kg ⁻¹)	(%)
Trat. (T):						
CON	8	21,5±2,2d	2,09±0,14 e	10,3±0,8bc	78±15c	82,6±8,3bc
EV	8	36,4±4,7c	3,24±0,31d	11,2±0,9b	203±49a	81,3±8,4c
CEQ	8	35,5±1,7c	3,77±0,29cd	9,4±0,5c	137±19b	84,3±7,7bc
CRM	8	64,8±10,6a	7,77±1,31a	8,4±0,5d	100±10c	96,7±2,9a
CRMS	8	49,8±4,0b	6,18±1,18b	8,2±1,1d	159±30b	95,5±2,3a
CLP	8	50,7±5,1b	3,70±0,61cd	13,9±1,3a	161±12b	90,6±6,5abc
CLA	8	56,4±7,5b	4,27±0,74c	13,3±1,1a	212±11a	91,9±5,4ab
p		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Ensayo (E):						
1	28	42,7±14,1	4,01±1,70	11,1±2,4	141±42	86,0±8,8
2	28	47,4±15,4	4,85±2,09	10,3±2,1	159±59	91,5±7,3
p		0,002	<0,001	<0,001	0,001	0,001
Interacción:						
T x E		0,447	0,109	0,002	0,001	0,595

T: tratamiento orgánico; CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

p: significación estadística.

Los tratamientos orgánicos con distinta letra para un mismo parámetro se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.

Tabla 5.3: Análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías (tratamiento orgánico y ensayo) para la biomasa microbiana (BM, mg C kg⁻¹) y actividades enzimáticas: deshidrogenasa (DH, $\mu\text{mol TPF kg}^{-1} \text{h}^{-1}$), β -glucosidasa (BG, $\text{mmol PNP kg}^{-1} \text{h}^{-1}$), fosfatasa alcalina (PA, $\text{mmol PNP kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) y arilsulfatasa (AS, $\text{mmol PNP kg}^{-1} \text{h}^{-1}$).

		BM	DH	BG	PA	AS
n						
Trat. (T):						
CON	8	279±90d	27,0±5,8 e	0,36±0,07d	1,77±0,21c	0,35±0,07c
EV	8	377±110cd	44,0±11,2 e	0,59±0,09cd	3,14±0,71bc	0,85±0,08bc
CEQ	8	492±233cd	46,1±5,3de	0,59±0,08cd	2,89±0,70bc	0,83±0,28bc
CRM	8	1144±383a	109,8±33,9ab	2,35±0,61a	6,84±2,29a	1,61±0,43a
CRMS	8	954±179ab	115,3±21,0a	1,95±0,46b	4,73±2,80ab	1,49±0,55a
CLP	8	611±243bcd	83,3±26,2bc	0,69±0,13c	3,67±1,82bc	1,26±0,46ab
CLA	8	643±399bcd	76,5±25,9cd	0,73±0,19c	5,08±4,08ab	1,10±0,37ab
p		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Ensayo (E):						
1	28	551±402	73,3±40,3	1,14±0,95	2,89±2,10	0,97±0,47
2	28	735±336	70,2±35,1	0,93±0,57	5,14±2,61	1,17±0,58
p		0,004	0,558	<0,001	<0,001	0,046
Interacción:						
T x E		0,059	0,040	<0,001	0,001	0,686

T: tratamiento orgánico; CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

p: significación estadística.

Los tratamientos orgánicos con distinta letra para un mismo parámetro se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.

Tablas 5.4.A,B: En la tabla superior (A), análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías (tratamiento orgánico y ensayo) para la biomasa microbiana referida al contenido de carbono orgánico (BM/COT, g C kg⁻¹ C) y las actividades enzimáticas específicas: deshidrogenasa (DHe, mmol TPF kg⁻¹ C h⁻¹), β-glucosidasa (BGe, mmol PNP kg⁻¹ C h⁻¹), fosfatasa alcalina (PAe, mmol PNP kg⁻¹ C h⁻¹) y arilsulfatasa (ASe, mmol PNP kg⁻¹ C h⁻¹). En la tabla inferior (B) análisis de la varianza de una vía, correspondiente al primer ensayo, para las actividades enzimáticas específicas de la ureasa (URe, mmol NH₄⁺ kg⁻¹ C h⁻¹) y la proteasa BAA (PR, mmol NH₄⁺ kg⁻¹ C h⁻¹).

A.

	n	BM/COT	DHe	BGe	PAe	ASe
Trat. (T):						
CON	8	13,4±5,2 abc	1,26±0,22 bc	16,9±3,4 b	83,2±13,5 a	16,6±4,7 a
EV	8	10,2±2,0 c	1,22±0,30 c	16,2±2,5 b	86,0±17,3 a	23,8±3,8 a
CEQ	8	13,7±6,1 abc	1,30±0,10 bc	16,6±2,5 b	81,0±17,6 a	23,5±7,8 a
CRM	8	17,8±5,4 ab	1,71±0,51 b	36,9±11,5 a	103,3±22,4 a	24,9±6,1 a
CRMS	8	19,3±4,2 a	2,32±0,38 a	39,8±11,8 a	93,5±53,6 a	29,8±10,6 a
CLP	8	11,9±4,6 bc	1,63±0,40 bc	13,7±2,3 b	71,4±33,7 a	24,7±9,5 a
CLA	8	10,9±5,6 c	1,35±0,35 bc	12,8±2,4 b	85,2±58,7 a	19,4±5,9 a
p		<0,001	<0,001	<0,001	0,212	0,029
Ensayo (E):						
1	28	12,2±6,0	1,63±0,51	24,5±15,4	67,0±27,6	22,2±7,1
2	28	15,6±4,7	1,46±0,47	19,1±7,6	105,5±30,2	24,3±8,7
p		0,004	0,042	<0,001	<0,001	0,281
Interacción:						
T x E		0,044	0,018	<0,001	<0,001	0,587

B.

	n	URe	Pre
Trat. (T):			
CON	4	287,7±44,4 a	85,2±24,0 a
EV	4	194,0±27,9 ab	83,4±11,3 a
CEQ	4	176,8±27,5 ab	76,4±13,2 ab
CRM	4	58,2±23,5 b	51,9±22,3 ab
CRMS	4	152,8±89,9 ab	46,3±9,2 b
CLP	4	94,9±45,3 b	60,6±12,3 ab
CLA	4	94,0±18,1 b	55,4±5,6 ab
p		0,008	0,006

T: tratamiento orgánico; CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

p: significación estadística.

Los tratamientos orgánicos con distinta letra para un mismo parámetro se diferencian al nivel de p<0,05 con el test de *Tukey*.

5. Comparación de diferentes enmiendas orgánicas

Tabla 5.5: Análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías (tratamiento orgánico y ensayo) para la producción de las lechugas expresado en masa fresca (PLF), producción expresada en masa seca (PLS) y contenido en masa seca de las lechugas (MSL).

		PLF (g mf planta ⁻¹)	PLS (g ms planta ⁻¹)	MSL (g ms kg ⁻¹ mf)
Trat. (T):				
	n			
CON	8	620±305ab	29,5±14,5a	48,2±7,1a
EV	8	792±331ab	39,2±20,6a	47,4±6,7a
CEQ	8	772±350ab	37,4±23,1a	44,9±10,8a
CRM	8	824±322a	36,5±16,4a	42,3±3,2a
CRMS	8	782±271ab	36,1±12,8a	46,1±0,7a
CLP	8	536±362b	27,4±21,2a	48,8±10,5a
CLA	8	635±332ab	32,9±21,2a	49,8±9,1a
p		0,012	0,273	0,677
Ensayo (E):				
	1 28	449±120	19,5±5,6	42,9±4,6
	2 28	968±246	48,7±14,4	50,7±7,4
p		<0,001	<0,001	0,005
Interacción:				
T x E		0,556	0,452	0,370

T: tratamiento orgánico; CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

p: significación estadística.

Los tratamientos orgánicos con distinta letra para un mismo parámetro se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.

Tabla 5.6: Porcentaje de ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF) respecto al contenido de carbono orgánico total (COT). Relación entre ácidos húmicos y fúlvicos (AH/AF).

	AH/COT (%)	AF/COT (%)	AH/AF
CON	19,0±1,6 d	14,9±1,4 ab	1,27±0,04 b
EV	24,6±2,1 c	15,4±0,9 a	1,61±0,22 b
CEQ	18,8±0,6 d	13,7±0,8 ab	1,38±0,09 b
CRM	35,0±1,9 a	12,1±2,8 abc	2,99±0,58 a
CRMS	30,2±2,8 b	16,0±2,6 a	1,93±0,46 b
CLP	15,9±2,0 d	10,9±2,4 bc	1,55±0,58 b
CLA	17,0±1,4 d	8,3±0,7 c	2,04±0,27 b

CON: control, sin fertilización orgánica; EV: estiércol de vacuno; CEQ: compost de equinácea; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany.

Los tratamientos con distinta letra para un mismo parámetro se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.

Tabla 5.7: Coeficientes de correlación de *Spearman*, y niveles de significación, obtenidos entre parámetros bioquímicos y químicos del suelo correspondiente a los dos ensayos de evaluación de diferentes fuentes de materia orgánica.

A.

	DH	BG	PA	AS	UR	PR	COT	EHT	AH	COS	GM	NT	PO	IEE	PFL
BM	0,731 ***	0,734 ***	0,674 ***	0,769 ***	-0,671 ***	0,271 -	0,690 ***	0,778 ***	0,749 ***	0,739 ***	0,765 ***	0,836 ***	0,071 -	0,675 ***	0,435 **
DH		0,825 ***	0,565 ***	0,713 ***	-0,738 ***	0,263 -	0,800 ***	0,905 ***	0,898 ***	0,915 ***	0,923 ***	0,791 ***	0,227 -	0,612 ***	0,048 -
BG			0,563 ***	0,720 ***	-0,685 ***	0,297 -	0,732 ***	0,860 ***	0,820 ***	0,862 ***	0,788 ***	0,827 ***	0,088 -	0,606 ***	0,177 -
PA				0,663 ***	-0,361 -	0,461 *	0,694 ***	0,602 **	0,625 ***	0,434 *	0,524 **	0,760 ***	0,287 *	0,563 ***	0,519 ***
AS					-0,419 *	0,561 **	0,748 ***	0,775 ***	0,745 ***	0,678 ***	0,767 ***	0,768 ***	0,261 -	0,588 ***	0,264 *
UR						0,043 -	-0,596 **	-0,656 ***	-0,615 **	-0,754 ***	-0,669 ***	-0,592 **	-0,068 -	-0,626 **	-0,238 -
PR							0,430 *	0,305 -	0,284 -	0,122 -	0,311 -	0,297 -	0,433 *	-0,026 -	-0,085 -
COT								0,796 ***	0,765 ***	0,783 ***	0,897 ***	0,826 ***	0,318 *	0,717 ***	0,202 -
EHT									0,962 ***	0,849 ***	0,897 ***	0,823 ***	0,164 -	0,700 ***	0,549 **
AH										0,804 ***	0,901 ***	0,834 ***	0,144 -	0,737 ***	0,574 **
COS											0,843 ***	0,849 ***	0,081 -	0,720 ***	0,519 **
GM												0,833 ***	0,218 -	0,707 ***	0,421 *
NT													0,132 -	0,768 ***	0,422 **
PO														-0,104 -	0,049 -
IEE															0,466 **

B.

	BM	DH	BG	PA	AS	UR	PR	COT	EHT	COS	GM	NT	PFL	NO3	NH4
C/N	-0,518 **	-0,312 -	-0,446 *	-0,380 *	-0,323 -	0,216 -	0,114 -	-0,030 -	-0,366 -	-0,374 *	-0,261 -	-0,557 **	-0,759 ***	-0,838 ***	-0,638 ***
NO3	0,521 **	0,323 -	0,468 *	0,533 **	0,421 *	-0,226 -	-0,034 -	0,088 -	0,403 *	0,380 *	0,279 -	0,545 **	0,783 ***		
NH4	0,605 **	0,534 **	0,653 ***	0,536 **	0,504 **	-0,527 **	0,044 -	0,235 -	0,531 **	0,559 **	0,439 *	0,560 **	0,571 **	0,581 **	

BM: Biomasa microbiana; DH: actividad deshidrogenasa; BG: actividad β -glucosidasa; PA: actividad fosfatasa alcalina; AS: actividad arilsulfatasa; UR: actividad ureasa; PR: actividad BBA-proteasa; COT: carbono orgánico total; EHT: extracto húmico total; AH: ácidos húmicos; COS: carbono orgánico soluble; GM: gomas microbianas; NT: nitrógeno total; PO: fósforo soluble Olsen; IEE: índice de estabilidad estructural; PFL: producción masa fresca de las lechugas; C/N: relación C/N; NO3: nitratos en suelo; NH4: amonio en suelo. Para los parámetros UR, PR, EHT, AH, COS, GM, C/N, NO3 y NH4 el número de muestras es 28, correspondiendo al primer ensayo de otoño-invierno y los coeficientes se representan en letra cursiva. Para el resto de parámetros n=56, reuniendo las muestras de los dos ensayos.

*, **, ***: significación a los niveles de $p < 0,05$, $p < 0,01$ y $p < 0,001$, respectivamente, de acuerdo al coeficiente de *Spearman*.

6. Influencia de la vegetación natural y el cultivo sobre los parámetros físicos, químicos y biológicos del suelo

6.1. Introducción

En los ambientes mediterráneos las formaciones arbustivas presentan características fisonómicas muy variadas, en función de los condicionantes edafoclimáticas. Cuando la disponibilidad hídrica es un factor crítico, la disposición de la vegetación está condicionada por las características edáficas a pequeña escala. Esta distribución en mosaico está marcada por la disponibilidad de agua y nutrientes (Vinton y Burke, 1995; Bennett y Adams, 1999).

La vegetación desempeña un papel decisivo para la protección del suelo y en el aporte de materia orgánica, activando los procesos biológicos del suelo (Ros *et al.*, 2003; García *et al.*, 2005) y mejorando progresivamente su potencial productivo y funcional.

Estudios realizados sobre formaciones esclerófilas mediterráneas ponen de manifiesto que la cubierta vegetal y, más específicamente, el estado de la sucesión ecológica, son determinantes sobre las características químicas y biológicas del suelo (Rutigliano *et al.*, 2004).

El laboreo constituye un fuerte impacto sobre el suelo, reduciendo el contenido de materia orgánica e incidiendo negativamente sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Curci *et al.*, 1997; Saviozzi *et al.*, 2001). El estudio paralelo de suelos cultivados y suelos no alterados sometidos a unas mismas condiciones edafoclimáticas permite valorar el impacto del laboreo sobre el suelo y poder establecer estrategias para recuperar su funcionalidad, a partir de la referencia que constituye la vegetación natural establecida.

En el presente trabajo, se estudia el efecto de tres especies leñosas (*Pinus halepensis*, *Olea europaea* var. *sylvestris* y *Pistacia lentiscus*), una cubierta herbácea de terófitos y geófitos y el laboreo sobre las características biológicas del suelo (biomasa microbiana y seis actividades enzimáticas: deshidrogenasa, β -glucosidasa, arilsulfatasa, fosfatasa alcalina, ureasa y proteasa).

6.2. Zona de estudio

El estudio se ha llevado a cabo en la zona de Xorrigo, situada al este de Palma, a 15 km, lindante con la carretera que une esta ciudad con Manacor (ETRS89, uso 31N; X: 485100, Y: 4380100; 130 m sobre el nivel del mar). Se encuentra sobre una plataforma carbonatada constituida por calcarenitas del Plioceno (IGME, 1991b) (Fotografía 6.1).

La zona de estudio está constituida por un bosque esclerófilo, con una fisonomía muy abierta (Fotografía 6.2), formado por la comunidad *Cneoro tricocci-Ceratonietum siliquae*, siendo el acebuche (*Olea europaea* var. *sylvestris*), la mata o lentisco (*Pistacia lentiscus*) y el pino carrasco (*Pinus halepensis*) las especies leñosas más relevantes. En los espacios más abiertos sin desarrollo de las especies arbóreas se asocia una pradera xerofítica constituida por la comunidad de fenazo: *Hypochoerido achyrophori-Brachypodietum retusi*. Esta comunidad presenta gran diversidad de especies, siendo las formas vitales características geófitos, hemicriptófitos y terófitos (Llorens *et al*, 2007). En la Tabla 6.1 se relacionan las principales especies vegetales presentes en la zona.

Tabla 6.1: Especies vegetales inventariadas en la zona de estudio.

<i>Pinus halepensis</i>	<i>Plantago bellardii</i>	<i>Avenula bromoides</i>
<i>Olea europaea</i>	<i>Plantago lagopus</i>	<i>Briza maxima</i>
<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Pallenis spinosa</i>	<i>Hypochoeris achyrophorus</i>
<i>Cistus albidus</i>	<i>Bellardia trixago</i>	<i>Centaurium maritimum</i>
<i>Cistus monspeliensis</i>	<i>Blackstonia perfoliata</i>	<i>Dactylis glomerata</i>
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Ruta chalepensis</i>	<i>Bromus rubens</i>
<i>Asphodelus aestivus</i>	<i>Barlia robertiana</i>	<i>Bromus madritensis</i>
<i>Asphodelus stipularis</i>	<i>Gladiolus illyricus</i>	<i>Gastridium ventricosum</i>
<i>Teucrium capitatum</i>	<i>Allium subvillosum</i>	<i>Stipa capensis</i>
<i>Phagnalon rupestre</i>	<i>Brachypodium retusum</i>	<i>Squamarina crasa</i>
<i>Helichrysum stoechas</i>	<i>Brachypodium distachyon</i>	<i>Diplochistes sp</i>
<i>Centaurea melitensis</i>	<i>Avena barbata</i>	<i>Cladonia foliacea</i>

El suelo presenta escasa profundidad con muchos afloramientos de roca constituyendo un *Eutric Lithic Leptosol* (IUSS Working Group WRB, 2014) que en zonas puntuales, en función de la profundidad y contenido de materia orgánica se manifiesta en forma de *Eutric Leptosol* y *Somerirendzic Leptosol*. De acuerdo a los criterios de *Soil Taxonomy* (Soil Survey Staff, 2014) se trata de un *Lithic Xerorthent* con asociaciones muy puntuales de *Lithic Haploxerolls*.

En las zonas donde la profundidad del suelo es mayor (*Eutric Leptosol*) se aprovecha para cultivos herbáceos para la alimentación de las especies cinegéticas. Estos rodales de cultivo son de dimensiones reducidas, entre 300 y más de 1000 m², basándose el laboreo del suelo en pases con cultivadores.

Se han diferenciado cinco situaciones para evaluar el efecto de la cubierta vegetal y el laboreo sobre el suelo: bajo pinos, bajo acebuches, bajo lentiscos, suelo correspondiente a la pradera xerofítica y suelo cultivado. El suelo situado bajo pinos está constituido por un horizonte superior orgánico sobre el horizonte mineral. De forma similar ocurre en el suelo situado bajo la influencia del lentisco. En el suelo situado bajo los acebuches no existe un horizonte orgánico consolidado; de forma similar ocurre en el suelo de la cubierta herbácea.

El estudio se centra en la caracterización del horizonte mineral en las cinco situaciones descritas. De forma complementaria se ha caracterizado el horizonte orgánico bajo pinos y lentiscos para completar la información de los respectivos suelos.

En la Tabla 6.2 se indican las características morfológicas de los suelos de la zona.

Tabla 6.2: Descripción del suelo en las cinco situaciones objeto de estudio. Se ha obviado la indicación del horizonte R, que caracteriza la zona de estudio y está constituida por areniscas calcáreas del Plioceno, formando una capa continua con algunas fisuras que posibilitan el avance radicular de las especies leñosas. Tampoco se indica la presencia de carbonatos, que en todos los perfiles ha sido notoria. La tipología del suelo se ha determinado de acuerdo a IUSS Working Group WRB (2014).

La textura media del suelo es franca (272,7±9,2 g kg⁻¹ de arenas, 471,0±17,5 g kg⁻¹ de limos y 256,5±8,3 g kg⁻¹ de arcillas).

A. Suelo bajo pino [*Eutric Leptosol* (*Humic, Loamic*)]

Hor.	Prof. (cm)	Descripción de campo
Oi	+ 5-3	Capa orgánica de material de pino variado, tanto identificable (acículas, trozos de corteza de pino, ramitas de 2-5 mm de diámetro, flores de pino, hojarasca, piñas), como también no reconocible. Presencia de micelio blanco envolviendo acículas, trozos de cortezas y ramitas.
Oa	+3-0	Capa orgánica, medianamente apelmazada, y de material orgánico muy descompuesto, de origen no identificable. Presencia de micelio blanco y abundantes raíces muy finas y finas.
A	0-10(20)	Estructura entre granular y subangular, entre muy fina y fina. Color marrón fuerte en seco (7,5 YR 4/6) y marrón oscuro en húmedo (7,5 YR 3/4). Con frecuentes elementos gruesos tamaño gravas, subangulares y subredondeado esferoidales y tubulares. Abundantes raíces muy finas y finas y presencia de medianas. Frecuentes micelios blancos y pequeños cúmulos de material orgánico muy fino.

Tabla 6.2: (Continuación)**B. Suelo bajo acebuche [entre *Eutric Lithic Leptosol* y *Eutric Leptosol (Humic, Loamic)*]**

Hor.	Prof. (cm)	Descripción de campo
Oi	+ 2(1)-0	Capa orgánica, constituida por material orgánico variado, hojas y ramitas de 2-5 mm de diámetro de acebuche y huesos de la aceituna. Presencia de micelio blanco.
A	0-8 (17)	Estructura subangular con tendencia a angular, de muy fina a mediana. Color marrón fuerte (7,5 YR 4/6) en seco y entre marrón oscuro rojizo y marrón oscuro en húmedo (5 YR 3/4 y 7,5 YR 4/4). De pocos a frecuentes elementos gruesos tamaño gravas subredondeados esferoidales y tubulares. De abundantes a frecuentes raíces finas y frecuentes bulbos. Abundantes pellets y pequeños cúmulos de material orgánico muy fino, así como material orgánico fragmentado.

C. Suelo bajo lentisco [*Somerirendzic Leptosol (Humic, Loamic)*]

Hor.	Prof. (cm)	Descripción de campo
Oi	+5-2	Capa orgánica, constituida por restos vegetales variados de lentisco (hojas y ramitas de 1-5 mm de diámetro).
Oa	+2-0	Material orgánico no identificable y frecuentes raíces finas y muy finas. Presencia de micelio blanco.
A	0-10(18)	Estructura granular y subangular, de muy fina a mediana. Color marrón oscuro en seco (7,5 YR 3/3) y en húmedo (7,5 YR 3/2). Pocos elementos gruesos tamaño gravas entre subredondeadas y subangulares esferoidales y tubulares. Abundantes raíces finas y presencia de bulbos. De frecuentes a abundantes pellets y pequeños cúmulos de material orgánico muy fino, así como material orgánico fragmentado de mata. Presencia de micelio blanco rodeando las raíces.

D. Suelo bajo herbáceas [entre *Eutric Lithic Leptosol* y *Eutric Leptosol (Loamic)*]

Hor.	Prof. (cm)	Descripción de campo
A	0-7(18)	Estructura subangular con tendencia a angular, de muy fina a mediana. Color entre marrón y marrón fuerte (7,5 YR 5/4-5/6) en seco y entre marrón rojizo y marrón oscuro (5 YR 4/4 y 7,5 YR 4/4) en húmedo. Pocos elementos gruesos tamaño gravas subredondeadas esferoidales y tubulares. Frecuentes raíces muy finas y finas y frecuentes bulbos. Abundantes pellets de lombrices.

E. Suelo cultivado [*Eutric Leptosol (Aric, Loamic)*]

Hor.	Prof.(cm)	Descripción de campo
Ap	0-12 (18)	Estructura subangular y granular, de muy fina a fina. Color marrón claro (7,5 YR 6/4) en seco y entre rojo amarillento y marrón-marrón oscuro (5 YR 4/6 y 7,5 YR 4/4) en húmedo. Frecuentes elementos gruesos tamaño gravas subangulares esferoidales y planos. De pocas a frecuentes raíces muy finas y finas. De pocas a frecuentes pellets de lombrices.

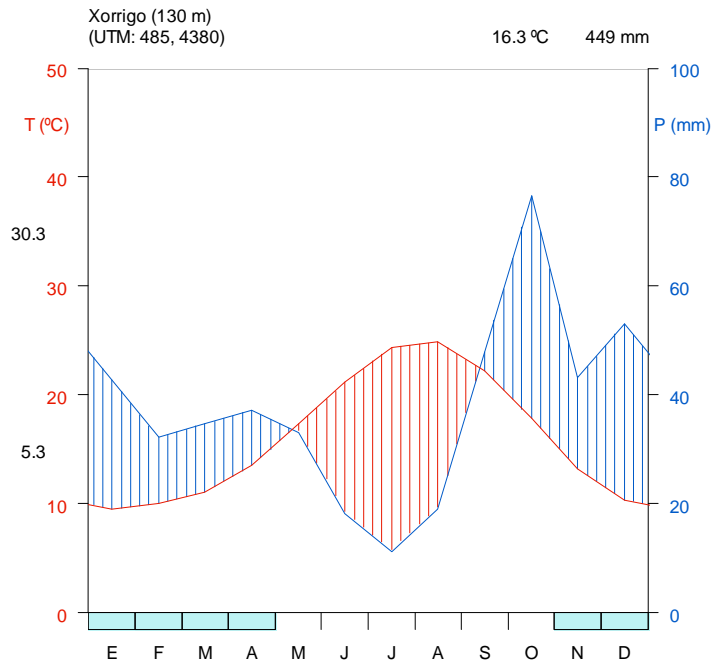


Figura 6.1: Climograma de la zona de Xorrigo (Guijarro, 1986).

El clima es típicamente mediterráneo con un marcado déficit hídrico desde mediados de primavera hasta principios de otoño. La temperatura media anual es de 16,3 °C y la precipitación media anual es de 449 mm (Figura 6.1).

Para cada situación se han recogido cuatro muestras distribuidas a lo largo de una área de estudio de unas 8 ha.

6.3. Preparación de las muestras

La recolección de las muestras de suelo se realizó el mes de julio de 2003. Paralelamente a la recogida de las muestras se realizó la descripción morfológica del suelo. Una vez trasladadas las muestras al laboratorio se procedió a la cuantificación de la humedad, el tamizado de la tierra fina e inicio de las determinaciones analíticas. La cuantificación de la biomasa microbiana se realizó en un primer momento y para la determinación de las actividades enzimáticas se guardaron las muestras en nevera a 4 °C.

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo

Para determinar los parámetros biológicos en muestras húmedas a capacidad de campo se sometieron las muestras a una succión equivalente de 33 kPa en un banco de arena y caolín durante 2 d previa saturación de las muestras (2 d). Para realizar este proceso, las muestras de tierra fina se mantuvieron en cilindros de PVC de unos 400 cm³. Previo a las determinaciones, las muestras se mantuvieron durante 10 d a capacidad de campo, en una atmósfera de alta humedad relativa a temperatura ambiente (24-25 °C).



Fotografía 6.1: Ortofotografía, de un área de la zona de estudio, realizada en 2012 (<http://ideib.caib.es/>). La imagen abarca, aproximadamente, un cuadrado de 150 m de lado y las coordenadas de la parte central son: X= 485100 e Y= 3480100 (ETRS89, uso:31N). Se observa la distribución de la vegetación en mosaico, los afloramientos de roca y rodales destinados al cultivo de especies herbáceas.



Fotografía 6.2: La escasa profundidad del suelo, con afloramientos comunes, es un factor determinante de la distribución de la vegetación en mosaico.



Fotografía 6.3: En los lugares con el suelo más profundo se aprovecha para establecer cultivos herbáceos para las especies cinegéticas.

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo



Fotografía 6.4: El lentisco (*Pistacia lentiscus*) desarrolla una copa arbustiva muy cerrada que favorece la retención de los residuos vegetales para formar un horizonte orgánico que mejora notablemente la calidad del suelo.



Fotografía 6.5: Perfil del suelo en un entorno con especies herbáceas. La profundidad del suelo es variable, con afloramientos de roca comunes.

6.4. Resultados y discusión: horizontes minerales

6.4.1. Parámetros físicos y químicos

pH del suelo

El pH (1:2,5 en H₂O) del suelo labrado es ligeramente más elevado, siendo estadísticamente diferente al nivel $p < 0,05$, entre el suelo labrado (8,4) y el resto de tratamientos, siendo más bajo en los suelos situados debajo de los pinos y acebuches. El pH (1:2,5 KCl) presenta una pauta similar, con los valores más elevados en el suelo labrado y los más bajos en el suelo de lentisco (Figura 6.2.A). La materia orgánica constituye el principal factor responsable de la disminución del pH, especialmente destacable en el suelo bajo lentisco.

Conductividad eléctrica

Los valores más elevados de la conductividad eléctrica (CE) del extracto 1:5 corresponden al suelo situado bajo los pinos, seguido del suelo bajo acebuche y lentisco. La CE del suelo bajo herbáceas y el suelo labrado presentan valores más bajos (Figura 6.2.B). Esta misma distribución se repite en el suelo mantenido durante 10 d a capacidad de campo, si bien en este caso los valores son más bajos, especialmente en el suelo de debajo los pinos. Este hecho es atribuible al lavado que se ha producido al saturar las muestras con agua y drenaje posterior para mantener las muestras de suelo a capacidad de campo. En estas circunstancias los valores registrados no son indicadores de un problema de salinización remarcable (Porta *et al*, 1986).

Carbonato cálcico equivalente y caliza activa

Los contenidos de CCE son contrastados, presentando una gran variabilidad (Figura 6.3.A). Los contenidos más bajos se sitúan bajo los lentiscos y en la vegetación herbácea. Bajo los pinos los contenidos en CCE son sensiblemente más elevados, probablemente debido a una

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo

mayor disgregación del substrato rocoso, favorecido por el potente sistema radicular. En los rodales cultivados es donde el contenido en CCE es más elevado, hecho atribuible a la fragmentación de roca calcárea provocada por los aperos de labranza.

La caliza activa presenta una pauta similar a la de los carbonatos totales pero la diferencia entre tratamientos queda atenuada sin que se alcancen, tampoco, diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a las pruebas aplicadas.

El porcentaje de CA respecto al CCE es entre el 30 y 35% en los suelos bajo acebuche, lentisco y herbáceas mientras que bajo el pino es del 22% y en el suelo labrado del 15%. Los porcentajes del suelo bajo pino y del suelo labrado ponen de manifiesto una mayor presencia de carbonatos en la fracción arena, debido a disgregaciones de la roca arenisca subyacente.

Retención de agua del suelo

En la Figura 6.4.A se representan los contenidos de humedad de la tierra fina en el momento que se muestreo (identificado como suelo seco) y los contenidos de humedad de la tierra fina al nivel de retención de 1,5 MPa (potencial hídrico del agua de -1,5 MPa e identificado como punto de marchitez permanente) y con un nivel de retención de 33 kPa (potencial hídrico del agua de -33 kPa e identificado como capacidad de campo).

Las determinaciones analíticas se realizaron sobre el suelo seco con los correspondientes contenidos hídricos reflejados en la Figura 6.4.A y sobre la muestra mantenida a capacidad de campo durante 10 d, con los contenidos hídricos, reflejados en la misma figura.

Destaca el bajo contenido de humedad del suelo en el momento del muestreo (a mediados del mes de julio), muy inferior al punto de marchitez permanente, lo que pone de manifiesto que el horizonte mineral superior no supone ninguna reserva para la vegetación. En estas circunstancias toda la vegetación herbácea de anuales está seca y sólo se mantienen las especies perennes leñosas que disponen de alguna vía para extender las raíces en fisuras que alcancen el agua retenida en los materiales edáficos o litológicos a más profundidad.

Los contenidos hídricos más elevados corresponden al suelo de debajo el lentisco y los más bajos en el suelo agrícola, estableciéndose una correlación directa entre el contenido de humedad y la materia orgánica.

Carbono orgánico total

El horizonte mineral situado bajo la cubierta de lentisco presenta el contenido más elevado de COT ($82,0 \text{ g kg}^{-1}$), duplicando los contenidos del mismo horizonte situado bajo pino o acebuche (Figura 6.5.A). La cubierta vegetal de plantas herbáceas anuales presenta valores de materia orgánica inferiores, que quedan significativamente reducidos cuando el suelo se labra ($16,7 \text{ g C kg}^{-1}$ en el suelo cultivado). La pérdida de materia orgánica con el laboreo constituye un proceso característico (Haynes y Tregurtha, 1999; Guo y Gifford, 2002).

Los altos valores que presenta el horizonte mineral bajo lentisco son atribuibles a la morfología de este arbusto, con una disposición de las ramas que constituyen una copa cerrada hasta el suelo favoreciendo la conservación de todos los aportes orgánicos que se generan (Fotografía 6.3). En cambio, los pinos o acebuches, especialmente cuando se trata de ejemplares dispersos, al presentar copas erguidas la dispersión de la hojarasca no favorece una acumulación equiparable al lentisco.

La escasa profundidad del suelo, junto a las condiciones xéricas no favorecen el desarrollo de la cubierta herbácea lo que se traduce en una producción de biomasa vegetal limitada y, por ende, de materia orgánica en el suelo.

La capacidad de intercambio catiónico (Figura 6.3.B), parámetro dependiente del contenido de arcillas y materia orgánica, presenta, también los contenidos más elevados en el suelo bajo lentisco y los valores mínimos, diferenciados estadísticamente mediante el test de *Tukey*, en el suelo cultivado.

Extracto húmico total y ácidos húmicos

El contenido en carbono del EHT presenta los contenidos más elevados en el suelo bajo lentisco, con un valor medio de $34,7 \text{ g C kg}^{-1}$ (Figura 6.5.A), lo que supone un 42% del COT de este suelo. Los contenidos de los otros suelos con pinos, acebuches y vegetación herbácea presentan contenidos similares de EHT (entre $12,3$ y $14,6 \text{ g C kg}^{-1}$), suponiendo en el caso de la vegetación herbácea un 39% del COT de este suelo y en el caso de los suelos bajo pino y acebuche, el porcentaje se sitúa alrededor del 31%. El suelo agrícola presenta una reducción muy importante del EHT, con 5 g C kg^{-1} . La reducción de las fracciones húmicas en el suelo

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo

cultivado con una pauta de reducción de las fracciones muy similar a la descrita por Bongiovanni y Lobartini (2006).

En cuanto a la distribución de ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF) del EHT, los valores más altos de AH corresponden al suelo bajo lentisco, acebuche y vegetación herbácea, siendo la fracción de AF la mayoritaria en el suelo mineral bajo pino y en el suelo labrado (Tabla 6.5.A).

Relación E4/E6

El suelo bajo herbáceas es el que contiene el EHT con una menor relación E4/E6, indicadora de un mayor peso molecular, mayor tamaño de las partículas húmicas y mayor grado de humificación (Chen *et al.*, 1977). Las relaciones más altas (Figura 6.5.B) corresponden a los suelos situados bajo las especies leñosas, con mayores aportaciones de materia orgánica. Estas mayores relaciones pueden ser indicadoras de un proceso de humificación parcial y la presencia de moléculas más abiertas y de menor peso molecular, de forma similar a la descrita en otros suelos calcáreos mediterráneos bajo *Quercus ilex*, *Carpinus betulus* y *Pinus halepensis*, como especies más características, por Traversa *et al.* (2011).

Carbono orgánico soluble

El carbono orgánico soluble (COS) presenta contenidos elevados (valores medios situados entre 31 y 205 mg C kg⁻¹), especialmente en las muestras secas (Figura 6.6.A). Las cuatro situaciones con vegetación permanente presentan contenidos más elevados que el suelo agrícola, que presenta los valores más bajos. Kalbitz *et al.* (2007) y Müller *et al.* (2009), en experiencias de campo y de laboratorio, señalan la importancia, tanto de la hojarasca como el humus como fuentes de COS.

Después de mantener las muestras de suelo durante 10 d a capacidad de campo los contenidos de COS se mantienen en valores similares en el suelo bajo pino pero son mucho más bajos en las otras situaciones. Esta disminución se puede deber a la mayor demanda por parte de la biomasa microbiana desencadenada a partir de unas condiciones hídricas favorables para el crecimiento microbiano.

El incremento de los contenidos del COS pasando por fases de humectación y desecación ha sido descrito por diversos autores (Lundquist *et al.*, 1999; Tipping *et al.*, 1999). Los contenidos más elevados de COS en las muestras secas, se ha atribuido a fragmentaciones de la materia orgánica o a la lisis de microorganismos (Magid *et al.*, 1999).

La ausencia de diferencias significativas entre los distintos tipos de vegetación leñosa, especialmente pino y lentisco está en concordancia con anteriores estudios en bosques templados dónde no se constatan diferencias en el contenido de COS entre coníferas y árboles de hoja ancha (Michalzik *et al.*, 2001).

Gomas microbianas

Los contenidos de gomas microbianas (GM) son máximos en el suelo de lentisco y mínimos en el suelo de cultivo. En este parámetro hay una clara gradación, situándose los tres suelos bajo especies leñosas claramente por delante del suelo de herbáceas y el suelo labrado.

Se constata que este parámetro no se ha visto afectado por la humectación del suelo, manteniendo valores prácticamente iguales (Figura 6.6.B).

Nitrógeno total y relación C/N

El contenido de NT oscila entre 1,58 g N kg⁻¹ en el suelo labrado y 5,63 g N kg⁻¹ en el suelo bajo lentisco. Estos altos valores reflejan el alto contenido de materia orgánica de estos suelos, con el que el contenido de nitrógeno guarda una relación significativa, si bien las relaciones C/N varían entre las distintas situaciones. De hecho la relación C/N oscila entre 10,8 en el suelo agrícola y 14,5 bajo lentisco (Figuras 6.7.A,B).

Nitratos y amonio

En el momento del muestreo, con el suelo seco el contenido de nitratos ha sido muy bajo en todas las situaciones sin diferencias estadísticas (Figura 6.8.A). Con la humectación a CC se ha generado una cantidad destacable de nitratos, siendo máxima bajo las especies leñosas,

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo

destacando el pino y el acebuche y valores mucho más bajos, en el suelo de especies herbáceas y, sobretodo, el suelo cultivado.

El comportamiento de los nitratos se invierte al tratar los contenidos de amonio: son elevados en el momento de la recogida de las muestras con el suelo seco y pasan a valores mucho más bajos en el suelo húmedo a CC. En este caso, tanto en el suelo seco como en el húmedo no se constatan diferencias entre las cinco situaciones (Figura 6.8.B).

Las variaciones de nitratos y amonio entre el suelo seco y el húmedo reflejan una paralización de los procesos de nitrificación en el suelo seco, lo cual queda reflejado en contenidos elevados de amonio que no se ha oxidado, ante la paralización de los procesos biológicos (Rennenberg *et al.*, 2009). En cambio, con la humectación del suelo se generan unas condiciones favorables para la actividad microbiana, en las que los procesos de nitrificación están activos, manteniéndose las concentraciones de amonio bajas. La formación de nitratos es superior a la demanda generada por los organismos edáficos, favoreciendo las concentraciones elevadas de nitratos.

Fósforo

El contenido en fósforo total (PT) oscila entre 345 mg P kg⁻¹, en el suelo agrícola, siendo el valor más bajo, y 769 mg P kg⁻¹ en el suelo bajo lentisco (Figura 6.9.A). La fracción de fósforo orgánico es la mayoritaria en todas las situaciones, suponiendo el 60% del PT en el suelo agrícola, como porcentaje más bajo y el 70% de PT en el suelo bajo acebuche, situándose las otras situaciones entre ambos.

Estos valores ponen de manifiesto, la ausencia de aportaciones antrópicas de este elemento y el enriquecimiento de este elemento a través de la materia orgánica, como se manifiesta en el suelo bajo lentisco (Stutter *et al.*, 2015).

El fósforo soluble determinado a través del método Olsen (PO) presenta en estos suelos valores entre bajos y moderados, siendo mínimos en el suelo con herbáceas (21 mg P kg⁻¹, suponiendo el 4% del PT) y máximo bajo el lentisco (48 mg P kg⁻¹, suponiendo el 6,3% del PT). En el suelo agrícola, el PO, con un contenido de 23 mg P kg⁻¹, supone el 6,7% del PT, siendo el porcentaje más elevado.

Índice de estabilidad estructural

Los agregados de más de 1 mm presentan un alto grado de estabilidad frente al agua con porcentajes entre el 97 y 99%, en todas las situaciones dónde no se remueve el suelo (Figura 6.4.B). Únicamente en el suelo labrado, el IEE baja al 85%, que aún siendo un valor elevado para un suelo agrícola, se distancia notablemente de las otras cuatro situaciones, que tienen un mayor contenido de materia orgánica. Estos resultados son similares a los publicados por Cerdà (1998) que describe estabilidades máximas (entre 98 y 93%) en suelos bajo *Quercus ilex*, *Q. coccifera*, *Pistacia lentiscus*, *Brachypodium retusum* y *Pinus halepensis*, e índices mucho más bajos (55%) en el suelo desnudo. Six *et al.* (1999), al comparar suelos naturales con otros cultivados constatan, sobre todo, una disminución de la estabilidad de los microagregados en los suelos agrícolas, que está afectada por el menor contenido de compuestos orgánicos y una actividad biológica más reducida.

6.4.2. Biomasa microbiana y respiración

Biomasa microbiana

Los valores de biomasa microbiana presentan una gran variabilidad en todas las situaciones, tanto en el suelo seco como después de estar 10 d a CC. En seco, los niveles más altos corresponden al suelo bajo lentisco (956 mg C kg⁻¹) seguidos de los suelos bajo acebuche y pino. Bajo vegetación herbácea los valores se reducen a alrededor del 20% de los registrados bajo lentisco. En este caso, el contenido en biomasa microbiana del suelo cultivado es similar al suelo con terófitos y geófitos, a pesar de que el contenido de materia orgánica es un 50% inferior (Figura 6.10.A).

En el suelo húmedo se genera un incremento notable del contenido de biomasa microbiana, con un incremento, en términos globales del 66%. En el suelo húmedo es en las muestras bajo pino las que presentan los contenidos más elevados (1239 mg C kg⁻¹), con valores alrededor de 1000 mg C kg⁻¹ bajo acebuche y lentisco, siendo los valores bajo herbáceas y en el suelo cultivado notablemente más bajos (Figura 6.10.A). Las fuertes variaciones del contenido de BM en las muestras secas y húmedas es un reflejo de las variaciones que se pueden generar a lo largo del año, favorecidas por la estacionalidad (García *et al.*, 2002).

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo

El suelo cultivado presenta contenidos más bajos de BM, atribuible básicamente al hecho característico de los suelos agrícolas de disponer de menos carbono y nitrógeno (Bissett *et al.*, 2011).

Los porcentajes de BM respecto al COT en el suelo seco se sitúa entre 1,2 y 1,4% bajo las especies leñosas, presentando porcentajes similares en el suelo cultivado y en torno a la mitad en el suelo bajo herbáceas. Al humectarse las muestras a CC se alcanzan porcentajes entre el 2 y 3%, excepto con el lentisco que mantiene valores similares a los registrados en el suelo seco. Estos valores, comparados con los registrados por Batista *et al.* (2006a), son inferiores, del mismo modo que ocurre con los obtenidos en diferentes suelos no cultivados por Batista *et al.* (2006b), siendo similares a los registrados por Rutigliano *et al.* (2004).

Respiración basal

La respiración basal (RB) se ha medido en las muestras húmedas, después de 10 d. Las tasas de respiración más altas se han registrado en los tres suelos bajo leñosas, con valores medios casi idénticos (entre 52 y 53 mg C kg⁻¹ d⁻¹). El suelo con herbáceas presenta un valor medio de 38,5 mg C kg⁻¹ d⁻¹ y el suelo agrícola sólo alcanza 16,2 mg C kg⁻¹ d⁻¹, poniendo de manifiesto la reducción de la RB al disminuir la disponibilidad de sustratos orgánicos (Haynes y Tregurtha, 1999).

6.4.3. Actividades enzimáticas

Actividad deshidrogenasa

En el suelo seco, la DH presenta los valores más elevados bajo lentisco (192 μmolTPF kg⁻¹ h⁻¹), seguidos del suelo bajo acebuche y pino (un 20% inferiores) y cubierta herbácea (60% respecto al lentisco). Estos resultados están en concordancia con los descritos por Leiros *et al* (2000) que describen altas correlaciones entre el contenido de COT y la actividad DH. El suelo cultivado presenta valores de alrededor el 30% del primero (62 μmol TPF kg⁻¹ h⁻¹).

En el suelo húmedo a CC, globalmente son un 22% más elevados que en el suelo seco, pero con una respuesta diferente en función de las situaciones de cada suelo (Figura 6.11.A) sin

alcanzar significación estadística la comparación en función del estado hídrico del suelo. Nannipieri *et al.* (1990) constatan incrementos de la actividad DH al aumentar la humedad del suelo.

Estas tasas son similares a las descritas por Mirás-Avalos y Sande-Fouz (2012) que comparan la actividad DH, en suelos de clima atlántico, siendo más elevadas en bosque de eucaliptus con clara estratificación, disminuyendo con la profundidad, que en suelos agrícolas equivalentes donde registran una fuerte disminución.

Actividad β -glucosidasa

En el suelo seco, los valores absolutos más elevados de BG se dan bajo acebuche (2,57 mmol PNP kg⁻¹ h⁻¹), seguidos por los registrados bajo lentisco y pino (alrededor de un 60% respecto al primero). Bajo cubierta herbácea y suelo cultivado la BG es claramente inferior (40 y 30% respectivamente, respecto al suelo bajo acebuche) (Figura 6.11.B).

En el suelo húmedo a CC los valores son, globalmente, un 8% más elevados que en el suelo seco pero, también, con una respuesta irregular en función de los tratamientos (Figura 6.11.B). El orden, entre las cinco situaciones del suelo, respecto a la BG es idéntico en seco y a capacidad de campo.

Actividad fosfatasa alcalina

En el suelo seco, la PA bajo las tres especies leñosas es muy similar, entre 6,4 mmol PNP kg⁻¹ h⁻¹ en lentisco y 5,6 mmol PNP kg⁻¹ h⁻¹ en acebuche. Bajo la cubierta herbácea los valores se reducen alrededor del 50% de los anteriores y con cultivo sólo suponen alrededor del 30% de los primeros (Figura 6.12.A).

En el suelo húmedo a CC la PA presenta el mismo patrón que en el suelo seco, manteniendo el mismo orden las cinco situaciones, con valores medios un 14% más elevados que en el suelo seco pero sin alcanzar significación estadística.

Actividad arilsulfatasa

El comportamiento de la AS es similar a la DH, con marcadas diferencias entre las distintas situaciones. En el suelo seco, los valores máximos se dan en el suelo bajo lentisco ($1,77 \text{ mmol PNP kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) y los mínimos en el suelo labrado ($0,25 \text{ mmol PNP kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (Figura 6.12.B). Con la humectación a CC se produce una respuesta desigual, aunque se mantiene el mismo patrón que en el suelo seco siendo los valores globales un 5% más bajos en el suelo a CC (Tabla 6.5).

Actividad ureasa

Tanto en el suelo seco como en el húmedo a CC, la UR no presenta diferencias estadísticamente significativas entre las cinco situaciones. En seco, es en suelo bajo cubierta herbácea donde alcanza los valores más elevados ($8,1 \text{ mmol NH}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) seguidos de las tres situaciones bajo especies leñosas, siendo en el suelo cultivado donde se registran los valores más bajos ($4,9 \text{ mmol NH}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (Figura 6.13.A).

En condiciones de humedad a CC la UR presenta un comportamiento similar, con valores medios un 28% más elevados que en el suelo seco, alcanzando significación estadística al nivel de $p < 0,05$ (Tabla 6.5).

Actividad proteasa

La PR del horizonte mineral bajo pino presenta valores claramente diferenciados del resto de situaciones: $21,6 \text{ mmol NH}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ frente a $8,6 \text{ mmol NH}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ registrados en el suelo bajo lentisco, que es el segundo valor más alto. El valor más bajo corresponde al suelo de cultivo con una actividad de $5,5 \text{ mmol NH}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 6.13.B).

En el suelo húmedo a CC se produce un fuerte incremento de la PR, especialmente en los suelos bajo acebuche y bajo lentisco. Globalmente, la PR se duplica a CC respecto al suelo seco y se alcanza significación estadística entre las dos situaciones de disponibilidad hídrica al nivel de $p < 0,01$ (Tabla 6.5).

Tomando como referencia trabajos realizados en el entorno mediterráneo, las actividades DH, UR, PA y BG presentan tasas similares a las descritas por Bastida *et al.* (2006b) en suelos de la región de Murcia con contenidos de materia orgánica más bajos. Estos autores, también registran actividades enzimáticas elevadas en los suelos bajo *Pinus halepensis*, que en su caso coincide con los suelos con un mayor contenido en materia orgánica. Fioretto *et al.* (2009) comparan suelos con cubierta herbácea con otros con arbustos y maquia densa, en suelos con un menor contenido de materia orgánica registrando tasas similares en las actividades UR y PA. En cambio la AS y la BG registran tasas mucho más elevadas (unas cinco veces superiores). También registran escasa variabilidad en la PR igual que Rutigliano *et al.* (2009). Por otra parte, las actividades PA, AS y BG son similares a las registradas por Rutigliano *et al.* (2004) bajo diferentes tipos de vegetación mediterránea.

Miralles *et al.* (2012) en suelos de Andalucía, con distintas cubiertas vegetales y, también, cultivados registran contenidos en BM similares y actividades BG y UR, también equivalentes. Del mismo modo la actividad fosfatasa registra el mismo comportamiento en función del contenido de COT que la registrada en los suelos de Xorriego.

Sardans y Peñuelas (2013) comparan las tasas de distintas actividades enzimáticas en suelos de ambientes contrastados señalando que, en general los suelos mediterráneos presentan actividades enzimáticas extracelulares BG, PA UR y PR similares a otros ecosistemas templados como bosques o praderas. Los resultados del presente trabajo se encuadran perfectamente entre los descritos por estos autores.

6.4.4. Relaciones entre los parámetros

Las actividades enzimáticas DH, PA, AS y la BM presentan correlaciones positivas altas o muy altas con el COT, siendo en todos los casos significativas al nivel de $p < 0,001$ de acuerdo al test de *Spearman*. Entre ellas, también las correlaciones son positivas altas o muy altas, manteniendo la alta significación estadística. Las correlaciones de estas actividades enzimáticas con el NT mantienen significaciones estadísticas muy elevadas, casi idénticas a las obtenidas con el COT. Estos comportamientos se dan de forma similar en las muestras analizadas en el suelo seco y las analizadas a CC. Estos resultados ponen de manifiesto la relación de los parámetros biológicos con el contenido de materia orgánica (Bastida *et al.*, 2006a; Fioretto *et al.*, 2009; Lucas-Borja *et al.*, 2010)

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo

La BG presenta también correlaciones positivas con el CO y el NT, del mismo modo que ocurre con las otras actividades mencionadas (DH, PA y AS) y la BM pero, siempre con coeficientes de correlación ligeramente más bajos (Tabla 6.6). La menor correlación de la BG se puede deber a las características de los substratos orgánicos, así como por diferencias en la composición microbiana del suelo en las distintas situaciones (Knight y Dick, 2004).

La UR presenta muy escasa correlación con el resto de parámetros, sin que se pueda considerar consistente ninguna correlación en particular, sin presentar el mismo comportamiento en seco y CC. Esta alta variabilidad, de esta actividad, también se constata en otros estudios (Gil-Sotres *et al.*, 2005; Bastida *et al.*, 2006b; Fioreto *et al.*, 2009).

La PR presenta escasa correlación con el resto de parámetros en seco; en cambio los coeficientes de correlación mejoran de forma notoria a CC, presentando correlaciones altas o muy altas con el resto de actividades enzimáticas, la BM, el CO y el NT. En este caso, la falta de correlación de la PR con el resto de parámetros es atribuible a los altos valores registrados en el suelo seco bajo pinos, que se diferencia notablemente del resto de situaciones.

Entre los parámetros que caracterizan la materia orgánica, el COT presenta altas correlaciones con la BM y con todas las actividades enzimáticas excepto la UR. También presenta una correlación muy alta con el NT y altas con el PT, el PO, el ST, la RB y el IEE. También presenta alta correlación con el EHT y las GM.

Entre los parámetros medidos en el suelo seco, el COS presenta coeficientes de correlación moderados con muchos parámetros biológicos. Estos coeficientes de correlación se ven mejorados en las muestras medidas a CC, destacando sobretodo la alta correlación con la BM.

Contrasta con las correlaciones alcanzadas por el COS, las de las GM que presentan correlaciones positivas altas o muy altas con la mayoría de parámetros biológicos. Las GM presentan coeficientes de correlación muy similares al COT, presentando un coeficiente de correlación muy elevado con el IEE, reflejando la relación de la estabilidad de los agregados con la actividad biológica (Tisdall y Oanes, 1982; Kiem y Kandeler, 1997).

Entre los elementos minerales nitrógeno, fósforo y azufre, el NT y el ST presentan tanto en seco como a CC altos o muy altos coeficientes de correlación con la BM y las actividades enzimáticas DH, BG, PA y AS. En el caso de la UR no se aprecian correlaciones consistentes con estos elementos, mientras que la PR si presenta correlaciones elevadas con el NT y el ST, sobre todo a CC. El fósforo, tanto considerando PT como el PO presentan coeficientes de

correlación, en general, más bajos que los equivalentes al NT y al ST, destacando la ausencia de correlaciones significativas con la BG.

Los coeficientes de correlación de la PA con el PT y PO son positivos moderados o altos, si bien esta relación puede ser indirecta debido a la relación que tienen ambos con el contenido de COT. De forma similar, la AS presenta correlaciones muy altas con el ST, si bien son coeficientes similares a los que obtiene con el NT. Se tiene que tener en cuenta que tanto el NT como el ST presentan una muy alta correlación positiva con el COT, no pudiendo discriminar en estos casos el efecto de COT del NT o el ST.

El CME, medido en condiciones de humedad de CC, presenta las tasas más bajas en el suelo bajo lentisco ($0,66 \text{ g C kg}^{-1} \text{ C d}^{-1}$), situándose en las otras cuatro situaciones con valores muy similares (entre $1,02$ y $1,36 \text{ g C kg}^{-1} \text{ C d}^{-1}$), sin alcanzar diferencias estadísticamente distintas al nivel de $p < 0,05$ entre las cinco situaciones.

Los valores medios del $q\text{CO}_2$ se mueven en un rango relativamente estrecho, entre 37 y $61 \text{ g C kg}^{-1} \text{ C d}^{-1}$, si bien presentan una variabilidad importante (Tabla 6.3).

Comparando los resultados del CME y $q\text{CO}_2$ de suelos con vegetación natural de la zona mediterránea presentan tasas similares (Rutigliano *et al.*, 2004; Bastida *et al.*, 2006b). Comparando con suelos ácidos de robledales de clima atlántico, estos valores se sitúan cerca de los valores medianos, en la parte inferior (Gil-Sotres *et al.*, 2005).

Con el suelo seco, la DHe se mueve en un rango muy estrecho, entre $2,44$ y $3,72 \text{ mmol TPF kg}^{-1} \text{ C h}^{-1}$, sin diferenciarse estadísticamente las cinco situaciones. La BGe presenta diferencias más destacables entre situaciones, entre $19 \text{ mmol PNP kg}^{-1} \text{ C h}^{-1}$ del suelo bajo lentisco a $54 \text{ PNP kg}^{-1} \text{ C h}^{-1}$ del suelo bajo acebuche (Tabla 6.3).

6.5. Resultados y discusión: horizontes orgánicos

Los horizontes orgánicos de los suelos debajo el pino y el lentisco presentan contenidos similares de COT, con un mayor contenido de EHT en el pino (Figura 6.14.A). También el NT es más elevado bajo el pino, resultando una relación C/N más baja en el horizonte orgánico del pino. Esta situación aparentemente paradójica con el comportamiento de la

materia orgánica procedente del pino, caracterizada por un bajo contenido en nutrientes y una bajo contenido en biomasa microbiana (Simón *et al.*, 1994; Smolander y Kitunen, 2002; Rutigliano *et al.*, 2004), puede ser el reflejo de un nivel de mineralización elevado. En cambio, bajo el lentisco, aunque también se diferencia el horizonte Oa del superior Oi, el grado de transformación de los materiales orgánicos es menor, hecho que se constata, en un menor contenido de sustancias húmicas, una relación C/N más elevada, y también, una relación E4/E6 del EHT más elevada, siendo indicadores de un grado de transformación más reducido en materiales orgánicos como los compost u horizontes orgánicos similares (Romero *et al.*, 2007; Plaza *et al.*, 2008; Traversa *et al.*, 2011).

Los contenidos de COS del suelo seco son muy elevados, favorecido por los altos contenidos de COT (Michalzik *et al.*, 2001), siendo alrededor de diez veces superiores a los registrados en los horizontes minerales equivalentes, de forma similar a la descrita en otros suelos forestales mediterráneos por Traversa *et al.* (2008). En cambio, al humectar el suelo se produce una notable caída de estos compuestos quedando reducido por debajo del 20% (Figura 6.14.B). Esta bajada está provocada por el gran aumento de la biomasa microbiana que es un consumidor activo de estos compuestos fácilmente metabolizables (Gregorich *et al.*, 2003). La BM presenta valores extraordinariamente elevados, si se compara con los horizontes minerales pero al comparar los porcentajes del carbono de la BM respecto al COT, los valores son similares, alcanzando en condiciones de humedad a capacidad de campo alrededor del 4,4% bajo pino y 2,5% bajo lentisco. El pino es una especie que genera un humus de baja calidad (Pastor *et al.*, 1987; Rutigliano *et al.*, 2004) pero en este caso presenta un mayor contenido en biomasa microbiana. Este hecho se puede deber a la menor disponibilidad de nitrógeno inorgánico bajo el lentisco (Tabla 6.4), que en las muestras húmedas que favorecen el crecimiento microbiano presenta contenidos claramente inferiores, hecho que se traduce en un crecimiento microbiano limitado por este factor. Este hecho puede responder a que, a pesar de que los dos horizontes comparados presentan una apariencia similar que implica identificarlos como horizontes Oa, el grado de evolución es distinto, presentando en este caso el material recogido en el suelo bajo pino un mayor grado de evolución, dominando más claramente los procesos de mineralización sobre la inmovilización (Melillo *et al.*, 1989). La relación C/N, la relación E4/E6 del EHT y el contenido de nitratos son argumentos que reafirman esta diferenciación entre los horizontes Oa bajo *Pistacia lentiscus* y *Pinus halepensis*.

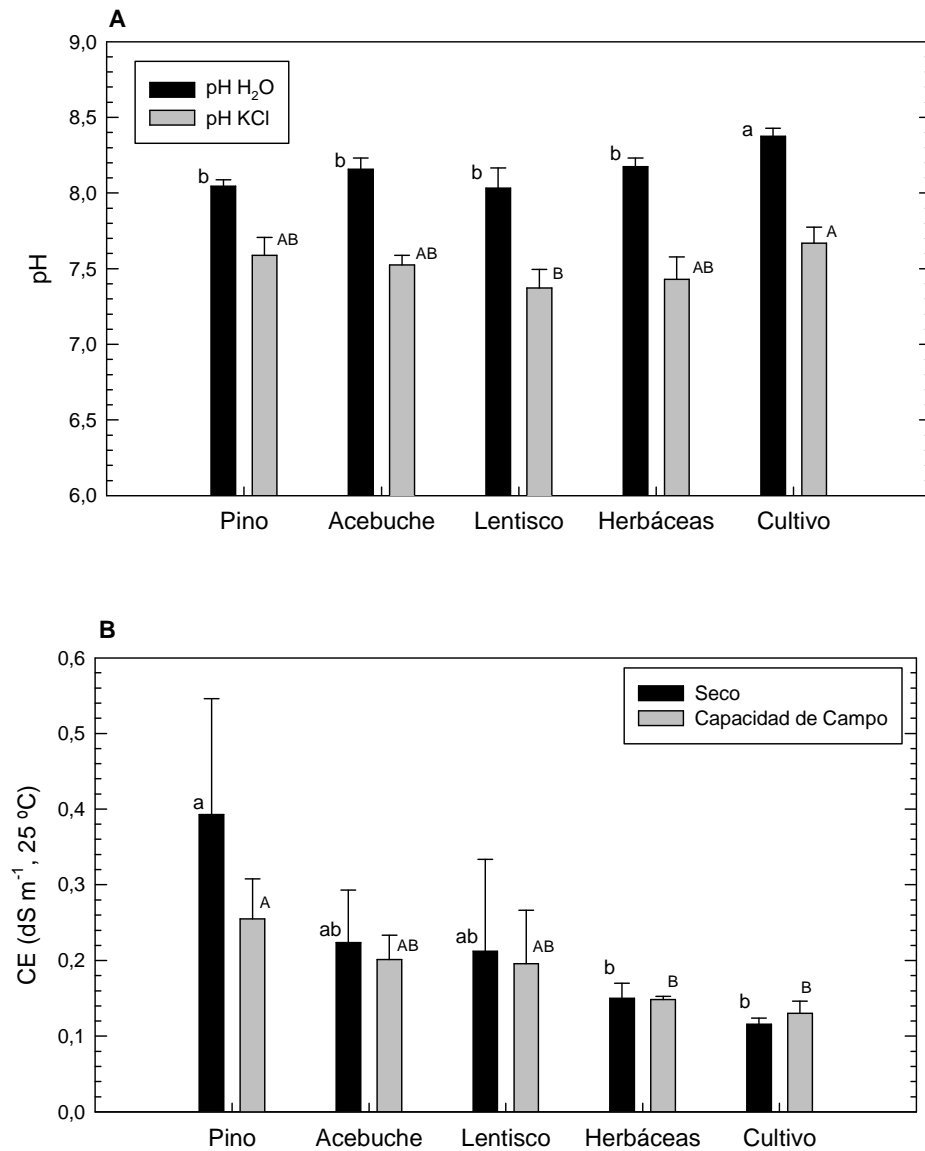
Las actividades enzimáticas presentan un patrón variable al comparar los dos horizontes orgánicos (pino y lentisco). Mientras que las actividades DH y UR son más elevadas bajo lentisco, las actividades BG, PA y PR son más elevadas en el horizonte orgánico bajo pino (Figuras 6.16 y 6.17). La AS y la RB presentan tasas similares bajo ambas especies. Quilchano y Marañón (2002) describen tasas de actividad DH similares en capas orgánicas de alcornoques con valores en verano en torno a 290 y 527 $\mu\text{mol TPF kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ en otoño, con gran variabilidad. La alta DH bajo lentisco es un indicador de la alta actividad microbiana (Brookes *et al.*, 2008) que se traduce en coeficientes metabólicos más elevados que en el horizonte bajo pino. En cambio, la BG presenta las tasas más elevadas bajo pino que podría ser indicadora de una mayor presencia de hongos (Hayano y Tubaki, 1985; Li *et al.*, 2015), apreciable a través del abundante micelio presente en este horizonte.

Las actividades específicas presentan comportamientos diferenciados: la DHe es claramente superior en los horizontes minerales respecto a los orgánicos. En cambio, la BGe presenta valores muy similares en los horizontes orgánicos y minerales, con mayor diferencia entre las dos especies vegetales que entre tipos de horizonte (Tabla 6.4). La PAe de los horizontes orgánicos presenta valores en torno a la mitad que los horizontes minerales, excepto en las muestras húmedas del horizonte orgánico bajo pino que presenta tasas similares a las del correspondiente horizonte mineral. La ASe presenta valores similares entre los horizontes orgánicos y minerales en las muestras húmedas pero en las secas los horizontes orgánicos presentan tasas mucho más bajas (alrededor del 30%), reflejando la diferencia de la AS entre las muestras húmedas y secas. Mientras que la PRe presenta valores muy elevados, con una gran variabilidad, similares entre los horizontes orgánicos y minerales, la URe presenta valores claramente más elevados en los horizontes minerales respecto a los orgánicos (Tablas 6.3, 6.4 y 6.5)

El CME presenta valores similares en el suelo bajo pino (un 20% superiores en el horizonte orgánico) mientras que bajo el lentisco las diferencias son mucho mayores, sobre todo porque el horizonte mineral presenta una tasa muy baja ($0,7 \text{ g C kg}^{-1} \text{ C d}^{-1}$ en el horizonte mineral y $1,8 \text{ g C kg}^{-1} \text{ C d}^{-1}$ en el horizonte orgánico) (Tablas 6.3 y 6.4). Sucede de forma similar con el coeficiente metabólico ($q\text{CO}_2$) que presenta tasas similares en los horizontes minerales de ambas especies pero, en los orgánicos, bajo lentisco los valores duplican los registrados bajo pino. Esta diferencia se debe a que mientras las tasas de respiración basal son similares, en el suelo bajo lentisco la biomasa microbiana del horizonte orgánico, en las condiciones de humedad de capacidad de campo en que se han medido, es menor (Figura 6.16.A). Este alto

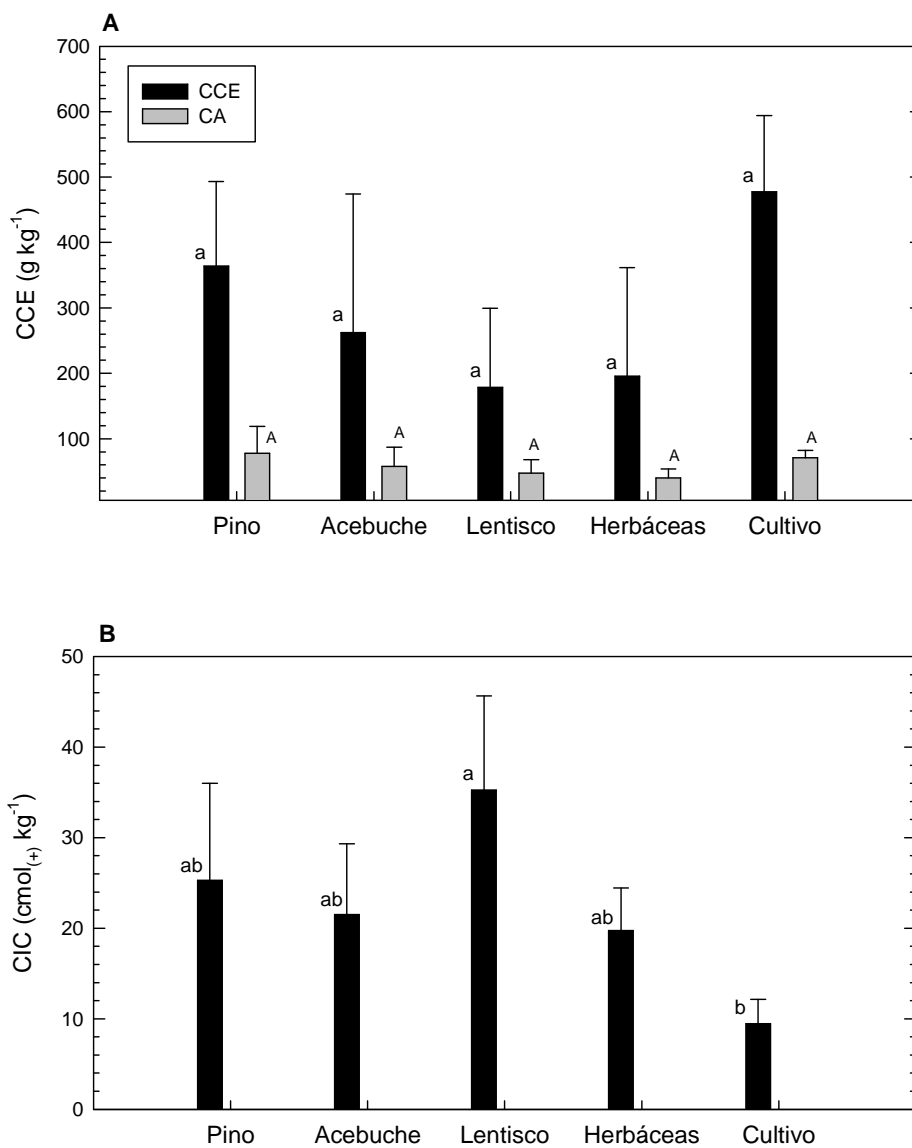
6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo

valor también puede indicar una baja calidad del sustrato (Smith, 1993) y una disminución de la eficiencia metabólica microbiana (Anderson y Domsch, 1993). Para bosques esclerófilos mediterráneos de Chile se describen coeficientes metabólicos similares para el horizonte orgánico y porcentajes de BM, también del mismo orden (Fuentes *et al.*, 2014).



Figuras 6.2.A,B. pH en agua y en una solución de KCl, determinado en las muestras secas (A). En la figura inferior (B), conductividad eléctrica del extracto 1:5, correspondiente a las muestras secas y a las húmedas a capacidad de campo (CC) del horizonte mineral. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

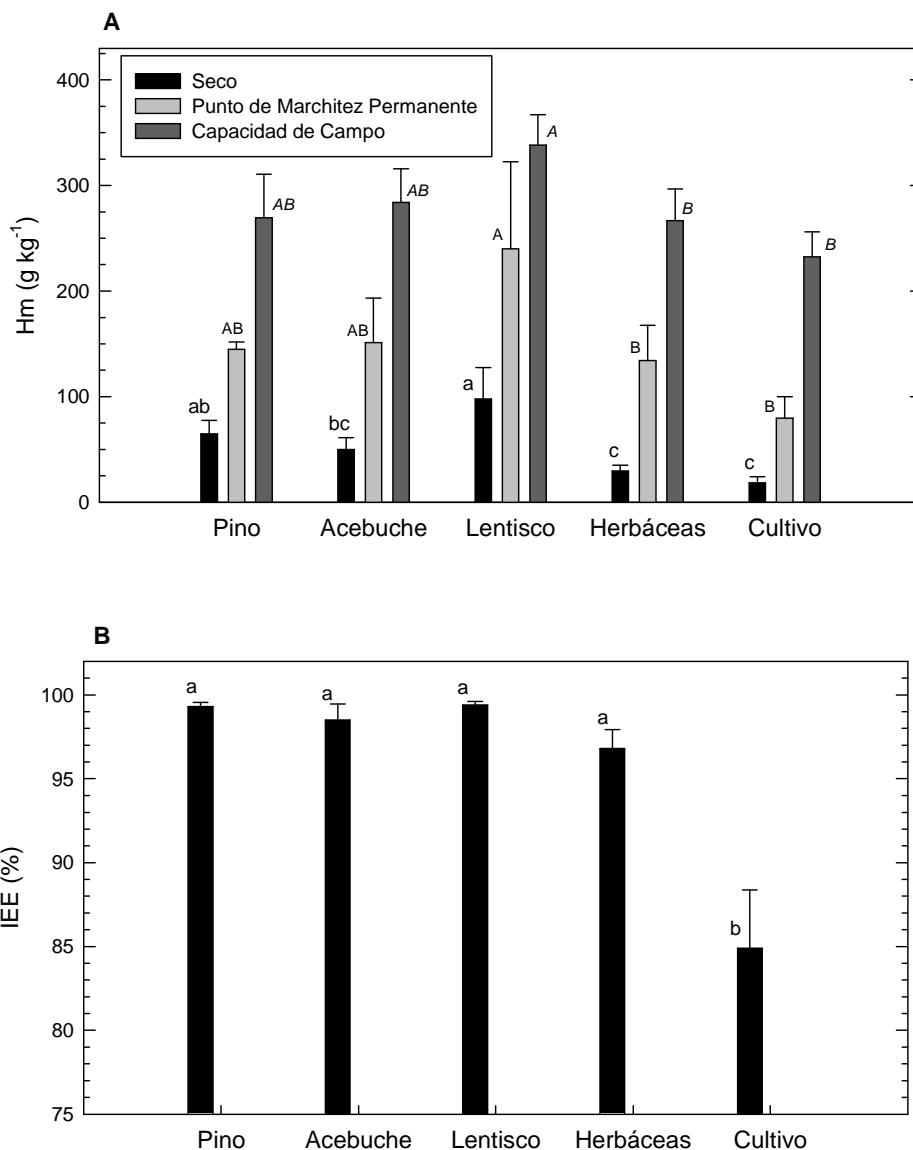
Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior los valores de pH en agua se han diferenciado con letras minúsculas mientras que el pH con la solución de KCl se ha indicado con letras mayúsculas. En la figura inferior, los resultados de las muestras secas se han indicado con letra minúscula y los de CC con mayúsculas.



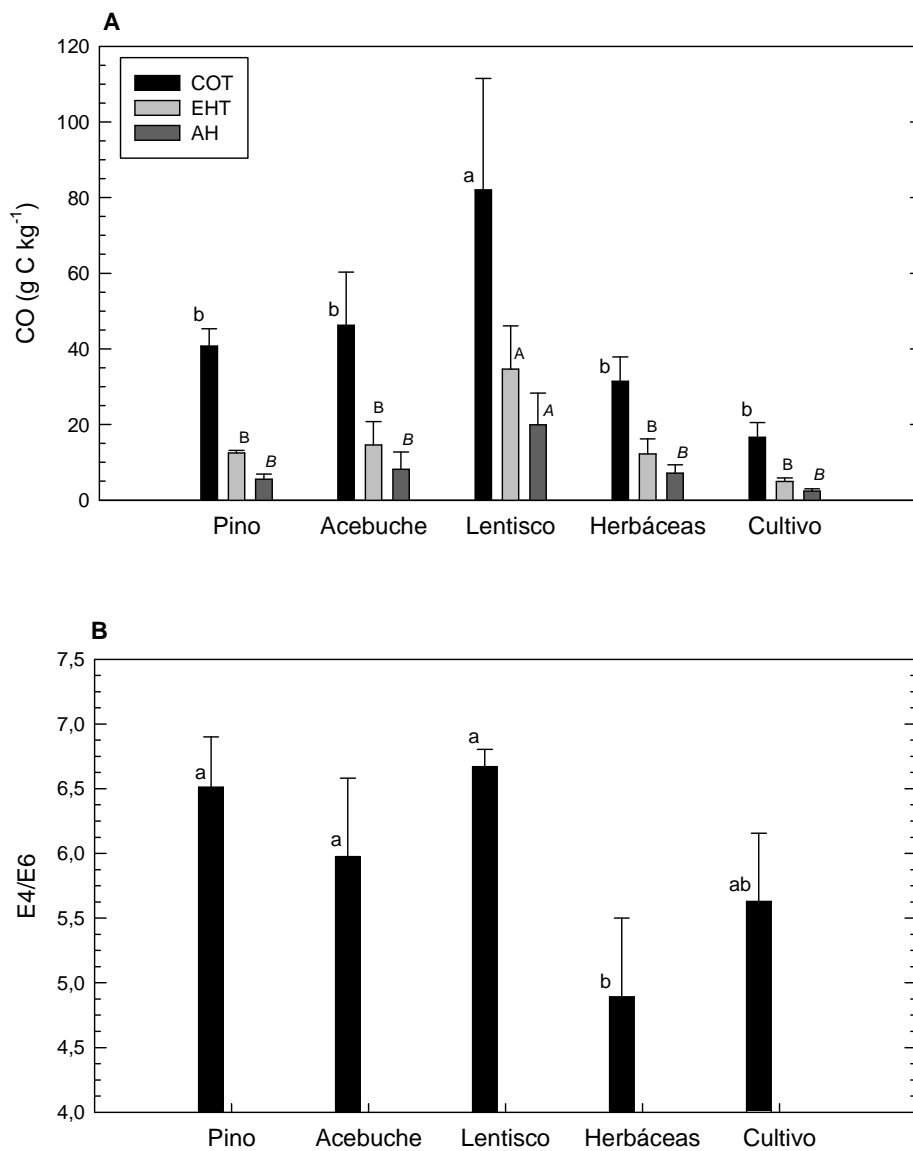
Figuras 6.3.A,B. En la figura superior (A) carbonato cálcico equivalente (CCE) y caliza activa (CA) y en la inferior (B) capacidad de intercambio catiónico (CIC) del horizonte mineral. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior los valores del CCE se han indicado con letras minúsculas y la CA con letras mayúsculas.

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo



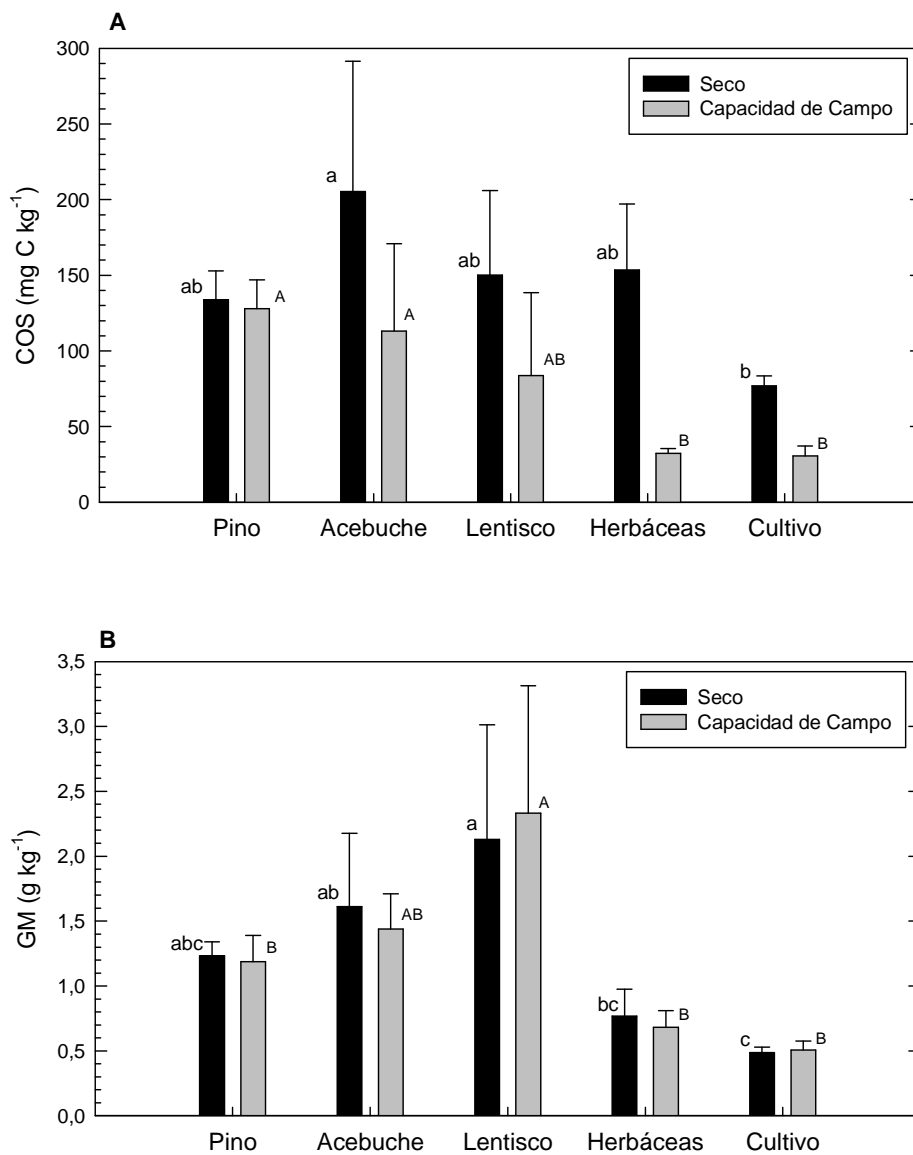
Figuras 6.4.A,B. Humedad de las muestras de suelo, correspondientes al horizonte mineral, en el momento del muestreo (indicado como muestras secas), punto de marchitez permanente (sometido a una succión de 1500 kPa) y capacidad de campo (humedad equivalente a 33 kPa). Todos los resultados se refieren a tierra fina. En la figura inferior (B) índice de estabilidad estructural (IEE). Valores medios acompañados de la desviación estándar ($n=4$). Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p<0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior los valores de las muestras secas se han indicado con letras minúsculas, las de punto de marchitez permanente con letras mayúsculas normales y la capacidad de campo con letras mayúsculas cursivas.



Figuras 6.5A,B. En la figura superior, carbono orgánico total (COT), extracto húmico total (EHT) y ácidos húmicos (AH), correspondientes al horizonte mineral. En la figura inferior relación E4/E6 del EHT. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

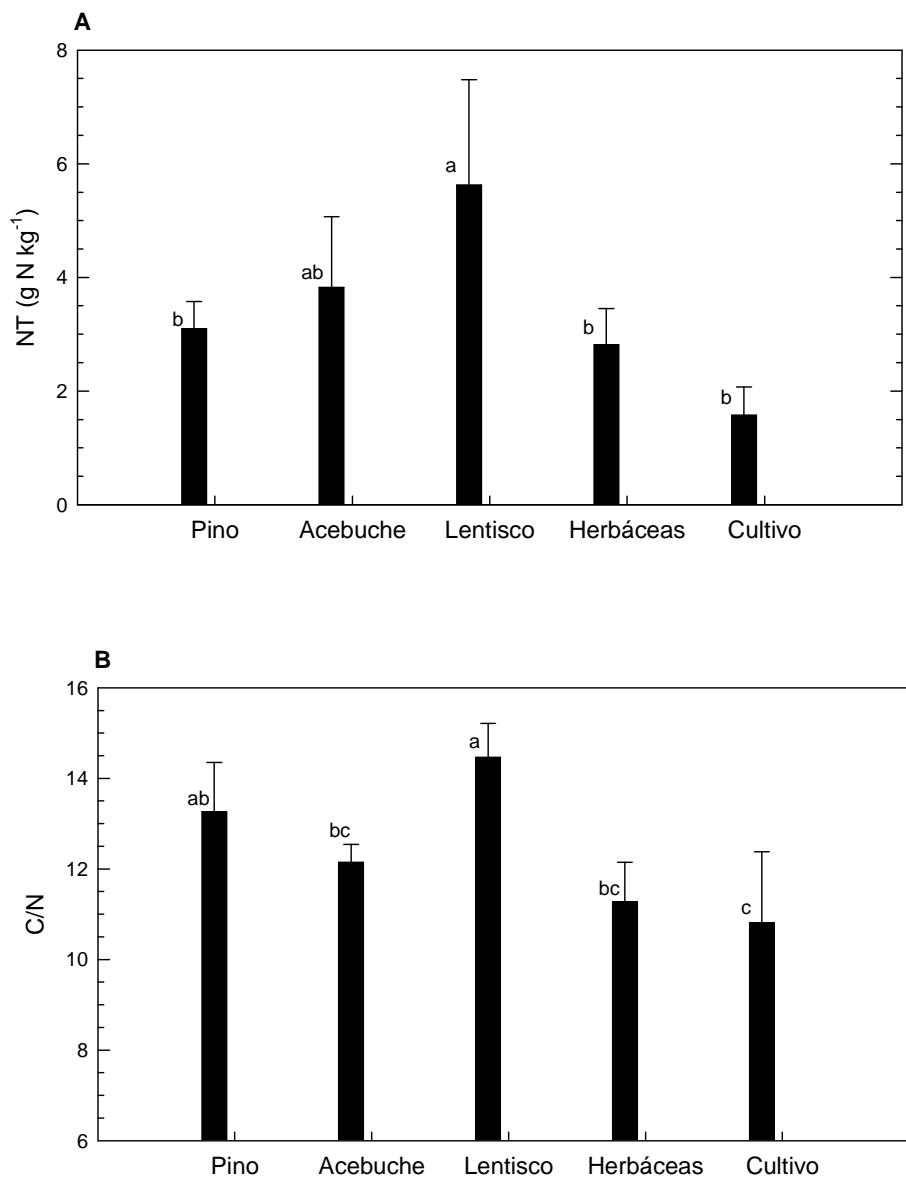
Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior los valores de COT se han indicado con letras minúsculas, los del EHT con letras mayúsculas normales y los AH con letras mayúsculas cursivas.

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo



Figuras 6.6.A,B. En la figura superior, carbono orgánico soluble (COS) y en la inferior gomas microbianas (GM), correspondientes a las muestras secas y después de 10 d a CC, del horizonte mineral. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

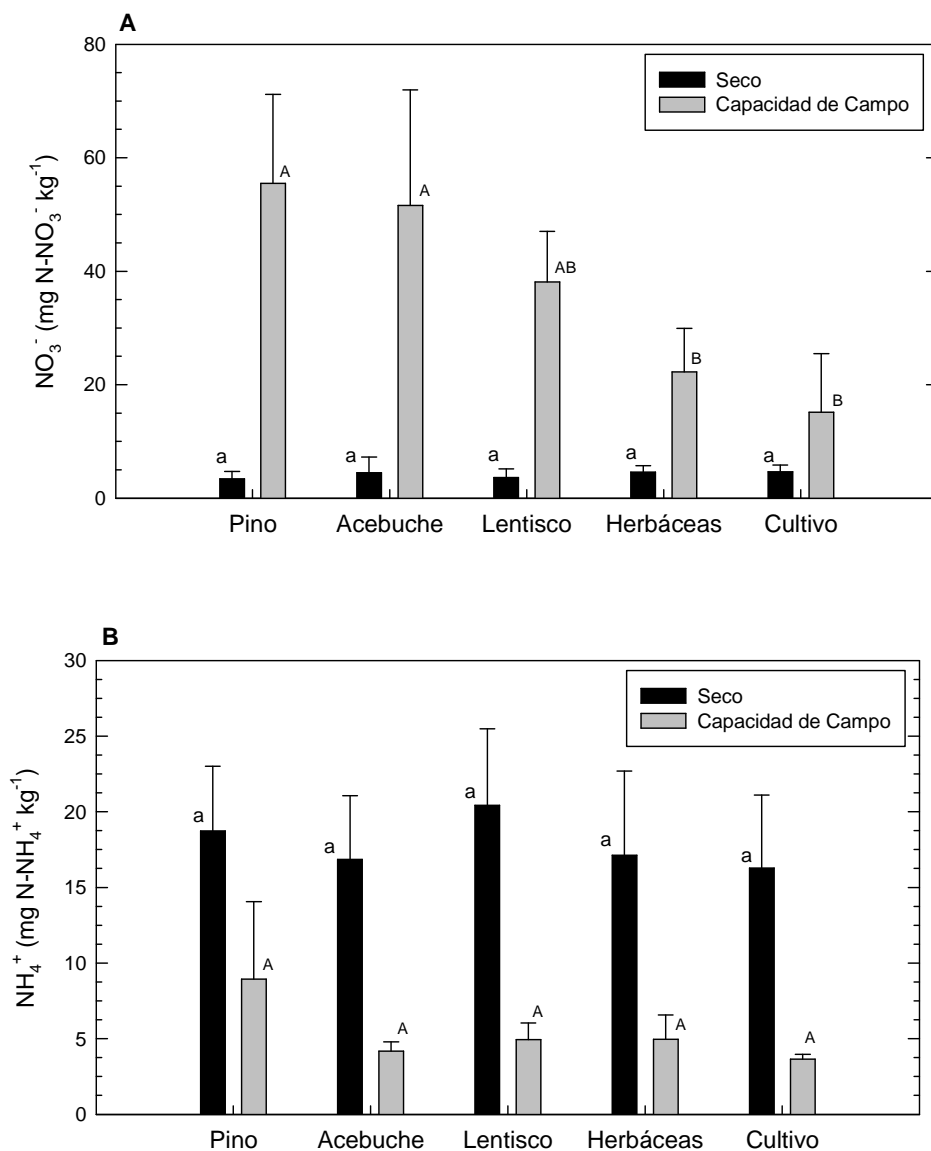
Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En ambas figuras los valores correspondientes a las muestras secas se han indicado con letras minúsculas y las muestras húmedas con mayúsculas.



Figuras 6.7.A,B. En la figura superior, nitrógeno total (NT) y en la inferior relación C/N, de las muestras secas, del horizonte mineral. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

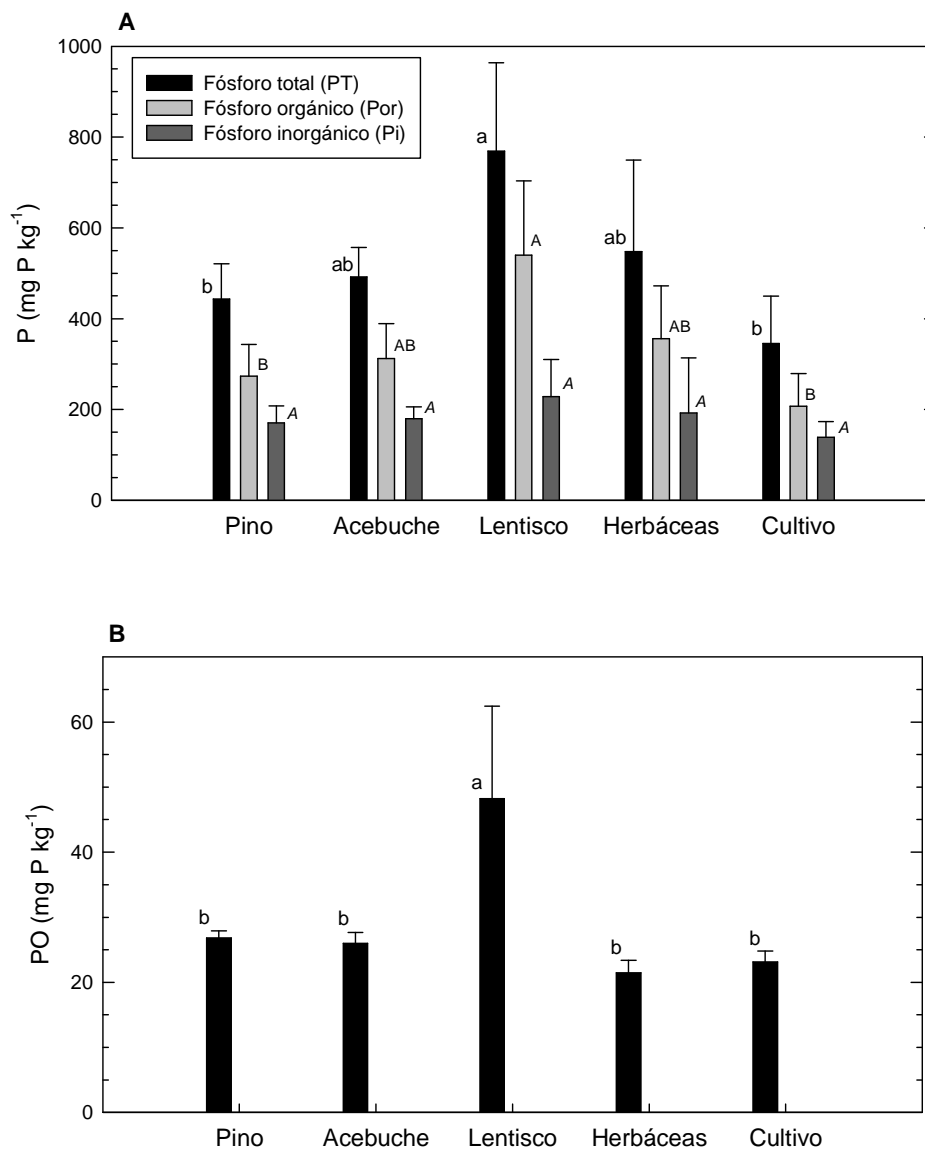
Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo



Figuras 6.8.A,B. En la figura superior, contenido de nitratos y en la inferior de amonio, correspondientes a las muestras secas y húmedas a CC, del horizonte mineral. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

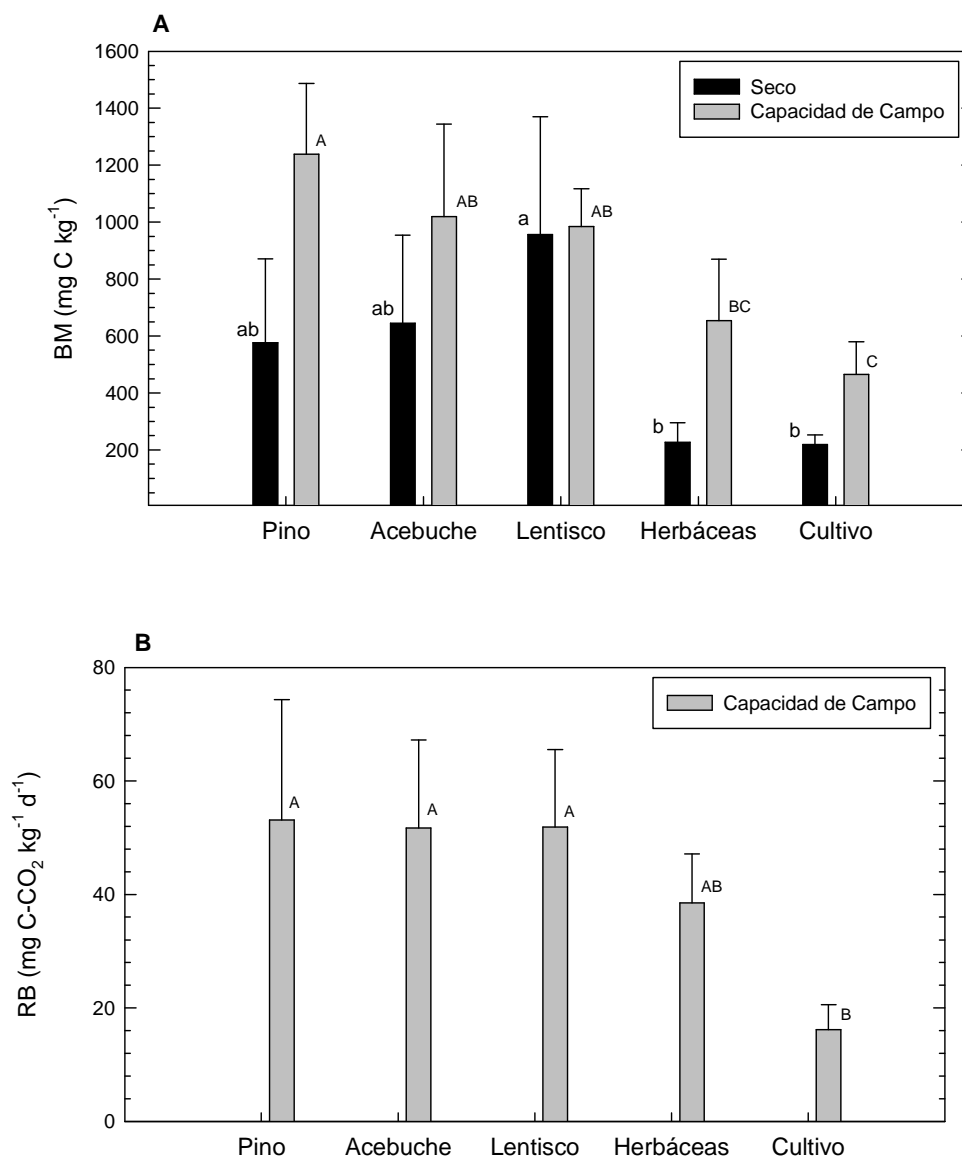
Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los valores correspondientes a las muestras secas se han indicado con letras minúsculas y los correspondientes a CC con mayúsculas.



Figuras 6.9.A,B. En la figura superior, contenido en fósforo total (PT), diferenciando las fracciones orgánica (Por) e inorgánica (Pi). En la figura inferior fósforo asimilable determinado mediante el método Olsen (PO). Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

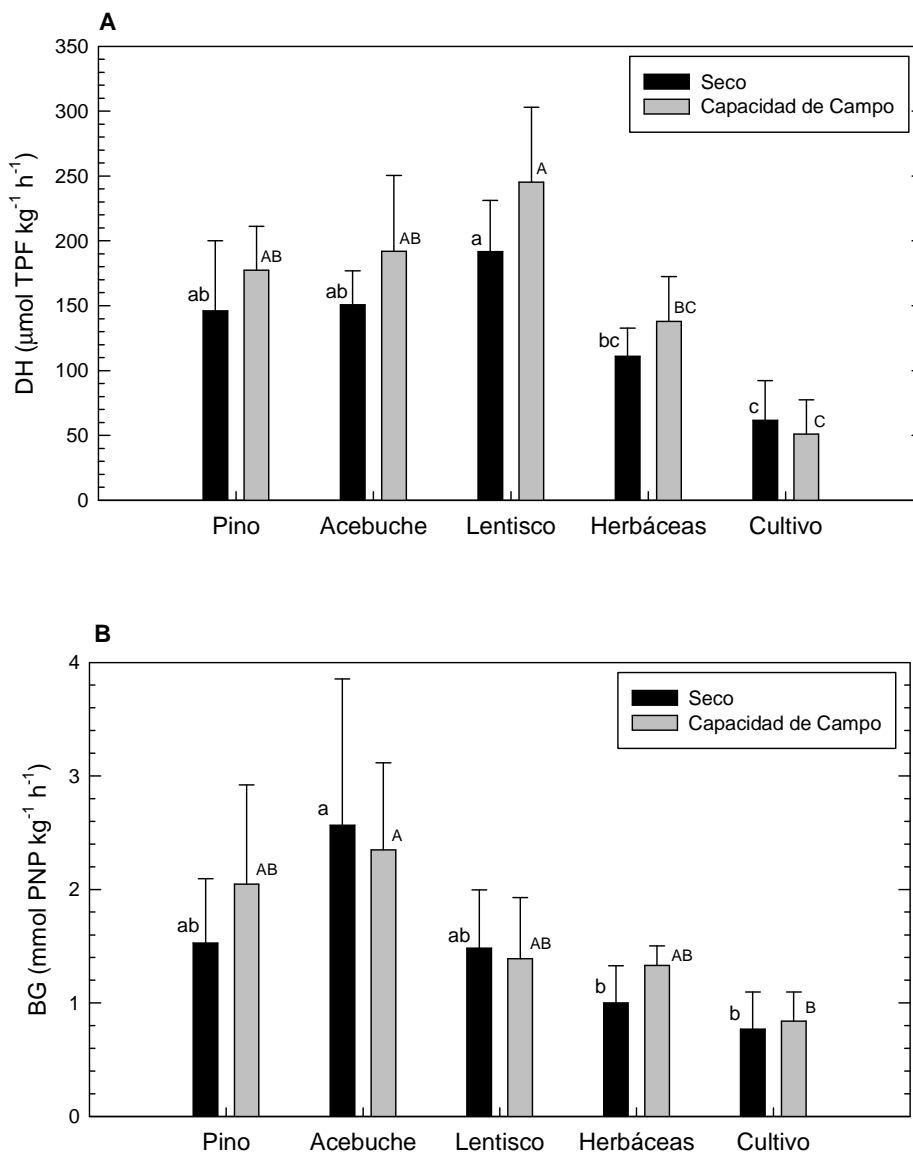
Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior (A) los valores correspondientes al PT se han indicado con letras minúsculas, el Por en mayúsculas normales y el Pi con mayúsculas cursivas.

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo



Figuras 6.10.A,B. En la figura superior, contenidos en carbono de la biomasa microbiana (BM), correspondientes a las muestras secas y húmedas a CC. En la figura inferior (B) respiración basal (RB) determinada en las muestras húmedas a CC. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

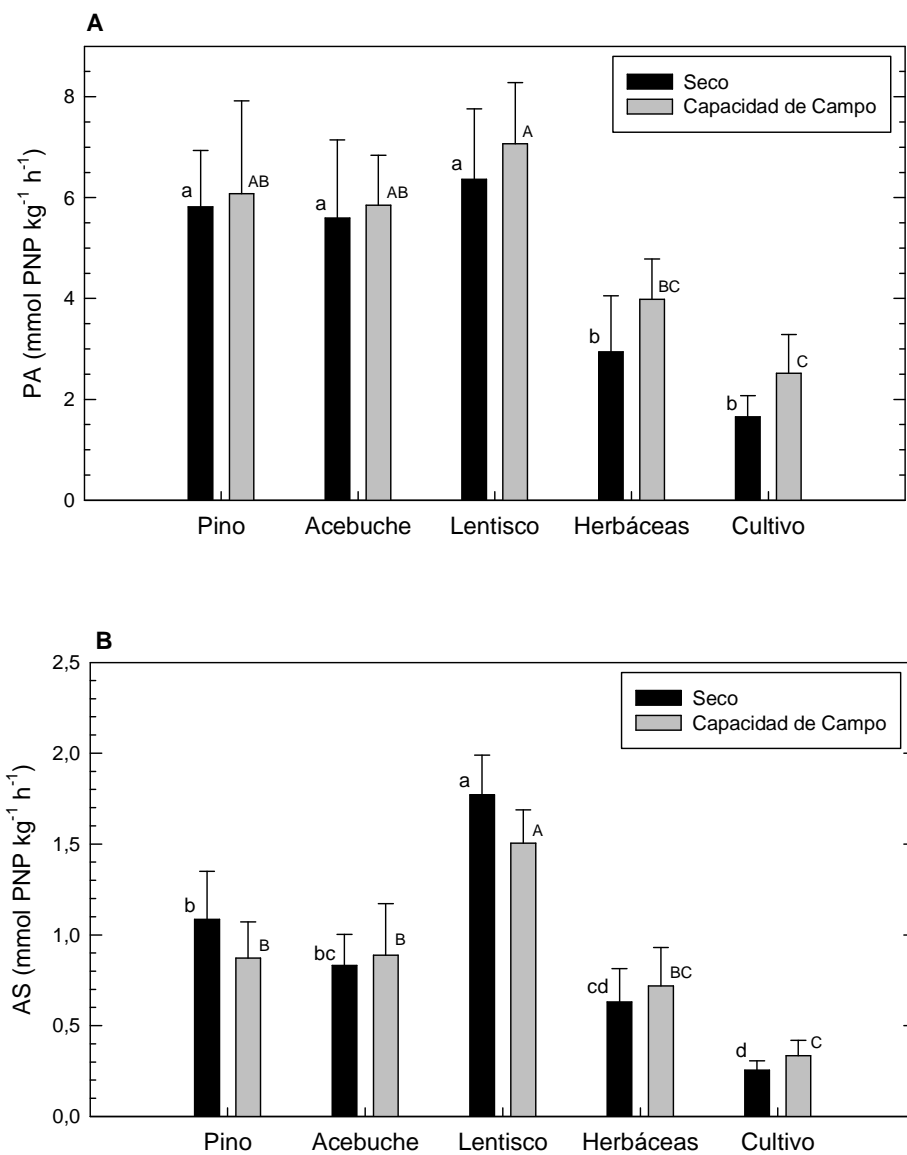
Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. En la figura superior, los valores correspondientes a las muestras secas se han indicado con letras minúsculas y los correspondientes a CC con mayúsculas.



Figuras 6.11.A,B. En la figura superior, actividad deshidrogenasa (DH) y en la inferior β -glucosidasa (BG), determinadas en las muestras secas y húmedas a CC. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

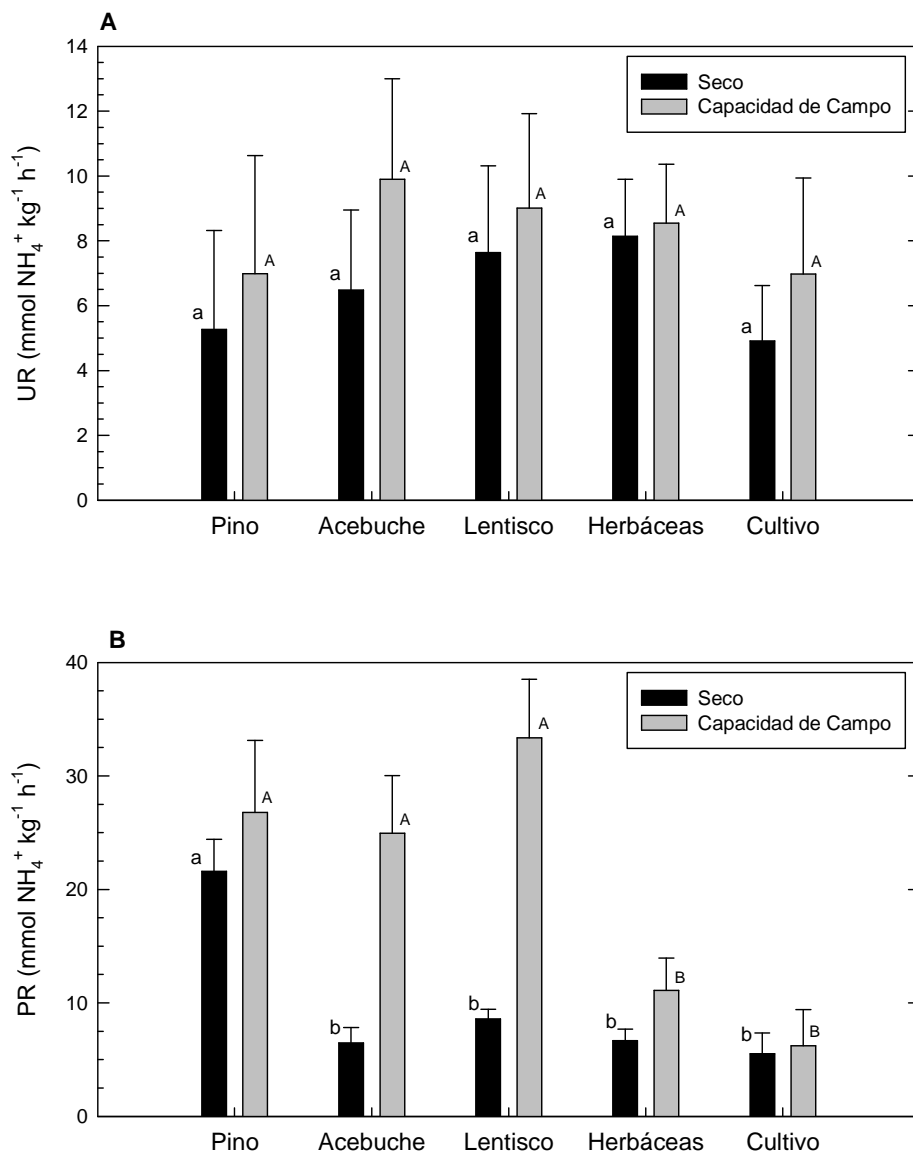
Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los valores correspondientes a las muestras secas se han indicado con letras minúsculas y los correspondientes a CC con mayúsculas.

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo



Figuras 6.12.A,B. En la figura superior, actividad fosfatasa alcalina (PA) y en la inferior arilsulfatasa (AS), determinadas en las muestras secas y húmedas a CC. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

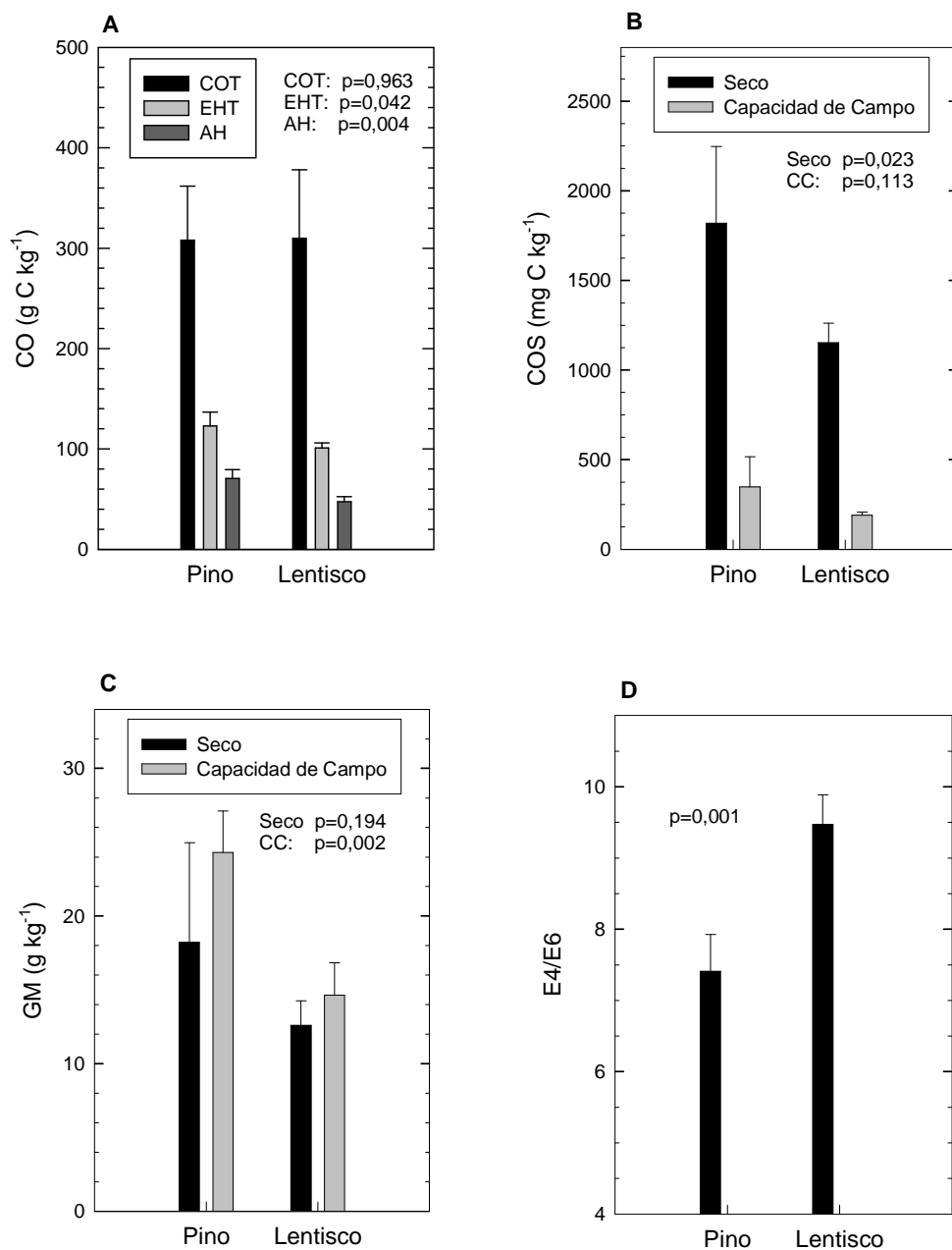
Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los valores correspondientes a las muestras secas se han indicado con letras minúsculas y los correspondientes a CC con mayúsculas.



Figuras 6.13.A,B. En la figura superior, actividad ureasa (UR) y en la inferior proteasa BAA (PR), determinadas en las muestras secas y húmedas a CC. Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

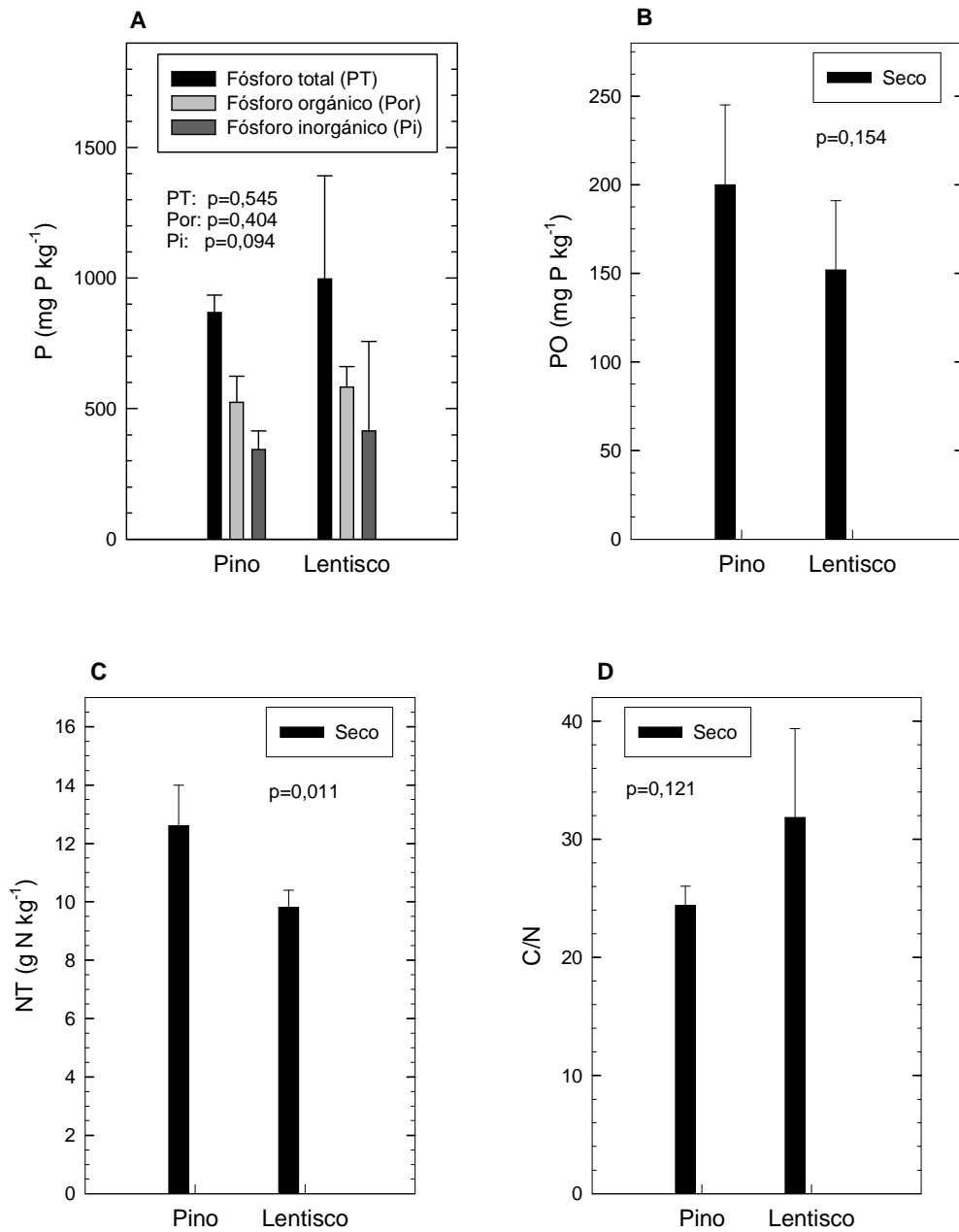
Tratamientos con distinta letra para un mismo ensayo se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*. Los valores correspondientes a las muestras secas se han indicado con letras minúsculas y los correspondientes a CC con mayúsculas.

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo



Figuras 6.14.A-D. A: contenidos de carbono orgánico total (COT), extracto húmico total (EHT) y ácidos húmicos (AH); B: carbono orgánico soluble (COS); C: gomas microbianas (GM) y D: relación E4/E6 del EHT. El COS y las GM se ha determinado en el suelo seco y después de 10 d a CC, en el horizonte orgánico (Oa). Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

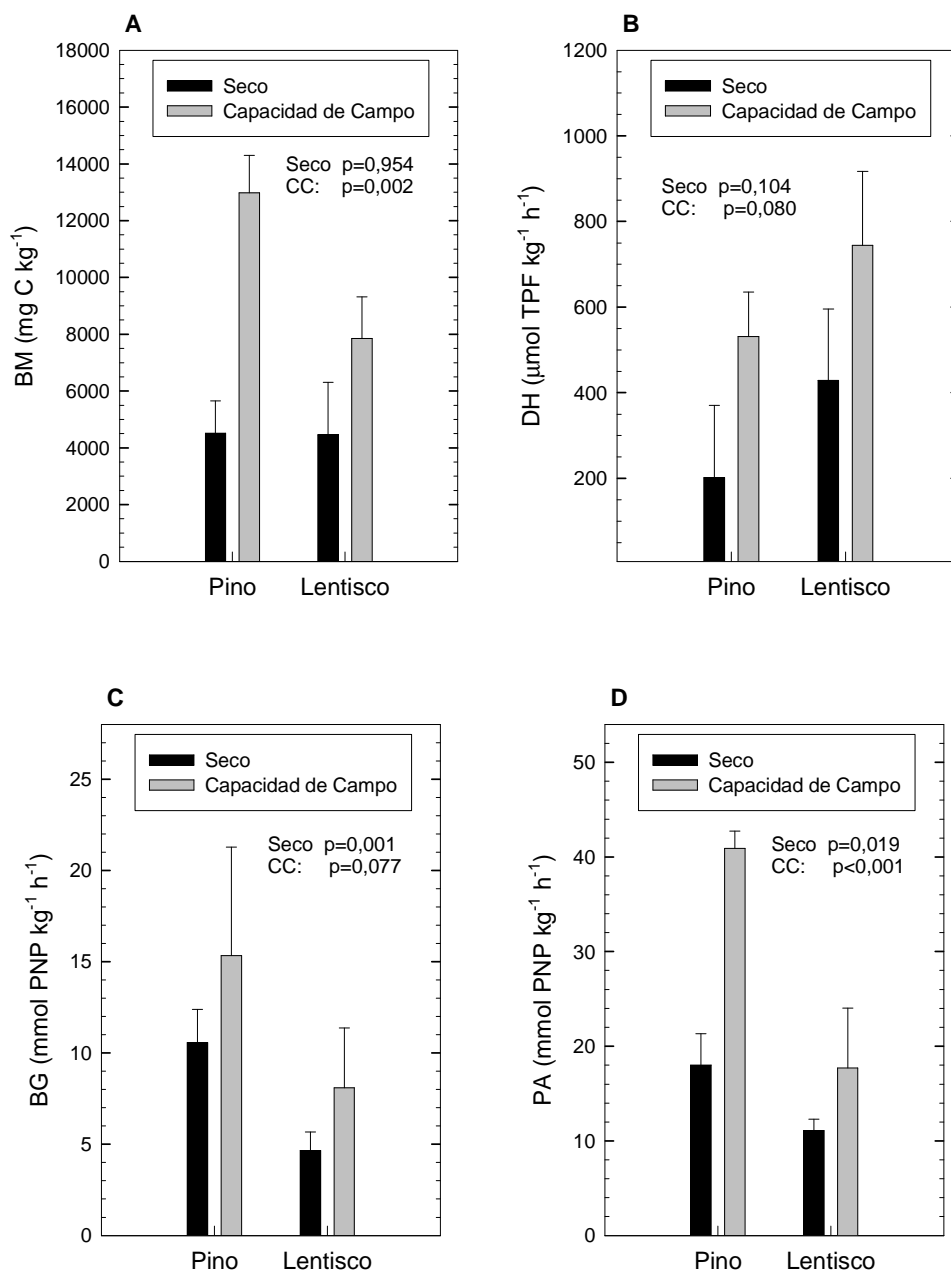
Significación estadística aplicando el test de t de *Student*, para comparar los respectivos parámetros del horizonte orgánico bajo las dos especies vegetales.



Figuras 6.15.A-D. A: contenidos de fósforo total (PT), fósforo orgánico (Por) y fósforo inorgánico (Pi); B: fósforo soluble determinado mediante el método Olsen (PO); C: nitrógeno total y D: relación C/N, en el horizonte orgánico (Oa). Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

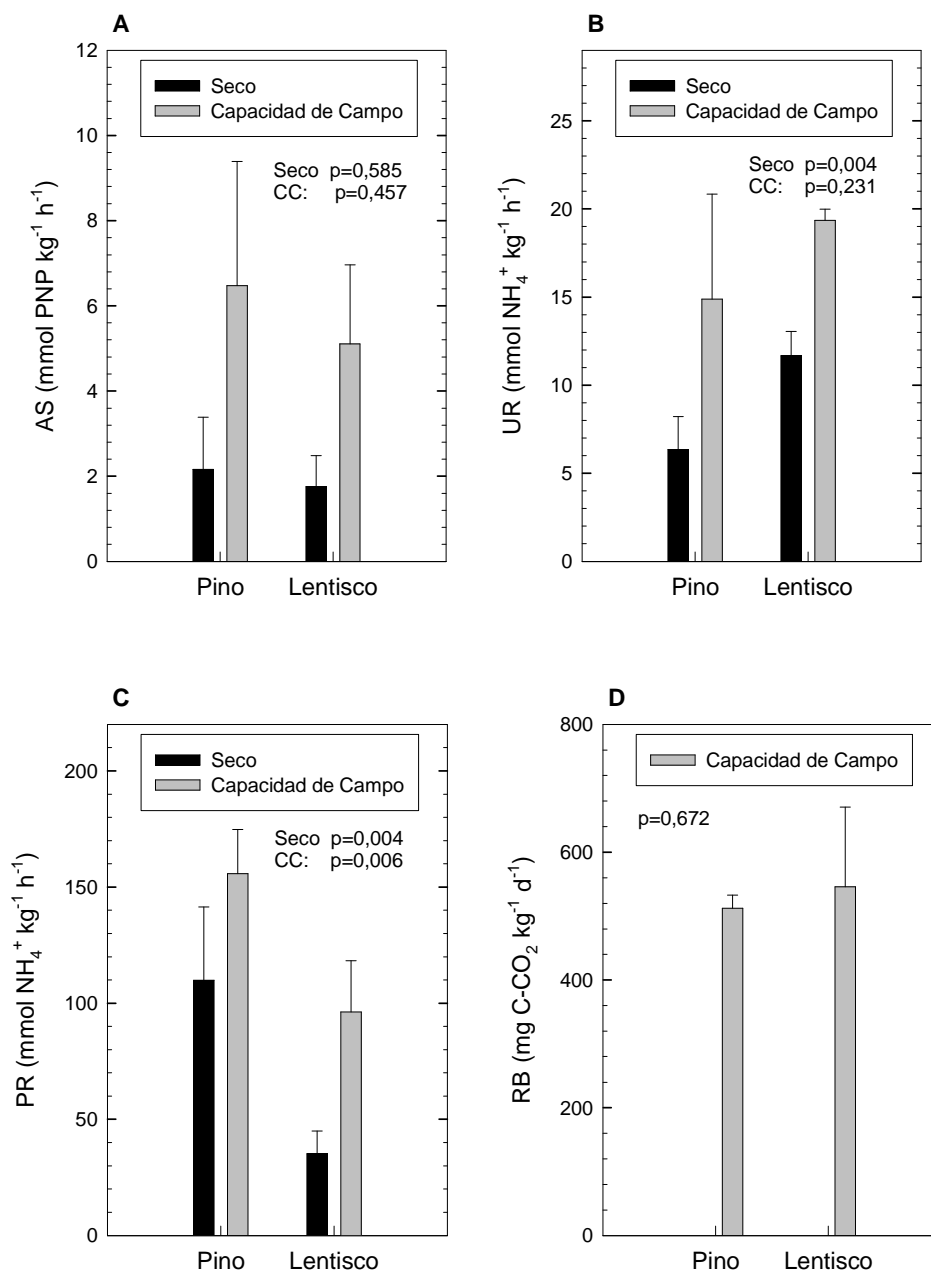
Significación estadística aplicando el test de t de *Student*, para comparar los respectivos parámetros del horizonte orgánico bajo las dos especies vegetales.

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo



Figuras 6.16.A-D. A: contenido de biomasa microbiana (BM); B: actividad deshidrogenasa (DH); C: actividad β -glucosidasa (BG) y D: actividad fosfatasa alcalina (PA), en muestras de suelo seco y mantenidas 10 d a CC, del horizonte orgánico (Oa). Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Significación estadística aplicando el test de t de *Student*, para comparar los respectivos parámetros del horizonte orgánico bajo las dos especies vegetales.



Figuras 6.17.A-D. A: actividad arilsulfatasa AS); B: actividad ureasa (UR); C: actividad proteasa BAA (PR) y D: respiración basal (RB), en muestras de suelo seco y mantenidas 10 d a CC, del horizonte orgánico (Oa). Valores medios acompañados de la desviación estándar (n=4).

Significación estadística aplicando el test de t de *Student*, para comparar los respectivos parámetros del horizonte orgánico bajo las dos especies vegetales.

Tabla 6.3: Comparación mediante el análisis de la varianza (ANOVA) de la biomasa microbiana referida al carbono orgánico total (BM/COT), actividades enzimáticas específicas y parámetros respiratorios entre las muestras secas y las húmedas a CC del horizonte mineral bajo los distintos tipos de vegetación y el suelo ocultado. Los parámetros respiratorios sólo se han determinado en las muestras húmedas. Valores medios acompañados de la desviación estándar.

	Pino	Acebucho	Lentisco	Herbáceas	Agrícola
A. Seco					
BM/COT	14,3±7,2a	13,7±3,3a	11,5±1,6a	7,3±2,2a	13,8±4,2a
DHe	3,54±1,12a	3,36±0,57a	2,44±0,39a	3,54±0,38a	3,72±1,77a
BGe	36,7±11,3abc	54,2±12,9a	18,9±5,8c	31,7±7,7bc	45,1±10,2ab
PAe	142,5±19,9a	123,8±27,8ab	82,0±20,0b	94,4±29,8ab	99,6±14,7ab
ASe	26,3±4,3a	18,5±3,3ab	23,3±6,8ab	19,8±2,8ab	15,4±1,9b
URe	127±69b	141±35b	104±60b	259±14a	293±56a
Pre	532±68a	144±23cd	113±33d	216±34c	326±45b
B. Capacidad de Campo					
BM/COT	30,2±3,5a	22,3±4,4ab	12,8±2,8b	20,5±3,8ab	29,1±11,0a
DHe	4,34±0,63a	4,19±0,55ab	3,09±0,40ab	4,35±0,29a	2,98±0,90b
BGe	49,1±18,4a	51,6±12,4a	18,4±8,4b	43,0±6,8ab	50,6±11,8a
PAe	148,0±37,4ab	132,6±34,5ab	90,7±17,5b	127,5±15,6ab	150,0±18,7a
ASe	21,3±3,5a	19,5±4,4a	20,4±7,8a	23,4±8,1a	19,9±1,1a
URe	167±82b	220±74ab	125±64b	273±26ab	420±167a
Pre	653±111a	558±113ab	440±148ab	350±28b	356±103b
RB	53,1±21,3a	51,7±15,5a	51,9±13,6a	38,5±8,6ab	16,2±4,4b
CME	1,36±0,75a	1,12±0,10a	0,66±0,13a	1,22±0,11a	1,02±0,35a
qCO ₂	47,4±32,0a	51,2±4,9a	52,2±7,1a	61,3±13,8a	37,0±15,5a

Tratamientos con distinta letra para un mismo parámetro se diferencian al nivel de $p < 0,05$ con el test de *Tukey*.
 BM/COT: biomasa microbiana referida al carbono orgánico total ($\text{g C kg}^{-1} \text{C}$); DHe: actividad deshidrogenasa específica ($\text{mmol TPF kg}^{-1} \text{C h}^{-1}$); BGe: actividad β -glucosidasa específica ($\text{mmol PNP kg}^{-1} \text{C h}^{-1}$); PAe: actividad fosfatasa alcalina específica ($\text{mmol PNP kg}^{-1} \text{C h}^{-1}$); ASe: actividad arilsulfatasa específica ($\text{mmol PNP kg}^{-1} \text{C h}^{-1}$); URe: actividad ureasa específica ($\text{mmol NH}_4^+ \text{kg}^{-1} \text{C h}^{-1}$); Pre: actividad proteasa BAA específica ($\text{mmol NH}_4^+ \text{kg}^{-1} \text{C h}^{-1}$); RB: respiración basal ($\text{mg C kg}^{-1} \text{d}^{-1}$); CME: coeficiente de mineralización endógena ($\text{g C kg}^{-1} \text{C d}^{-1}$); qCO₂: cociente metabólico ($\text{g C kg}^{-1} \text{C d}^{-1}$).

Tabla 6.4: Comparación del nivel de humedad del suelo (Hm y CC), contenidos en nitratos y amonio, biomasa microbiana referida al carbono orgánico total (BM/COT), actividades enzimáticas específicas y parámetros respiratorios entre las muestras secas y las húmedas a CC en los horizontes orgánicos bajo pino y lentisco. Los parámetros respiratorios sólo se han determinado en las muestras húmedas. Valores medios acompañados de la desviación estándar.

	Pino	Lentisco	p
A. Seco			
Hm	115±27	116±11	0,943
NO3	12,9±2,5	12,5±7,0	0,913
NH4	42,9±17,6	27,0±5,3	0,135
BM/COT	15,3±5,6	15,5±7,9	0,970
DHe	0,61±0,42	1,53±0,99	0,140
BGe	34,8±7,3	16,1±7,3	0,011
PAe	58,7±7,9	36,8±7,4	0,007
ASe	7,06±4,19	6,19±4,09	0,777
URe	21,2±8,0	39,5±11,9	0,043
Pre	364,4±125,9	118,8±42,0	0,010
B. Capacidad de campo			
CC	586±60	512±30	0,068
NO3	149,7±66,3	9,2±2,3	0,024
NH4	28,7±5,5	10,1±3,0	0,001
BM/COT	43,5±13,8	24,8±6,6	0,066
DHe	1,74±0,34	2,60±1,26	0,238
BGe	49,0±12,7	27,9±16,6	0,089
PAe	135,9±24,1	61,3±34,9	0,013
ASe	20,8±8,2	17,6±10,0	0,647
URe	51,0±25,0	65,2±17,4	0,387
Pre	515,5±102,4	324,5±118,0	0,050
RB	512,2±20,9	545,8±124,9	0,672
CEM	1,65±0,33	1,78±0,27	0,602
qCO ₂	42,2±8,7	78,9±35,9	0,150

p: significación estadística de acuerdo al test de *Student*.

Hm: humedad del suelo (g kg⁻¹); CC: humedad del suelo a capacidad de campo, equivalente a un nivel de succión de 33 kPa (g kg⁻¹); NO₃: contenido en nitratos del suelo (mg N kg⁻¹); NH₄: contenido en amonio del suelo (mg N kg⁻¹); BM/COT: biomasa microbiana referida al carbono orgánico total (g C kg⁻¹ C); DHe: actividad deshidrogenasa específica (mmol TPF kg⁻¹ C h⁻¹); BGe: actividad β-glucosidasa específica (mmol PNP kg⁻¹ C h⁻¹); PAe: actividad fosfatasa alcalina específica (mmol PNP kg⁻¹ C h⁻¹); ASe: actividad arilsulfatasa específica (mmol PNP kg⁻¹ C h⁻¹); URe: actividad ureasa específica (mmol NH₄⁺ kg⁻¹ C h⁻¹); Pre: actividad proteasa BAA específica (mmol NH₄⁺ kg⁻¹ C h⁻¹); RB: respiración basal (mg C kg⁻¹ d⁻¹); CME: coeficiente de mineralización endógena (g C kg⁻¹ C d⁻¹); qCO₂: cociente metabólico (g C kg⁻¹ C d⁻¹).

Tabla 6.5: Comparación de parámetros químicos y biológicos de los horizontes minerales (A) y orgánicos (B), entre las muestras secas y las muestras húmedas, mantenidas a capacidad de campo durante 10 d. Para las muestras relacionadas, se han utilizado las pruebas estadísticas t de *Student* (1) y la prueba de los rangos con signo de *Wilcoxon* (2), en función de la distribución de los valores. Valores medios acompañados de la desviación estándar.

A. Horizontes minerales (n=20)				B. Horizontes orgánicos (n=8)			
	Seco	Húmedo	p		Seco	Húmedo	p
COS	143,9±61,8	77,5±52,6	<0,001 (2)		1486±458	269±139	0,012 (2)
GM	1,25±0,74	1,23±0,78	0,737 (2)		15,4±5,5	19,5±5,7	0,029 (1)
NO3	4,16±1,60	36,53±20,16	<0,001 (1)		12,7±4,9	79,5±86,7	0,064 (1)
NH4	17,88±4,55	5,33±2,91	<0,001 (2)		35,0±14,7	20,6±13,4	0,017 (2)
BM	525±371	873±345	<0,001 (1)		4484±1428	10411±3785	0,003 (1)
DH	132,2±55,2	160,7±77,2	0,001 (1)		315±197	638±174	<0,001 (1)
BG	1,47±0,89	1,59±0,76	0,108 (2)		7,61±3,45	11,71±5,90	0,016 (1)
PA	4,47±2,16	5,10±1,98	0,004 (1)		14,5±4,4	29,3±13,1	0,005 (1)
AS	0,91±0,55	0,86±0,43	0,324 (1)		1,96±0,96	5,79±2,38	<0,001 (1)
UR	6,49±2,49	8,28±,87	<0,001 (1)		9,00±3,22	17,11±4,59	0,002 (1)
PR	9,8±6,3	20,5±11,3	<0,001 (2)		72,6±45,4	126,0±37,0	0,004 (1)
BM/COT	12,1±4,6	23,0±8,4	<0,001 (1)		15,4±6,35	34,1±14,2	0,005 (1)
DHe	3,32±1,00	3,79±0,83	0,040 (1)		1,07±0,86	2,17±0,97	0,012 (2)
BGe	37,3±15,1	42,5±16,8	0,027 (1)		25,5±12,1	38,4±17,7	0,011 (1)
PAe	108,5±30,3	129,8±32,1	0,002 (1)		47,8±13,7	98,6±48,6	0,007 (1)
ASe	20,7±5,4	20,9±5,2	0,876 (1)		6,6±3,9	19,2±8,7	<0,001 (1)
URe	184,7±90,2	241,0±134,5	0,003 (1)		30,4±13,5	58,1±21,3	0,003 (1)
PRe	266,2±160,6	471,3±154,5	<0,001 (2)		242±157	420±144	0,008 (1)

p: significación estadística.

COS: carbono orgánico soluble (mg C kg⁻¹); GM: gomas microbianas (g kg⁻¹); NO₃: nitratos del suelo (mg N kg⁻¹); NH₄: amonio del suelo (mg N kg⁻¹); BM: Biomasa microbiana (mg C kg⁻¹); DH: actividad deshidrogenasa (μmol TPF kg⁻¹ h⁻¹); BG: actividad β-glucosidasa (mmol PNP kg⁻¹ h⁻¹); PA: actividad fosfatasa alcalina (mmol PNP kg⁻¹ h⁻¹); AS: actividad arilsulfatasa (mmol PNP kg⁻¹ h⁻¹); UR: actividad ureasa (mmol NH₄⁺ kg⁻¹ h⁻¹); PR: actividad proteasa BAA (mmol NH₄⁺ kg⁻¹ h⁻¹); BM/COT: biomasa microbiana referida al carbono orgánico total (g C kg⁻¹ C); DHe: actividad deshidrogenasa específica (mmol TPF kg⁻¹ C h⁻¹); BGe: actividad β-glucosidasa específica (mmol PNP kg⁻¹ C h⁻¹); PAe: actividad fosfatasa alcalina específica (mmol PNP kg⁻¹ C h⁻¹); ASe: actividad arilsulfatasa específica (mmol PNP kg⁻¹ C h⁻¹); URe: actividad ureasa específica (mmol NH₄⁺ kg⁻¹ C h⁻¹); PRe: actividad proteasa BAA específica (mmol NH₄⁺ kg⁻¹ C h⁻¹).

Tabla 6.6: Coeficientes de correlación de *Spearman* obtenidos entre los parámetros determinados en los suelos situados bajo distintos tipos de vegetación natural y cultivo (n=20).**a) Seco**

	DH	BG	PA	AS	UR	PR	COT	EHT	COS	GM	NT	PT	PO	ST	IEE
BM	0,838 ***	0,579 **	0,780 ***	0,740 ***	0,356 -	0,415 -	0,738 ***	0,577 **	0,478 *	0,708 ***	0,788 ***	0,495 *	0,800 ***	0,842 ***	0,598 **
DH		0,771 ***	0,881 ***	0,880 ***	0,553 *	0,538 *	0,875 ***	0,779 ***	0,556 *	0,803 ***	0,917 ***	0,749 ***	0,731 ***	0,905 ***	0,749 ***
BG			0,740 ***	0,636 **	0,376 -	0,371 -	0,666 **	0,447 *	0,574 **	0,708 ***	0,663 **	0,418 -	0,475 *	0,674 **	0,680 **
PA				0,865 ***	0,368 -	0,672 **	0,809 ***	0,659 **	0,495 *	0,820 ***	0,806 ***	0,556 **	0,767 **	0,904 ***	0,841 ***
AS					0,438 -	0,665 **	0,892 ***	0,812 ***	0,466 *	0,805 ***	0,889 ***	0,660 **	0,780 ***	0,893 ***	0,866 ***
UR						0,137 -	0,382 -	0,522 *	0,337 -	0,245 -	0,495 *	0,644 **	0,170 -	0,433 -	0,171 -
PR							0,567 **	0,513 *	0,194 -	0,444 -	0,531 *	0,382 -	0,621 **	0,712 **	0,669 **
COT								0,911 ***	0,623 **	0,905 ***	0,974 ***	0,740 ***	0,776 ***	0,900 ***	0,814 ***
EHT									0,644 **	0,783 ***	0,907 ***	0,869 ***	0,618 **	0,805 ***	0,699 **
COS										0,674 **	0,630 **	0,577 **	0,311 -	0,602 **	0,496 *
GM											0,848 ***	0,624 **	0,734 ***	0,840 ***	0,862 ***
NT												0,818 ***	0,782 ***	0,918 ***	0,726 ***
PT													0,534 *	0,728 ***	0,468 *
PO														0,868 ***	0,714 ***
ST															0,826 ***

b) Capacidad de campo

	DH	BG	PA	AS	UR	PR	COT	EHT	COS	GM	NT	PT	PO	ST	IEE	RB
BM	0,859 ***	0,728 ***	0,762 ***	0,595 **	0,250 -	0,773 ***	0,765 ***	0,605 **	0,844 ***	0,725 ***	0,756 ***	0,478 *	0,677 **	0,842 ***	0,731 ***	0,663 **
DH		0,639 **	0,941 ***	0,874 ***	0,412 -	0,905 ***	0,914 ***	0,808 ***	0,710 ***	0,896 ***	0,932 ***	0,693 **	0,794 ***	0,933 ***	0,817 ***	0,702 **
BG			0,644 **	0,535 *	0,534 *	0,570 **	0,532 *	0,316 -	0,574 **	0,549 *	0,525 *	0,292 -	0,316 -	0,551 *	0,588 **	0,427 -
PA				0,889 ***	0,444 -	0,940 ***	0,863 ***	0,704 **	0,713 ***	0,901 ***	0,884 ***	0,623 **	0,779 ***	0,925 ***	0,802 ***	0,635 **
AS					0,498 *	0,887 ***	0,862 ***	0,765 ***	0,528 *	0,872 ***	0,856 ***	0,626 **	0,723 ***	0,837 ***	0,803 ***	0,543 *
UR						0,447 *	0,329 -	0,298 -	0,185 -	0,408 -	0,397 -	0,373 -	0,215 -	0,339 -	0,238 -	0,056 -
PR							0,895 ***	0,752 ***	0,734 ***	0,925 ***	0,905 ***	0,654 **	0,850 ***	0,925 ***	0,811 ***	0,603 **
COS							0,693 **	0,483 *		0,761 ***	0,632 **	0,301 -	0,686 **	0,802 ***	0,749 ***	0,692 **
GM							0,932 ***	0,814 ***	0,761 ***		0,899 ***	0,659 **	0,780 ***	0,889 ***	0,869 ***	0,689 **
RB							0,732 ***	0,674 **	0,692 **	0,689 **	0,708 ***	0,481 *	0,586 **	0,732 ***	0,639 **	

BM: Biomasa microbiana; DH: actividad deshidrogenasa; BG: actividad β -glucosidasa; PA: actividad fosfatasa alcalina; AS: actividad arilsulfatasa; UR: actividad ureasa; PR: actividad BBA-proteasa; CO: carbono orgánico; EHT: extracto húmico total; AH: ácidos húmicos; COS: carbono orgánico soluble; GM: gomas microbianas; NT: nitrógeno total; Pt: fósforo total; PO: fósforo soluble Olsen; St: azufre total; EE: estabilidad estructural; RB: Respiración basal.

En el apartado b) Capacidad de Campo, los parámetros BM, DH, BG, PA, AS, UR, PR, COS, GM y RB corresponden a determinaciones realizadas en muestras mantenidas durante 10 d a capacidad de campo, mientras que el resto de parámetros se han determinado en las muestras secas.

*, **, ***: significación a los niveles de $p < 0,05$, $p < 0,01$ y $p < 0,001$, de acuerdo al coeficiente de *Spearman*.

6. Influencia de la vegetación y el cultivo sobre el suelo

Tabla 6.6 (continuación): Coeficientes de correlación de *Spearman* obtenidos entre parámetros indicadores del nitrógeno y pH con otros parámetros indicadores de actividad biológica y de la materia orgánica, en los suelos situados bajo distintos tipos de vegetación natural y cultivo (n=20).

a) **Seco**

	BM	DH	BG	PA	AS	UR	PR	COT	COS	NT	C/N	NO3	NH4	pHH ₂ O
C/N	0,469 *	0,424 -	0,241 -	0,493 *	0,620 **	-0,153 -	0,477 *	0,626 **	0,198 -	0,499 *				
NO3	-0,269 -	-0,198 -	-0,144 -	-0,205 -	-0,192 -	0,382 -	-0,083 -	-0,063 -	-0,057 -	-0,077 -	-0,352 -			
NH4	0,347 -	0,072 -	-0,102 -	0,226 -	0,212 -	0,024 -	0,266 -	0,251 -	0,167 -	0,191 -	0,456 *	0,197 -		
pHH ₂ O	-0,615 **	-0,719 ***	-0,568 **	-0,764 ***	-0,773 ***	-0,195 -	-0,683 **	-0,737 ***	-0,655 **	-0,690 **	-0,597 **	0,326 -	-0,189 -	
pHKCl	-0,449 *	-0,547 *	-0,250 -	-0,343 -	-0,482 *	-0,453 *	-0,297 -	-0,487 *	-0,507 *	-0,533 *	-0,262 -	0,247 -	-0,186 -	0,495 *

b) **Capacidad de campo**

	BM	DH	BG	PA	AS	UR	PR	COT	COS	NT	RB	C/N	NO3	NH4	pHH ₂ O
C/N	0,406 -	0,502 *	0,143 -	0,519 *	0,594 **	-0,101 -	0,595 **	0,626 **	0,523 *	0,499 *	0,507 *				
NO3	0,713 ***	0,663 **	0,726 ***	0,753 ***	0,618 **	0,382 -	0,726 ***	0,651 **	0,835 ***	0,614 **	0,675 **	0,435 -			
NH4	0,453 *	0,489 *	0,308 -	0,523 *	0,468 *	-0,030 -	0,435 -	0,352 -	0,353 -	0,373 -	0,552 *	0,331 -	0,484 *		
pHH ₂ O	-0,706 **	-0,769 ***	-0,505 *	-0,736 ***	-0,701 **	-0,116 -	-0,696 **	-0,737 ***	-0,707 ***	-0,690 **	-0,770 ***	-0,597 **	-0,725 ***	-0,565 **	
pHKCl	-0,153 -	-0,461 *	-0,090 -	-0,439 -	-0,488 *	-0,186 -	-0,409 -	-0,487 *	-0,090 -	-0,533 *	-0,579 **	-0,262 -	-0,239 -	-0,241 -	0,495 *

*, **, ***: significación a los niveles de $p < 0,05$, $p < 0,01$ y $p < 0,001$, de acuerdo al coeficiente de *Spearman*.

C/N: relación carbono nitrógeno; NO3: nitratos; NH4: amonio; pHH₂O: pH 1:2,5 en agua; pHKCl: pH en una solución 1 M de KCl. El resto de parámetros están indicados en la Tabla 7.5.

7. Caracterización física, química y biológica de una población de suelos agrícolas de Mallorca

7.1. Introducción

El manejo agrícola del suelo se caracteriza por una reducción del contenido de materia orgánica (Guo y Gifford, 2002) lo cual afecta directamente a las propiedades biológicas (Dick, 1992; Nannipieri *et al.*, 2002) y, también, a las propiedades físicas como la estabilidad de los agregados y la porosidad (Bronick y Lal, 2005).

Con el objetivo de realizar una primera aproximación al estado de los suelos agrícolas de Mallorca se han recogido 24 muestras de suelos agrícolas representativos. Se incluyen suelos de secano y regadío, sometidos a distintos tipos de gestión. En la Tabla 7.1 se indica la procedencia de cada una de las muestras, correspondientes a la capa arable.

Paralelamente, las determinaciones analíticas de los parámetros biológicos (BM y actividades enzimáticas DH, BG, PA, AS, UR y PR) se han realizado en dos condiciones de preparación de las muestras: muestras secas en el estado que se encuentran en el momento del muestreo (mes de julio de 2003) y después de mantener la tierra fina a una humedad equivalente a capacidad de campo (-33 kPa) durante 10 d.

A partir del estudio de las relaciones entre los distintos parámetros de caracterización: físicos, químicos y biológicos, podemos discernir sobre las relaciones de dependencia entre ellos y realizar un primer diagnóstico de su estado o calidad agronómica.

7.2. Material y métodos

7.2.1. Localización de las muestras

La procedencia de las muestras es la indicada en la Tabla 7.1.

Tabla 7.1. Localización, tipología de suelo de acuerdo a IUSS Working Group (2014) y cultivos actuales. Las coordenadas (X e Y) corresponden al datum ETRS 89 y el uso 31S. "Mixtos secano" hace referencia a cultivos mixtos de especies leñosas (sobre todo almendros y algarrobos con cultivos herbáceos, habitualmente forrajes de invierno para el pasto directo del ganado ovino). "Herbáceos secano" hace referencia a cultivos destinados a la producción de grano, "Hortícolas regadío" hace referencia a cultivos hortícolas, habitualmente son los suelos que reciben mayores aportes de fertilizantes minerales y materia orgánica, "Forrajes regadío" se refiere a suelos que se destinan habitualmente a cultivos de alfalfa y ocasionalmente a maíz o sorgo.

m	X	Y	Tipología	Cultivos
1	487702	4386449	<i>Calcaric Chromic Cambisol</i>	Mixtos secano
2	487520	4386643	<i>Cambic Calcisol</i>	Mixtos secano
3	487496	4386793	<i>Calcaric Fluvisol</i>	Herbáceos secano
4	455748	4380641	<i>Petric Calcisol</i>	Mixtos secano
5	455866	4380586	<i>Calcaric Regosol</i>	Mixtos secano
6	455897	4380634	<i>Calcaric Colluvic Regosol</i>	Mixtos secano
7	455965	4380671	<i>Calcaric Regosol</i>	Mixtos secano
8	498547	4381900	<i>Calcaric Regosol</i>	Mixtos secano
9	498563	4381764	<i>Calcaric Colluvic Regosol</i>	Herbáceos secano
10	508634	4372080	<i>Chromic Leptic Luvisol</i>	Hortícolas regadío
11	507840	4378881	<i>Cambic Calcisol</i>	Herbáceos secano
12	511933	4381630	<i>Calcaric Regosol</i>	Hortícolas regadío
13	511925	4381401	<i>Leptic Calcisol</i>	Hortícolas regadío
14	512415	4381744	<i>Calcaric Cambisol</i>	Hortícolas regadío
15	508933	4387295	<i>Calcaric Cambisol</i>	Herbáceos secano
16	504114	4403176	<i>Cambic Calcisol</i>	Hortícolas regadío
17	503196	4404265	<i>Cambic Calcisol</i>	Hortícolas regadío
18	501428	4400758	<i>Cambic Calcisol</i>	Hortícolas regadío
19	501438	4400194	<i>Skeletal Calcisol</i>	Hortícolas regadío
20	493543	4380427	<i>Calcaric Cambisol</i>	Herbáceos secano
21	478901	4380438	<i>Calcaric Cambic Gleyic Phaeozem</i>	Forrajes regadío
22	478826	4380190	<i>Calcaric Cambic Gleyic Phaeozem</i>	Forrajes regadío
23	484837	4380125	<i>Eutric Leptosol</i>	Herbáceos secano
24	485053	4380080	<i>Eutric Leptosol</i>	Herbáceos secano

7.2.2. Preparación de las muestras

Las muestras, corresponden a muestras compuestas constituidas por entre 8 y 12 submuestras, representativas de cada área de muestreo de entre 500 y 1000 m². La recolección se realizó el mes de julio de 2003 y la mayoría de muestras estaban secas, incluyendo las identificadas como tierras de regadío.

Una vez trasladadas las muestras al laboratorio se cuantificó la humedad, se procedió al tamizado de la tierra fina e inicio de las determinaciones analíticas. La cuantificación de la biomasa microbiana se realizó en un primer momento y para la determinación de las actividades enzimáticas se guardaron las muestras en nevera a 4 °C.

Para determinar los parámetros biológicos en muestras húmedas a capacidad de campo, las muestras de tierra fina se saturaron de agua durante 2 d; después se sometieron a una succión equivalente de 33 kPa en un banco de arena y caolín durante otros 2 d. Para realizar este proceso, las muestras de tierra fina se depositaron en cilindros de PVC de unos 400 cm³. Previo a las determinaciones analíticas, las muestras se mantuvieron durante 10 d en una atmósfera de alta humedad relativa a temperatura ambiente (24-25 °C).

7.3. Resultados y discusión

7.3.1. Caracterización físico-química

Características básicas

En la Tabla 7.2 se indican los valores descriptivos para caracterizar la población de suelos muestreados.

Todos los suelos muestreados están carbonatados, con contenidos medios de CCE en torno al 40%, pH básico, situándose todos los valores entre 8,0 y 8,5. La conductividad eléctrica del extracto 1:5 también se sitúa en un rango estrecho, entre 0,09 y 0,51 dS m⁻¹, sin apreciarse problemas de salinización destacables (Porta *et al.*, 1986).

7. Caracterización de suelos agrícolas

Las texturas son de tendencia arcillosa (arcillosas, franco-arcillosas y franco-arcillo-limosa son las más características) y el contenido en COT es en general alto, con un valor mediano de $15,6 \text{ g C kg}^{-1}$. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) mediana es $17,8 \text{ cmol kg}^{-1}$, con valores extremos entre $7,1$ y $27,4 \text{ cmol kg}^{-1}$.

Caracterización de la fracción orgánica

Los parámetros de caracterización de la materia orgánica, en general presentan niveles aceptables. El EHT supone, como valor mediano, el 30% del COT, situándose los porcentajes máximo y mínimo entre 39,5 y 22,6%, respectivamente, siendo similares a los descritos para suelos agrícolas y con cubiertas herbáceas permanentes, descritos por Caravaca *et al.* (2002) y más elevados a los descritos por Albiach *et al.* (2001b). El valor medio del contenido de AH también es en torno a $2,9 \text{ g C kg}^{-1}$, pudiendo considerarlo elevado, si bien, un 25% de las muestras se sitúan por debajo de $1,5 \text{ g C kg}^{-1}$, valor considerado como deseable en suelos agrícolas (Saña *et al.*, 1996). El contenido en AF presenta un comportamiento similar a los AH. La relación media de AH/AF, superior a 1 indica el dominio de materia orgánica estabilizada. Este mismo hecho queda reflejado en la relación E4/E6 del EHT, con valores medios en torno a 4,8. El COS presenta valores más elevados en el suelo seco que en el húmedo, casi tres veces más elevados en el suelo seco. Los mayores contenidos de COS en el suelo seco pueden ser atribuidos a la fragmentación de la materia orgánica, por rotura de puentes de hidrógeno o la lisis de microorganismos (Magid *et al.*, 1999). Tipping *et al.* (1999) también constatan que el incremento de temperatura y la desecación pueden acelerar la producción de COS en suelos ricos en materia orgánica. Del mismo modo Lundquist *et al.* (1999) constatan incrementos del COS cuando se producen fases de humectación-desecación, manteniendo contenidos de COS más elevados en los suelos con mayor contenido en materia orgánica.

Las GM presentan valores similares en muestras secas que las mantenidas a CC, presentando valores medios de alrededor de $0,5 \text{ g kg}^{-1}$, siendo similares a los descritos en otros suelos agrícolas mediterráneos (Albiach *et al.*, 2000; Tejada y González, 2007).

Nitrógeno

El contenido mediano de nitrógeno total (NT) es de 1,5 g N kg⁻¹, situándose todos los valores entre 0,6 y 4,0 g N kg⁻¹. Al establecer la relación C/N se obtiene un valor mediano de 10,1 y situándose el 50% de valores centrales de la población entre 9,2 y 11,0 (Tabla 7.2) indicando una situación de equilibrio entre los procesos de humificación y mineralización (Brady y Weil, 2010).

El contenido en nitratos presenta una gran variabilidad, con algunos valores individuales muy elevados. Mientras que el valor mediano es 11,9 mg N-NO₃⁻ kg⁻¹, el valor medio se sitúa en 30,1 N-NO₃⁻ kg⁻¹, siendo indicador de algunos valores muy altos (el valor máximo es 139,9 mg N-NO₃⁻ kg⁻¹) (Tabla 7.3). No se han apreciado diferencias estadísticamente significativas entre los contenidos de nitratos en las muestras secas y las mantenidas a CC (Tabla 7.4).

El contenido en amonio en las muestras secas presenta un rango mucho más reducido que en el caso de los nitratos, con un valor medio en torno a 6,8 mg N-NH₄⁺ kg⁻¹. En este caso si se produce una fuerte reducción del contenido de amonio en las muestras húmedas a CC, siendo en este caso el valor máximo (4,1 mg N-NH₄⁺ kg⁻¹) inferior al valor medio registrado en las muestras secas (Tabla 7.3). La reducción en los contenidos de amonio son atribuibles a un aumento de los procesos de nitrificación favorecidos por las condiciones de humedad adecuadas generadas con la humectación a CC (Robertson y Groffman, 2015).

Fósforo

El contenido de fósforo total (PT) es muy variable, con algunos valores muy elevados, que responden a altas aplicaciones de fertilizantes orgánicos y minerales. Siendo el valor mediano de 795 mg P kg⁻¹, el valor medio se sitúa en 1,1 g P kg⁻¹, debido a los altos valores de algunos suelos, alcanzando el valor máximo 2,7 g P kg⁻¹ (Tabla 7.2).

En la mayoría de estos suelos agrícolas la fracción de fósforo inorgánico supera a la fracción orgánica. Como valor mediano, dos tercios del fósforo total es inorgánico (66,7%) mientras que el tercio restante corresponde al fósforo orgánico (33,3%). Estos porcentajes son característicos de los suelos agrícolas (Stutter *et al.*, 2015), siendo indicadores de aportaciones de fertilizantes minerales.

7. Caracterización de suelos agrícolas

El PO presenta, en general valores elevados. El valor mediano es de 30,5 mg P kg⁻¹, situándose más del 75% de las muestras por encima de 20 mg P kg⁻¹, valor genérico de referencia que se considera suficiente (Poulton *et al.*, 2013). Cuatro de las muestras (17%) presentan contenidos superiores a 85 mg P kg⁻¹, valor de referencia crítico a partir del cual las pérdidas de fósforo lixiviado pueden ser importantes (Hooda *et al.*, 2001; Bai *et al.*, 2013).

Índice de estabilidad estructural

Más de la mitad de las muestras registran valores del IEE superiores al 80% y un 25% por encima del 93%, poniendo de manifiesto que muchos de estos suelos presentan una estabilidad estructural buena, siendo poco vulnerables ante los procesos erosivos (Barthès y Roose, 2002). Los altos contenidos en COT, con porcentajes importantes de ácidos húmicos y una considerable presencia de GM favorecen la estabilización de los agregados (Lynch y Bragg; 1985; Tejada y González, 2007). También hay que tener en cuenta las texturas, en general equilibradas y el carácter calcáreo de estos suelos que constituyen factores adicionales de estructuración (Bronick y Lal, 2005; Fernández-Ugalde *et al.*, 2014).

7.3.2. Biomasa microbiana y respiración

Biomasa microbiana

En las muestras de suelos secos, los valores de biomasa microbiana oscilan entre 79 y 574 mg C kg⁻¹, con un valor medio de 243 mg C kg⁻¹, siendo valores similares a los descritos en la bibliografía en suelos agrícolas (Pascual *et al.*, 1997; Albiach *et al.*, 2000; Ros *et al.*, 2006b; Melero *et al.*, 2006, 2007). Cuando se humectan las muestras a CC se produce un fuerte incremento duplicando el valor absoluto medio (504 mg C kg⁻¹).

Los porcentajes de BM respecto al COT presentan valores medianos de 1,3% en el suelo seco y 2,8% en el suelo húmedo, siendo valores similares a los descritos por otros autores en suelos agrícolas (Plaza *et al.*, 2004; Melero *et al.*, 2006, 2007).

Respiración basal

La respiración basal (RB) cuantificada en muestras que han estado 10 d a CC, presenta tasas medias de 32 mg C-CO₂ kg⁻¹ d⁻¹, con valores extremos de 14,3 y 64,0 mg C-CO₂ kg⁻¹ d⁻¹.

El coeficiente de mineralización endógena (CME), medido en las muestras húmedas, presenta una tasa media de 1,95 g C-CO₂ kg⁻¹ C d⁻¹, con valores mínimo y máximo, respectivamente de 1,19 y 3,55 g C-CO₂ kg⁻¹ C d⁻¹.

El cociente respiratorio qCO₂ presenta una tasa media de 68,4 g C-CO₂ kg⁻¹ C d⁻¹ con valores mínimo y máximo, respectivamente de 37,2 y 123,4 g C-CO₂ kg⁻¹ C d⁻¹.

Los valores medios registrados son similares a los de otros suelos descritos en la bibliografía (Melero *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2013) si bien presentan un rango de variación elevado, donde especialmente los valores extremos pueden ser indicadores de escasa o alta actividad, como respuesta a condiciones adversas (Haynes, 1999; Gil-Sotres *et al.*, 2005)

7.3.3. Actividades enzimáticas

Los valores medianos y medios de las actividades enzimáticas registradas son elevados (Tabla 7.3), poniendo de manifiesto que estos suelos agrícolas mantienen una calidad biológica aceptable (Bandink y Dick, 1999; García-Gil *et al.*, 2000; Acosta-Martínez *et al.*, 2007; Giacometti *et al.*, 2013).

Cuando se comparan las actividades enzimáticas de las muestras secas recogidas durante el verano y las mismas muestras mantenidas a CC durante 10 d se aprecia como la actividad DH presenta valores similares en ambas situaciones (Tabla 7.4). La BG presenta en las muestras húmedas tasas globales un 20% superiores, si bien la dispersión de valores no permite una diferenciación estadísticamente significativa de acuerdo a la prueba t de *Student* aplicada. La PA presenta tasas elevadas, con un valor medio de 2,69 mmol PNP kg⁻¹ h⁻¹, siendo los valores globales un 5% más bajos en las muestras a CC que en las muestras secas. La AS, con tasas moderadamente bajas (valores medios de 0,40 mmol PNP kg⁻¹ h⁻¹) también es en las muestras secas donde presenta las tasas más elevadas, un 17% superiores a las registradas a CC. La UR y PR tienen comportamientos similares con valores más elevados en las muestras húmedas a CC: un 44% superiores en e la UR y un 33% en la PR, sin que se alcance suficiente

diferenciación estadísticamente significativa en ninguno de los dos casos debido a la alta variabilidad entre muestras.

Respecto a las actividades enzimáticas específicas (Tabla 7.3), la actividad deshidrogenasa específica (DHe) presenta una tasa media de $2,43 \text{ mmol TPF kg}^{-1} \text{ C h}^{-1}$, con valores mínimo y máximo de 0,34 y $5,89 \text{ mmol TPF kg}^{-1} \text{ C h}^{-1}$, respectivamente. La BGe, también presenta un amplio rango de variación, entre 15,5 y $114,7 \text{ mmol PNP kg}^{-1} \text{ C h}^{-1}$, con valores medios de $50,4 \text{ mmol PNP kg}^{-1} \text{ C h}^{-1}$. Estos amplios rangos de variación, superiores a los que registra el COT, ponen de manifiesto diferencias importantes en la materia orgánica de la población de suelos, que pueden afectar a la estabilidad de las enzimas en el suelo o a la actividad biológica. La BG es la actividad enzimática que presenta menor correlación con el COT, pudiendo ser indicador de estas diferencias. Por ejemplo, suelos con un mayor contenido de materia orgánica fresca pueden favorecer una mayor actividad BG (Bandick y Dick, 1999).

7.3.4. Relaciones entre los parámetros

En la Tabla 7.5 se indican los coeficientes de correlación obtenidos entre los distintos parámetros analizados.

En las muestras de suelo seco, la BM sólo presenta una moderada correlación con las actividades DH y BG, sin alcanzar significación estadística al nivel de $p < 0,05$ con ningún otro parámetro. Esta situación mejora en las muestras húmedas a CC, en las que presenta correlaciones moderadas con todas las actividades enzimáticas y el COT. Destaca, en las muestras a CC, la correlación positiva alta de la BM con la RB, que alcanza una alta significación estadística.

Las actividades enzimáticas cuantificadas en las muestras de suelo seco presentan, entre ellas, coeficientes de correlación entre moderados y altos, siendo la DH la que presenta los coeficientes más bajos, mientras que las otras cinco presentan globalmente correlaciones similares. En las muestras de suelo húmedo la situación es similar, con una respuesta variable de la DH y la escasa correlación de la AS con el resto de actividades enzimáticas.

La DH presenta correlaciones altas con el COT, tanto en muestras secas como en las húmedas, con las GM, el IEE y la RB. En cambio la BG presenta coeficientes de correlación muy bajos con el COT y los otros parámetros de caracterización orgánica (EHT, COS y GM).

El resto de actividades enzimáticas (PA, AS, UR y PR) presentan correlaciones entre moderadas y altas con el COT y los otros parámetros de caracterización orgánica y la RB. De hecho, la RB presenta correlaciones moderadas o altas con todos los parámetros, excepto con el PT.

Tanto en las muestras secas como en las húmedas a CC, el COS no presenta correlaciones significativas con la BM y la DH. Con la BG se alcanza un coeficiente de correlación significativo al nivel de $p < 0,05$ en las muestras secas, desapareciendo dicha correlación en las muestras a CC. Con las otras actividades enzimáticas: PA, AS, UR y PR alcanza correlaciones positivas entre moderadas y altas (Tabla 7.5).

Las GM y el EHT alcanzan coeficientes de correlación similares con las distintas actividades enzimáticas. Destacan las altas correlaciones positivas con la DH y la PR, con las que alcanzan significaciones al nivel de $p < 0,001$, mientras que con la PA, AS y UR la significación estadística es importante pero sin alcanzar los altos niveles de las anteriores.

El NT se correlaciona positivamente con la DH, PA, AS y PR, con coeficientes similares en las muestras secas y las húmedas. Con la UR el coeficiente de correlación es bajo, sin alcanzar significación estadística al nivel de $p < 0,05$.

El PT y el PO presentan escasa correlación con los parámetros biológicos cuantificados. Tanto en las muestras secas como en las húmedas no se han obtenido correlaciones significativas al nivel de $p < 0,05$ con la BM, DH, BG y la UR. Con la PA y la AS se han obtenido significaciones estadísticas entre $p < 0,05$ y $p < 0,01$ en las muestras secas sin reproducirse en las muestras húmedas a CC. Es con la PR donde tanto el PT como el PO alcanzan las significaciones estadísticas más elevadas, en muestras de suelo seco y en muestras húmedas. Cabe reseñar que el PT y el PO presentan coeficientes de correlación similares con las actividades enzimáticas reseñadas, si bien en todos los casos los coeficientes de correlación del PT son ligeramente más elevados que los del PO. Teniendo en cuenta que la mayor parte del fósforo de estos suelos se encuentra en forma inorgánica y, en general no supone un factor limitante al ser en todos los casos la relación C/Por inferior a 200 (Condrón *et al.*, 2005). En estas condiciones la contribución de los procesos biológicos y bioquímicos tiende a ser baja, estando relacionada negativamente con el Pi y positivamente con el COT (Bünemann, 2015).

7. Caracterización de suelos agrícolas

El ST tiene un comportamiento parecido al del NT: no presenta correlaciones significativas al nivel de $p < 0,05$ con la BM, la BG y la UR, tanto en muestras secas como húmedas. Con la DH sólo se da una correlación positiva moderada en condiciones de CC sin ser significativa en las muestras secas. Con la PA, PR y la AS alcanza significaciones estadísticas entre $p < 0,01$ y $p < 0,001$. Los coeficientes de correlación obtenidos entre el ST y la AS son relevantes pero no permiten vincular de manera consistente la relación entre ambos parámetros. Las correlaciones alcanzadas por el ST pueden ser causa de la estrecha relación que presenta con el COT (Kirkby *et al.*, 2011). Castellano y Dick (1988) constatan que la actividad AS tiene una relación directa con los contenidos de COT y es a partir de estimaciones de las aportaciones de esteres de azufre mediante la materia orgánica cuando alcanzan correlaciones elevadas entre el contenido de azufre y la actividad AS.

Por otra parte la relación C/S, inferior a 70 en todos los suelos, es indicadora de una buena disponibilidad de este elemento a nivel microbiano (Lal, 2008).

En las muestras de suelo seco el IEE presenta correlaciones significativas con todas las actividades enzimáticas determinadas mientras que en las muestras húmedas desaparecen las significaciones estadísticas al nivel de $p < 0,05$ con la BG y la AS, manteniéndose las significaciones con la DH, PA, UR y PR. En las muestras húmedas también se alcanza un coeficiente de correlación alto del IEE con la BM.

El IEE alcanza coeficientes de correlación altos con el COT, EHT y GM, de forma similar a la descrita por Albiach *et al.* (2001a) y Tejada y González (2007). En cambio, no se aprecia una correlación significativa con el COS.

La RB, medida en muestras húmedas a CC, presenta coeficientes de correlación entre moderados y altos con la BM y todas las actividades enzimáticas medidas. También presenta correlaciones elevadas, con significaciones estadísticas $p < 0,001$, con todos los componentes de la materia orgánica: CO, EHT, COS y GM. También es significativa al nivel de $p < 0,01$ la correlación de la RB con el IEE (Tabla 7.5), poniendo de manifiesto que son los componentes de la materia orgánica los responsables comunes de ambos parámetros.

Tabla 7.2: Características físico-químicas de la capa arable (0-20 cm) de los suelos estudiados (n=24).

		Mediana	Media	DE	Mínimo	Máximo	Percentiles	
							25	75
pH (1:2,5 H ₂ O)		8,3	8,2	0,2	8,0	8,5	8,1	8,4
pH (1:2,5 KCl)		7,5	7,5	0,1	7,2	7,8	7,5	7,7
CE (1:5)	(dS m ⁻¹ , 25 °C)	0,18	0,24	0,13	0,09	0,51	0,14	0,31
CCE	(g kg ⁻¹)	369	417	205	13	794	313	564
CA	(g kg ⁻¹)	101,9	107,0	54,4	8,8	186,1	66,7	166,9
Arenas	(g kg ⁻¹)	211,0	239,2	107,7	93,6	540,5	175,7	288,0
Limos	(g kg ⁻¹)	416,8	413,2	81,7	281,8	594,2	333,8	478,1
Arcillas	(g kg ⁻¹)	329,3	347,7	89,5	177,7	487,6	287,2	424,5
CIC	(cmol _c kg ⁻¹)	17,76	17,32	6,54	7,12	27,42	11,19	22,81
PMP	(g kg ⁻¹)	124,0	123,2	36,5	67,0	182,3	94,6	153,3
COT	(g C kg ⁻¹)	15,6	18,2	9,4	7,0	42,8	10,2	23,5
EHT	(g C kg ⁻¹)	4,61	5,29	2,42	1,99	10,43	3,26	6,77
AH	(g C kg ⁻¹)	2,55	2,87	1,59	0,80	7,26	1,45	3,92
AF	(g C kg ⁻¹)	2,04	2,41	1,00	1,19	4,42	1,63	3,14
AH/COT	(%)	15,7	15,5	2,7	10,7	19,7	13,4	17,4
AF/COT	(%)	13,9	14,4	4,0	7,4	22,3	11,3	17,7
AH/AF		1,15	1,18	0,45	0,62	2,29	0,77	1,52
E4/E6		4,85	4,80	0,65	3,19	6,40	4,53	5,22
NT	(g kg ⁻¹)	1,49	1,73	0,80	0,64	3,96	1,09	2,23
C/N		10,1	10,6	2,9	4,8	20,7	9,2	11,0
PT	(mg P kg ⁻¹)	795,1	1067,5	672,8	299,2	2721,0	630,4	1429,6
Por	(mg P kg ⁻¹)	263,6	431,5	434,5	56,5	1516,7	159,0	458,7
Pi	(mg P kg ⁻¹)	587,7	656,9	356,5	119,2	1378,1	420,4	939,3
Por/PT	(%)	33,3	36,3	16,8	4,0	60,2	20,7	54,0
Pi/PT	(%)	66,7	63,7	16,8	39,8	96,0	46,0	79,3
PO	(mg P kg ⁻¹)	30,5	53,7	54,2	21,0	268,8	23,1	71,8
C/Por		66,4	71,0	42,8	15,5	199,4	41,3	102,1
ST	(mg S kg ⁻¹)	753,7	884,4	433,3	354,9	1985,4	525,0	1237,7
C/S		18,7	21,4	7,6	13,4	49,2	17,1	23,6
IEE	(%)	81,2	75,6	18,9	38,9	97,3	59,0	93,1

Leyenda correspondiente a las tablas 7.2 y 7.3:

DE: desviación estándar.

Hm: humedad del suelo; CC: humedad del suelo a capacidad de campo, equivalente a un nivel de succión de 33 kPa; CE: conductividad eléctrica; CCE: carbonato cálcico equivalente; CA: caliza activa; CIC: capacidad de intercambio catiónico; PMP: punto de marchitez permanente (agua retenida a 1500 kPa); COT: carbono orgánico total; EHT: extracto húmico total; AH: ácidos húmicos; AF: ácidos fúlvicos; E4/E6: relación correspondiente al EHT; NT: nitrógeno total; PT: fósforo total; Por: fósforo orgánico; Pi: fósforo inorgánico; PO: fósforo asimilable obtenido mediante método Olsen; ST: azufre total; IEE: índice de estabilidad estructural; COS: carbono orgánico soluble; GM: gomas microbianas; NO₃: nitratos; NH₄: amonio; BM: Biomasa microbiana; DH: actividad deshidrogenasa; BG: actividad β-glucosidasa; PA: actividad fosfatasa alcalina; AS: actividad arilsulfatasa; UR: actividad ureasa; PR: actividad proteasa BAA; BM/COT: biomasa microbiana referida al carbono orgánico total; e: actividad enzimática específica (referida al carbono orgánico total); RB: respiración basal; CME: coeficiente de mineralización endógena; qCO₂: cociente metabólico.

Tabla 7.3: Características químicas y biológicas de la capa arable (0-20 cm) en muestras secas (A) y después de estar 10 d a capacidad de campo (B) (n=24).

		Mediana	Media	DE	Mínimo	Máximo	Percentiles	
							25	75
A. Muestras secas								
Hm	(g kg ⁻¹)	34,6	39,1	20,1	14,0	92,9	26,2	51,9
COS	(mg C kg ⁻¹)	90,6	95,8	51,6	22,7	280,0	63,5	116,9
GM	(g kg ⁻¹)	0,45	0,49	0,16	0,28	0,86	0,36	0,60
NO3	(mg N kg ⁻¹)	11,9	30,1	33,6	3,2	139,8	7,3	53,0
NH4	(mg N kg ⁻¹)	6,21	6,78	3,95	2,92	20,68	4,03	7,61
BM	(mg C kg ⁻¹)	235,2	242,6	127,5	78,9	574,1	140,6	281,0
DH	(μmol TPF kg ⁻¹ h ⁻¹)	34,6	45,8	35,0	3,9	122,2	15,9	80,5
BG	(mmol PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	0,70	0,83	0,50	0,23	2,16	0,48	1,14
PA	(mmol PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	2,24	2,69	1,57	1,22	7,97	1,65	2,92
AS	(mmol PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	0,33	0,40	0,22	0,18	1,03	0,26	0,44
UR	(mmol NH ₄ ⁺ kg ⁻¹ h ⁻¹)	4,40	6,47	4,91	1,36	19,60	3,11	8,89
PR	(mmol NH ₄ ⁺ kg ⁻¹ h ⁻¹)	5,94	8,36	6,41	3,00	29,03	4,10	10,15
BM/COT	(g C kg ⁻¹ C)	12,74	15,59	9,04	3,38	40,35	8,78	19,34
DHe	(μmol TPF kg ⁻¹ h ⁻¹)	2,23	2,43	1,42	0,34	5,89	1,49	3,61
BGe	(mmol PNP kg ⁻¹ C h ⁻¹)	47,5	50,4	25,9	15,5	114,7	35,5	61,5
PAe	(mmol PNP kg ⁻¹ C h ⁻¹)	152,4	158,8	62,0	76,3	309,0	102,2	206,9
ASe	(mmol PNP kg ⁻¹ C h ⁻¹)	22,8	23,4	7,9	11,2	41,0	17,7	29,3
URe	(mmol NH ₄ kg ⁻¹ C h ⁻¹)	371,3	359,5	160,3	61,5	720,9	256,8	475,3
Pre	(mmol NH ₄ kg ⁻¹ C h ⁻¹)	421,4	455,3	182,7	175,1	956,1	333,2	563,9
B. Muestras húmedas								
CC	(g kg ⁻¹)	239,7	245,3	28,2	194,1	300,1	223,6	270,0
CE (1:5)	(dS m ⁻¹ , 25 °C)	0,16	0,17	0,06	0,09	0,34	0,12	0,19
COS	(mg C kg ⁻¹)	32,0	34,8	13,6	19,3	72,0	24,7	37,5
GM	(g kg ⁻¹)	0,45	0,52	0,21	0,26	1,10	0,35	0,67
NO3	(mg N kg ⁻¹)	21,61	28,61	19,15	3,87	72,14	14,69	40,01
NH4	(mg N kg ⁻¹)	1,48	1,70	0,73	0,88	4,10	1,23	1,93
BM	(mg C kg ⁻¹)	509,7	503,6	197,0	155,5	847,4	340,4	663,4
DH	(μmol TPF kg ⁻¹ h ⁻¹)	36,1	47,4	38,9	4,7	137,1	16,4	64,9
BG	(mmol PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	0,88	1,02	0,61	0,24	2,97	0,60	1,46
PA	(mmol PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	2,19	2,55	1,23	1,38	6,45	1,72	2,60
AS	(mmol PNP kg ⁻¹ h ⁻¹)	0,29	0,33	0,18	0,15	1,01	0,22	0,36
UR	(mmol NH ₄ ⁺ kg ⁻¹ h ⁻¹)	6,61	9,33	7,29	2,81	29,26	4,36	10,90
PR	(mmol NH ₄ ⁺ kg ⁻¹ h ⁻¹)	7,96	11,15	8,78	3,28	40,93	5,90	12,11
BM/COT	(g C kg ⁻¹ C)	28,0	32,2	15,6	10,0	69,3	20,6	45,3
DHe	(μmol TPF kg ⁻¹ C h ⁻¹)	2,15	2,48	1,41	0,40	5,39	1,28	3,49
BGe	(mmol PNP kg ⁻¹ C h ⁻¹)	61,1	63,9	34,5	15,1	137,2	39,1	87,8
PAe	(mmol PNP kg ⁻¹ C h ⁻¹)	150,0	152,3	47,4	77,8	270,3	112,4	183,9
ASe	(mmol PNP kg ⁻¹ C h ⁻¹)	20,0	19,9	7,3	5,9	38,4	13,4	23,0
URe	(mmol NH ₄ kg ⁻¹ C h ⁻¹)	523,5	514,2	222,4	127,3	862,8	311,5	674,8
Pre	(mmol NH ₄ kg ⁻¹ C h ⁻¹)	550,9	597,5	231,3	237,0	1348,1	484,3	701,6
RB	(mg C-CO ₂ kg ⁻¹ d ⁻¹)	30,6	32,2	12,8	14,3	64,0	21,5	38,6
CME	(g C-CO ₂ kg ⁻¹ C d ⁻¹)	1,76	1,95	0,68	1,19	3,55	1,44	2,35
qCO ₂	(g C-CO ₂ kg ⁻¹ C d ⁻¹)	57,9	68,4	24,8	37,2	123,4	50,2	90,6

Ver la leyenda de la Tabla 7.2.

Tabla 7.4: Significación estadística (p) entre las muestras secas y las muestras húmedas, mantenidas a capacidad de campo durante 10 d. Para las muestras relacionadas, se han utilizado las pruebas estadísticas t de *Student* (1) y la prueba de los rangos con signo de *Wilcoxon* (2), en función de la distribución de los valores ($n=24$). Los valores de la población muestreada se indican en la Tabla 7.3.

	p	prueba
COS	<0,001	(2)
GM	0,181	(1)
NO3	0,475	(2)
NH4	<0,001	(2)
BM	<0,001	(2)
DH	0,170	(2)
BG	<0,001	(2)
PA	0,361	(2)
AS	0,030	(2)
UR	<0,001	(2)
PR	<0,001	(2)
BM/COT	<0,001	(1)
DHe	0,762	(1)
BGe	<0,001	(1)
PAe	0,472	(1)
ASe	0,012	(1)
URe	<0,001	(1)
PRe	<0,001	(2)

COS: carbono orgánico soluble; GM: gomas microbianas; NO3: nitratos; NH4: amonio; BM: Biomasa microbiana; DH: actividad deshidrogenasa; BG: actividad β -glucosidasa; PA: actividad fosfatasa alcalina; AS: actividad arilsulfatasa; UR: actividad ureasa; PR: actividad proteasa BAA; BM/COT: biomasa microbiana referida al carbono orgánico total; e: actividad enzimática específica (referida al carbono orgánico total).

7. Caracterización de suelos agrícolas

Tabla 7.5: Coeficientes de correlación de *Spearman* obtenidos entre parámetros bioquímicos y químicos de 24 muestras de suelos agrícolas.

a) Seco

	DH	BG	PA	AS	UR	PR	COT	EHT	COS	GM	NT	PT	PO	ST	IEE
BM	0,458 *	0,497 *	0,343 -	0,286 -	0,329 -	0,252 -	0,244 -	0,196 -	-0,029 -	0,289 -	0,157 -	-0,218 -	-0,387 -	0,057 -	0,453 -
DH		0,419 *	0,467 *	0,477 *	0,540 **	0,457 *	0,720 ***	0,743 ***	0,319 -	0,763 ***	0,573 **	0,293 -	0,064 -	0,485 -	0,768 ***
BG			0,571 **	0,637 **	0,723 ***	0,540 **	0,393 -	0,312 -	0,512 *	0,353 -	0,246 -	-0,028 -	-0,050 -	0,239 -	0,464 *
PA				0,830 ***	0,624 **	0,849 ***	0,602 **	0,522 **	0,454 *	0,449 *	0,556 **	0,591 **	0,438 *	0,659 ***	0,420 *
AS					0,743 ***	0,870 ***	0,640 **	0,610 **	0,604 **	0,585 **	0,548 **	0,520 **	0,432 *	0,678 ***	0,517 **
UR						0,663 ***	0,458 *	0,481 *	0,531 **	0,481 *	0,286 -	0,136 -	0,100 -	0,317 -	0,602 **
PR							0,727 ***	0,687 ***	0,540 **	0,585 **	0,697 ***	0,601 **	0,495 *	0,691 ***	0,610 **
COT								0,949 ***	0,525 **	0,789 ***	0,824 ***	0,662 **	0,533 **	0,812 ***	0,759 ***
EHT									0,523 **	0,830 ***	0,783 ***	0,606 **	0,478 *	0,751 ***	0,763 ***
COS										0,523 **	0,351 -	0,470 *	0,518 **	0,557 **	0,391 -
GM											0,589 **	0,413 *	0,270 -	0,522 **	0,751 ***
NT												0,697 ***	0,523 **	0,716 ***	0,597 **
PT													0,893 ***	0,837 ***	0,317 -
PO														0,740 ***	0,191 -
ST															0,449 *

b) Capacidad de campo

	DH	BG	PA	AS	UR	PR	COT	EHT	COS	GM	NT	PT	PO	ST	IEE	RB
BM	0,492 *	0,477 *	0,594 **	0,429 *	0,643 **	0,538 **	0,504 *	0,405 *	0,330 -	0,396 -	0,400 -	0,211 -	0,154 -	0,371 -	0,637 **	0,706 ***
DH		0,393 **	0,604 **	0,357 -	0,591 **	0,491 *	0,731 ***	0,750 ***	0,337 -	0,707 ***	0,578 **	0,214 -	0,109 -	0,520 **	0,798 ***	0,603 **
BG			0,570 **	0,350 -	0,696 ***	0,463 **	0,311 -	0,250 -	0,331 -	0,367 -	0,178 -	0,159 -	0,102 -	0,222 -	0,321 -	0,577 **
PA				0,650 **	0,547 **	0,603 **	0,750 ***	0,620 **	0,582 **	0,556 **	0,626 **	0,203 -	0,245 -	0,558 **	0,482 *	0,666 ***
AS					0,320 -	0,494 *	0,557 **	0,421 *	0,523 **	0,439 **	0,537 **	0,329 -	0,265 *	0,494 *	0,278 **	0,563 **
UR						0,643 **	0,501 *	0,476 *	0,407 *	0,471 *	0,333 -	0,124 -	0,127 -	0,359 -	0,591 **	0,660 ***
PR							0,821 ***	0,787 ***	0,839 ***	0,687 ***	0,718 ***	0,575 **	0,541 **	0,790 ***	0,593 **	0,711 ***
COS							0,783 ***	0,706 ***		0,716 ***	0,696 **	0,617 **	0,695 **	0,837 ***	0,388 -	0,674 ***
GM							0,850 ***	0,830 ***	0,716 ***		0,723 ***	0,448 *	0,424 *	0,673 ***	0,766 ***	0,681 ***
RB							0,729 ***	0,663 ***	0,674 ***	0,681 ***	0,561 **	0,390 -	0,489 *	0,675 ***	0,643 **	

BM: Biomasa microbiana; DH: actividad deshidrogenasa; BG: actividad β-glucosidasa; PA: actividad fosfatasa alcalina; AS: actividad arilsulfatasa; UR: actividad ureasa; PR: actividad BBA-proteasa; COT: carbono orgánico total; EHT: extracto húmico total; AH: ácidos húmicos; COS: carbono orgánico soluble; GM: gomas microbianas; NT: nitrógeno total; Pt: fósforo total; PO: fósforo soluble Olsen; St: azufre total; EE: estabilidad estructural; RB: Respiración basal.

En la tabla b) Capacidad de Campo, los parámetros BM, DH, BG, PA, AS, UR, PR, COS, GM y RB se han medido en muestras mantenidas durante 10 d a capacidad de campo, mientras que el resto de parámetros se han determinado en muestras secas.

*, **, ***: significación a los niveles de $p < 0,05$, $p < 0,01$ y $p < 0,001$, respectivamente, de acuerdo al coeficiente de *Spearman*.

8. Discusión general

La reutilización de los elementos que constituyen las estructuras de los organismos vivos es un principio básico que caracteriza la dinámica de los ecosistemas. Las moléculas constituyentes de las estructuras vegetales son el recurso mayoritario, en las que destaca la celulosa, seguida de las hemicelulosas, la lignina y otros compuestos que están en menor cantidad. Del mismo modo se han de considerar las estructuras de origen fúngico o bacteriano que pueden suponer masas considerables (Kögel-Knabner, 2002).

Está ampliamente aceptado que la fertilidad de los ecosistemas tanto agrícolas como naturales depende de un reciclaje adecuado de los nutrientes en el que intervienen las plantas, los microorganismos y la materia orgánica del suelo (Aerts y Chapin III, 1999; Van Der Heijden *et al.*, 2008). Los microorganismos son a la vez sumidero y fuente de nutrientes que están disponibles durante el proceso cíclico de reutilización (Brookes, 2001). Para los microorganismos edáficos estos sustratos constituyen un recurso energético y estructural que les permite la proliferación de las propias colonias y al mismo tiempo generar nuevos residuos aprovechables por otros organismos, sobre todo las plantas, que les permitirá repetir el ciclo a partir de la creación de nuevas moléculas orgánicas usando energía luminosa.

La actividad de los microorganismos edáficos se desarrolla a través de los procesos biológicos propios de los organismos vivos en los que la intervención de las enzimas es fundamental para asegurar cada una de las transformaciones que sufren las moléculas sobre las que intervienen los organismos vivos (Paul, 2014).

Las enzimas constituyen moléculas específicas complejas que suponen un alto coste de síntesis, permitiendo el aprovechamiento de sustratos concretos, lo que supone una ventaja para los organismos que pueden disponer de esta herramienta específica.

Los compuestos orgánicos constituidos por polímeros regulares como el almidón o la celulosa constituyen recursos fácilmente aprovechables para la microflora edáfica mientras que otros como las ligninas, con una combinación estructural más compleja, los hace menos accesibles.

En general los compuestos lábiles, constituidos por estructuras simples son los utilizados rápidamente por la microflora mientras que los materiales más recalcitrantes son los que se conservan en el suelo, quedando fuera de la acción catalítica directa, pudiendo permanecer durante periodos muy largos de tiempo, contribuyendo al enriquecimiento del carbono orgánico estable del suelo (Dungait *et al.*, 2012).

8.1. Relación de la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas con los tratamientos de fertilización orgánica

La aplicación de enmiendas orgánicas ha supuesto incrementos importantes en el contenido de biomasa microbiana (BM), siendo proporcionales a la materia orgánica aportada, estableciéndose una relación directa entre el contenido de carbono orgánico total (COT) del suelo y la BM, de forma similar a la descrita en otros ensayos (Albiach *et al.*, 2000; Böhme *et al.*, 2005; Jorge-Mandoningo *et al.*, 2013; Tao *et al.*, 2015). Las variaciones de la población microbiana son temporales, en función de la disponibilidad de los sustratos más lábiles (Madejón *et al.*, 2001; Bastida *et al.*, 2012; Katterer *et al.*, 2014). Así, en el segundo ensayo del estudio de la comparación de la fertilización orgánica y mineral se produce un descenso (Tabla 4.9), al no producirse una nueva aportación. En cambio sí se produce un incremento entre el tercer y cuarto ensayos (Tabla 4.9) debido a la nueva aplicación de enmiendas. Estos hechos se repiten en el ensayo de comparación de compost, con un incremento en el segundo ensayo respecto al primero, atribuible mayoritariamente a este hecho. También cabe considerar el efecto que puedan tener restos de cultivos presentes en el suelo y sobre todo el entorno de la rizosfera donde se generan numerosos compuestos fácilmente metabolizables para la microflora (Paterson *et al.*, 2007; Phillips *et al.*, 2008). Las correlaciones de la BM con el COT son positivas altas, hecho indicador de que el CO constituye un factor limitante para el crecimiento microbiano. De hecho, el incremento de la biomasa microbiana en los tratamientos orgánicos ha sido descrito por numerosos autores (Kandeler *et al.*, 1999; Marschner *et al.*, 2003; Böhme *et al.*, 2005).

En cambio, la BM muestra escasa correlación con el fósforo soluble Olsen (PO) y variable, inferior a la que se obtiene con el COT, con el nitrógeno total (NT) y la relación C/N. En el caso del fósforo la falta de correlación es atribuible a los altos niveles que presentan las

tierras donde se han realizado los ensayos, sin que este elemento suponga una limitación para los microorganismos o las plantas, favoreciéndose la mineralización neta (Dalal, 1977; Condrón *et al.*, 2005). La relación con el nitrógeno es más compleja. Mientras que en los ensayos de fertilización orgánica y mineral (capítulo 4) la BM presenta una correlación positiva moderada con el NT, también es positiva con la relación C/N, siendo indicador que el nitrógeno no constituye una limitación en el mismo grado que el CO. Por otra parte, la relación C/N por si sola puede no ser un buen indicador de compost con un altas relaciones lignina/celulosa, como es el caso de los compost de lodos de depuradora que incluyen una amplia fracción de material leñoso, que varía la biodegradabilidad (Senesi, 1989). En cambio la producción de lechugas, que presenta una correlación casi nula con el COT, presenta una correlación negativa baja, pero altamente significativa con la relación C/N, siendo indicador de que la disponibilidad de nitrógeno sí afecta negativamente al crecimiento vegetal (Robertson y Vitousek, 2009).

En el estudio de comparación de fuentes de materia orgánica (capítulo 5), la BM muestra una correlación positiva muy alta con el nitrógeno, pero con la relación C/N y con el contenido en nitratos es más discreta (Tabla 5.6), también claramente inferior a la que alcanza la producción de lechugas con estos parámetros, poniendo de manifiesto la mayor dependencia de las plantas con el nitrógeno que la mostrada por los microorganismos. La mayor avidez de los microorganismos por el amonio y nitrato que las plantas (Jackson *et al.*, 1989; Kaye y Hart, 1997) junto a una mayor versatilidad, sobre todo en los hongos que prosperan en medios con relaciones C/N más elevadas que las bacterias (Hodge *et al.*, 2000) hacen que el nitrógeno sea un problema más común en las plantas.

La fertilización mineral no ha supuesto ninguna modificación en el contenido de la población microbiana, siendo su efecto imperceptible, hecho similar al constatado por otros autores (Kandeler *et al.*, 1999; Plaza *et al.*, 2004; Ros *et al.*, 2006a; Li *et al.*, 2015) (Tabla 4.9). Este hecho es, también, indicador de que los elementos minerales no constituyen una limitación para el crecimiento microbiano y refuerzan el planteamiento de que los compuestos de CO constituyen la limitación para el desarrollo de la población microbiana.

Cuando se compara el contenido de la BM con otros suelos del entorno mediterráneo e incluso de zonas templadas, los valores absolutos son entre medios y altos. En cambio, cuando se refieren al COT (relación BM/COT) son contenidos discretos, con diferencias reducidas entre tratamientos, suponiendo la BM alrededor del 1% del COT del suelo (rango máximo entre tratamientos: 0,9-1,3% del COT; Tabla 4.10). El carácter calcáreo del suelo

puede favorecer que una fracción importante del COT se encuentre en formas recalcitrantes (Muneer y Oades, 1989; Clough y Skjemstad, 2000; Castells y Peñuelas, 2003), no aprovechables para la microflora edáfica.

Las actividades enzimáticas presentan valores similares a los descritos en otros trabajos (Giusquiani *et al.*, 1995; Bandick y Dick, 1999; García-Gil *et al.*, 2000; Plaza *et al.*, 2004; Pedra *et al.*, 2007; Bastida *et al.*, 2008a; Barral *et al.*, 2009), siendo predominantemente altos, presentando una alta correlación con el COT. Esto se traduce en que las actividades enzimáticas específicas se mueven en unos rangos muy estrechos: por ejemplo, en los dos primeros ensayos, mientras que las diferencias entre valores máximos y mínimos de las actividades enzimáticas absolutas en la actividad DH se diferencian un 130%, la DHe sólo es en un 47%; del mismo modo los valores máximos y mínimos de la BG se diferencian un 53%, la BGe sólo lo hace en un 3% y la PA máxima y mínima se diferencia en el 48%, la PAe sólo lo hace en un 10% (calculado a partir de las Tablas 4.9 y 4.10). Estas tasas específicas ponen de manifiesto la estrecha relación de las actividades enzimáticas estudiadas con el COT, siendo un indicador más de que las actividades enzimáticas presentan correlaciones positivas altas y altamente significativas con el COT (Tabla 4.12). Por otra parte, se pone de manifiesto que todas las enmiendas orgánicas utilizadas tienen un comportamiento similar sobre los procesos biológicos del suelo, similares a los del propio suelo (Trasar-Cepeda *et al.*, 2008).

En el ensayo de comparación de distintos fertilizantes orgánicos (capítulo 5) la respuesta de las actividades enzimáticas mostró una mayor diferenciación entre tratamientos, con incrementos sobre las parcelas control, muy acusados. Del mismo modo que ocurre con la BM que se cuadruplica entre el tratamiento control y las parcelas fertilizadas con CRM, en las actividades DH, BG, PA y AS, las diferencias entre las tasas correspondientes al tratamiento CON y las tasas más elevadas, como mínimo se triplican en algún tratamiento. La DH es una actividad que se ha propuesto como indicadora de la actividad microbiológica del suelo (García *et al.*, 1993; Brookes *et al.*, 2008). Los materiales frescos conducen a un rápido incremento de esta actividad que se reduce progresivamente al reducirse los compuestos fácilmente degradables (Saviozzi *et al.*, 2002). El contenido de COS puede ser un buen indicador de los compuestos fácilmente metabolizables (Chantigny, 2003). Se diferencian tres grupos de materiales en función del contenido en COS: compost de recogida municipal que presentan los contenidos más elevados, compost de lodos de depuradora con valores un 60% más bajos y el CEQ y el EV que alcanzan alrededor del 50% respecto al CRM. Este

parámetro presenta el mismo comportamiento que el descrito por Bastida *et al.* (2012) en un ensayo de laboratorio, en microcosmos, con materiales similares. Esta disponibilidad de compuestos carbonados que forman parte del COS se traduce en un incremento de las actividades enzimáticas (Marschner y Noble, 2000; Crecchio *et al.*; 2001) que en el caso de la DH y la BG se manifiestan a través de correlaciones muy elevadas con el COS.

A diferencia de los que ocurre en el primer estudio (capítulo 4), las actividades enzimáticas específicas presentan una mayor diferenciación entre tratamientos debido a las acusadas diferencias que presentan el CRM y el CRMS. Esto se traduce en que estos dos materiales presentan las actividades específicas más elevadas, de estas cuatro enzimas, mientras que los otros tratamientos, en términos generales, presentan tasas similares a las registradas en el primer estudio.

Las actividades ureasa (UR) y proteasa BAA (PR), determinadas en el primer ensayo del segundo estudio presentan un comportamiento particular, diferenciado de las otras cuatro actividades enzimáticas. La UR alcanza las tasas más bajas en los materiales que las actividades DH, BG, PA y AS presentan los valores más altos, siendo las tasas más elevadas las correspondientes a las parcelas control. Este comportamiento puede ser atribuido a algún efecto inhibitor en la síntesis de este enzima o en su actividad. Teniendo en cuenta las características del material (Tabla 5.1), el efecto inhibitor de los metales pesados es improbable (Tabatabai, 1977; Giller *et al.*, 1998; Madejón *et al.*, 2001). La alta concentración de nitrógeno y, específicamente, amonio en estos compost es probablemente el factor inhibitor de la actividad UR (Marschner *et al.*, 2003; Plaza *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2015), sin descartar el efecto inhibitor de otros componentes (Bremner y Douglas, 1971). De forma mucho más atenuada se da también una reducción UR en los compost de lodos (CLP y CLA; Figura 10.B). Este hecho ha provocado que las correlaciones entre la actividad UR y la materia orgánica o las otras actividades enzimáticas sean negativas (Tabla 5.7). La correlación que presenta la UR con el contenido de amonio del suelo es negativa, significativa al nivel de $p < 0,01$ pero el coeficiente de correlación es inferior al presentado entre la UR y otros parámetros como el COT, el COS o las GM.

La actividad PR muestra tasas similares en todos los tratamientos orgánicos, sin constatar una relación directa de esta actividad con aportaciones de materia orgánica descrita en otros trabajos donde se comparan enmiendas orgánicas (Plaza *et al.*, 2004; Macci *et al.*, 2012; Giacometti *et al.*, 2013).

A diferencia de las actividades relacionadas con procesos de oxidoreducción (DH) y las hidrolasas relacionadas con los ciclos de C, P y S; las actividades URe y PRe presentan grandes diferencias entre tratamientos, poniendo de manifiesto que estas dos actividades relacionadas con la mineralización del nitrógeno están gobernadas por factores distintos al contenido de CO del suelo.

8.2. Efecto de la fertilización mineral sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas

El efecto de la fertilización mineral sobre la actividad biológica del suelo es controvertido con argumentos contrapuestos (Marschner *et al.*, 2003; Katterer *et al.*, 2014; Geisseler y Scow, 2014). La aplicación de fertilizantes minerales no ha provocado ningún efecto sobre la biomasa microbiana. En los cuatro ensayos realizados la biomasa microbiana registrada en los tratamientos sin fertilización mineral y con fertilización mineral presenta los mismos valores, suponiendo el carbono microbiano entre 1,1 y 1,2% del COT del suelo. Esta similitud de valores entre los tratamientos con y sin fertirrigación pone de manifiesto que para el crecimiento microbiano es la materia orgánica del suelo el factor limitante y los elementos minerales que se aportan a través de la fertirrigación no suponen ningún beneficio para el crecimiento microbiano. Del mismo modo, tampoco se han registrado ligeras disminuciones como las descritas por Treseder (2008) que se pueden situar en torno al 15%.

Las actividades enzimáticas tienen un comportamiento más diferenciado entre las parcelas con y sin fertirrigación pero con un comportamiento variable: mientras que en los dos primeros ensayos se aprecian valores medios entre un 13 y 16% más altos en los tratamientos sin fertirrigación, alcanzando diferencias estadísticamente significativas, en los otros dos ensayos (3o. y 4o.) no se alcanzan diferencias estadísticamente significativas en ninguna actividad enzimática. Con la aplicación de fertilizantes minerales ricos en fósforo, que suponen un fuerte incremento del fósforo soluble Olsen, no se han manifestado descensos en la PA del alcance de los descritos en otros trabajos (García-Gil *et al.*, 2000; Plaza *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2015), por lo que, el descenso detectado en los dos primeros ensayos, no se puede atribuir con seguridad a un efecto inhibitorio. Por otra parte, la disminución es idéntica a las registradas en las actividades DH y BG (Tabla 4.9).

8.3. Relación entre el crecimiento microbiano, las actividades enzimáticas y la producción vegetal

En los cuatro primeros ensayos (capítulo 4) la BM y las actividades enzimáticas presentan una alta correlación con el COT y más moderada con el NT y positiva con la relación C/N, hechos que ponen de manifiesto la dependencia de estos parámetros con el CO. En cambio la producción de lechugas (PFL) presenta una mayor correlación con el NT y con la relación C/N es negativa, poniendo de manifiesto una mayor dependencia con el nitrógeno (Robertson y Vitousek, 2009; Kuzyakov y Xu, 2013). La BM se mantiene con los mismos valores, con y sin fertilización mineral, y las actividades enzimáticas o no muestran diferencias o, en los casos más relevantes llegan al 16% de diferencia. En cambio, globalmente, las producciones vegetales de las plantas fertirrigadas son, en los dos primeros ensayos, un 44% superiores y en los otros dos ensayos (3o. y 4o.) un 27% más que las no fertirrigadas.

La BM como indicador de la población microbiana heterótrofa, dependiente energéticamente de los compuestos de carbono, especialmente de sustratos frescos, y las actividades enzimáticas como productos de la actividad de la BM presentan una dependencia directa del COT como primer factor limitante (Anderson y Domsch, 1989; García *et al.*, 2002) de su crecimiento mientras que los vegetales, como organismos heterótrofos los primeros factores de crecimiento lo constituyen los elementos minerales, entre los cuales el nitrógeno mineral es, habitualmente, el primer factor limitante de la producción (Lawlor, 2002; Tilman *et al.*, 2002).

En el segundo estudio (capítulo 5) el comportamiento es básicamente el mismo pero la inclusión de otros parámetros para caracterizar la materia orgánica y los compuestos de nitrógeno (nitrato y amonio) permite afinar mejor las relaciones entre estos parámetros. La correlación de la BM y, sobre todo, de las actividades enzimáticas DH (enzima exclusivamente intracelular, indicadora de actividad biológica directa; García *et al.*, 1993) y la BG, exoenzima que interviene en el ciclo del carbono (Eivazi y Tabatabai, 1988; Bandick y Dick, 1999; Acosta-Martínez *et al.*, 2007), presentan una alta correlación con el COS, que es indicador de compuestos más lábiles y directamente aprovechables por los microorganismos (Marschner y Kalbitz, 2003; Bolan *et al.*, 2011).

8.4. Comparación de las diferentes fuentes de materia orgánica sobre la biología del suelo y la producción vegetal

Entre los materiales orgánicos ensayados los compost de recogida municipal normal y selectiva (CRM y CRMS, respectivamente) son los materiales que han provocado los incrementos más elevados en las distintas fracciones de materia orgánica, la población microbiana, las actividades enzimáticas DH, BG, PA y AS (tanto en valores absolutos como las actividades específicas) y el crecimiento de los cultivos. Estos materiales son de extraordinario interés si se subsana el alto contenido de metales pesados como el plomo que en este caso supera los niveles permitidos (Real Decreto 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes). Al margen del alto contenido de este elemento, globalmente se manifiesta como un producto muy interesante, con altos contenidos en nitrógeno y una relación C/N baja, constituyendo un fertilizante orgánico que aporta unas condiciones favorables para el crecimiento vegetal. También es en las parcelas enmendadas con compost de recogida municipal donde los índices de estabilidad estructural son más elevados (Figura 3.A), lo cual refleja la abundancia de componentes del propio compost, o como resultado de la síntesis microbiana con un carácter estructural (Giusquiani *et al.*, 1995; Abiven *et al.*, 2009; Annabi *et al.*, 2011), mejorando, sobre todo, la porosidad del suelo.

Los compost de lodos de depuradora (se han usado distintas partidas procedentes de las plantas de sa Pobla y Ariany) se han caracterizado por un moderado contenido en nitrógeno total que se ha traducido en una elevada relación C/N y escasa disponibilidad de nitrógeno mineral en el suelo, limitando el crecimiento de los cultivos. A nivel microbiológico, el incremento de BM ha sido notable debido a la presencia de compuestos de carbono, si bien, supone un porcentaje bajo respecto al COT, dependiendo de las partidas y ensayos. En el conjunto de los seis ensayos oscila entre el 1,1 y 1,3% del COT, mientras que los compost de recogida municipal alcanzaron valores entre 1,8 y 1,9% (Tabla 5.4). Bajo estos tratamientos, con compost de lodos, se aprecia una mejora en la estabilidad estructural del suelo respecto al tratamiento control (Figura 5.5.A).

Por sus características y riqueza en compuestos orgánicos y minerales, los compost de recogida municipal y lodos de depuradora constituyen alternativas muy interesantes a los estiércoles animales que, además, constituyen un recurso limitado (Moral *et al.*, 2005).

El estiércol de vacuno (EV) ha sido un material que ha resultado efectivo sobre el incremento de las distintas formas de materia orgánica, los nutrientes minerales (sobre todo nitrógeno y fósforo), la actividad biológica y la producción vegetal. La respuesta de las parcelas enmendadas con este material ha sido más moderada que la producida con compost de recogida municipal y más equilibrada que la presentada en las parcelas con compost de lodos, al presentar contenidos minerales y producciones vegetales más elevadas si bien las actividades enzimáticas han sido, en general, más discretas. El principal motivo de estas diferencias está en la menor riqueza en materia orgánica (Tablas 4.3 y 5.1).

El compost de equinácea (CEQ) ha presentado un comportamiento muy similar al EV. Es un material de elaboración propia con un porcentaje de materia orgánica de alrededor del 22%. Estadísticamente, los parámetros biológicos o bioquímicos y la producción vegetal no se diferencian de los registrados por el EV. El fósforo soluble Olsen es significativamente más elevado en las parcelas de EV que en las de CEQ.

La enmienda orgánica húmica *Duetto* (DUE), aplicada de acuerdo a las recomendaciones técnicas, utilizada en los cuatro primeros ensayos ha tenido un efecto positivo sobre la producción vegetal, con un ligero incremento del contenido de NT respecto al CON (sin alcanzar significación estadística) y un incremento más notorio en el contenido de fósforo Olsen. La BM y las actividades enzimáticas ensayadas no han mostrado ninguna variación reseñable respecto al tratamiento CON.

La enmienda comercial de ácidos húmicos (HUM), también aplicada de acuerdo a las indicaciones técnicas, no ha mostrado ninguna diferencia reseñable respecto al tratamiento CON, en ninguno de los parámetros analizados, siendo su evaluación idéntica a la descrita por Albiach *et al.* (2000).

En la Tabla 8.1 se comparan los tratamientos orgánicos aplicados a partir de los principales parámetros objeto de este estudio.

Tabla 8.1: Comparación de los tratamientos de fertilización orgánica a partir de parámetros biológicos, químicos y físicos. El orden es decreciente; se ha elaborado a partir de los resultados obtenidos en los dos primeros estudios (capítulos 4 y 5).

Parámetros de medida	Tratamientos orgánicos
BM, DH, BG, AS	CRM ≥ CRMS > CLA = CLP > CEQ = EV > DUE > HUM = CON
PA	CRM ≥ CRMS ≥ CLA ≥ CLP = EV = CEQ > DUE = HUM = CON
UR	CON = EV = CEQ > CLA = CLP > CRM ≥ CRMS
PR	CRM ≥ CLA = CLP = EV = CEQ ≥ CRMS = CON
COT	CRM > CLA > CLP = CRMS > EV = CEQ > DUE ≥ HUM = CON
NT	CRM > CRMS > CLA > CEQ = CLP > EV > DUE ≥ CON = HUM
C/N	CLP > CLA > EV ≥ CEQ ≥ HUM ≥ CON ≥ DUE > CRM ≥ CRMS
PO	CLA = EV > CLP = CRMS > CEQ > DUE > CRM ≥ CON = HUM
IEE	CRM = CRMS > CLA = CLP > CEQ > CON = EV
PFL	CRM > CRMS > EV = CEQ > DUE > CLA ≥ CLP ≥ HUM = CON

Parámetros de medida: BM: biomasa microbiana; DH: actividad deshidrogenasa; BG: actividad β-glucosidasa; PA: actividad fosfatasa alcalina; AS: actividad arilsulfatasa; UR: actividad ureasa; PR: actividad proteasa BAA; COT: carbono orgánico total; NT: nitrógeno total; C/N: relación carbono-nitrógeno; PO: fósforo soluble Olsen; IEE: índice de estabilidad estructural; PFL: producción masa fresca de las lechugas.

Tratamientos orgánicos: CLA: compost de lodos de depuradora de Ariany; CLP: compost de lodos de depuradora de sa Pobla; CEQ: compost de equinácea; CON: control, sin fertilización orgánica; CRM: compost de recogida municipal; CRMS: compost de recogida municipal selectiva; DUE: fertilizante orgánico comercial *Duetto*; EV: estiércol de vacuno; HUM: fertilizante orgánico comercial rico en ácidos húmicos.

8.5. Efecto de la vegetación sobre la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas y la respiración basal: horizontes minerales

Los suelos de los ecosistemas naturales se caracterizan por un contenido de materia orgánica superior a las tierras agrícolas y la disponibilidad de nutrientes tiene una dependencia directa con los procesos naturales. Los procesos de mineralización de la materia orgánica son fundamentales para asegurar la disponibilidad de elementos minerales para la vegetación, además de los requeridos por la microflora edáfica (Aerts y Chapin III, 2000).

En la formación vegetal estudiada, que se puede asimilar a una maquia muy abierta, los contenidos de materia orgánica de los horizontes minerales son elevados, sobre todo bajo el lentisco, seguido de las otras dos especies leñosas (pino y acebuche). Bajo la cubierta herbácea, también mantiene un contenido elevado y es en el suelo cultivado donde se registran los contenidos de COT más bajos. Los mayores contenidos de COT bajo las tres especies leñosas se han traducido en contenidos más altos de BM, tanto en las muestras secas, como en las húmedas a capacidad de campo. La actividad DH y la PA muestran una respuesta muy similar a la registrada por la BM, con los valores máximos bajo las tres especies leñosas.

La respuesta de la BG se diferencia de las anteriores, presentándose las tasas más altas bajo acebuche (Figura 6.11.B), siendo similares bajo pino y lentisco. En cambio, la AS presenta la actividad más elevada en el suelo bajo lentisco, siendo claramente inferior en las otras situaciones. La actividad UR presenta valores similares en todas las situaciones, con una alta variabilidad entre muestras, sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Estos resultados son similares a los descritos por Rutigliano *et al.* (2004) y e inferiores, en la mayoría de parámetros a los descritos, para suelos equivalentes por Fioretto *et al.* (2009). Comparando con suelos de enzar de Cataluña Sardans y Peñueñas (2005) describen actividades UR mucho más reducidas, mientras que las actividades PA son similares.

Sorprende la calidad del suelo bajo los pinos, con niveles de biomasa microbiana y actividades enzimáticas elevadas que contrastan con los valores habitualmente referenciados para los suelos de pinar (Gispert *et al.*, 2013; Rutigliano *et al.*, 2004) siendo muy similares a los descritos por Bastida *et al.* (2006b) en la región de Murcia.

La actividad PR presenta un comportamiento particular (Figura 11.B): en las muestras secas, debajo de los pinos, las tasas son notablemente más elevadas que en las otras cuatro situaciones, incluido el suelo cultivado. La situación cambia al humectar las muestras, extendiendo los altos valores de actividad PR bajo las tres especies leñosas, siendo muy inferiores en el suelo bajo especies herbáceas y en el cultivado. En trabajos similares en los que intervienen suelos bajo pinos y condiciones climáticas similares (Bastida *et al.*, 2006b; Rutigliano *et al.*, 2009) las tasas de PR son mucho más reducidas.

La respiración basal (RB), con un nivel de humedad equivalente a capacidad de campo, presenta tasas medias idénticas bajo las tres especies leñosas, con valores reducidos a un tercio en el suelo cultivado e intermedios en el suelo bajo herbáceas. El coeficiente de mineralización endógena (CME) presenta el valor mínimo en el suelo bajo lentisco y el máximo, que supone el doble ($1,36 \text{ g C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ COT d}^{-1}$) en el suelo bajo pino, situándose el resto de valores entre el valor medio de ambos y el máximo. En cambio, las tasas del cociente metabólico ($q\text{CO}_2$), a capacidad de campo, son similares bajo las tres especies leñosas, con tasas alrededor de $50 \text{ g C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ C d}^{-1}$, con valores un 20% más elevados en el suelo bajo herbáceas, mientras que el suelo cultivado presenta los valores más bajos (un 25% inferior a los suelos bajo especies leñosas).

Tomando como referencia suelos ácidos (*Umbrisols*) de Galicia bajo pino y roble (Trasar-Cepera *et al.*, 2008), los valores registrados, en el bosque esclerófilo de Xorrigo, de PRE,

URe, BGe, PAe y ASe son, en general más elevados, especialmente la PRe bajo los pinos y la ASe en general. Los contenidos en BM y RB son similares y consecuentemente, también, el cociente respiratorio (qCO_2). El suelo bajo pino registra tasas de actividades enzimáticas y respiración basal, muy similares a las descritas por Bastida *et al.* (2006b), excepto la PR, que registra tasas muy altas en las muestras de Xorrigo.

8.6. Efecto de la vegetación sobre la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas y la respiración basal: horizontes orgánicos

La caracterización de los horizontes orgánicos se ha limitado al suelo bajo dos especies leñosas: pino y lentisco que son las únicas especies, del sistema forestal estudiado, bajo las cuales se consolidan horizontes orgánicos relevantes.

La BM, las actividades enzimáticas absolutas y la RB, presentan tasas mucho más elevadas que en los horizontes minerales. La BM puede ser hasta más de 10 veces superior en el horizonte orgánico que en el mineral, si bien el porcentaje de BM respecto al COT presenta diferencias más reducidas: para el lentisco y el pino en el suelo mineral, en muestras secas entre 1,2 y 1,4% del COT es carbono microbiano y en muestras húmedas, entre 1,3 y 3,0%, mientras que en el horizonte orgánico los valores son entre 1,6 y 1,5% en seco y entre 2,5 y 4,4% en húmedo a capacidad de campo, pudiendo catalogar estos valores como elevados (Anderson y Domsch, 1989; Insam, 1996).

Las actividades enzimáticas, expresadas en valores absolutos, también son más elevadas en los horizontes orgánicos pudiendo, orientativamente, multiplicar los valores por 2 ó 3 en el caso de la DH, 5 ó 6 la BG, entre 2 y 4 la PA, entre 1,5 y 5 la AS, entre 1,4 y 2 la UR y por 4 la PR, siendo tasas similares a las descritas por Grosso *et al.* (2014) para los horizontes superiores de bosques mediterráneos de hayas y encinas.

La RB de los horizontes orgánicos es muy variable, siendo los valores medios en torno a diez veces más elevados que los respectivos horizontes minerales. En cambio, CME y el qCO_2 de los horizontes orgánicos y minerales presentan tasas similares en el caso del suelo bajo pino, mientras que en el suelo bajo lentisco las diferencias entre el horizonte orgánico y mineral son mayores. El CME y el qCO_2 presentan tasas más elevadas en el horizonte orgánico. El

elevado valor del qCO_2 en el horizonte orgánico bajo lentisco puede ser indicador de algún factor limitante que afecte a la población microbiana como puede ser la falta de nitrógeno del sustrato orgánico (Smith, 1993).

8.7. Efecto del laboreo sobre la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas y la respiración basal

En unas mismas condiciones edafoclimáticas se han podido evaluar los efectos del laboreo sobre el suelo. La disminución del contenido en materia orgánica es la primera consecuencia, que en el suelo estudiado va acompañado de un aumento de los carbonatos de calcio debido a las acciones de disgregación del material calcáreo provocado por el impacto de las rejas. También es perceptible, en el suelo labrado un aumento del pH y, en conjunto, una disminución de la CIC, de la capacidad de retención de agua a diferentes niveles de succión y de la estabilidad de los agregados. Todas estas consecuencias, que quedan plasmadas en este estudio, ponen de manifiesto una pérdida de fertilidad física y química característica al poner los suelos en cultivo (Guo y Gifford, 2002; Lal, 2002). Los parámetros biológicos se ven deteriorados, presentando diferencias negativas que alcanzan significación estadística respecto a los suelos que mantienen una cubierta vegetal permanente.

En condiciones de sequedad, el suelo cultivado presenta valores de BM similares al suelo bajo herbáceas, pero en unas condiciones más favorables, con humedad a CC, no alcanza los valores del suelo bajo herbáceas. Las actividades DH, BG, PA y AS del suelo cultivado son claramente inferiores que bajo especies leñosas y también alcanza valores inferiores que bajo especies herbáceas. La UR no se diferencia del resto, sólo ligeramente y la PR es el tratamiento más bajo. Si la BM se refiere a COT presenta porcentajes elevados (1,4% en el suelo seco y 2,9% en el suelo húmedo, pudiendo considerar ambos porcentajes como elevados. Las actividades enzimáticas específicas DHe, BGe, PAe, ASe, especialmente en húmedo, presentan tasas similares a las de los suelos bajo vegetación permanente. Destaca la URe que presenta las tasas más elevadas en el suelo cultivado. La PRe, presenta tasas elevadas situándose en una posición intermedia respecto a las diferentes cubiertas vegetales.

En conjunto se pone de manifiesto que la principal diferencia del suelo cultivado está en una pérdida de materia orgánica. Este descenso se traduce en una reducción de las actividades enzimáticas de forma similar a la descrita en otros trabajos (Bastida *et al.*, 2006a; García-Orenes *et al.*, 2010; Gispert *et al.*, 2013). Las actividades enzimáticas específicas ponen de manifiesto que esta disminución es debida a la menor cantidad de sustratos orgánicos del suelo labrado. De forma similar ocurre con la BM que mantiene un porcentaje, respecto al COT, elevado.

8.8. Evaluación de los suelos agrícolas de Mallorca a partir de los parámetros biológicos: biomasa microbiana, actividades enzimáticas y respiración basal

La relación de suelos agrícolas estudiada constituye una población representativa de las principales tipologías de suelos con aprovechamiento agrícola. Sus características más destacables son: tienen un carácter calcáreo, pH básico y un contenido medio de materia orgánica, siendo las distribuciones de estos parámetros representativas de los suelos de Mallorca (Colombàs, 2014). Los valores de BM, de las muestras de suelo seco, son similares, con tendencia a elevados, a los descritos en el ámbito mediterráneo (García-Orenes *et al.*, 2010; Bastida *et al.*, 2012; Hueso *et al.*, 2012). Cuando la determinación se hace sobre muestras húmedas a capacidad de campo cabe considerarlos elevados, con valores medios alrededor de 500 mg C kg^{-1} . Del mismo modo, el porcentaje de BM respecto al COT en las muestras de suelo seco alcanza un valor mediano de 1,3% y en las muestras húmedas de 2,8%, valores que se pueden considerar aceptables, sobre todo si se comparan con otros suelos de clima templado o en praderas permanentes (Insam, 1996).

Comparando con suelos del entorno mediterráneo, las actividades enzimáticas presentan, en general, tasas elevadas (Melero *et al.*, 2006, 2007; Bastida *et al.*, 2012; García-Orenes *et al.*, 2010). Del mismo modo ocurre con las tasas de las actividades específicas, que también presentan valores elevados. Esta situación no garantiza que la calidad de los suelos sea óptima. Por ejemplo, Stott *et al.* (2010) proponen unos valores de referencia para prever la tendencia de la reserva de COT. Según estos autores tasas inferiores a $72 \text{ mmol PNP kg}^{-1} \text{ C h}^{-1}$ son indicadoras de pérdidas continuas de materia orgánica del suelo mientras que las

superiores a $122 \text{ mmol PNP kg}^{-1} \text{ COT h}^{-1}$ serían indicadoras de procesos de incremento del contenido de materia orgánica del suelo. Aplicando este criterio directamente a los suelos muestreados, más de la mitad estarían en una situación de reducción del contenido de materia orgánica.

A pesar de esto, es arriesgado extraer una conclusión con medidas puntuales, siendo conveniente realizar las valoraciones a partir de la integración de diferentes parámetros (Bastida *et al.*; 2008b).

8.9. Efecto del estado hídrico del suelo sobre los parámetros químicos y biológicos

En condiciones de estrés hídrico la biomasa microbiana es uno de los parámetros más directamente afectados (Xiang *et al.*, 2008; Hueso *et al.*, 2012) lo cual incide sobre las actividades enzimáticas del suelo (Sardans y Peñuelas, 2008; Sanauallah *et al.*, 2011; Burns *et al.*, 2013). La humectación del suelo tiene un efecto sobre el crecimiento microbiano que en climas con condiciones contrastadas como el mediterráneo presenta variaciones estacionales con máximos cuando la disponibilidad hídrica es adecuada (Debosz *et al.*, 1999; García *et al.*, 2002; Sardans y Peñuelas, 2005; Bastida *et al.*, 2012; Fuentes *et al.*, 2014).

La humectación y mantenimiento durante 10 d de las muestras a capacidad de campo ha supuesto variaciones importantes en algunos de los parámetros medidos (Tablas 6.5 y 7.4). Al cabo de 10 d, la actividad biológica está estabilizada, desapareciendo el pulso inicial reflejado a través de la respiración y descrito por Birch (1958). El incremento de la BM es uno de los hechos más relevantes. Junto a la BM, los contenidos en COS, amonio y nitrato, también se pueden considerar componentes altamente dinámicos. El descenso del contenido en COS se puede atribuir a la alta demanda de la BM (Paterson *et al.*, 2007; Phillips *et al.*, 2008). Las variaciones de los contenidos de amonio y nitrato están directamente relacionadas con los procesos de nitrificación, activos cuando las condiciones ambientales son favorables para la vida microbiana, e inmovilización por parte de los propios microorganismos y las plantas (Roberston y Groffman, 2015; Hodge *et al.*, 2000).

La variación de las actividades enzimáticas con la disponibilidad hídrica también es notoria pero no se constata igual en todas las actividades enzimáticas y situaciones. Como hecho general se puede señalar que la humectación de las muestras supone un aumento de la actividad enzimática, con incrementos variables que son especialmente notorios en las actividades UR y PR y más variables en el resto (DH, BG, PA y AS). La DH, como enzima asociada a las células vivas puede ser un indicador de la actividad biológica de la biomasa del suelo. En cambio, las actividades BG, PA y AS tienen un destacable papel como exoenzimas por lo que el incremento de la biomasa microbiana puede tener un papel más secundario en el incremento de dichas actividades, manteniendo tasas poco diferenciadas de los suelos no humectados, con contenidos significativamente inferiores de BM (Burns *et al.*, 2013).

8.10. Evaluación global de las relaciones entre los parámetros físicos, químicos y biológicos estudiados

En general se han podido constatar altas correlaciones entre las actividades enzimáticas DH, BG, PA y AS. También se han registrado altas correlaciones de estas actividades enzimáticas con la BM y el contenido en materia orgánica (o COT). El análisis de componentes principales entre los distintos parámetros estudiados (Figura 8.1), en los estudios que forman parte de este trabajo, pone de manifiesto la alta dependencia de estos parámetros en los que el COT es el generador de estos procesos biológicos. Los parámetros de caracterización de la materia orgánica (COS, GM, EHT y AH) y los parámetros indicadores de actividad biológica muestran un comportamiento común, con matices que incorporan las particularidades de cada grupo de muestras.

La RB, determinada en los dos últimos estudios (efecto de la vegetación y suelos agrícolas) también se agrupa con los parámetros indicadores de la materia orgánica y BM.

En el ensayo de comparación de fuentes de materia orgánica (Figura 8.1.B) la UR y la PR, tienen un comportamiento totalmente diferenciado del resto de actividades enzimáticas, que en el caso de la UR es atribuible probablemente al efecto inhibitor del amonio, como se ha comentado en apartados anteriores. La PR presenta un comportamiento poco diferenciado entre tratamientos con distintas aportaciones de materia orgánica. En cambio, en las muestras

de vegetación natural (Figura 8.1.C) la UR se diferencia de forma moderada del resto de actividades enzimáticas, mientras que la PR presenta un comportamiento similar al resto de actividades. En el estudio de caracterización de los suelos agrícolas (Figura 8.1.D) tanto la UR como la PR están agrupadas con el resto de actividades enzimáticas.

El fósforo presenta comportamientos diferenciados. Mientras que, en los ensayos de comparación de diferentes fuentes de materia orgánica y en las muestras de suelos bajo vegetación natural (Figura 8.1.B y C) el fósforo total (PT) se presenta agrupado con el COT, en los suelos agrícolas se separa claramente. Este hecho es el reflejo que, tanto en el ensayo de fertilización orgánica como en el sistema forestal este elemento está directamente vinculado a la materia orgánica mientras que en los suelos agrícolas el fósforo proviene, al menos en parte, de la fertilización mineral (Stutter *et al.*, 2015). El fósforo soluble determinado mediante el método Olsen (PO), también presenta comportamientos diferenciados: mientras que en el ensayo de fertilización orgánica, se diferencia del PT y el COT, en los estudios de vegetación natural y suelos agrícolas (Figura 8.1.C y D) presenta coeficientes prácticamente idénticos a los del PT. En el primer ensayo (Figura 8.1.A) no se dispone del contenido de PT, pero la aplicación de fertilizante mineral restringe el poder establecer relaciones estadísticamente consistentes del PO con parámetros como el COT, o las actividades enzimáticas, que han presentado escasas diferencias al aplicar fertilizantes minerales.

El azufre total (ST), cuantificado en los dos últimos estudios (Figura 8.1.C y D), se presenta agrupado a los parámetros de caracterización de la materia orgánica, poniendo de manifiesto el carácter orgánico de este elemento en los suelos estudiados. En este contexto, las sulfatasas desempeñan un papel importante para asegurar la disponibilidad de este elemento en el suelo (Kertesz, 1999).

El contenido de nitrógeno total (NT) también está agrupado junto a los parámetros característicos de la materia orgánica, especialmente en los dos últimos estudios (suelos bajo vegetación natural y suelos agrícolas; Figura 8.1.C y D), poniendo de manifiesto que este elemento se encuentra, mayoritariamente, en forma orgánica. En cambio, el nitrato y amonio presentan coeficientes diferenciados del NT, respondiendo a procesos de mineralización e inmovilización, en función de la composición de los sustratos y las características de la población microbiana (Kaye y Hart, 1997; Hodge *et al.*, 2000; Kuzyakov y Xu, 2013). En una posición contrapuesta a la disponibilidad de nitrógeno inorgánico se encuentra la relación C/N.

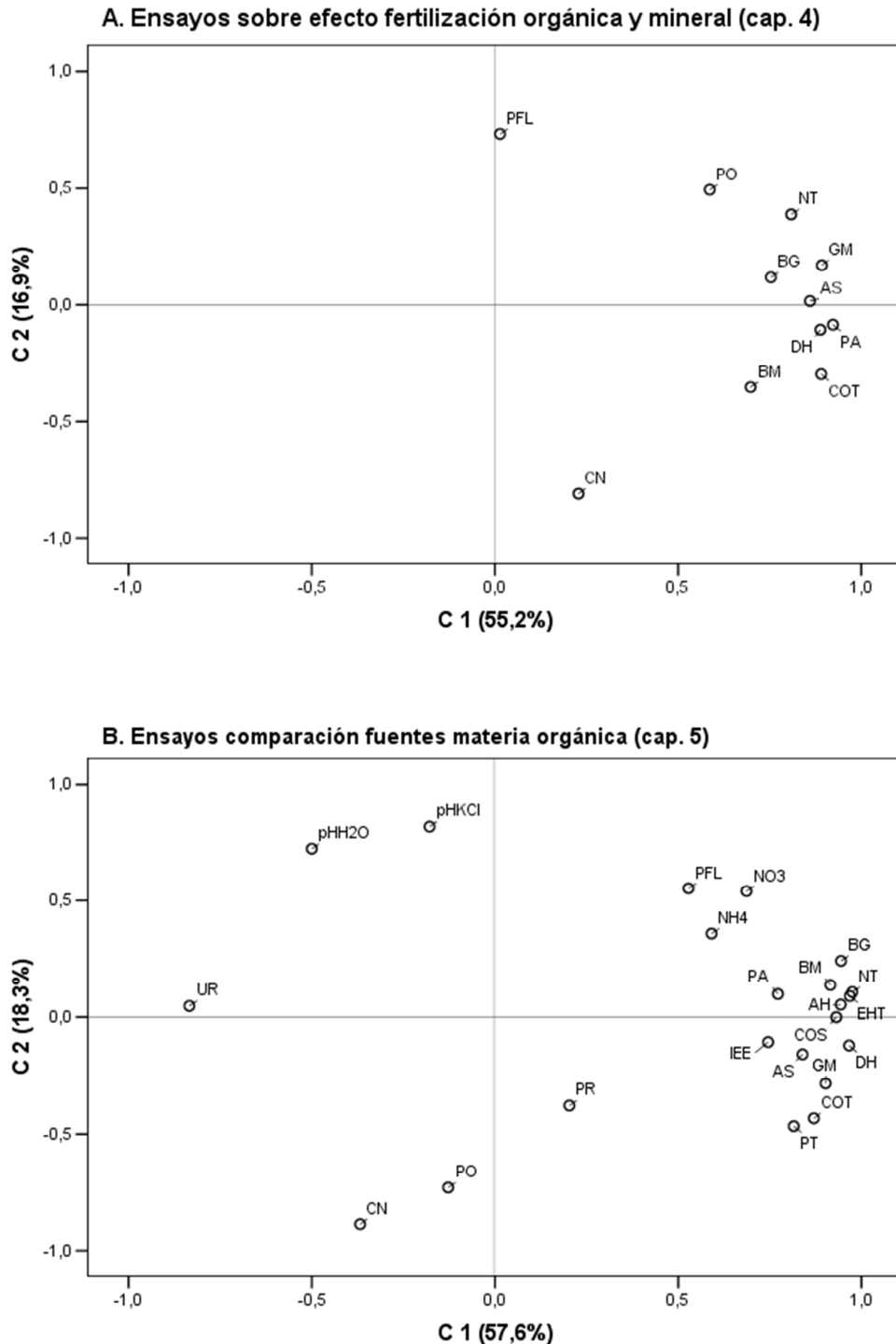


Figura 8.1: Análisis de componentes principales en los distintos ensayos para las variables analizadas. Se han representado las dos primeras componentes, indicando en cada caso el porcentaje de varianza asociada.

Los análisis de componentes principales se ha realizado a partir de todas las muestras correspondientes al estudio de fertilización orgánica y mineral (A), las muestras correspondientes al primer ensayo de comparación de fuentes de materia orgánica (B) y de las determinaciones realizadas a partir de las muestras húmedas a CC en los estudios de vegetación natural y suelos agrícolas (C y D).

La identificación de las variables se indica en la siguiente página.

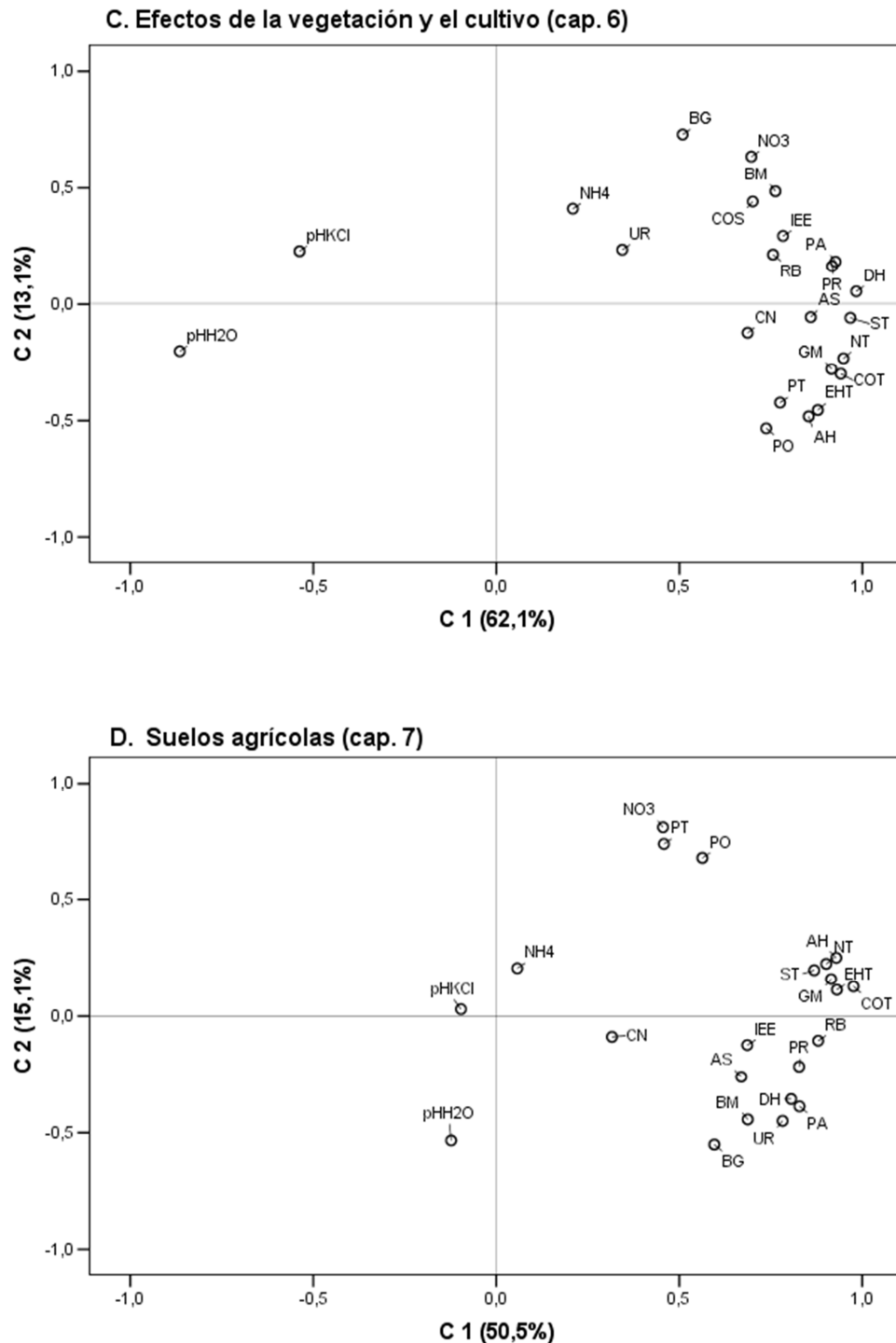


Figura 8.1: (Continuación).

AH: ácidos húmicos; AS: actividad arilsulfatasa; BG: actividad β -glucosidasa; BM: biomasa microbiana; CN: relación carbono-nitrógeno; COS: carbono orgánico soluble; COT: carbono orgánico total; DH: actividad deshidrogenasa; EHT: extracto húmico total; GM: gomias microbianas; IEE: índice de estabilidad estructural; NH₄: amonio; NO₃: nitratos; NT: nitrógeno total; PA: actividad fosfatasa alcalina; PFL: producción masa fresca de las lechugas; pHH₂O: pH en agua 1:2,5; pHKCl: pH en KCl 1M, 1:2,5; PO: fósforo soluble Olsen; PR: actividad proteasa BAA; PT: fósforo total; RB: respiración basal; ST: azufre total; UR: actividad ureasa.

8. Discusión general

La producción de los cultivos (PFL) se diferencia claramente de los parámetros que caracterizan la materia orgánica en el primer estudio, en el que se incluyen tratamientos de fertilización orgánica y mineral. En este caso (Figura 8.1.A) la PFL presenta un coeficiente positivo alto en la componente 2 mientras que la relación C/N lo hace con un coeficiente negativo. De forma similar ocurre en el segundo estudio (Figura 8.1.B) donde la PFL está agrupada con los dos representantes del contenido de nitrógeno inorgánico, mientras que la relación C/N se sitúa en una posición opuesta, poniendo de manifiesto la dependencia del crecimiento vegetal del contenido de nitrógeno inorgánico (Robertson y Vitousek, 2009).

La estabilidad de los agregados del suelo al agua, determinado a través del IEE es otro parámetro de calidad del suelo que está vinculado al contenido de materia orgánica y actividad biológica, situándose muy próximo a la RB, siendo el COT y las BM factores determinantes (Bronick y Lal, 2005; Annabi *et al.*, 2011).

Globalmente, a través de los análisis de componentes principales se pone de manifiesto la importancia del COT como parámetro indicador de la calidad del suelo, que puede ser matizado a través de distintas formas en que se presenta esta materia orgánica, que es generadora de actividad biológica que se expresa a través de parámetros como la BM, la RB o las actividades enzimáticas, que en el análisis estadístico presentado se encuentran más o menos agrupados con los parámetros caracterizadores de la materia orgánica. También se ven favorecidos otros parámetros que mejoran la funcionalidad del suelo como es la estabilidad estructural, cuyo índice también se presenta agrupado a la materia orgánica.

9. Conclusiones

A. Respecto a los estudios de fertilización orgánica y mineral (Objetivo 1):

1. El contenido de carbono orgánico de las enmiendas orgánicas utilizadas constituye el principal factor sobre los incrementos de la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y arilsulfatasa.

2. En los ensayos de fertilización orgánica y mineral se han constatado altas correlaciones, significativas al nivel de $p < 0,001$ en todos los casos, de acuerdo al test de *Spearman*, entre la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y arilsulfatasa y el carbono orgánico total del suelo.

3. La fertilización mineral no ha tenido ningún efecto constatable sobre la biomasa microbiana y ha tenido un efecto variable sobre las actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y arilsulfatasa, manteniendo valores que globalmente no sobrepasan el 16% de diferencia entre los tratamientos con y sin fertirrigación.

4. No se aprecia una correlación consistente entre las actividades enzimáticas cuantificadas y la producción vegetal. Mientras que la producción de lechugas muestra una fuerte dependencia de la disponibilidad de elementos minerales, sobre todo nitratos, las actividades enzimáticas muestran una mayor dependencia del carbono orgánico total del suelo.

5. El contenido de carbono del extracto húmico total, las gomas microbianas y el carbono orgánico soluble presentan altas o muy altas correlaciones con el contenido de biomasa microbiana y las actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y arilsulfatasa, con coeficientes similares a los registrados con el carbono orgánico total.

6. La estabilidad de los agregados del suelo se ve mejorada con la incorporación de materia orgánica, presentando el índice de estabilidad estructural una alta correlación con los parámetros indicadores de las distintas fracciones orgánicas del suelo, con la biomasa

9. Conclusiones

microbiana y con las actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y arilsulfatasa.

7. Las actividades enzimáticas ureasa y proteasa-BAA han tenido un comportamiento diferenciado respecto al resto de actividades enzimáticas. Mientras que la actividad proteasa-BAA no se ha diferenciado entre tratamientos, la actividad ureasa ha presentado las tasas más bajas en los tratamientos con importantes aportes de materia orgánica, probablemente debido al alto contenido de amonio de los materiales.

8. Entre los materiales ensayados, los compost de recogida municipal han registrado los mayores incrementos de la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas y la producción vegetal. Los compost de lodos de depuradora han presentado incrementos de la biomasa microbiana y actividades enzimáticas destacables pero con un efecto negativo o nulo sobre la producción vegetal debido a la escasez de nitrógeno disponible. El estiércol de vacuno y el compost de equinácea son materiales, que con un contenido en carbono orgánico inferior, han provocado incrementos moderados de la biomasa microbiana y actividades enzimáticas, e incidido positivamente sobre la producción vegetal. El fertilizante orgánico comercial "Duetto" ha mostrado un efecto positivo sobre la producción vegetal pero poco perceptible sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas. La enmienda comercial de ácidos húmicos no ha supuesto ningún efecto claramente constatable sobre la producción vegetal, la biomasa microbiana o las actividades enzimáticas.

B. Respecto al efecto de la vegetación y el cultivo sobre el suelo (Objetivo 2):

9. En el horizonte mineral, los contenidos más elevados de biomasa microbiana, actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y arilsulfatasa, y la respiración basal, se registran bajo las especies leñosas, que presentan los mayores contenidos de materia orgánica. El suelo con especies herbáceas, presenta contenidos en carbono orgánico total más bajos traduciéndose en tasas de las actividades enzimáticas y respiración basal más reducidas.

10. Los mayores contenidos de materia orgánica de los suelos con vegetación permanente respecto al suelo cultivado se traduce en una capacidad de intercambio catiónico más elevada, mayor capacidad de retención de agua a diferentes niveles de succión y mayor estabilidad de los agregados del suelo (índice de estabilidad estructural) frente al agua.

11. Los horizontes orgánicos, comparados con los respectivos horizontes minerales, presentan muy altos contenidos de biomasa microbiana, muy altas tasas de las actividades enzimáticas y valores de respiración basal, también muy elevados. Cuando estos valores se refieren al contenido de carbono orgánico total los contenidos de biomasa microbiana y las actividades enzimáticas específicas presentan valores similares, pero sin un patrón común, a los respectivos horizontes minerales. Los coeficientes de mineralización endógena y los cocientes metabólicos, también, presentan poca diferenciación entre los horizontes orgánicos y minerales de los mismos suelos.

12. Las dos actividades enzimáticas relacionadas con el ciclo del nitrógeno (ureasa y proteasa-BAA) presentan un comportamiento diferenciado del resto de actividades enzimáticas determinadas. No se han constatado diferencias de la actividad ureasa bajo las diferentes especies vegetales y el suelo cultivado. La actividad proteasa-BAA, en el suelo seco, presenta tasas mucho más elevadas en el suelo bajo los pinos que en el resto de situaciones. Con las muestras húmedas son los suelos bajo las tres especies leñosas que presentan tasas de actividad proteasa-BAA claramente más elevadas.

C. Respecto a los suelos agrícolas caracterizados (Objetivo 3):

13. Los suelos agrícolas muestreados presentan un rango amplio de valores, siendo los valores medios y/o medianos de materia orgánica, biomasa microbiana, actividades enzimáticas, respiración basal y otros parámetros físicos y químicos determinados elevados siendo indicadores, en general, de un buen nivel de calidad.

D. Respecto al efecto del estado hídrico del suelo sobre la biomasa microbiana y actividades enzimáticas (Objetivo 4):

14. La comparación de las muestras recogidas sobre el suelo seco y las mantenidas húmedas a capacidad de campo presentan diferencias importantes en algunos parámetros, presentando diferencias significativas: el contenido de carbono orgánico soluble ha presentado concentraciones más elevadas en las muestras secas que en las húmedas, más activas desde el punto de vista biológico, los contenidos de nitratos y amonio también varían notablemente entre las dos situaciones presentando concentraciones que son indicadoras de los procesos de mineralización y nitrificación, la biomasa microbiana presenta incrementos muy notorios en las muestras húmedas, las actividades enzimáticas presentan diferencias sin poder establecer

9. Conclusiones

un patrón definido, habitualmente con incrementos en las muestras húmedas, especialmente en las actividades ureasa, proteasa-BAA y deshidrogenasa.

D. Respecto a las relaciones entre los distintos parámetros físicos, químicos y biológicos cuantificados:

15. Globalmente, a partir de los resultados obtenidos en los ensayos de fertilización, el estudio del sistema forestal y los suelos agrícolas se ponen de manifiesto muchos hechos comunes. En general, se constatan altas correlaciones entre las actividades enzimáticas deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y arilsulfatasa. Las relaciones de la ureasa y proteasa-BAA, entre ellas y con el resto de actividades enzimáticas son variables, presentando, en general, correlaciones positivas más altas la proteasa-BAA. La biomasa microbiana presenta, en la mayoría de casos, correlaciones positivas con las actividades deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y arilsulfatasa. Comparando con el resto de actividades enzimáticas, las actividades relacionadas con el ciclo del nitrógeno (ureasa y proteasa-BAA) no presentan correlaciones particularmente significativas con el contenido en nitrógeno total o sus formas inorgánicas cuantificadas. El contenido en fósforo presenta correlaciones positivas con la actividad fosfatasa alcalina y, de forma más significativa, el azufre con la arilsulfatasa. El contenido en carbono orgánico total es un parámetro altamente correlacionado con la biomasa microbiana, las actividades deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, arilsulfatasa y proteasa-BAA, la respiración basal y el índice de estabilidad estructural. Componentes específicos de la materia orgánica del suelo como el carbono orgánico soluble, las gomas microbianas y el extracto húmico total, presentan coeficientes de correlación similares y, en algunos casos, más elevados que el carbono orgánico total, siendo junto a este, buenos indicadores del estado del suelo.

10. Bibliografía

- Abiven, S., Menasseri, S., Chenu, C. (2009) The effects of organic inputs over time on soil aggregate stability. A literature analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 1-12.
- Acosta-Martinez, V., Tabatabai, M.A. (2000) Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biology and Fertility of soils*, 31, 85-91.
- Acosta-Martinez, V., Zobeck, T.M., Allen, V. (2004) Soil microbial, chemical and physical properties in continuous cotton and integrated crop–livestock systems. *Soil Science Society of America Journal*, 68, 1875-1884.
- Acosta-Martínez, V., Cruz, L., Sotomayor-Ramirez, D., Pérez-Alegría, L. (2007) Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology*, 35, 35-45.
- Acton, C.J., Paul, E.A., Rennie, D.A. (1963a) Measurement of the polysaccharide content of soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 43, 141-150.
- Acton, C.J., Rennie, D.A., Paul, E. A. (1963b) The relationship of polysaccharides to soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science*, 43, 201-209.
- Adani, F., Genevini, P., Zaccheo, P., Zocchi, G. (1998) The effect of commercial humic acid on tomato plant growth and mineral nutrition. *Journal of Plant Nutrition*, 21, 561-575.
- Adani, F., Scatigna, L., Genevini, P. (2000) Biostabilization of mechanically separated municipal solid waste fraction. *Waste Management and Research*, 18, 471-477.
- Adrover, M. (2010) *Efectes del reg amb aigües residuals tractades en els sòls i els cultius*. Tesi doctoral. Universitat de les Illes Balears.
- Adrover, M., Moyà, G., Vadell, J. (2012) Effect of treated wastewater irrigation on plant growth and biological activity in three soil types. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 43, 1163-1180.
- Aerts, R., Chapin III, F.S. (2000) The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research*, 30, 1-67.
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F. (2000) Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology*, 75, 43-48.
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F. (2001a) Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology*, 76, 125-129.
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F. (2001b) Organic matter components, aggregate stability and biological activity in a horticultural soil fertilized with different rates of two sewage sludges during ten years. *Bioresource Technology*, 77, 109-114.

10. Bibliografía

- Alef, K. (1995) Soil respiration. En: Alef, K., Nannipieri, P. (eds.) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic press, 216-217.
- Alexander, M. (1980) *Microbiología del suelo*. AGT Editor.
- Alvarez, R., Santanatoglia, O.J., Fernandez, N.R. (1984) Determinación colorimétrica de gomas microbianas del suelo. *Ciencia del Suelo*, 2, 173-178.
- Anderson, T.H., Domsch, K.H. (1989) Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 21, 471-479.
- Anderson, T.H., Domsch, K.H. (1990) Application of eco-physiological quotients (qCO_2 and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biology and Biochemistry*, 22, 251-255.
- Anderson, T.H., Domsch, K.H. (1993) The metabolic quotient for CO_2 (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 25, 393-395.
- Andrews, S.S., Karlen, D.L., Cambardella, C.A. (2004) The soil management assessment framework: A quantitative soil quality evaluation method. *Soil Science Society of America Journal*, 68, 1945-1962.
- Annabi, M., Houot, S., Francou, C., Poitrenaud, M., Bissonnais, Y.L. (2007) Soil aggregate stability improvement with urban composts of different maturities. *Soil Science Society of America Journal*, 71, 413-423.
- Annabi, M., Le Bissonnais, Y., Le Villio-Poitrenaud, M., Houot, S. (2011) Improvement of soil aggregate stability by repeated applications of organic amendments to a cultivated silty loam soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 144, 382-389.
- Araújo, A. S.F., de Melo, W.J., Singh, R.P. (2010) Municipal solid waste compost amendment in agricultural soil: changes in soil microbial biomass. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 9, 41-49.
- Armenise, E., Redmile-Gordon, M.A., Stellacci, A.M., Ciccacese, A., Rubino, P. (2013) Developing a soil quality index to compare soil fitness for agricultural use under different managements in the Mediterranean environment. *Soil and Tillage Research*, 130, 91-98.
- Arshad, M. A., Martin, S. (2002) Identifying critical limits for soil quality indicators in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 88, 153-160.
- Askari, M.S., Holden, N.M. (2015) Quantitative soil quality indexing of temperate arable management systems. *Soil and Tillage Research*, 150, 57-67.
- ASTM, American Society for Testing and Materials (1991) *ASTM D1193-91: Standard Specification for Reagent Water*. 3 pp.
- Bai, Z., Li, H., Yang, X., Zhou, B., Shi, X., Wang, B., Li, D., Shen, J., Chen, Q., Qin, W., Oenena, O., Zhang, F. (2013) The critical soil P levels for crop yield, soil fertility and environmental safety in different soil types. *Plant and Soil*, 372, 27-37.
- Bandick, A.K., Dick, R.P. (1999) Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 1471-1479.
- Barral, M. T., Paradelo, R., Moldes, A. B., Domínguez, M., Díaz-Fierros, F. (2009) Utilization of MSW compost for organic matter conservation in agricultural soils of NW Spain. *Resources, Conservation and Recycling*, 53, 529-534.

- Barthes, B., Roose, E. (2002) Aggregate stability as an indicator of soil susceptibility to runoff and erosion; validation at several levels. *Catena*, 47, 133-149.
- Baruah, M., Mishra, R. R. (1986). Effect of herbicides butachlor, 2, 4-D and oxyfluorfen on enzyme activities and CO₂ evolution in submerged paddy field soil. *Plant and Soil*, 96, 287-291.
- Bastida, F., Moreno, J.L., Hernández, T., García, C. (2006a) Microbiological activity in a soil 15 years after its devegetation. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 2503-2507.
- Bastida, F., Moreno, J.L., Hernandez, T., García, C. (2006b) Microbiological degradation index of soils in a semiarid climate. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 3463-3473.
- Bastida, F., Kandeler, E., Moreno, J.L., Ros, M., García, C., Hernández, T. (2008a) Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Applied Soil Ecology*, 40, 318-329.
- Bastida, F., Zsolnay, A., Hernández, T., García, C. (2008b) Past, present and future of soil quality indices: a biological perspective. *Geoderma*, 147, 159-171.
- Bastida, F., Jindo, K., Moreno, J.L., Hernández, T., García, C. (2012) Effects of organic amendments on soil carbon fractions, enzyme activity and humus–enzyme complexes under semi-arid conditions. *European Journal of Soil Biology*, 53, 94-102.
- Ben-Hur, M., Li, F. H., Keren, R., Ravina, I., Shalit, G. (2001) Water and salt distribution in a field irrigated with marginal water under high water table conditions. *Soil Science Society of America Journal*, 65, 191-198.
- Bennett L.T., Adams M.A. (1999) Indices for characterising spatial variability of soil nitrogen semi-arid grasslands of Northwestern Australia. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 735-746.
- Bergstrom, D.W., Monreal, C.M. y Fing, D.J. (1998) Sensitivity of soil enzyme activities to conservation practices. *Soil Science Society of America Journal*, 62, 1286-1295.
- Biau, A., Santiveri, F., Mijangos, I., Lloveras, J. (2012) The impact of organic and mineral fertilizers on soil quality parameters and the productivity of irrigated maize crops in semiarid regions. *European Journal of Soil Biology*, 53, 56-61.
- Birch, H.F. (1958) The effect of soil drying on humus decomposition and nitrogen. *Plant and Soil*, 10, 9–31.
- Bissett, A., Richardson, A. E., Baker, G., Thrall, P. H. (2011) Long-term land use effects on soil microbial community structure and function. *Applied Soil Ecology*, 51, 66-78.
- Böhme, L., Langer, U., Böhme, F. (2005) Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 109, 141-152.
- Bolan, N.S., Adriano, D.C., Kunhikrishnan, A., James, T., McDowell, R., Senesi, N. (2011) Dissolved organic matter: biogeochemistry, dynamics, and environmental significance in soils. *Advances in Agronomy*, 110, 1-75.
- Bolton, H., Elliott, L.F., Papendick, R.I., Bezdicek, D.F. (1985) Soil microbial biomass and selected soil enzyme activities effect of fertilization and cropping practices. *Soil Biology and Biochemistry*, 17, 297-302.

10. Bibliografía

- Bongiovanni, M.D., Lobartini, J.C. (2006) Particulate organic matter, carbohydrate, humic acid contents in soil macro-and microaggregates as affected by cultivation. *Geoderma*, 136, 660-665.
- Bonmatí, M., Jiménez, P., Julià, M. (2003) Determinación de la actividad proteasa 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*. Ediciones Mundi-Prensa, 101-121.
- Bouzaiane O, Cherif H, Ayari F, Jedidi N, Hassen A. (2007) Municipal solid waste compost dose effects on soil microbial biomass determined by chloroform fumigation extraction and DNA methods. *Annals of Microbiology*, 57, 681–686
- Boyer, J.N., Groffman, P.M. (1996) Bioavailability of water extractable organic carbon fractions in forest and agricultural soil profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 28, 783-790.
- Brady, N.C., Weil, R.R. (2010) *Elements of the nature and properties of soils*. Pearson Prentice Hall.
- Bremner, J.M., Douglas, L.A. (1971) Inhibition of urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 3, 297-307.
- Bremner, J.M., Mulvaney, C.S. (1982) Nitrogen total. En: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (eds.) *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*, 595-624.
- Bronick, C.J., Lal, R. (2005) Soil structure and management: a review. *Geoderma*, 124, 3-22.
- Brookes, P. (2001) The soil microbial biomass: concept, measurement and applications in soil ecosystem research. *Microbes and Environments*, 16, 131-140.
- 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 Management*, 28, 716-722.
- Brzezinska M, Stepniewska Z., Stepniewski W (1998) Soil oxygen status and dehydrogenase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 1783-1790.
- Buj, A. (2003) La vivienda salubre: el saneamiento de poblaciones (1908) en la obra del ingeniero militar Eduardo Gallego Ramos. *Scripta Nova: revista electrónica de geografía y ciencias sociales*, 7, 12.
- Bünemann, E.K. (2015) Assessment of gross and net mineralization rates of soil organic phosphorus. A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 89, 82-98.
- Burford, J.R., Bremner, J.M. (1975) Relationships between the denitrification capacities of soils and total, water-soluble and readily decomposable soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 7, 389-394.
- Burns, R.G. (1982) Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology and Biochemistry*, 14, 423–427.
- Burns, R.G. (1986) Interaction of enzymes with soil mineral and organic colloids. En: Huang, P.M., Schnitzer, M. (eds.) *Interactions of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes*, Soil Science Society of America, 429-452.
- Burns, R.G., DeForest, J.L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R.L., Stromberger, M.E., Wallenstein, M.D., Weintraub, M.N., Zoppini, A. (2013) Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 216-234.

- Busto, M.D., Perez-Mateos, M. (1995) Extraction of humic- β -glucosidase fractions from soil. *Biology and Fertility of Soils*, 20, 77-82.
- Caldwell, B.A. (2005) Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia*, 49, 637-644.
- Canet, R., Albiach, R., Pomares, F. (2000) Los índices de actividad biológica como herramienta de diagnóstico de la fertilidad del suelo en agricultura ecológica. En: García, C., Hernández, M.T. (eds.) *Investigaciones y perspectivas de la enzimología de suelos en España*. Centro de Edafología y Biología Aplicada Segura. 9-39.
- Caravaca, F., Lax, A., Albaladejo, J. (2001) Soil aggregate stability and organic matter in clay and fine silt fractions in urban refuse-amended semiarid soils. *Soil Science Society of America Journal*, 65, 1235-1238.
- Caravaca, F., Masciandaro, G., Ceccanti, B. (2002) Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semiarid Mediterranean environment. *Soil and Tillage Research*, 68, 23-30.
- Carpenter-Boggs, L., Kennedy, A.C., Reganold, J.P. (2000) Organic and biodynamic management effects on soil biology. *Soil Science Society of America Journal*, 64, 1651-1659.
- Carter, M.R. (2002) Soil quality for sustainable land management. *Agronomy journal*, 94, 38-47.
- Casado-Vela, J., Sellés, S., Navarro, J., Bustamante, M.A., Mataix, J., Guerrero, C., Gomez, I. (2006) Evaluation of composted sewage sludge as nutritional source for horticultural soils. *Waste Management*, 26, 946-952.
- Casida, L.E. (1977) Microbial metabolic activity in soil as measured by dehydrogenase determinations. *Applied and Environmental Microbiology*, 34, 630-636.
- Castellano, S.D., Dick, R.P. (1988) Distribution of sulfur fractions in soil as influenced by management of organic residues. *Soil Science Society of America Journal*, 52, 1403-1407.
- Castells, E., Peñuelas, J. (2003) Is there a feedback between N availability in siliceous and calcareous soils and *Cistus albidus* leaf chemical composition? *Oecologia*, 136, 183-192.
- Cerdà, A. (1998) Soil aggregate stability under different Mediterranean vegetation types. *Catena*, 32, 73-86.
- Chang, E.H., Chung, R.S., Tsai, Y.H. (2007) Effect of different application rates of organic fertilizer on soil enzyme activity and microbial population. *Soil Science and Plant Nutrition*, 53, 132-140.
- Chantigny, M.H. (2003) Dissolved and water-extractable organic matter in soils: a review on the influence of land use and management practices. *Geoderma*, 113, 357-380.
- Chen, Y., Senesi, N., Schnitzer, M., (1977) Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. *Soil Science Society of America Journal*, 41, 352-358.
- Cheshire, M.V. (1979) *Nature and origin of carbohydrates in soils*. London: Academic Press.
- Chesters, G., Attoe, O.J., Allen, O.N. (1957) Soil aggregation in relation to various soil constituents. *Soil Science Society of America Journal*, 21, 272-277.

10. Bibliografia

- Clough, A., Skjemstad, J.O. (2000) Physical and chemical protection of soil organic carbon in three agricultural soils with different contents of calcium carbonate. *Soil Research*, 38, 1005-1016.
- Colombàs, M. (2014) *Nivells d'elements traça i macroelements als sòls de les Illes Balears*. Tesi doctoral, Universitat de les Illes Balears.
- Condon, L.M., Turner, B.L., Cade-Menun, B.J., (2005) Chemistry and dynamics of soil organic phosphorus. *Phosphorus, Agriculture and the Environment, Agronomy Monograph n. 46*. American Society of Agronomy, 87-121.
- Crecchio, C., Curci, M., Mininni, R., Ricciuti, P., Ruggiero, P. (2001) Short-term effects of municipal solid waste compost amendments on soil carbon and nitrogen content, some enzyme activities and genetic diversity. *Biology and Fertility of Soils*, 34, 311-318.
- Curci, M., Pizzigallo, M.D.R., Crecchio, C., Mininni, R., Ruggiero, P. (1997) Effects of conventional tillage on biochemical properties of soils. *Biology and Fertility of Soils*, 25, 1-6.
- Dalal, R.C., 1977. Soil organic phosphorous. *Advances in Agronomy*, 29, 83-112.
- De Lucia, B., Cristiano, G., Vecchiotti, L., Bruno, L. (2013) Effect of different rates of composted organic amendment on urban soil properties, growth and nutrient status of three Mediterranean native hedge species. *Urban Forestry and Urban Greening*, 12, 537-545.
- Debosz, K., Rasmussen, P.H., Pedersen, A.R. (1999) Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: effects of organic matter input. *Applied Soil Ecology*, 13, 209-218.
- Debosz, K., Vogensen, L., Labouriau, R. (2002) Carbohydrates in hot water extracts of soil aggregates as influenced by long-term management. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33, 623-634.
- Degens, B.P., Schipper, L.A., Sparling, G.P., Duncan, L.C. (2001) Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance? *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 1143-1153.
- Dexter, A.R. (2004) Soil physical quality: Part I. Theory, effects of soil texture, density, and organic matter, and effects on root growth. *Geoderma*, 120, 201-214.
- Diacono, M., Montemurro, F. (2010) Long-term effects of organic amendments on soil fertility. A review. *Agronomy for sustainable development*, 30, 401-422.
- Dick, R.P. (1992) A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 40, 25-36.
- Dick, R.P. (1994) Soil enzyme activities as indicators of soil quality. En: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicsek, D.F., Stewart, B.A. (eds.), *Defining soil quality for a sustainable environment*. Soil Science Society of America, 107-124.
- Dick, W.A., Cheng, L., Wang, P. (2000) Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 1915-1919.
- Dodgson, K.S., White, G., Fitzgerald, J.W. (1982) Sulphatase enzyme of microbial origin. *African Journal of Biotechnology*, 1, 156-159.
- Doran, J. (1980) Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. *Soil Science Society of America Journal*, 44, 765-771.

- Doran, J. W. (2002) Soil health and global sustainability: translating science into practice. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 88, 119-127.
- Doran, J.W., Parkin, T.B. (1994) Defining and assessing soil quality. En: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Stewart, B.A. (eds.) *Defining soil quality for a sustainable environment*, 3-21.
- Duchaufour, P. (1984) *Edafología. I. Edafogénesis y clasificación*. Ed. Masson, Barcelona.
- Dungait, J.A., Hopkins, D.W., Gregory, A.S., Whitmore, A.P. (2012) Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Global Change Biology*, 18, 1781-1796.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A. (1977) Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 9, 167-172.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A. (1988) Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 20, 601-606.
- Ekenler, M., Tabatabai, M.A. (2003) Responses of phosphatases and arylsulfatase in soils to liming and tillage systems, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166, 281-290.
- Fernández-Ugalde, O., Virto, I., Barré, P., Apesteguía, M., Enrique, A., Imaz, M.J., Bescansa, P. (2014) Mechanisms of macroaggregate stabilisation by carbonates: implications for organic matter protection in semi-arid calcareous soils. *Soil Research*, 52, 180-192.
- Fioretto, A., Papa, S., Pellegrino, A., Ferrigno, A. (2009) Microbial activities in soils of a Mediterranean ecosystem in different successional stages. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 2061-2068.
- Fischer, H., Meyer, A., Fischer, K., Kuzyakov, Y. (2007) Carbohydrate and amino acid composition of dissolved organic matter leached from soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 2926-2935.
- Fließbach, A., Oberholzer, H.R., Gunst, L., Mäder, P. (2007) Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 118, 273-284.
- Fraser, D.G., Doran, J.W., Sahs, W.W., Lesoing, G.W. (1988) Soil microbial populations and activities under conventional and organic management. *Journal of Environmental Quality*, 17, 585-590.
- Frossard, E., Brossard, M., Hedley, M.J., Metherell, A. (1995) Reactions controlling the cycling of P in soils. En: Tiessen, H. (Ed.) *Phosphorus in the Global Environment. Transfers, Cycles and Management*. Wiley, 107-137.
- Fuentes, J. P., Bown, H. E., Perez-Quezada, J. F., Franck, N. (2014) Litter Removal in a Sclerophyll Forest: Short-and Medium-Term Consequences for Soil Properties. *Soil Science Society of America Journal*, 78, 634-644.
- García C., Hernández T (1997) Biological and biochemical indicators in derelict soils subject to erosion. *Soil Biology and Biochemistry*, 29, 171-177.
- García, C., Hernandez, T., Costa, C., Ceccanti, B., Masciandaro, G., Ciardi, C. (1993) A study of biochemical parameters of composted and fresh municipal wastes. *Bioresource Technology*, 44, 17-23.
- García, C., Hernández, T., Costa, F., (1994) Microbial activity in soils under mediterranean environmental conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 26, 1185-1191.

10. Bibliografía

- García, C., Hernández, T., Costa, F. (1997) Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 28, 123-134.
- García, C., Hernández, T., Albadalejo, J. , Castillo, V., Roldán, A. (1998) Revegetation in semiarid zones: influence of terracing and organic refuse on microbial activity. *Soil Science Society of America Journal*, 62, 670-676.
- García, C., Hernández, T., Roldán, A., Martín, A. (2002) Effect of plant cover decline on chemical microbiological parameters under Mediterranean climate. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 635–642
- García, C., Roldán A., Hernández T. (2005) Ability of different plant species to promote microbiological processes in semiarid soil. *Geoderma*, 124, 193-202.
- García, M. (2000) Principales enfermedades. En: Maroto, J.V., Miguel, A., Baixauli, C. (coord.) *La lechuga y la escarola*. Fundación Caja Rural Valencia. Ediciones Mundiprensa, 173-211.
- García-Gil, J.C., Plaza, C., Senesi, N., Brunetti, G., Polo, A., (2004) Effects of sewage sludge amendment on humic acids and microbiological properties of a semiarid Mediterranean soil. *Biology and Fertility of Soils*, 39, 320–328.
- García-Gil, J.C., Plaza, C., Soler-Rovira, P., Polo, A. (2000) Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 1907-1913.
- García-Orenes, F., Guerrero, C., Roldán, A., Mataix-Solera, J., Cerdà, A., Campoy, M., Zornoza, R., Bárcenas, G., Caravaca, F. (2010) Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid Mediterranean agroecosystem. *Soil and Tillage Research*, 109, 110-115.
- Geiger G., Federer P., Sticher H. (1993) Reclamation of heavy metalcontaminated soils: field studies and germination experiments. *Journal of Environmental Quality*, 22, 201-207.
- Geisseler, D., Scow, K.M. (2014) Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms—a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 75, 54-63.
- George, T.S., Fransson, A.M., Hammond, J.P., White, P.J., (2011) Phosphorus nutrition: rhizosphere processes, plant response and adaptations. En: Bünemann, E.K., Oberson, A., Frossard, E. (eds.), *Phosphorus in Action e Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling*, Soil Biology, vol. 26. Springer, 245-271.
- 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. *Applied Soil Ecology*, 64, 32-48.
- Giller, K.E., Witter, E., Mcgrath, S.P. (1998) Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 1389-1414.
- Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Seoane, S. (2005) Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 877-887.
- Gispert, M., Emran, M., Pardini, G., Doni, S., Ceccanti, B. (2013) The impact of land management and abandonment on soil enzymatic activity, glomalin content and aggregate stability. *Geoderma*, 202, 51-61.

- Giusquiani, P.L., Pagliai, M., Gigliotti, G., Businelli, D., Benetti, A. (1995) Urban waste compost: effects on physical, chemical, and biochemical soil properties. *Journal of Environmental Quality*, 24, 175-182.
- Govi, M., Ciavatta, C., Gessa, C. (1993) Evolution of organic matter in sewage sludge: a study based on the use of humification parameters and analytical electrofocusing. *Bioresource Technology*, 44, 175-180.
- Gregorich, E. G., Beare, M. H., Stoklas, U., St-Georges, P. (2003) Biodegradability of soluble organic matter in maize-cropped soils. *Geoderma*, 113, 237-252.
- Gregorich, E.G., Carter, M.R., Angers, D.A., Monreall, C.M., Ellert, B.H. (1994) Towards a minimum data set to assess soil organic-matter quality in agricultural soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 74, 367-385
- Griffiths, B.S., Ritz, K., Wheatley, R., Kuan, H.L., Boag, B., Christensen, S., Ekelund, F., Sørensen, S.J., Muller, S., Bloem, J. (2001) An examination of the biodiversity–ecosystem function relationship in arable soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 1713-1722.
- Grosso, F., Temussi, F., De Nicola, F. (2014) Water-extractable organic matter and enzyme activity in three forest soils of the Mediterranean area. *European Journal of Soil Biology*, 64, 15-22.
- Guijarro, J.A. (1986) *Contribución a la bioclimatología de Baleares*. Tesis doctoral. Universitat de les Illes Balears.
- Gunina, A., Kuzyakov, Y. (2015) Sugars in soil and sweets for microorganisms: Review of origin, content, composition and fate. *Soil Biology and Biochemistry*, 90, 87-100.
- Guo, L.B., Gifford, R.M. (2002) Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. *Global Change Biology*, 8, 345-360.
- Gupta, V.V.S.R., Farrell, R.E., Germida, J.J. (1993) Activity of arylsulfatase in Saskatchewan soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 73, 341-347.
- Habsburg-Lorena, L.S. (1880) Die Balearen. In Wort und Bild geschildert. Leipzig. F.A. Brockhaus. (Edición traducida al catalán: Les Balears. Descrites per la paraula i la imatge. ISBN: 84-930771-2-7)
- Hargreaves, J. C., Adl, M. S., Warman, P. R. (2008) A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 123, 1-14.
- Hayano K, Takeuchi M, Ichishima E (1987) Characterization of a metalloproteinase component extracted from soil. *Biology and Fertility of Soils*, 4, 179-183.
- Hayano, B., Tubaki, K. (1985) Origin and properties of b-glucosidase activity of tomato field soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 17, 553-557.
- Haynes, R. J. (1999) Size and activity of the soil microbial biomass under grass and arable management. *Biology and Fertility of Soils*, 30, 210-216.
- Haynes, R.J., Tregurtha, R. (1999) Effects of increasing periods under intensive arable vegetable production on biological, chemical and physical indices of soil quality. *Biology and Fertility of Soils*, 28, 259-266.
- Hodge, A., Robinson, D., Fitter, A. (2000) Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? *Trends in Plant Science*, 5, 304-308.

10. Bibliografía

- Hooda, P.S., Truesdale, V.W., Edwards, A.C., Withers, P.J.A., Aitken, M.N., Miller, A., Rendell, A.R. (2001) Manuring and fertilization effects on phosphorus accumulation in soils and potential environmental implications. *Advances in Environmental Research*, 5, 13-21.
- Hope C.F.A., Burns, R.G. (1987) Activity, origins and location of cellulases in a silt loam soil. *Biology and Fertility of Soils*, 5, 164-170.
- Hu, J., Zhu, A., Wang, J., Dai, J., Wang, T., Chen, R., Lin, X. (2013) Soil microbial metabolism and invertase activity under crop rotation and no-tillage in North China. *Plant, Soil and Environment*, 59, 511-516.
- Hueso, S., García, C., Hernández, T. (2012) Severe drought conditions modify the microbial community structure, size and activity in amended and unamended soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 50, 167-173.
- IGME (1991a) *Mapa geológico de España. Hoja 671 Inca. Escala 1:50.000*. Instituto Geológico y Minero de España.
- IGME (1991b) *Mapa geológico de España. Hoja 699 Porreres. Escala 1:50.000*. Instituto Geológico y Minero de España.
- Ingelmo, F., Canet, R., Ibanez, M.A., Pomares, F., Garcia, J. (1998) Use of MSW compost, dried sewage sludge, and other wastes as partial substitutes for peat and soil. *Bioresource Technology*, 63, 123-129.
- Insam, H. (1996) Microorganisms and humus in soils. En Picolo (ed.) *Humic substances in terrestrial ecosystems*. Elsevier, 265-292.
- Insam, H., Domsch, K.H. (1988) Relationship between soil organic carbon and microbial biomass on chronosequences of reclamation sites. *Microbial Ecology*, 15, 177-188.
- Insam, H., Haselwandter, K. (1989) Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. *Oecologia*, 79, 174-178.
- Iovieno, P., Morra, L., Leone, A., Pagano, L., Alfani, A. (2009) Effect of organic and mineral fertilizers on soil respiration and enzyme activities of two Mediterranean horticultural soils. *Biology and Fertility of Soils*, 45, 555-561.
- IUSS Working Group WRB (2014) *World Reference Base for Soil Resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps*. World Soil Resources Reports, 106. FAO, Rome.
- Jackson, L.E., Schimel, J.P., Firestone, M.K. (1989) Short-term partitioning of ammonium and nitrate between plants and microbes in an annual grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, 21, 409-415.
- Johnson, G.A., Davis, J.G., Qian, Y.L., Doesken, K.C., 2006. Topdressing turf with composted manure improves soil quality and protects water quality. *Soil Science Society of America Journal*, 70, 2114-2121.
- Jorge-Mardomingo, I., Soler-Rovira, P., Casermeiro, M.Á., de la Cruz, M.T., Polo, A. (2013) Seasonal changes in microbial activity in a semiarid soil after application of a high dose of different organic amendments. *Geoderma*, 206, 40-48.
- Juma, N.G., Tabatabai, M.A. (1978) Distribution of phosphomonoesterases in soils. *Soil Science*, 126, 101-108.
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.H., Michalzik, B., Matzner, E. (2000) Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review. *Soil Science*, 165, 277-304.

- Kalbitz, K., Meyer, A., Yang, R., Gerstberger, P. (2007) Response of dissolved organic matter in the forest floor to long-term manipulation of litter and throughfall inputs. *Biogeochemistry*, 86, 301-318.
- Kandeler, E., Gerber, H. (1988) Short-term assay of urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils*, 8, 199-202.
- Kandeler, F., Kampichler, C., Horak, O. (1996) Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biology and Fertility of Soils*, 23, 299-306.
- Kandeler, E., Stemmer, M., Klimanek, E.M. (1999) Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fractions to long-term soil management. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 261-273.
- Karlen, D.L., Andrews, S.S., Doran, J.W. (2001) Soil quality: Current concepts and applications. *Advances in Agronomy*, 74, 1-40.
- Karlen, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F., Schuman, G.E. (1997) Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation (a guest editorial). *Soil Science Society of America Journal*, 61, 4-10.
- Karlen, D.L., Wollenhaupt, N.C., Erbach, D.C., Berry, E.C., Swan, J.B., Eash, N.S., Jordahl, J.L. (1994) Long-term tillage effects on soil quality. *Soil and Tillage Research*, 32, 313-327.
- Kätterer, T., Börjesson, G., Kirchmann, H. (2014) Changes in organic carbon in topsoil and subsoil and microbial community composition caused by repeated additions of organic amendments and N fertilisation in a long-term field experiment in Sweden. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 189, 110-118.
- Kaye, J. P., Hart, S. C. (1997) Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Trends in Ecology and Evolution*, 12, 139-143.
- Keeney, D.R., Nelson, D.W. (1982) Nitrogen, inorganic forms. En: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (eds.) *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*, Agronomy no. 9, ASA – SSSA, 643-698.
- Kemper, W.D., Rosenau, R.C. (1982) Aggregate stability and size distributions. En: Klute, A. (ed.) *Methods of soil analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*. American Society of Agronomy, Madison, 425-442.
- Kennedy, A.C., Papendick, R.I. (1995) Microbial characteristics of soil quality. *Journal of Soil and Water Conservation*, 50, 243-248.
- Kertesz, M.A. (1999) Riding the sulphur cycle-metabolism of sulfonates and sulfate esters in gram negative bacteria. *FEMS Microbiological Reviews*, 24, 135-174.
- Kertesz, M.A., Mirleau, P. (2004) The role of soil microbes in plant sulphur nutrition. *Journal of Experimental Botany*, 55, 1939-1945.
- Kiem, R., Kandeler, E. (1997) Stabilization of aggregates by the microbial biomass as affected by soil texture and type. *Applied Soil Ecology*, 5, 221-230.
- Kirkby, C.A., Kirkegaard, J.A., Richardson, A.E., Wade, L.J., Blanchard, C., Batten, G. (2011) Stable soil organic matter: a comparison of C: N: P: S ratios in Australian and other world soils. *Geoderma*, 163, 197-208.
- Kissel, D.E., Cabrera M.L., Ferguson, R.B. (1988) Reactions of ammonia and urea hydrolysis products with soil. *Soil Science Society of America Journal*, 52, 1793-1796.

10. Bibliografía

- Kleber, M., Johnson, M.G. (2010) Advances in understanding the molecular structure of soil organic matter: implications for interactions in the environment. *Advances in Agronomy*, 106, 77–142
- Klose S, Tabatabai M.A. (1999) Arylsulphatase activity of microbial biomass in soils. *Soil Science Society of America Journal*, 63, 569–574.
- Knight, T.R. y Dick, R.P. (2004) Differentiating microbial and stabilized b-glucosidase activity relative to soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 36:2089-2096.
- Knights, J.S., Zhao, F.J., McGrath, S.P., Magan, N. (2001) Long-term effects of land use and fertiliser treatments on sulphur transformations in soils from the Broadbalk experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 1797-1804.
- Kögel-Knabner, I. (2002) The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 139-162.
- Kononova, M.M. (1982) *Materia orgánica del suelo. Su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Ed. Oikos-tau.
- Kuzyakov, Y., Xu, X. (2013) Competition between roots and microorganisms for nitrogen: mechanisms and ecological relevance. *New Phytologist*, 198, 656-669.
- Ladd, J.N., Butler, J.H.A. (1972) Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry*, 4, 19-30.
- Lagomarsino, A., Moscatelli, M. C., Di Tizio, A., Mancinelli, R., Grego, S., Marinari, S. (2009) Soil biochemical indicators as a tool to assess the short-term impact of agricultural management on changes in organic C in a Mediterranean environment. *Ecological Indicators*, 9, 518-527.
- Lal, R. (2002) Soil carbon dynamics in cropland and rangeland. *Environmental Pollution*, 116, 353-362.
- Lal, R. (2008) Promise and limitations of soils to minimize climate change. *Journal of Soil and Water Conservation*, 63, 113A-118A.
- Larney, F.J., Angers, D.A. (2012) The role of organic amendments in soil reclamation: A review. *Canadian Journal of Soil Science*, 92, 19-38.
- Lawlor, D.W. (2002) Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany*, 53, 773-787.
- Lee, J.J., Park, R.D., Kim, Y.W., Shim, J.H., Chae, D.H., Rim, Y.S., Sohn, B.K., Kim, T.H., Kim, K.Y. (2004) Effect of food waste compost on microbial population, soil enzyme activity and lettuce growth. *Bioresource Technology*, 93, 21-28.
- Leirós, M.C., Trasar-Cepeda, C., Seoane, S., Gil-Sotres, F. (2000) Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): general parameters. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 733-745.
- Li, Y., Guohua, M., Fanjun, C., Jianhua, Z., Fusuo, Z. (2004) Rhizosphere effect and root growth of two maize (*Zea mays* L.) genotypes with contrasting P efficiency at low P availability. *Plant Science*, 167, 217-223.

- Li, J., Cooper, J. M., Lin, Z.A., 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 the North China Plain. *Applied Soil Ecology*, 96, 75-87.
- Liu, E., Yan, C., Mei, X., He, W., Bing, S.H., Ding, L., Liu, Q., Liu, S., Fan, T. (2010) Long-term effect of chemical fertilizer, straw, and manure on soil chemical and biological properties in northwest China. *Geoderma*, 158, 173-180.
- Llorens, L., Gil, L., Tébar, F.J. (2007) *La vegetació de l'illa de Mallorca*. Associació Jardí Botànic de Palma.
- Loveland, P., Webb, J. (2003) Is there a critical level of organic matter in the agricultural soils of temperate regions: a review. *Soil and Tillage Research*, 70, 1-18.
- Lucas-Borja, M. E., Bastida, F., Nicolás, C., Moreno, J. L., del Cerro, A., Andrés, M. (2010) Influence of forest cover and herbaceous vegetation on the microbiological and biochemical properties of soil under Mediterranean humid climate. *European Journal of Soil Biology*, 46, 273-279.
- Lundquist, E.J., Jackson, L.E., Scow, K.M. (1999) Wet-dry cycles affect dissolved organic carbon in two California agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 1031-1038.
- Lynch, J.M., Bragg, E. (1985) Microorganisms and soil aggregate stability. *Advances in Soil Science*, 133-171.
- Lynch, J.M., Panting, L.M. (1980) Variations in the size of the soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 12, 547-550.
- Macci, C., Doni, S., Peruzzi, E., Masciandaro, G., Mennone, C., Ceccanti, B. (2012) Almond tree and organic fertilization for soil quality improvement in southern Italy. *Journal of Environmental Management*, 95, S215-S222.
- Madejón, E., Burgos, P., López, R., Cabrera, F. (2001) Soil enzymatic response to addition of heavy metals with organic residues. *Biology and Fertility of Soils*, 34, 144-150.
- Magid, J., Jensen, M. B., Mueller, T., Hansen, H. C. B. (1999) Phosphate leaching responses from unperturbed, anaerobic, or cattle manured mesotrophic sandy loam soils. *Journal of Environmental Quality*, 28, 1796-1803.
- MAGRAMA (2014) *Anuario de Estadística 2013*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- Makoi, J.H., Ndakidemi, P.A. (2008) Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*, 7, 181-191.
- MAPA (1994) *Métodos oficiales de análisis. Tomo III. Plantas, productos orgánicos fertilizantes, suelos, aguas, productos fitosanitarios y fertilizantes inorgánicos*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.
- Marcote, I., Hernández, T., García, C., Polo, A. (2001) Influence of one or two successive annual applications of organic fertilisers on the enzyme activity of a soil under barley cultivation. *Bioresource technology*, 79, 147-154.
- Marin, B., Chopin, E.I.B., Jupinet, B., Gauthier, D. (2008) Comparison of microwave-assisted digestion procedures for total trace element content determination in calcareous soils. *Talanta*, 77, 282-288.

10. Bibliografía

- Marinari, S., Masciandaro, G., Ceccanti, B., Grego, S. (2000) Influence of organic and mineral fertilisers on soil biological and physical properties. *Bioresource Technology*, 72, 9-17.
- Maroto, J.V., Miguel, A., Baixauli, C. (coord.) (2000) *La lechuga y la escarola*. Fundación Caja Rural Valencia. Ediciones Mundiprensa.
- Marschner, H. (2011) *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic press.
- Marschner, B., Kalbitz, K. (2003) Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma*, 113, 211-235.
- Marschner, B., Noble, A., (2000) Chemical and biological processes leading to the neutralisation of soil acidity after incubation with different litter materials. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 805–813.
- Marschner, P., Kandeler, E., Marschner, B. (2003) Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 453-461.
- McDowell, W.H. (2003) Dissolved organic matter in soils-future directions and unanswered questions. *Geoderma*, 113, 179-186.
- Melero, S., Ruiz-Porras, J.C., Herencia, J.F., Madejon, E. (2006) Chemical and biochemical properties in a silty loam soil under conventional and organic management. *Soil and Tillage Research*, 90, 162-170.
- Melero, S., Madejón, E., Ruiz-Porras, J.C., Herencia, J.F. (2007) Chemical and biochemical properties of a clay soil under dryland agriculture system as affected by organic fertilization. *European Journal of Agronomy*, 26, 327-334.
- Melillo, J.M., Aber, J.D., Linkins, A.E., Ricca, A., Fry, B., Nadelhoffer, K.J. (1989) Carbon and nitrogen dynamics along the decay continuum: plant litter to soil organic matter. *Plant and Soil*, 115, 189-198.
- Michalzik, B., Kalbitz, K., Park, J. H., Solinger, S., Matzner, E. (2001) Fluxes and concentrations of dissolved organic carbon and nitrogen-a synthesis for temperate forests. *Biogeochemistry*, 52, 173-205.
- Miethling, R., Wieland, G., Backhaus, H., Tebbe, C.C., (2000) Variation of microbial rhizosphere communities in response to crop species, soil origin, and inoculation with *Sinorhizobium meliloti* L 33. *Microbial Ecology*, 40, 43–56.
- Miguel, A., Baixauli, C., Jiménez, J., García, M.J. (2000) Material vegetal y calendarios de producción. En: Maroto, J.V., Miguel, A., Baixauli, C. (coord.) *La lechuga y la escarola*. Fundación Caja Rural Valencia. Ediciones Mundiprensa, 45-70.
- Miller, S.S., Liu, J., Allan, D.L., Menzhuber, C.J., Fedorova, M., Vance, C.P. (2001) Molecular control of acid phosphatase secretion into the rhizosphere of proteoid roots from phosphorous stressed white lupin. *Plant Physiology*, 127, 594-606.
- Miralles, I., Ortega, R., Almendros, G., Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Soriano, M. (2012) Modifications of organic matter and enzymatic activities in response to change in soil use in semi-arid mountain ecosystems (southern Spain) *European Journal of Soil Science*, 63, 272-283.
- Miranda, A. (1995) El saneamiento urbano: la nueva frontera tecnológica en el sector del agua. *OP revista del colegio de ICCP*, 31, 66-73.

- Mirás-Avalos, J.M., Sande-Fouz, P. (2012) Seasonal evolution of soil dehydrogenase activity at two different depths in an eucalyptus stand and a cultivated field. En: Hernández, T., García, C., Rad, C., González-Carcedo, S. (eds.) *Soil Enzymology in the Recycling of Organic Wastes and Environmental Restoration*. Springer, 91-102.
- Mobley, H.L.T., Hausinger, R.P. (1989) Microbial urease: significance, regulation and molecular characterization. *Microbiology Reviews*, 53, 85-108.
- Moral, R., Moreno-Caselles, J., Perez-Murcia, M.D., Perez-Espinosa, A., Rufete, B., Paredes, C. (2005) Characterisation of the organic matter pool in manures. *Bioresource Technology*, 96, 153-158.
- Müller, M., Alewell, C., Hagedorn, F. (2009) Effective retention of litter-derived dissolved organic carbon in organic layers. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 1066-1074.
- Muneer, M., Oades, J.M. (1989) The role of Ca-organic interactions in soil aggregate stability. III. Mechanisms and models. *Soil Research*, 27, 411-423.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B., Cervelli, S., Matarese, E. (1980) Extraction of phosphatase, urease, proteases, organic carbon, and nitrogen from soil. *Soil Science Society of America Journal*, 44, 1011-1016.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B., Cervelli, S., Sequi, P. (1978) Stability and kinetic properties of humus-urease complexes. *Soil Biology and Biochemistry*, 10, 143-147.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B., Conti, C., Bianchi, D. (1982) Hydrolases extracted from soil: their properties and activities. *Soil Biology and Biochemistry*, 14, 257-263.
- Nannipieri, P., Grego, S., Ceccanti, B., Bollag, J.M., Stotzky, G. (1990) Ecological significance of the biological activity in soil. *Soil Biochemistry*, 6, 293-355.
- Nannipieri, P., Kandeler, E., Ruggiero, P. (2002) Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. En: Burns, R.G., Dick, R.P. (eds.) *Enzymes in the environment*. Marcel Dekker, 1-33.
- Nannipieri, P., Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R., Grace, P.R. (1994) The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. En: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R., Grace, P.R. (eds.) *Soil biota: management in sustainable farming systems*. CSIRO, 238-244.
- Nannipieri, P., Sequi, P., Fusi, P. (1996) Humus and enzyme activity, En: A. Piccolo (ed.), *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*, Elsevier, 293-328.
- Nelson, D. W., Sommers, L. (1982) Total carbon, organic carbon, and organic matter. En: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (eds.) *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*, 539-579.
- Nguyen, M.L., Goh, K.M. (1994) Sulphur cycling and its implications on sulphur fertilizer requirements of grazed grassland ecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 49, 173-206.
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S., Dean, L.A. (1954) *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate*. USDA Circular 939. US Government Printing Office, Washington, DC.
- Olsen, S.R., Sommers, L.E., (1982) Phosphorus. En: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (eds.) *Methods of Soil Analysis, Part 2 Agronomy Monograph 9*, 2nd. Ed. ASA and SSSA, 403-430.

10. Bibliografía

- Omay, A.B., Rice, C.W., Maddux, L.D., Gordon, W.B. (1997) Changes in soil microbial and chemical properties under long-term crop rotation and fertilization. *Soil Science Society of America Journal*, 61, 1672-1678.
- Pankhurst, C.E., Hawke, B.G., McDonald, H.J., Kirkby, C.A., Buckerfield, J.C., Michelsen, P., O'Brien, K.A., Doube, B.M. (1995) Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health. *Animal Production Science*, 35, 1015-1028.
- Pascual, J.A., Garcia, C., Hernandez, T., Ayuso, M. (1997) Changes in the microbial activity of an arid soil amended with urban organic wastes. *Biology and Fertility of soils*, 24, 429-434.
- Pascual, J.A., Hernandez, T., Garcia, C., Ayuso, M. (1998) Enzymatic activities in an arid soil amended with urban organic wastes: laboratory experiment. *Bioresource Technology*, 64, 131-138.
- 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. *Bioresource Technology*, 82, 73-78.
- Pastor, J., Gardner, R.H., Dale, V.H., Post, W.M. (1987) Successional changes in nitrogen availability as a potential factor contributing to spruce declines in boreal North America. *Canadian Journal of Forest Research*, 17, 1394-1400.
- Paterson, E., Gebbing, T., Abel, C., Sim, A., Telfer, G. (2007) Rhizodeposition shapes rhizosphere microbial community structure in organic soil. *New Phytologist*, 173, 600-610.
- Paul, E.A. (2014) *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. 4th ed. Academic press.
- Pedra, F., Polo, A., Ribeiro, A., Domingues, H. (2007) Effects of municipal solid waste compost and sewage sludge on mineralization of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 1375-1382.
- Perucci, P. (1990) Effect of the addition of municipal solid-waste compost on microbial biomass and enzyme activities in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 10, 221-226.
- Perucci, P. (1992) Enzyme activity and microbial biomass in a field soil amended with municipal refuses. *Biology and Fertility of Soils*, 14, 54-60.
- Phillips, L.A., Germida, J.J., Farrell, R.E., Greer, C.W. (2008) Hydrocarbon degradation potential and activity of endophytic bacteria associated with prairie plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 3054-3064.
- Piccolo, A. (2002) The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Advances in Agronomy*, 75, 57-134.
- Plaza, C., Hernández, D., Garcia-Gil, J.C., Polo, A. (2004) Microbial activity in pig slurry-amended soils under semiarid conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 1577-1585.
- Plaza, C., Nogales, R., Senesi, N., Benitez, E., Polo, A. (2008) Organic matter humification by vermicomposting of cattle manure alone and mixed with two-phase olive pomace. *Bioresource Technology*, 99, 5085-5089.
- Polacco, J.C. (1977) Nitrogen metabolism in soybean tissue culture II. Urea utilization and urease synthesis require Ni^{2+} . *Plant physiology*, 59, 827-830.

- Pomares, F. (2000) Fertilización. En: Maroto, J.V., Miguel, A., Baixauli, C. (coord.) *La lechuga y la escarola*. Fundación Caja Rural Valencia. Ediciones Mundiprensa, 105-123.
- Porta, J., López-Acevedo, M., Rodríguez, R. (1986) *Técnicas y experimentos en edafología*. Col·legi Oficial d'Enginyers Agrònoms de Catalunya.
- Porta, J., López-Acevedo, M., Roquero, C. (2003) *Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente*, Editorial Mundiprensa.
- Poulton, P.R., Johnston, A.E., White, R.P. (2013) Plant-available soil phosphorus. Part I: the response of winter wheat and spring barley to Olsen P on a silty clay loam. *Soil Use and Management*, 29, 4-11.
- Pritchett, K., Kennedy, A.C., Cogger, C.G. (2011) Management effects on soil quality in organic vegetable systems in western Washington. *Soil Science Society of America Journal*, 75, 605-615.
- Quilchano, C., Marañón, T. (2002) Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. *Biology and Fertility of Soils*, 35, 102-107.
- Rad, J.C., Navarro-González, M., González-Carcedo, S. (1995) Characterization of proteases extracted from a compost of municipal solid wastes. *Geomicrobiology Journal*, 13, 45-56.
- Rao, A.V., Tarafdar, J.C. (1992) Seasonal-Changes in available phosphorus and different enzyme-activities in arid soil. *Annals of Arid Zone*, 31, 185-189.
- Rees, R.M., Ball, B., Watson, C., Campbell, C. (2000) *Sustainable management of soil organic matter*. CABI Publishing, 440 pp.
- Reeves, D.W. (1997) The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil and Tillage Research*, 43, 131-167.
- Rennenberg, H., Dannenmann, M., Gessler, A., Kreuzwieser, J., Simon, J., Papen, H. (2009) Nitrogen balance in forest soils: nutritional limitation of plants under climate change stresses. *Plant Biology*, 11, 4-23.
- Rhoades, J.D. (1982) Cation Exchange Capacity. En: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (eds.) *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*, Agronomy no. 9, ASA – SSSA, 149-157.
- Robertson, G.P., Groffman, P.M. (2015) Nitrogen transformations. En: Paul, E.A. (ed.) *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. 4th ed. Academic Press, 421-446.
- Robertson, G.P., Vitousek, P.M. (2009) Nitrogen in agriculture: balancing the cost of an essential resource. *Annual Review of Environment and Resources*, 34, 97-125.
- Roca-Perez, L., Martínez, C., Marcilia, P., Boluda, R. (2009) Composting Rice straw with sewage sludge and compost effects on the soil-plant system. *Chemosphere*, 75, 781-787.
- Romero, E., Plaza, C., Senesi, N., Nogales, R., Polo, A. (2007) Humic acid-like fractions in raw and vermicomposted winery and distillery wastes. *Geoderma*, 139, 397-406.
- Roper, M.M., Gupta, V.V.S.R. (1995) Management-practices and soil biota. *Soil Research*, 33, 321-339.
- Ros, M., Hernández, M.T., García C. (2003) Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 463-469.

10. Bibliografía

- Ros, M., Klammer, S., Knapp, B., Aichberger, K., Insam, H. (2006a) Long-term effects of compost amendment of soil on functional and structural diversity and microbial activity. *Soil Use and Management*, 22, 209-218.
- Ros, M., Pascual, J.A., García, C., Hernández, M.T., Insam, H., (2006b) Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil alter long-term amendment with different composts. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 3443–3452.
- 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. *Applied Soil Ecology*, 43, 40-46.
- Rutigliano, F.A., D'Ascoli, R., De Santo, A.V. (2004) Soil microbial metabolism and nutrient status in a Mediterranean area as affected by plant cover. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 1719-1729.
- Saña, J., Moré, J.C., Cohí, A. (1996) *La gestión de la fertilidad de los suelos: fundamentos para la interpretación de los análisis de suelos y la recomendación de abonado*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- Sanauallah, M., Blagodatskaya, E., Chabbi, A., Rumpel, C., Kuzyakov, Y. (2011) Drought effects on microbial biomass and enzyme activities in the rhizosphere of grasses depend on plant community composition. *Applied Soil Ecology*, 48, 38-44.
- Sánchez-Marañón, M., Soriano, M., Delgado, G., Delgado, R. (2002) Soil quality in Mediterranean mountain environments. *Soil Science Society of America Journal*, 66, 948-958.
- Sardans, J., Peñuelas, J. (2005) Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 455-461.
- Sardans, J., Peñuelas, J. (2013) Plant-soil interactions in Mediterranean forest and shrublands: impacts of climatic change. *Plant and Soil*, 365, 1-33.
- Sardans, J., Peñuelas, J., Estiarte, M. (2008) Changes in soil enzymes related to C and N cycle and in soil C and N content under prolonged warming and drought in a Mediterranean shrubland. *Applied Soil Ecology*, 39, 223-235.
- Sastre, I., Lobo, M.C. (2003) Determinación de la actividad ureasa 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*. Ediciones Mundi-Prensa, 123-147.
- Sastre, I., Vicente, M.A., Lobo, M.C. (1996) Influence of the application of sewage sludges on soil microbial activity. *Bioresource Technology*, 57, 19-23.
- Saviozzi, A., Bufalino, P., Levi-Minzi, R., Riffaldi, R. (2002) Biochemical activities in a degraded soil restored by two amendments: a laboratory study. *Biology and Fertility of Soils*, 35, 96-101.
- Saviozzi, A., Levi-Minzi, R., Cardelli, R., Riffaldi, R. (2001) A comparison of soil quality in adjacent cultivated, forest and native grassland soils. *Plant and Soil*, 233, 251-259.
- Schmidt, M.W., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E. (2011) Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478, 49-56.

- Schnitzer, M. (1982) Organic matter characterization. En: Page, B.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, second ed., Agronomy Monograph No. 9. SSSA, 581–594.
- Schutter, M., Sandeno, J., Dick, R. (2001) Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems. *Biology and Fertility of Soils*, 34, 397-410.
- Senesi, N. (1989) Composted materials as organic fertilizers. *Science of the Total Environment*, 81, 521-542.
- Senesi, N., Loffredo, E. (1999) The chemistry of soil organic matter. *Soil Physical Chemistry*, 2, 239-370.
- Senesi, N., Miano, T.M., Brunetti, G. (1996) Humic-like substances in organic amendments and effects on native soil humic substances. En: Piccolo, A. (ed.), *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*. Elsevier, 531–593.
- Senesi, N., Plaza, C., Brunetti, G., Polo, A. (2007) A comparative survey of recent results on humic-like fractions in organic amendment and effects on native soil humic substances. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 1244–1262.
- Sequi, P., De Nobili, M., Leita, L., Cercignani, G. (1986) A new index of humification. *Agrochimica*, 30, 175-179.
- Simón, M., Garcia, I., Gil, C., Polo, A. (1994) Characteristics of the organic matter of Mediterranean high-mountain soils. *Geoderma*, 61, 119-131.
- Simpson, M., McLenaghan, R.D., Chirino-Valle, I., Condrón, L.M., 2012. Effects of long-term grassland management on the chemical nature and bioavailability of soil phosphorus. *Biology and Fertility of Soils*, 48, 607-611.
- Sinsabaugh, R.L., Antibus, R.K., Linkins, A.E. (1991) An enzymic approach to the analysis of microbial activity during plant litter decomposition. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 34, 43-54.
- Six, J., Elliott, E.T., Paustian, K. (1999) Aggregate and soil organic matter dynamics under conventional and no-tillage systems. *Soil Science Society of America Journal*, 63, 1350-1358.
- Skujins, J. (1978) History of abiotic soil enzyme research. *Soil Enzymes*, 3, 1-49.
- Smith, J.L. (1993) Cycling of nitrogen through microbial activity. En: Hatfield, J. (ed.), *Advances in Soil Science*, Springer-Verlag, 91-120.
- Smolander, A., Kitunen, V., (2002) Soil microbial activities and characteristics of dissolved organic C and N in relation to tree species. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 651–660.
- Soil Survey Staff (2014) *Keys to Soil Taxonomy*. United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, 12th edition.
- Sojka, R.E., Upchurch, D.R. (1999) Reservations regarding the soil quality concept. *Soil Science Society of America Journal*, 63, 1039-1054.
- Sparling, G.P. (1997) Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. En: Sparling, G.P., Pankhurst, C., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (eds.) *Biological indicators of soil health*, 97-119.
- Speir T.W., Ross D.J. (1978) Soil phosphatase and sulphatase. En: Burns R.G. (ed.) *Soil Enzymes*, Academic Press, 197-250.

10. Bibliografia

- Stevenson, F.J. (1994) *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. John Wiley & Sons.
- Stott, D.E., Andrews, S.S., Liebig, M.A., Wienhold, B.J., Karlen, D.L. (2010) Evaluation of β -glucosidase activity as a soil quality indicator for the soil management assessment framework. *Soil Science Society of America Journal*, 74, 107-119.
- Stutter, M.I., Shand, C.A., George, T.S., Blackwell, M.S., Dixon, L., Bol, R., MacKay, R.L., Richardson, A.E., Condron, L.M., Haygarth, P.M. (2015) Land use and soil factors affecting accumulation of phosphorus species in temperate soils. *Geoderma*, 257-258, 29-39.
- Tabatabai, M.A. (1977) Effects of trace elements on urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 9, 9-13.
- Tabatabai, M.A. (1982) Soil Enzymes. En Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (eds.), *Methods of Soil Analysis Part 2: Chemical and Microbiological Properties*. Agronomy no. 9, ASA – SSSA, 903-947.
- Tabatabai, M.A., Dick, W.A. (2002) Enzymes in soil. En: Burns, R.G., Dick, R.P. (eds.) *Enzymes in the environment: activity, ecology and applications*. Marcel Dekker, 567-596.
- Tao, R., Liang, Y., Wakelin, S.A., Chu, G. (2015) Supplementing chemical fertilizer with an organic component increases soil biological function and quality. *Applied Soil Ecology*, 96, 42-51.
- Tejada, M., Gonzalez, J.L. (2007) Influence of organic amendments on soil structure and soil loss under simulated rain. *Soil and Tillage Research*, 93, 197-205.
- Theng, B.K.G., Tate, K.R., Sollins, P., Moris, N. (1989) Constituents of organic matter in temperate and tropical soils. En: Coleman, D.C., Oades, J.M., Uehara, G. (eds.) *Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems* University of Hawaii Press, 5-32.
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S. (2002) Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418, 671-677.
- Tipping, E., Woof, C., Rigg, E., Harrison, A.F., Inneson, P., Taylor, K., Benham, D., Poskitt, J., Rowland, A.P., Bol, R., Harkness, D.D. (1999) Climatic influences on the leaching of dissolved organic matter from upland UK moorland soils, investigated by a field manipulation experiment. *Environment International*, 25, 83-95.
- Tisdall, J.M., Oades, J. (1982) Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science*, 33, 141-163.
- Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Gil-Sotres, F. (2008) Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2146-2155.
- Traversa, A., D'Orazio, V., Senesi, N. (2008) Properties of dissolved organic matter in forest soils: influence of different plant covering. *Forest Ecology and Management*, 256, 2018-2028.
- Traversa, A., Said-Pullicino, D., D'Orazio, V., Gigliotti, G., Senesi, N. (2011) Properties of humic acids in Mediterranean forest soils (Southern Italy): influence of different plant covering. *European Journal of Forest Research*, 130, 1045-1054.
- Treeder, K.K. (2008) Nitrogen additions and microbial biomass: A meta-analysis of ecosystem studies. *Ecology Letters*, 11, 1111-1120.

- Turco, R.F., Kennedy, A.C., Jawson, M. (1994) Microbial indicators of soil quality. En: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Stewart, B.A. (eds.) *Defining soil quality for a sustainable environment*, 73-90.
- Van Der Heijden, M.G., Bardgett, R.D., Van Straalen, N.M. (2008) The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11, 296-310.
- Vance, E.D. Brookes P.C., Jenkinson D., (1987) An extraction method for measuring microbial biomass carbon. *Soil Biology and Biochemistry*, 19, 703–707.
- Vinton, M.A., Burke, I.C. (1995) Interactions between individual plant species and soil nutrient status in shortgrass steppe. *Ecology*, 76, 1116-1133.
- Vong P.C., Dedourge O, Lasserre-Joulin, F., Guckert, A. (2003) Immobilized-S, microbial biomass-S and soil arylsulphatase activity in the rhizosphere soil of rape and barley as affected by labile substrate C and N additions. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 1651-1661.
- Wardle, D.A., Ghani, A. (1995) A critique of the microbial metabolic quotient (qCO_2) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. *Soil Biology and Biochemistry*, 27, 1601-1610.
- Weber, J., Karczewska, A., Drozd, J., Licznar, M., Licznar, S., Jamroz, E., Kocowicz, A. (2007) Agricultural and ecological aspects of a sandy soil as affected by the application of municipal solid waste composts. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 1294-1302.
- West, A.W., Ross, D.J., Cowling, J.C. (1986) Changes in microbial C, N, P and ATP contents, numbers and respiration on storage of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 18, 141-148.
- Wilke, B.M. (1991) Effect of single and successive additions of cadmium, nickel and zinc on carbon dioxide evolution and dehydrogenase activity in a sandy Luvisol. *Biology and Fertility of Soils*, 11, 34-37.
- Xiang, S.R., Doyle, A., Holden, P.A., Schimel, J.P. (2008) Drying and rewetting effects on C and N mineralization and microbial activity in surface and subsurface California grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2281-2289.
- Yang Z.X., Liu, S.Q., Zheng, D.W., Feng, S.D. (2006) Effects of cadmium, zinc and lead on soil enzyme activities. *Journal of Environmental Sciences*, 18, 1135-1141.
- Zantua, M.I., Bremner, J.M. (1975) Preservation of soil samples for assay of urease activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 7, 297-299.
- Zbytniewski, R., Buszewski, B. (2005) Characterization of natural organic matter (NOM) derived from sewage sludge compost. Part 1: chemical and spectroscopic properties. *Bioresource technology*, 96, 471-478.
- Zhang, X., Dong, W., Dai, X., Schaeffer, S., Yang, F., Radosevich, M., Xu, L., Liu, X., Sun, X. (2015) Responses of absolute and specific soil enzyme activities to long term additions of organic and mineral fertilizer. *Science of The Total Environment*, 536, 59-67.
- Zmora-Nahum, S., Markovitch, O., Tarchitzky, J., Chen, Y. (2005) Dissolved organic carbon (DOC) as a parameter of compost maturity. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 2109-2116.