

LA ACTIVIDAD MICROBIANA COMO INDICADOR DE CALIDAD DEL SUELO EN CULTIVOS DE CIRUELO ECOLOGICO

C Chocano, MT Hernández, *J Melgares de Aguilar, *D González, C García

CEBAS. CSIC. Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura. Apartado 164. 30100, Espinardo, Murcia, mthernan@cebas.csic.es, * Consejería de Agricultura y Agua. Plaza Juan XXIII s/n. 30.071 Murcia, fjavier.melgaresdaguilar@carm.es

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es el estudio, durante tres años, de la evolución de la calidad de un suelo, midiendo su actividad microbiana, con un cultivo de ciruelo ecológico ubicado en la Vega del río Segura, en Cieza (Murcia), sometido a distintas enmiendas orgánicas y comparándolo con otro cultivo colindante convencional de ciruelo; ambos de variedad Santa Rosa sobre pie Mariana GF 8-1.

Los tratamientos ensayados en estas campañas han sido seis: con periodicidad anual y bianual: aplicación de un compost comercial procedente de estiércol de oveja, siembra y siega de un abono verde compuesto de una mezcla de gramínea y leguminosa y aplicación de un biofertilizante (bacterias *Azospirillum brasilense* y *Pantoea dispersa*). Se ha tenido en cuenta además, un testigo sin aporte de fertilizantes cuyo manejo se ha limitado a la siega e incorporación de la cubierta vegetal autóctona y los restos de poda triturados, y una parcela convencional con fertirrigación mineral.

Las propiedades microbiológicas del suelo son indicadores muy sensibles pues responden rápidamente a cualquier cambio que se produzca; por eso se les consideran buenos parámetros para medir la calidad del suelo. Como indicadores del tamaño y la actividad de la población microbiana se han medido el carbono de biomasa microbiana y el ATP; y como reflejo de la potencialidad del suelo a realizar procesos bioquímicos específicos se han medido las actividades enzimáticas fosfatasa (relacionada con el ciclo del fósforo) y la ureasa (ciclo del nitrógeno).

Los parámetros medidos durante los años 2005, 2006 y 2007 nos dan una idea de la mayor actividad microbiana de los suelos con cultivo ecológico encontrando a veces diferencias significativas entre tratamientos anuales y bianuales. El tratamiento que más incrementa la actividad biológica edáfica es el compost, mientras que el ciclo de nitrógeno se favorece con el biofertilizante y el abonado en verde.

Palabras claves: aportes orgánicos bianuales, ciruela santa rosa ecológica, actividad biológica edáfica.

INTRODUCCIÓN

El nivel de degradación de un suelo, depende de un gran número de propiedades físicas, químicas, biológicas, microbiológicas y bioquímicas. No obstante, las más sensibles son las dos últimas puesto que responden de manera rápida ante cualquier cambio (Ros et al, 2002) y por ello son consideradas como las más adecuadas para evaluar los suelos. Además, un hecho a tener en cuenta es que el uso de un solo parámetro es insuficiente para obtener una medida representativa de la calidad del suelo debido a la variación espacial que estos ofrecen y se hace necesario el uso de varios de ellos (Nannipieri et al, 1980).

La biomasa microbiana ha sido considerada como un indicador de cambios en la materia orgánica del suelo por lo que resulta muy útil para estudiar la respuesta del

suelo con cultivo ecológico ante aportes orgánicos de distinta naturaleza. El contenido en Carbono de Biomasa Microbiana refleja el tamaño de la población microbiana total del suelo. Este índice ha sido frecuentemente estudiado porque responde de forma muy rápida y sensible a los cambios que se producen en el suelo y a la vez está influenciada por diversos factores tales como humedad, temperatura, luz, contenido en materia orgánica y tratamiento agrícola. Con respecto a otros parámetros microbiológicos de calidad, que nos dan información sobre el tamaño y actividad de la población microbiana, podemos citar el ATP que nos informa sobre que parte de la biomasa microbiana está activa

Desde un punto de vista estricto, dentro de la productividad del suelo es la biomasa microbiana la que controla gran parte de los procesos que involucran la transformación y ciclos de nutrientes, el mantenimiento de la materia orgánica lábil, así como la macroagregación que favorece la retención de agua y la aireación del suelo.

A nivel bioquímico, los parámetros que aportan información más sensible a cualquier cambio son las actividades enzimáticas, consideradas como un fiel reflejo de la potencialidad del suelo a realizar procesos bioquímicos específicos y entre las que podemos destacar las hidrolasas extracelulares relacionadas con los ciclos del nitrógeno (ureasa) y del fósforo (fosfatasa). (García et al., 2002).

Teniendo en cuenta las características de estos parámetros se planteó en el año 2005 el estudio de la evolución de la calidad del suelo y producción en un huerto de ciruelo ecológico sometido a distintos tratamientos orgánicos comparándolo con un cultivo de ciruelo convencional cercano. Actualmente el proyecto continúa con técnicos del CEBAS-CSIC y de la Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Lugar de muestreo y tratamientos

La experimentación se ha llevado a cabo en una finca situada en el término municipal de Cieza (Murcia) a orillas del río Segura, con cultivo ecológico (desde el año 2002) de ciruelo variedad Santa Rosa sobre pie Marianna GF8-1, con riego tradicional a manta, y marco de plantación 4X4 m; y en otra finca convencional con la misma variedad de ciruelo (árboles mucho menores) y cercana a la anterior que tiene riego por goteo.

En parcelas experimentales de 256 m² (16 árboles) se han establecido tres bloques con los siguientes tratamientos distribuidos al azar:

a) aporte anual de 32 kg/árbol de compost de oveja (34% de materia orgánica, 1,27% de nitrógeno, 1,5% de fósforo y 1,33% de potasio). Tratamiento: Compost anual

b) siembra anual de abono verde (60% avena, 40% de yeros) y dosis de siembra 120 kg/ha. Tratamiento Abono verde anual

c) aplicación anual, aproximadamente 40 días antes de la floración, de un biofertilizante comercial compuesto de una mezcla de *Azospirillum brasilense* y *Pantoea dispersa*, dosis de 0,75 kg/árbol. Tratamiento Biofertilizante anual

Testigo sin fertilización cuyo único manejo agrícola consiste en la incorporación al suelo, mediante siega, de la vegetación autóctona que se desarrolla en la parcela y los restos de poda triturados.

Tras el primer año de cultivo las parcelas con adición de compost, de biofertilizante y de abono verde se subdividieron en dos, aplicando a una de las subparcelas de nuevo enmienda (aporte anual) y dejando la otra sin abonar (aporte bianual). Tratamientos: Compost bianual; Abono verde bianual y Biofertilizante bianual.

La parcela de cultivo convencional de ciruelo se maneja con fertirrigación (abonado químico soluble vía gotero) y control químico fitosanitario y herbicida. Se han tomado muestras en las zonas del bulbo húmedo con tres repeticiones. Tratamiento convencional.

El terreno es fértil, de origen aluvial y textura franco arenosa gruesa. Algunas de las principales características físico-químicas de los lugares experimentales se muestran en la Figura 1.

Durante los tres años de ensayo se han realizado seis muestreos de suelo a una profundidad de 0-25 cm y en la zona radicular del árbol: en febrero 2005 y 2006 (después del aporte del compost, del biofertilizante y la siembra de abono verde), en abril 2005 (a mitad de campaña y recién segado el abono verde) y en julio 2005, 2006 y 2007 (después de la recolección). Cada muestra de suelo está formada por la mezcla de 8 submuestras tomadas en diferentes puntos de la parcela. Estas muestras de suelo se homogeneizaron cuidadosamente y se pasaron a través de un tamiz de 2 mm conservándose en cámara a 4 °C hasta su análisis.

Parámetros bioquímicos y microbiológicos analizados

Para determinar la calidad microbiológica del suelo se han tomado cuatro parámetros relacionados unos con el tamaño y la actividad microbiana: carbono biomasa microbiana y ATP y otros con las reacciones bioquímicas asociadas a los ciclos de nutrientes: las actividades enzimáticas ureasa y fosfatasa.

El carbono de Biomasa microbiana fue determinado por el método de fumigación-extracción (Vance et al., 1987, modificado por Widmer et al., 1989) usando un analizador automático (Shimadzu TOC5050A Total Organic Carbon Analyzer).

La determinación del ATP se realizó con el método de extracción de Webster et al. (1984) modificado por Ciardi y Nannipieri (1990) que utiliza como extractante una mezcla de EDTA y ácido fosfórico (extractante PA) y una posterior determinación del ATP mediante el test de bioluminiscencia basado en la actividad de la enzima luciferina-luciferasa en luminómetro (Optocom 1, MM Instruments, Inc.).

La actividad ureasa está basada en la determinación del amonio liberado después de la incubación del suelo con una disolución de urea a 37 °C durante 120 minutos (Nannipieri et al, 1980).

La actividad fosfatasa se mide mediante la adición a la muestra de un sustrato artificial (p-nitrofenil-fosfato) y posterior evaluación colorimétrica del p-nitrofenol liberado que, en medio básico, desarrolla un color amarillo (Tabatabai, 1994).

Todos los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico de la varianza de una vía (ANOVA), realizado con el programa informático Statgraph Plus y utilizándose el test LSD con un nivel de confianza del 95% para la diferenciación entre medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Desde hace algunos años, es claro el enorme interés y potencialidad del estudio de los diferentes índices de actividad biológica del suelo, especialmente los basados en las actividades enzimáticas por su relación con los ciclos de los nutrientes, en el contexto de la agricultura ecológica (Canet et al, 2000).

En la Figura 2 se muestran los valores recogidos durante los años 2005, 2006 y 2007 y en distintas épocas del año del carbono de la biomasa microbiana.

Aunque el carbono de la biomasa microbiana se encuentra influenciado por las condiciones externas (temperatura, humedad, luz...), se deduce de los valores

recogidos en la Figura 2 que los niveles en las parcelas convencionales son siempre significativamente menores que en las parcelas ecológicas, aunque a veces estas diferencias son poco apreciables con las parcelas testigo. En cuanto a las enmiendas orgánicas, los valores más altos de carbono de biomasa microbiana aparecen con los aportes anuales y bianuales de compost con diferencias significativas frente a la siembra de abono verde y el aporte de biofertilizante.

Estos resultados se corresponden con los ensayos realizados durante seis años mediante la adición de materia orgánica compostada para la recuperación de suelos degradados obteniéndose valores de carbono de biomasa microbiana muy por encima de la media (425 $\mu\text{g C/g}$ suelo) de suelos naturales mediterráneos, según García et al (2000). Igualmente Barahona (1995) encuentra que en la recuperación de un suelo mediante aportes orgánicos se producen cambios intensos en su biomasa microbiana ya que a los cinco años de iniciada la recuperación, la biomasa del suelo se multiplicó por 2,5.

De los datos de ATP recogidos en la Figura 3 se puede observar que los valores descienden en verano, como también afirma Bastida et al (2006) debido a que el ATP es reflejo de los microorganismos vivos que se encuentran activos en el suelo y se ven afectados por las condiciones de falta de humedad y altas temperaturas del verano. La excepción la tenemos en julio de 2007 que tuvo temperaturas más frescas de lo normal y algunas precipitaciones por lo que se consiguieron los valores más altos de todos los años muestreados.

Atendiendo a los tratamientos encontramos los mayores valores con los aportes de compost con diferencias significativas frente a las demás enmiendas. Los valores más bajos corresponden en todas las estaciones del año a las parcelas convencionales y las testigos.

En las Figuras 4 y 5 se analizan las actividades enzimáticas hidrolasas ureasa y fosfatasa. La ureasa es la enzima que cataliza la hidrólisis de la urea o sustratos tipo ureico para dar dióxido de carbono y amoníaco. Esta enzima inducida por la biomasa microbiana ha sido ampliamente estudiada en los últimos años por su relación con el ciclo del nitrógeno, ya que su síntesis puede producir grandes pérdidas de nitrógeno en forma de amoníaco, con el consiguiente efecto económico negativo.

Se observa que al principio del ensayo la ureasa mostraba valores muy bajos y un máximo en la parcela convencional, mientras que en los siguientes muestreos la actividad crece significativamente en todas las parcelas y sobre todo en las de biofertilizante y abono verde, con diferencias significativas con el compost, el testigo y la parcela convencional. Los valores más altos se dan con el aporte anual de biofertilizante. Esto puede tener su explicación en que esta enzima está relacionada con el ciclo del nitrógeno y tanto el biofertilizante, compuesto de bacterias del género *Azospirillum*, como el abono verde que contiene leguminosas asociadas a bacterias del género *Rhizobium*, poseen bacterias fijadoras de nitrógeno.

Esta tendencia persiste a lo largo de los años y en todas las estaciones hasta el último muestreo en el que los datos son más homogéneos aunque manteniéndose los valores más bajos en la parcela convencional.

La fosfatasa es una enzima que cataliza la transformación del fósforo orgánico en inorgánico asimilable por las plantas. Esta actividad está ampliamente analizada por multitud de autores como un índice de calidad biológica del suelo; Roccuzzo (1998) obtiene valores más altos de fosfatasa en parcelas ecológicas frente a las convencionales. Bastida (2006) observa una mayor actividad en parcelas naturales que en parcelas deforestadas sin cubierta vegetal y Albiach (1998) obtuvo resultados estadísticamente significativos a favor de una mayor actividad fosfatasa en cultivos abonados con tratamientos orgánicos ante fertilizaciones minerales.

De la Figura 5 podemos deducir que la fosfatasa es mayor con los aportes de compost, con diferencias significativas frente a las demás enmiendas y seguido del abono verde. En algunos casos los valores más altos se obtienen con el aporte bianual de compost y en otros casos la fertilización mineral de las parcelas convencionales da los valores más bajos de fosfatasa debido al aporte soluble de fósforo y al escaso nivel de materia orgánica y cubierta vegetal del cultivo.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los indicadores de calidad analizados basados en la actividad microbiana, y según los resultados obtenidos en este ensayo, podemos afirmar que el ciruelo cultivado con técnicas de agricultura ecológica proporciona un aumento en la calidad del suelo y por tanto en su fertilidad frente al cultivo convencional de ciruelo.

Entre los tratamientos realizados en el ciruelo ecológico, los aportes de compost son los que más activan la población microbiana del suelo considerada como un indicador de su calidad. En cuanto al tamaño y actividad biológica edáfica, representada por el carbono de biomasa microbiana y el ATP, ésta aparece siempre en menor medida en la parcela convencional y los valores más altos se obtienen con los aportes anuales y bianuales de compost que activan enormemente los microorganismos del suelo.

La enzima ureasa, relacionada con el ciclo del nitrógeno, presenta los mayores valores con los aportes de biofertilizante y el abono verde debido a presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno libres (*azospirillum* en el biofertilizante) y asociadas a las leguminosas (*rizobium* en el abono verde).

Con los aportes de compost se obtienen los mayores resultados de las actividad enzimática fosfatasa, siempre con diferencias significativas frente a la parcela convencional.

Los aportes bianuales de compost, biofertilizante comercial (*Azospirillum* + *Pantoea*) y abono verde se muestran como tratamientos muy efectivos por tener un menor coste de producto y de aplicación que los aportes anuales, por su positiva influencia en la calidad del suelo y porque en muchas ocasiones no representan diferencias significativas con las enmiendas anuales.

Hay que resaltar que las parcelas testigo del cultivo ecológico presentan una actividad microbiana significativamente superior que la parcela convencional que llevan su fertilización mineral vía riego, mientras que las parcelas testigo llevan seis años sin ningún tipo de fertilización. De aquí deducimos que el suelo manejado con cultivo ecológico mantiene su fertilidad natural y tiene un mayor equilibrio de nutrientes basado en su cubierta vegetal autóctona y en su reciclado de materia orgánica.

Sería necesario comprobar la evolución de estas parcelas en años sucesivos para corroborar las afirmaciones aquí expuestas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto de investigación "Propuesta de enmiendas orgánicas de suelos para cultivos ecológicos en climas semiáridos. Incidencia en la calidad del suelo y cosechas" del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura CEBAS-CSIC y de la Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia y financiado por la Fundación Séneca Exp 02964/PI/05. Los autores también desean agradecer a D. Felipe González Marín, dueño del cultivo de ciruelo ecológico, su amable ofrecimiento para realizar este proyecto en su finca.

BIBLIOGRAFÍA

- Albiach, R. A, Gomez. F, Pomares. R, Canet. 1998. Efecto del tipo de fertilización sobre la actividad biológica del suelo en reconversión a la agricultura ecológica. Actas del Congreso de la SEAE. Valencia
- Barahona, A. 1995. Influencia de los procesos de degradación de suelos del área mediterránea sobre su estado biológico. Universidad de Murcia. Facultad de Ciencias Químicas y Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CEBAS).
- Bastida, F. JL, Moreno. MT, Hernandez. C, Garcia. 2006. Microbiological activity in a soil 15 years after its devegetation. *Soil Biology and Biochemistry*. 38; 2503-2507
- Canet, R. R, Albiach. F, Pomares. 2000. Los índices de actividad biológica como herramienta de diagnóstico de la fertilidad del suelo en agricultura ecológica. Investigación y perspectivas de la enzimología de suelos en España. Edita C. Garcia y MT. Hernandez. ISBN 84-605-9821-7. Murcia: pag 11-39
- Garcia, C. T, Hernandez. J, Pascual. JL, Moreno. M, Ros. 2000. Actividad microbiana en suelos del Sureste español sometidos a procesos de degradación y desertificación. Estrategias para su rehabilitación. Investigación y Perspectivas de la Enzimología de suelos en España.
- García, C. T, Hernández. A, Roldán. A, Martín. 2002. Effect of plant cover decline on chemical microbiological parameters under Mediterranean climate. *Soil Biology and Biochemistry*. 34: 635-642.
- Nannipieri, P. B, Ceccanti. S, Ceverlli. E, Matarese. 1980. Extraction of phosphatase, urease, protease, organic carbon and nitrogen from soil. *Soil Science Society of America Journal*. 44: 1011-1016.
- Roccuzzo, G. F, Pomares. M, Estela. F, Tarazona. M, Sala. R, Albiach. T, Campos. C, Diego. V, Borrás. D, Yuste. 1998. Calidad del suelo en huertos de cítricos ecológicos. Actas Congreso SEAE. Valencia.
- Ros, M. T, Hernández. C, García. 2002. Bioremediation of Soil Degraded by Sewage Sludge: Effects on Soil Properties and Erosion Losses. *Environmental Management* 31: 741–747.

FIGURAS

Parcelas	pH	CE 1:5	Mat org	Corg total	N total	P2O5	K2O	Ca asim
experimen	1:2,5	µs/cm	%	%	%	mg/kg	meq/100g	meq/100g
Ecológico	8,2-8,8	170-470	1,3-2	0,77-1,1	0,12-0,19	50	0,65-1,10	11-13,2
Convenc	8,8	325	1,3	0,95	0,16	110	1	17

Figura 1. Características físico-químicas del suelo

Tratamiento	February 2005	April 2005	July 2005	February 2006	July 2006	July 2007
Carbono biomasa microbiana	(mg/kg)					
Testigo	1019,03 c	332,87 a	295,99 a	394,25 b	233,57 a	148,49 a
Biofertilizante anual	857,22 b	331,23 a	251,84 a	440,84 bcd	299,56 bc	454,75 bcd
Biofertilizante bianual	1059,76 c	332,67 a	342,60 ab	399,58 bc	324,95 cd	430,83 bcd
Compost anual	944,54 bc	497,55 cd	445,62 b	520,40 d	360,11 cd	361,31 bc
Compost bianual	987,04 bc	549,85 d	449,48 b	448,19 bcd	318,45 c	523,98 d
Abono verde anual	994,72 bc	421,20 bc	309,94 a	457,15 bcd	386,04 d	472,67 cd
Abono verde bianual	988,66 bc	413,30 bc	337,87 ab	490,44 cd	311,46 bc	384,49 bcd
Convencional	663,09 a	320,51 a	247,74 a	264,84 a	254,19 ab	290,19 ab

Figura 2. Valores de carbono biomasa microbiana en mg/kg

Tratamiento	February 2005	April 2005	July 2005	February 2006	July 2006	July 2007
ATP	(µg/g)					
Testigo	283,93 bc	155,40 a	88,01 a	506,30 ab	145,52 a	632,71 ab
Biofertilizante anual	406,50 d	140,35 a	131,31 ab	608,58 bc	171,07 a	602,96 ab
Biofertilizante bianual	256,43 b	124,95 a	207,09 bc	620,41 bc	112,24 a	685,10 b
Compost anual	635,53 f	360,87 c	297,12 d	696,49 c	386,93 b	808,01 b
Compost bianual	569,45 ef	322,05 c	258,53 cd	940,29 d	346,37 b	669,35 b
Abono verde anual	394,95 cd	141,80 a	169,33 b	838,13 d	146,19 a	712,35 b
Abono verde bianual	506,80 de	135,57 a	192,48 bc	846,95 d	163,50 a	629,79 ab
Convencional	83,24 a	216,66 b	197,96 bc	425,47 a	307,88 b	457,58 a

Figura 3. Valores de ATP en µg/g

Tratamiento	February 2005	April 2005	July 2005	February 2006	July 2006	July 2007
Ureasa	µmoles					
Testigo	0,72 cd	0,81 a	2,29 a	2,32 bc	2,86 b	3,00 ab
Biofertilizante anual	0,48 bc	2,69 d	2,75 d	2,76 d	3,42 bc	3,20 b
Biofertilizante bianual	0,23 ab	2,66 cd	2,66 cd	2,70 cd	3,22 bc	3,32 b
Compost anual	0,83 d	1,69 b	2,00 b	1,78 a	2,95 b	3,54 b
Compost bianual	0,32 ab	1,66 b	1,94 b	2,38 bcd	3,85 c	3,18 b
Abono verde anual	0,23 ab	2,27 c	2,14 c	2,34 bc	3,28 bc	4,01 b
Abono verde bianual	0,18 a	2,39 cd	2,37 cd	2,19 b	3,27 bc	3,90 b
Convencional	0,77 d	1,68 b	1,71 b	1,51 a	1,96 a	2,06 a

Figura 4. Valores de ureasa en µmoles

Tratamiento	February 2005	April 2005	July 2005	February 2006	July 2006	July 2007
Fosfatasa	µmoles					
Testigo	1,94 ab	1,32 a	1,72 a	3,37 bc	2,72 a	4,58 abc
Biofertilizante anual	2,03 ab	2,04 a	1,97 ab	3,33 bc	2,94 a	4,93 abc
Biofertilizante bianual	1,51 a	1,99 a	2,06 abc	3,13 b	2,77 a	4,68 abc
Compost anual	3,20 c	4,73 b	3,38 e	5,21 e	4,31 c	5,83 d
Compost bianual	3,04 bc	4,60 b	3,41 e	4,21 d	4,32 c	5,17 bcd
Abono verde anual	2,19 abc	1,88 a	2,20 bcd	3,56 c	3,72 b	5,36 cd
Abono verde bianual	2,17 abc	2,07 a	2,48 cd	4,00 d	3,21 ab	4,55 ab
Convencional	2,08 abc	1,58 a	2,64 d	2,19 a	3,10 a	4,23 a

Figura 5. Valores de fosfatasa en µmoles