

## **Efecto del estrés térmico e hídrico sobre las actividades deshidrogenasa y fosfomonoesterasa alcalina de suelos bajo cultivo ecológico y convencional**

M. RIBÓ, R. CANET, R. ALBIACH, F. POMARES

Dpto. de Recursos Naturales. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Aparato Oficial. 46113 Moncada (Valencia)

### **RESUMEN**

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en un estudio en el que se evaluó el efecto de la falta de agua y las elevadas temperaturas, sobre dos actividades enzimáticas del suelo como son la deshidrogenasa y la fosfomonoesterasa alcalina en parcelas de cultivo ecológico y convencional.

Se ha podido comprobar como los niveles de actividades enzimáticas fueron superiores en las parcelas ecológicas, aunque en ambos casos los efectos fueron similares. Se ha producido un claro efecto negativo del calor y de la desecación sobre la actividad deshidrogenasa. Sin embargo, la actividad fosfomonoesterasa ha dado unos resultados más variables y heterogéneos. No parece observarse una recuperación rápida de la actividad tras el cese de los estreses.

### **INTRODUCCIÓN**

Como la fertilización en agricultura ecológica se confía en buena parte a la descomposición de la materia orgánica y a la fijación biológica de los nutrientes, es de vital importancia que en estos sistemas de agricultura se realicen estudios que aborden el tema del conocimiento y la conservación de la actividad biológica del suelo.

Una de las herramientas que suele emplearse en el estudio de la actividad biológica del suelo es la determinación de distintas actividades enzimáticas, ya que en todos los procesos de formación y descomposición de materiales están implicados los enzimas.

Se suele considerar la medida de la actividad deshidrogenasa como un buen indicador del nivel de actividad biológica del suelo (SKUJINS, 1976), debido a que es un enzima asociado a la población microbiana activa. Por otro lado, las fosfatasa son representativas del nivel de actividad de los enzimas acumulados en la solución del suelo.

En el ámbito mediterráneo los suelos están sometidos a intensos procesos de degradación. Es por ello que se puede encontrar bastante bibliografía que estudia la evolución de las propiedades microbiológicas y bioquímicas en suelos de distinta índole: erosionados (GARCÍA y col., 1994),

incendiados (SAÁ y col., 1998), sometidos a labores agrícolas (ALBIACH, 1997; CANET y col., 2000), dedicados al pastoreo (SUANCES y col., 2000), agrícolas abandonados (CERDÁ y col., 1995, 1998), enmendados con residuos orgánicos (PERUCCI, 1992; ALBIACH, 1997; ROS, 2000), contaminados por metales pesados (LOBO y col., 2000), salinizados (GARCÍA y col., 2000), sometidos a actividades extractivas y restaurados con lodos de depuradora (BONMATÍ y col., 2000), etc.

Sin embargo, no se han encontrado tantos estudios que pongan de manifiesto la sensibilidad de la actividad biológica del suelo frente a las condiciones ambientales. En el clima Mediterráneo, los suelos agrícolas están frecuentemente expuestos a altas temperaturas y a períodos de sequedad bastante frecuentes, fundamentalmente en los meses de verano. Es por ello que se ha planteado la realización de una experiencia que pretende estudiar el efecto de los estreses térmico e hídrico sobre la actividad biológica del suelo, puesto que si efectivamente se demuestra que la exposición al calor y la falta de agua afecta negativamente a ésta, y este efecto se alarga en el tiempo, cabría recomendar una serie de prácticas agronómicas destinadas a evitar o reducir los efectos perjudiciales sobre la misma.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para el cumplimiento de los objetivos del trabajo, se han realizado dos ensayos de laboratorio con seis muestras de suelo procedentes de diferentes parcelas de hortícolas situadas en Alboraya, Liria y Paiporta, de similares características pero llevadas con dos tipos de manejo de cultivo: ecológico y convencional, para cada zona. Las características generales de las parcelas vienen representadas en la Tabla I.

Tabla I

Propiedades	Aboraya		Liria		Paiporta	
	Ecol.	Convenc.	Ecol.	Convenc.	Ecol.	Convenc.
Clasificación	Franco-arenosa		Franca		Franca	
Textural (USDA)	Franco-arenosa		Franca		Franca	
pH (extracto 1:2,5)	8,04	8,58	8,36	8,44	8,56	8,21
C.E. ( $\mu\text{S}/\text{m}$ ) (extracto 1:5)	220	144	229	204	236	294
Humedad (%)	14,41	5,41	15,21	14,3	16,21	14,94
C.C. (%)	51	40	48	46	51	60
C. org. oxidable (%)	2,8	0,89	1,97	1,41	2,46	1,63
Materia orgánica (%)	4,83	1,54	3,39	2,43	4,24	2,81

Se tomaron muestras de suelo con una profundidad de 0 a 15 cm, correspondiente a la capa arable, empleando las técnicas habituales de muestreo. A continuación se limpiaron y se tamizaron manualmente empleando una malla de 5 mm de diámetro.

El ensayo destinado a estudiar el efecto de la temperatura, se basó en someter a las muestras diariamente a un período de incubación en una estufa que consistía en la subida progresiva de la temperatura hasta alcanzar 60 °C y posteriormente una bajada gradual de la misma hasta llegar

de nuevo a la temperatura ambiente. A su vez, diariamente se corregía el contenido de humedad de las muestras hasta el 75 % de la capacidad de campo de los suelos.

Se prepararon cuatro repeticiones para cada muestra y cada tiempo de medición. La medida de las actividades enzimáticas se realizó cada dos semanas de exposición a estas subidas y bajadas diarias de temperatura, completándose un máximo de ocho semanas de exposición al calor. Así mismo, tras concluir esta incubación se dejaron las muestras en reposo a temperatura ambiente durante un período de dos semanas para evaluar la capacidad de recuperación de la actividad biológica una vez cesado el estrés de la temperatura.

El estudio del efecto de la desecación consistió en llevar las muestras al 100 % de su capacidad de campo, para dejarlas secar a continuación a temperatura ambiente. Cuando se observó que las muestras estaban totalmente secas se dio por finalizado el primer período de desecación y se procedió a la medida de las actividades enzimáticas, volviéndose a regar las restantes muestras, realizando un máximo de cuatro períodos de humectación-desecación. Como en el ensayo anterior, se prepararon cuatro repeticiones para cada muestra y cada período de desecación.

La actividad fosfomonoesterasa alcalina del suelo se determinó siguiendo el método descrito por Tabatabai y Bremner (1969), modificado por Eivazi y Tabatabai (1977) y la actividad deshidrogenasa por el descrito por Casida y col. (1964). En ambos casos se determinó la cantidad de producto liberado tras la incubación a 37 °C de muestras de suelo con un sustrato específico (2,3,5-trifeniltetrazolio y p-nitrofenil fosfato disódico, respectivamente) y períodos de incubación de 1 y 24 horas, para las actividades fosfomonoesterasa y deshidrogenasa, respectivamente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Figuras 1 y 2 se muestran los resultados obtenidos para las dos actividades enzimáticas tras el tratamiento con calor de las muestras. Como puede observarse, las desviaciones estándar de cada medida son bastante elevadas, debido a dificultades que han surgido derivadas del diseño experimental y de las metodologías empleadas como han sido el trabajar con muestras con un elevado contenido en humedad o la existencia de fluctuaciones de temperatura en el interior de la estufa de desecación que han ocasionado diversas fuentes de variabilidad.

En lo que respecta a las gráficas, en algunos casos se puede observar el vacío que ha dejado la falta de uno o dos puntos. Esto es debido a las dificultades analíticas que se han tenido y a la imposibilidad de repetir resultados erróneos como consecuencia de las características metodológicas de la experiencia y del carácter temporal e irreversible de estas medidas.

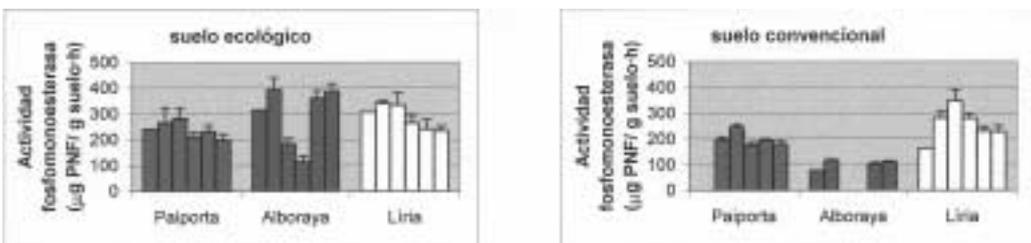
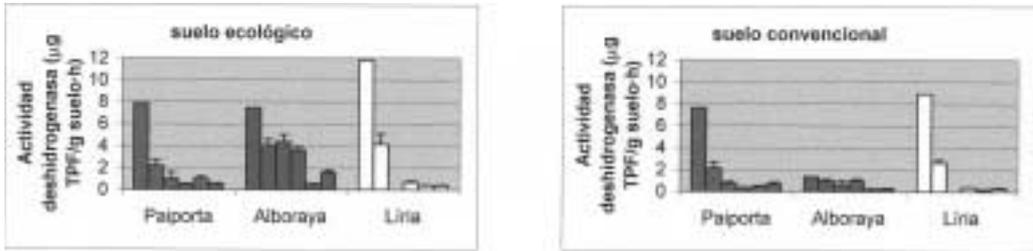


Figura 1



**Figura 2**

En primer lugar, cabe destacar que en todos los casos se observan niveles de actividad enzimática superiores en los suelos ecológicos que en los convencionales, por lo que los rangos de valores que se han obtenido durante el desarrollo de la experiencia fueron también más amplios para los suelos ecológicos.

En segundo lugar y con respecto al efecto del calor sobre la actividad fosfomonoesterasa parece evidente que en todos los suelos ha habido un incremento inicial de actividad. Esto podría deberse a la muerte y lisis celular producida por una exposición continuada al calor que conllevaría a la liberación de una serie de enzimas a la solución del suelo que serían los responsables de este aumento de actividad, ya que el aumento de actividad fosfomonoesterasa parece coincidir con un descenso acusado en la actividad deshidrogenasa. Tras este incremento inicial, de una duración variable según el suelo considerado, la actividad fosfomonoesterasa bajó. Esto podría deberse a que los procesos de muerte y lisis celular son menos importantes a estas alturas de la experiencia, por lo que no hay nuevos aportes enzimáticos al medio, y es cuando se empieza a manifestar la degradación de los enzimas que se encontraban en la solución del suelo como consecuencia de la exposición al calor o a la acción de las proteasas.

En lo que respecta al nivel de actividad deshidrogenasa, el efecto de la temperatura provoca un claro descenso. Estos resultados parecen indicar que el calor afecta de forma muy acusada a la población de microorganismos activos, provocando la muerte e inactivación de las células vivas, ya que en todos los casos se produce una bajada desde el nivel de actividad inicial a valores prácticamente nulos al final del tratamiento.

No parece que el cese de la aplicación de calor haya permitido una recuperación rápida de los niveles iniciales de actividad enzimática, ya que en algunos casos se produjo un ligero incremento, pero en otros el nivel de actividad se mantuvo estable.

En las Figuras 3 y 4 se muestran los resultados del efecto de la desecación sobre las dos actividades enzimáticas estudiadas. Al igual que ocurre en el ensayo anterior, el comportamiento de la actividad fosfomonoesterasa es bastante más heterogéneo, fundamentalmente en los suelos ecológicos, donde es prácticamente imposible extraer una tendencia común de comportamiento. Sin embargo, en los suelos convencionales sí que parece observarse un aumento inicial que puede estar causado al igual que en el ensayo anterior, por la lisis celular que se genera como consecuencia de la falta de agua producida en el suelo cuando se humedece y posteriormente se deja secar. A su vez se podrían explicar los descensos de actividad fosfomonoesterasa que se observan posteriormente como resultado de la exposición a las proteasas y como consecuencia de la expansión-contracción de la materia orgánica, que podría provocar dos efectos sobre los en-

zimas: la desnaturalización de estos por pérdida de su estructura tridimensional y la reducción de las posibilidades del sustrato para llegar a su centro activo.

Sin embargo, la actividad deshidrogenasa tiene un comportamiento más constante. En ambos manejos se observan caídas fuertes de actividad como consecuencia de la humectación y posterior desecación que sufren los suelos, que provocan la muerte o el descenso de actividad de la población de microorganismos activos, manifestándose con esta caída de valores de la actividad deshidrogenasa.

Cabría matizar el comportamiento especial que tienen las actividades enzimáticas en el caso de Alboraya en suelo ecológico. Parece que tanto el calor como la desecación les afectan, pero no de una forma tan inmediata y tan rotunda como en el resto de suelos. Esto podría explicarse con el hecho de que el suelo ecológico de Alboraya posee un contenido en materia orgánica bastante elevado (alrededor de un 5%), que provocaría que de alguna manera la población microbiana estuviera más protegida, proporcionándole cierta resistencia ante la exposición a estos dos estreses.

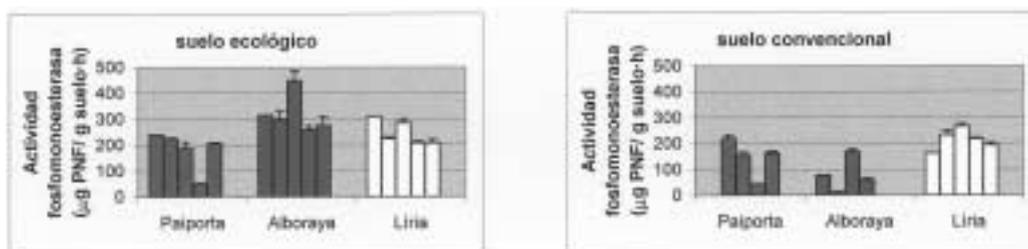


Figura 3

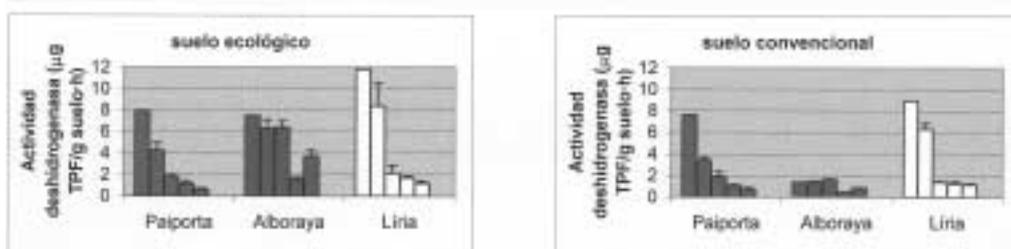


Figura 4

## CONCLUSIONES

A tenor de los resultados obtenidos, podrían extraerse una serie de conclusiones para finalizar este trabajo. Se ha constatado que tanto el efecto de las elevadas temperaturas como el de la falta de agua provocan la inactivación y la muerte de las células vivas, afectando claramente a la actividad deshidrogenasa por tratarse de una actividad asociada a la población microbiana activa. Sin embargo, la actividad fosfomonoesterasa ha dado unos resultados más variables y hete-

rogéneos que dificultan el establecimiento de una tendencia general como respuesta a los dos efectos estudiados.

En vistas a que parece existir una potencialidad real del tema estudiado, sería necesario continuar con esta línea de investigación, planteando nuevas experiencias a mayor escala y en condiciones de campo.

Se podrían desprender de este trabajo una serie de recomendaciones desde el punto de vista agronómico. Dada la peligrosidad de que la falta de agua o la acción del calor afecten tanto a los microorganismos como a los enzimas del suelo, se podrían recomendar una serie de prácticas agrícolas como el riego más frecuente y con dosis de agua más bajas, o el acolchado, para minimizar el efecto nocivo de estos dos estreses sobre la actividad biológica del suelo.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer encarecidamente a Vicente Martí y a Jesús Sanchís su colaboración para obtener las muestras de suelo en parcelas ecológicas.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALBIACH, R. (1997). Estudio de varios índices de actividad biológica del suelo en relación a diferentes aportaciones de enmiendas orgánicas. Universitat de Valencia, 194 pp. Tesis Doctoral.
- BONMATÍ, M., JIMÉNEZ, P., ÁLVAREZ, H., CALERO, E., JULIÁ, M., MORILLO, M.; NÚÑEZ, E. (2000). Evolución de actividades enzimáticas en el proceso restaurador de dos suelos procedentes de canteras calcáreas de Cataluña utilizando altas dosis de lodos de depuradora. En: *Investigación y perspectivas de la Enzimología de suelos de España* (García, C.; Hernández, M.T., eds.). Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Edafología Aplicada del Segura, Murcia: 209-293.
- 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: *Investigación y perspectivas de la Enzimología de suelos de España* (García, C.; Hernández, M.T., eds.). Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Edafología Aplicada del Segura, Murcia: 11-39.
- CASIDA, L.E., KLEIN, D.A.; SANTORO, T. (1964). Soil dehydrogenase activity. *Soi Sci.*, **98**: 371-376.1
- CERDÁ, A., GARCÍA-ÁLVAREZ, A., CAMMERAAT, L.H.; IMESON, A.C. (1995). Fluctuación estacional y dinámica microbiana en una catena afectada por el cultivo en la cuenca del Guadalentín. *Pirineos*, 145-146: 3-11.
- CERDÁ, A., GARCÍA-ÁLVAREZ, A., Y IMESON, A.C. (1998). Microbial activity and hydrological characteristics of soils along a catena in a semiarid environment in southeast Spain. Implications for land degradation. En: *The soil as a strategic resource: degradation processes and conservation measures*. (Rodríguez Rodríguez, A., Jiménez Mendoza, C.C., Tejedor Salguero, M.L., eds.) Geoforma Ediciones, Logroño, 33-48.
- EIVAZI, F.; TABATABAI, M.A. (1977). Phosphatases in soils. *Soil Biol. Biochem.*, **9**: 167-172.
- GARCÍA, C., HERNÁNDEZ, M.T.; COSTA, F. (1994). Microbial activity in soils under mediterranean conditions. *Soil Biol. Biochem.*, **26** (9): 1185-1191.
- GARCÍA, C., HERNÁNDEZ, M.T., PASCUAL, J., MORENO, J.L.; ROS, M. (2000). Actividad microbiana en suelos del sureste español sometidos a procesos de degradación y desertificación. Estrategias para su rehabilitación. En: *Investigación y perspectivas de la Enzimología de suelos de España* (García, C.; Hernández, M.T., eds.). Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Edafología Aplicada del Segura, Murcia: 43-143.
- LOBO, M.C., SASTRE, I.; VICENTE, M.A. (2000). Las enzimas como medida del impacto ambiental en los suelos. En: *Investigación y perspectivas de la Enzimología de suelos de España* (García, C.; Hernández, M.T., eds.). Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Edafología Aplicada del Segura, Murcia: 297-352.
- PERUCCI, P. (1992). Enzyme activity and microbial biomass in a field soil amended with municipal refuse. *Biol. Fertil. Soil.*, **14**: 54-60.

- ROS, M. (2000). Recuperación de suelos agrícolas abandonados mediante el reciclaje en los mismos residuos orgánicos de origen urbano. Universidad de Murcia, CEBAS-CSIC, Murcia, 269 pp. Tesis Doctoral.
- SAÁ, A., TRASAR-CEPEDA, C.; CARBALLÁS, T. (1998). Soil P status and phosphomonoesterase activity of recently burnt and unburnt soil following laboratory incubation. *Soil Biol. Biochem.*, **30** (3): 419-428.
- SKUJINS, J. (1967). Extracellular enzymes in soil. *CRC Crit. Rev. Microbiol.*, **4**: 383-421.
- SUANCES, L., PÉREZ-SARMENTERO, J.; MOLINA, A. (2000). Actividad enzimática de esterasas, fosfatasas y B-galactosidasas en suelos de tres fincas de pastos permanentes con diferente altitud. En: *Una alternativa para el mundo rural del Tercer Milenio. Actas del III Congreso de Agricultura Ecológica*, SEAE, Valencia. 223-230.
- TABATABAI, M.A.; BREMNER, J.M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.*, **1**: 301-307.