



IX Congresso Ibérico das Ciências do Solo

**“O solo, recurso estratégico
para uma sociedade sustentável”**

22 a 24 de junho de 2022

Oeiras - Lisboa

Comunicações

Ficha Técnica

Edição

Sociedade Portuguesa da Ciência do Solo

Título

Comunicações do IX Congresso Ibérico das Ciências do Solo
O solo, recurso estratégico para uma sociedade sustentável

Capa e paginação

Rui Tomás Monteiro

©

Comissão Organizadora

Adélia Varela (INIAV); Ana Marta Paz (SPCS, INIAV); Carlos Alexandre (SPCS, UÉvora); Clara Pinto (INIAV); Erika Santos (ISA - ULisboa); Jorge Mataix Solera (SECS, UMH); Jorge Nunes (ISA - ULisboa); Maria do Carmo Horta (SPCS, IPCastelo Branco); Maria Madalena Fonseca (ISA - ULisboa); Nádia Castanheira (INIAV); Nuno Cortez (SPCS, ISA - ULisboa); Paula Alvarenga (SPCS, ISA - ULisboa)

Comissão Científica

Amaia Nogales (ISA- ULisboa); Ana Marta Paz (INIAV); Carlos Alexandre (UÉvora); David Badía Villas (SECS - UZaragoza); David Fangueiro (ISA - ULisboa); Engracia Madejón Rodríguez (SECS, IRNAS-CSIC, Sevilla); Erika Santos (ISA - ULisboa); Ernesto Vasconcelos (ISA - ULisboa); Gael Bárcenas Moreno (SECS, USevilla); Gonçalo Rodrigues (ISA - ULisboa); Henrique Ribeiro (ISA - ULisboa); Irene Ortiz Bernad (SECS, UGranada); Isabel Maria Oliveira Brito (UÉvora); João Coutinho Mendes (UTAD); Jorge Mataix-Solera (SECS, UMiguel Hernández); Jorge Pinheiro (UAçores); José Alexandre Andrade (UÉvora); José Casimiro Martins (INIAV); José Manuel Rato Nunes (IP Portalegre); Manuel Jordán Vidal (UMiguel Hernández); Manuel Madeira (ISA - ULisboa); Maria da Conceição Gonçalves (INIAV); Maria do Carmo Horta (IP Castelo Branco); Maria Madalena Fonseca (ISA - ULisboa); Maria Manuela Abreu (ISA - ULisboa); Miguel Brito (IP Viana do Castelo); Minerva García-Carmona (UMiguel Hernández); Nuno Cortez (ISA - ULisboa); Oriol Ortiz Perpiñá (SECS, UZaragoza); Paula Alvarenga (ISA - ULisboa); Ruth Pereira (UPorto); Sara Ibáñez Asensio (SECS, UPValència); Selma B. Pena (ISA - ULisboa); Tiago Ramos (MARE-TEC, IST - ULisboa); Tomás Figueiredo (IP Bragança)



IX Congresso Ibérico das Ciências do Solo (CICS 2022)

Programa

Dia 1	22-jun	DESCRÍÇÃO
08:15	09:15	Receção dos participantes (átrio do Auditório Principal INIAV)
AUDITÓRIO PRINCIPAL		
09:15	09:45	SESSÃO DE ABERTURA
SESSÃO PLENÁRIA		
Moderadores: Ana Marta Paz & Nuno Cortez		
09:45	10:15	A Missão Solo no Horizonte Europa: o desafio de construir soluções integrando a ciência e a prática Teresa Pinto Correia (EU Mission on Soils; MED, U. Évora)
10:15	10:45	Agricultura: diferentes situaciones, diferentes enfoques Rocio Millán (CIEMAT - Madrid)
10:45	11:00	Discussão
11:00	11:30	<i>Coffee break</i> (átrio do Auditório Principal)
AUDITÓRIO PRINCIPAL (sessão paralela 1)		
TEMAS: T1 - Aprofundar o conhecimento dos solos / Profundizar en el conocimiento de los suelos		
Moderadores: Madalena Fonseca & David Badía-Villas		
11:30	11:40	Soil diversity and soil properties limiting agricultural use in semi-arid landscapes of Israel. Dafna Casaretto
11:40	11:50	Estudio de las comunidades microbianas de suelos agrícolas orgánicos y convencionales lusitanos mediante análisis de ácidos grasos fosfolípidos Diego Soto Gómez
11:50	12:00	Seguimiento de la salinidad en suelos de marisma recuperada con tomografía de inducción electromagnética e imágenes de NDVI José Luis Gómez Flores
12:00	12:10	Estudio de la influencia del uso del suelo en las relaciones entre variables físico-químicas a través de análisis de redes Juan Pedro Martín Sanz
12:10	12:20	Índices de vegetación y variables climáticas para la evaluación de los servicios ecosistémicos como modelo para la gestión de espacios naturales protegidos María González Morales
12:20	12:30	Evaluación de la salinidad del suelo con la conductividad eléctrica y el NDVI en el sector B-XII, Lebrija (Sevilla) Mario Ramos Rodríguez
12:30	13:00	Discussão



AUDITÓRIO CAP (sessão paralela 2)

TEMAS: T2 - Fertilidade do solo e nutrição das plantas / Fertilidad del suelo y nutrición de las plantas
Moderadores: Raquel Mano & María Asunción Usón Murillo

11:30	11:40	Soil adequation with organo-mineral substrates designed from wastes for Blueberry Adrián González Guzmán
11:40	11:50	Comparação entre fertilização mineral e orgânica na cultura do milho forrageiro: impacto na produção, carbono total e nutrientes NPK do solo Carlos Pacheco
11:50	12:00	Soil characteristics under the influence of cashew trees in East-Timor Lara Maria Aquino Guterres
12:00	12:10	Efectos de la aplicación de fertilizantes orgánico-minerales en un cultivo de cebada del SO Bonaerense (Argentina) Luciano Orden
12:10	12:20	Compostagem de resíduos provenientes da cultura de kiwi Luís Miguel Brito
12:20	12:30	Aplicação de composto e rega por aspersão diminuem o risco de acumulação de As e Cd em arroz Paula Alvarenga
12:30	13:00	Discussão
13:00	14:15	Almoço (átrio do Auditório Principal)

AUDITÓRIO PRINCIPAL (sessão paralela 3)

TEMAS: T1 - Aprofundar o conhecimento dos solos / Profundizar en el conocimiento de los suelos (Cont.) & Fertilidade do solo e nutrição das plantas / T2 - Fertilidad del suelo y nutrición de las plantas (Cont.) & T5 - Solos e temas societais / Suelos y cuestiones sociales
Moderadores: Luis Miguel Brito & Manuel Arias Estévez

14:15	14:25	(T1) Evaluación de las condiciones de quema controlada que influyen en atributos biológicos y físicos de suelos bajo <i>Echinospartum horridum</i> Marta Escuer Arregui
14:25	14:35	(T1) Application of electromagnetic induction and inversion modelling for 3D mapping of soil texture Mohammad Farzamian
14:35	14:45	(T1) Características Edáficas das Áreas de Olival do Nordeste de Portugal: abordagem baseada em cartografia de solos e ocupação do solo Reneclide Viana dos Santos
14:45	14:55	(T2) Caracterização das dinâmicas físico-químicas e da fertilidade de solos de mangal da Guiné-Bissau em diferentes condições agroecológicas subjacentes ao cultivo do arroz Matilda Merkohasanaj
14:55	15:05	(T2) Qualidade da matéria orgânica e perda de fitotoxicidade em estagios progressivos da compostagem de bagaço de azeitona Zulimar Hernandez
15:05	15:15	(T5) O conhecimento e a gestão sustentável dos solos agrícolas em Portugal: barreiras e oportunidades Nádia Castanheira
15:15	15:45	Discussão



AUDITÓRIO CAP (sessão paralela 4)

TEMAS:	T3 - Sistemas de uso da terra e gestão sustentável do solo / Sistemas de uso y gestión sostenible del suelo
	Moderadores: Maria Manuela Abreu & José María de la Rosa
14:15	14:25 Using a Portuguese regosol to derive soil reference values for arsenic Abdulraheem Okehi Anumah
14:25	14:35 Avaliação agronómica e ecotoxicológica de solos do Alentejo em parcelas regadas de girassol Adriana Catarino
14:35	14:45 Efeito de condicionadores à base de bagaço de azeitona na estabilidade da agregação do solo: resultados preliminares de ensaio à micro-escala Ana Caroline Royer
14:45	14:55 The fate of exogenous organic matter on Mediterranean calcareous soil Ana Simões da Mota
15:55	16:05 SOC stock in woody crops in Madrid Region depends on the soil conservation management Blanca Esther Sastre Rodríguez
16:05	16:15 Removal of lanthanum and neodymium from soils applying the electrokinetic process Carolina Pires
16:15	16:45 Discussão
15:45	16:30 Sessão de <i>posters</i> e <i>coffee break</i> (salas de Posters)

AUDITÓRIO PRINCIPAL (sessão paralela 5)

TEMAS:	T4 - Solos e temas ambientais / Problemas ambientales y de suelos
	Moderadores: João Ricardo Sousa & Ana María Moliner
16:30	16:40 How does climate change affects soil salinity? The case study of a Mediterranean pasture with saline groundwater Ana Paz
16:40	16:50 Estrategia de cierre con Tecnosoles para la recuperación ambiental de la Mina de São Domingos Diego Arán
16:50	17:00 Rehabilitation of sulfide tailings through designed Technosol and microbial-inoculant Erika Santos
17:00	17:10 El nivel de agua modula la respuesta microbiológica del suelo al ozono troposférico elevado en trigo Javier González Canales
17:10	17:20 Agricultura de Conservación: Impacto en la Disipación de Herbicidas Jesús Mª Marín-Benito
17:20	17:30 Soluciones basadas en la naturaleza para la recuperación de suelos en Vitoria-Gasteiz (España). El caso del proyecto Phy2Sudeo Juan Vilela Lozano
17:30	18:00 Discussão



AUDITÓRIO CAP (sessão paralela 6)

TEMAS:	T3 - Sistemas de uso da terra e gestão sustentável do solo / Sistemas de uso y gestión sostenible del suelo (Cont.)
Moderadores:	José Manuel Rato Nunes & Diego Soto Gómez
16:30	16:40 Impacto sobre el calentamiento global en la aplicación de compost de “alperujo” en los diferentes manejos del cultivo de arroz aeróbico Damián Fernández Rodríguez
16:40	16:50 Impacto do fogo controlado na estabilidade da agregação do solo em áreas de matos do Parque Natural de Montesinho, NE Portugal Israel do Nascimento Santos
16:50	17:00 Caracterização ecotoxicológica de um substrato orgânico em fim de vida Joana Serrão
17:00	17:10 Field mobility of bispyribac-sodium herbicide under different rice crop management systems José Manuel Rato Nunes
17:10	17:20 Efectos de la aplicación de biochar de alperujo como enmienda en suelos de olivar superintensivo José María de la Rosa
17:20	17:30 Impacto del laboreo y la introducción del cultivo de leguminosas sobre la comunidad microbiana vinculada a las etapas del carbono y nitrógeno del suelo en un sistema de rotación bianual de cereales Mariela Navas Vásquez
17:30	18:00 Discussão

18:30 20:00 *Welcome drink – Adega do Palácio Marquês de Pombal (Oeiras)*

Dia 2: 23-jun		DESCRIÇÃO
08:15	17:00	Visita Técnico-Científica à Companhia das Lezírias (Benavente)
20:00	22:00	Jantar do Congresso CICS2022* – Pavilhão de Exposições do Instituto Superior de Agronomia (Lisboa)

*Previsto transporte ida e volta, em autocarro, INIAV (Oeiras) - ISA (Lisboa)

Dia 3: 24-jun		DESCRIÇÃO
AUDITÓRIO PRINCIPAL (sessão paralela 7)		
TEMAS:		T4 - Solos e temas ambientais / Problemas ambientales y de suelos (Cont.)
Moderadores:		Maria da Conceição Gonçalves & Esperanza Álvarez Rodríguez
09:00	9:10	Erosão do solo em áreas de matos de montanha: efecto do fogo controlado Leonardo Kipper Alves
09:10	9:20	Estepas salinas mediterráneas de interior en Alentejo y Extremadura: Medio ambiente, amenazas y conservación Luis Francisco Fernández Pozo
09:20	9:30	FTIR-ATR spectra as fingerprints of forest floor composition Marina Getino Álvarez
09:30	9:40	Validação da RUSLE em solos com uso de produção pecuária ao ar livre Natália Roque



09:40	9:50	Marcadores moleculares subrogados a la repelencia al agua en suelos afectados por el fuego Nicasio T. Jiménez-Morillo
09:50	10:00	InfiAsper: a rainfall simulator with varying precipitation intensity to assess soil erosion Wilk Sampaio de Almeida
10:00	10:30	Discussão

AUDITÓRIO CAP (sessão paralela 8)

TEMAS:	T3 - Sistemas de uso da terra e gestão sustentável do solo / Sistemas de uso y gestión sostenible del suelo (Cont.) & T4 - Solos e temas ambientais / Problemas ambientales y de suelos
	Moderadores: Tomás de Figueiredo & Erika Santos
09:00	09:10 (T3) Efecto del método de terminación del cultivo cubierta en parámetros microbiológicos del suelo bajo dos niveles de riego Nelly Soledad Centurión Giménez
09:10	09:20 (T3) Characterization of soil phosphorus in different land use over calcareous soils by chemical extraction methods and 31P-NMR spectroscopy Ruth C. Martín Sanz
09:20	09:30 (T3) Métodos de Mapeamento Digital do Solo para monitorização de parâmetros edáficos (Sentinel-2 e VANT) de suporte à conservação do solo e gestão hídrica em parcelas de vinha Tânia Rodrigues
09:30	09:40 (T4) Fire effects on soil quality in <i>Quercus suber</i> forests: a long-term assessment Yacin Benhalima
09:40	09:50 (T4) Avaliação do balanço de água e de sais no solo em três culturas permanentes do perímetro de rega do Roxo Tomás Monteiro
09:50	10:20 Discussão
10:30	11:15 Sessão de Posters e <i>Coffee break</i> (salas de Posters)

AUDITÓRIO PRINCIPAL

SESSÃO PLENÁRIA
Moderadores: Carmo Horta & Paula Alvarenga
11:15 11:45 La fragilidad del suelo quemado Jorge Mataix Solera (U. Miguel Hernández e SECS)
11:45 12:15 A nova Estratégia da UE de proteção do solo para 2030 Humberto D. Rosa (Diretor para a Biodiversidade, DGA, CE)
12:15 12:30 Discussão
12:30 13:00 SESSÃO DE ENCERRAMENTO
13:00 14:30 Almoço (átrio do Auditório Principal)



AUDITÓRIO PRINCIPAL

- 15:00 16:00 SPCS: Assembleia geral ordinária
16:00 16:30 SPCS: Assembleia geral eletiva
-



Lista de Posters

Dia 22/06/2022

SESSÃO 1 – Sala 1

Tema 1 (T1) - Aprofundar o conhecimento dos solos / Profundizar en el conocimiento de los suelos

Sala	Nº	Tema	Título	Apresentado por
1	P1	T1	Aplicación de distintas formas de materia orgánica en un cultivo de pimiento desarrollado en suelo	Manuel Tejada Moral
1	P2	T1	Actividades de la Sección de Enseñanza del Suelo y Concienciación Ciudadana de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo (SECS: 2020-2022)	Maria Desamparados Soriano Soto
1	P3	T1	Evolución del horizonte argílico en una secuencia de suelos sobre materiales calizos en la zona de Alzira (Valencia)	Maria Desamparados Soriano Soto
1	P4	T1	Adsorción/desorción de tetraciclina y sulfadiazina incorporadas conjuntamente a suelos de cultivo de Galicia (NW Spain)	Esperanza Álvarez Rodríguez
1	P5	T1	Adsorción y desorción de Cu y As(V) en distintos suelos y bioadsorbentes	María J. Fernández Sanjurjo
1	P6	T1	Retención de azitromicina en diferentes suelos de Galicia	Raquel Cela Dablanca
1	P7	T1	Discriminação espacial e temporal de atributos do solo através de análise estatística multivariada: Um caso de estudo em culturas anuais regadas no Sul de Portugal	Alexandra Tomaz
1	P8	T1	O uso da biomassa foliar de eucalipto como biocida: efeitos nas propriedades do solo	Tiago Teixeira
1	P9	T1	Comparación del microbioma de suelos calcáreos y yesosos en parcelas de secano bajo clima Mediterráneo.	María José Sierra
1	P10	T1	Los suelos de brezales húmedos atlánticos de Erica mackayana del N de Galicia	Xabier Pontevedra Pombal
1	P11	T1	Diversidad edáfica en viñedos de Montesa y Torresalas (DOP Somontano, NE-España)	David Badía-Villas
1	P12	T1	Cuantificación del sistema radicular de cultivos en sistema de riego por aspersión intensivo	Asunción Usón Murillo
1	P13	T1	Cartografía digital de propiedades edáficas superficiales en las zonas agrícolas de El Órbigo y La Cepeda (León, NW España)	Sara Alcalde-Aparicio
1	P14	T1	Mineralogía de la tierra fina y las arcillas en una secuencia de paleosuelos en la isla de Mallorca	Antonio Forss
1	P15	T1	The Iberian Montado/Dehesa in face of climate change: Soil effects (bulk density and hydraulic conductivity)	Rui Bajouco
1	P16	T1	Diversidade de artrópodes bioindicadores em dois sistemas culturais do Ribatejo Monocultura/sucessão cultural	Elsa Valério
1	P17	T1	Processamento de dados de temperatura do solo para simulações computacionais de um agro-ecossistema	Catarina Paz



Dia 22/06/2022

SESSÃO 1 – Sala 2

Tema 2 (T2) - Fertilidade do solo e nutrição das plantas / Fertilidad del suelo y nutrición de las plantas

Sala	Nº	Tema	Título	Apresentado por
2	P1	T2	Development of a liquid N fertilizer from an agro-industrial effluent	Carmo Horta
2	P2	T2	Efecto de distintas formas de materia orgánica en plántulas de tomate en invernadero	Manuel Tejada Moral
2	P3	T2	Evaluación de nuevos biofertilizantes pelletizados en trigo: ensayo en macetas.	Luciano Orden
2	P4	T2	Obtención de un bioestimulante agronómico/ambiental mediante hidrólisis enzimática de okara	Jose María Orts Gómez
2	P5	T2	Ryegrass forage production and apparent N and P recovery in a soil amended with olive mill waste compost and mycorrhizal fungi	Abel Veloso
2	P6	T2	BioComp_2.0 - Produção de compostos orgânicos biológicos para o controlo do jacinto de água e para a valorização de subprodutos agropecuários, florestais e agroindustriais	Daniela Valente Simões dos Santos
2	P7	T2	Determinação da matéria orgânica do solo com dois métodos distintos em pomares de pessegueiros da região da Beira Interior, Portugal	Rodrigo Gonçalves
2	P8	T2	Perda de carbono em resíduos de origem vegetal: efeito das características (bio)químicas iniciais	João Ricardo Sousa
2	P9	T2	Fertilidade do solo e nutrição mineral da "Batata-doce de Aljezur"	Anabela Veloso
2	P10	T2	Efectos bioquímicos y microbiológicos en el suelo de un bioestimulante a base de lodos fermentados de <i>Bacillus licheniformis</i>	Pablo Caballero Jiménez
2	P11	T2	KOOLBIOCHAR – Novas formulações de Terra Preta de Síntese para aplicações agrícolas	Filomena Miguens
2	P12	T2	Dinámica estacional de la biomasa microbiana y actividades enzimáticas en suelos agrícolas mediterráneos: manejo convencional vs. ecológico	Jaume Vadell Adrover
2	P13	T2	Efeito de compostados de resíduos da cultura do kiwi no crescimento da alface	Luís Miguel Brito
2	P14	T2	Effects of compost on lettuce (<i>Lactuca sativa</i>) yield and soil biochemical properties	Carmo Horta
2	P15	T2	Efeitos da utilização de chorume de suíno bruto ou tratado na substituição da adubação fosfatada de fundo na cultura do milho	Paula Alvarenga
2	P16	T2	Soil microbiome favors the performance of almond rootstock seedlings in co-cultivation with barrel medic	Maria Cañellas Cifre
2	P17	T2	GO TECOLIVE – Efeitos de um composto orgânico na fertilidade do solo e no desenvolvimento de uma planta teste	Cristina Sempiterno



Dia 22/06/2022

SESSÃO 1 – Sala 3

Tema 2 (T2) - Fertilidade do solo e nutrição das plantas / Fertilidad del suelo y nutrición de las plantas

Tema 3 (T3) - Sistemas de uso da terra e gestão sustentável do solo / Sistemas de uso y gestión sostenible del suelo

Sala	Nº	Tema	Título	Apresentado por
3	P18	T2	Aplicación de un consorcio microbiano inmovilizado sobre biochar en la recuperación de un suelo contaminado con hidrocarburos	Carlos Rad
3	P19	T2	Importância das culturas de cobertura no aumento do grau de micorrização de tomateiro e milho	Pablo Pereira
3	P20	T2	Analytical laboratories for soil fertility assessment, in Portugal	Raquel Mano
3	P1	T3	Plant-Nematode co-cultures in the screening of sustainable nematicides against soil-dwelling parasitic nematodes of plants	Jorge M.S. Faria
3	P2	T3	Efeito da metafedrona no comportamento de fuga e na reprodução da minhoca <i>Eisenia fetida</i>	João Ricardo Sousa
3	P3	T3	Efeito da aplicação direta de lamas tratadas na habitabilidade do solo: ensaios de evitamento com <i>Eisenia fetida</i>	Marta Roboredo
3	P3'	T3	Vermicompostagem de substratos com lamas de ETAR: efeitos em <i>Eisenia fetida</i>	Marta Roboredo
3	P4	T3	Análise preliminar da comunidade bacteriana em diferentes fases do processo de compostagem de bagaço de azeitona	Ana Caroline Royer
3	P5	T3	Los suelos de viñedos manejados con cubiertas espontáneas mejoran su capacidad de secuestro de carbono	Blanca Esther Sastre Rodríguez
3	P6	T3	Efeitos no solo da aplicação de compostado num olival superintensivo: resíduos orgânicos e carbono oxidável pelo permanganato	Carlos Alexandre
3	P7	T3	Efecto del manejo de los pastos y el ganado sobre indicadores de calidad del suelo en una dehesa extremeña	Ana de Santiago Roldán
3	P8	T3	Efeito da mobilização do solo na composição do coberto vegetal espontâneo em olival: resultados preliminares	Carolina Campos
3	P9	T3	Cover crops for the improvement of soil microbiological properties in intensive horticultural production systems	Paula Fareleira
3	P10	T3	Gránulos de organoarcilla como adsorbente para aumentar la persistencia del compuesto alelopático escopoletina en el suelo	Jose Antonio Galán Pérez
3	P11	T3	Impact of maintenance techniques for woody crops (olive trees and vines) on the bacterial and fungal biomass of the soil, in the region of "Las Vegas of Madrid"	Mariela Navas Vásquez
3	P12	T3	Evolución de la glomalina tras la quema prescrita de matorral en suelos de alta montaña (Pirineo Central, NE-España)	Andoni Alfaro-Leranoz
3	P13	T3	Distribuição da biomassa microbiana num solo de vinha na região dos Vinhos Verdes	Susana Mendes
3	P14	T3	Modelação do índice de fertilidade do 3-PG em função de características físicas e químicas do solo	Jorge Delgado Nunes



Dia 24/06/2022

SESSÃO 2 – Sala 1

Tema 4 (T4) - Solos e temas ambientais / Problemas ambientales y de suelos

Sala	Nº	Tema	Título	Apresentado por
1	P1	T4	The role of mosses in soil physico-chemical properties under two contrasting post-fire managements in Central Portugal	Jorge Mataix-Solera
1	P2	T4	Contenido y distribución de mercurio y metilmercurio en horizontes orgánicos de bosques caducifolios	Juan Carlos Nóvoa Muñoz
1	P3	T4	Uso de concha de mejillón tritura y ceniza de biomasa para prevenir la toxicidad de amoxicilina en suelos	Laura Rodríguez González
1	P4	T4	Impacto de la Temperatura y de Prácticas Agrícolas Sostenibles en la Degradación de Herbicidas	Jesús Mª Marín-Benito
1	P5	T4	Niveles de emisión de gases de efecto invernadero de un viñedo convencional en un clima Mediterráneo	Estíbaliz Rodrigo
1	P6	T4	Efeito da cetamina na fauna edáfica: ensaios de fuga e reprodução com <i>Eisenia fetida</i>	João Ricardo Sousa
1	P7	T4	Recuperación de la biodiversidad funcional de los residuos de minas de oro mediante fitorremediación asistida	Ana Moliner
1	P8	T4	Fitorremediación con <i>Enterolobium cyclocarpum</i> en arenas de relaves procedentes de minería de oro informal contaminadas con arsénico y cadmio	Ana Moliner
1	P9	T4	Caracterización química elemental de suelos en dos sectores libres de hielo del sur de la isla Livingston (región septentrional de la Península Antártica)	María Guirado
1	P10	T4	Acid Mine Drainage remediation through artificial soils with biochar	Ana Machado
1	P11	T4	El uso de la tolerancia bacteriana a Ni inducida por contaminación (PICT) para evaluar los efectos del proceso de remediación	Claudia Campillo Cora
1	P12	T4	Distribución de metales traza en perfiles de suelos urbanos	Remigio Paradelo Núñez
1	P13	T4	Liberación del antibiótico Trimetoprima en tres bioadsorbentes en función del pH	Lucía Rodríguez López
1	P14	T4	Adsorción/desorción de Ciprofloxacin en diferentes bioadsorbentes	Manuel Arias Estévez
1	P15	T4	Adsorción de Herbicidas Ionizables por Suelos Agrícolas sin Enmendar y Enmendados con Compost Vegetal	María Sonia Rodríguez Cruz
1	P16	T4	Variación de la concentración y acumulación de Hg en suelos de pinar a lo largo de un transecto costa-interior al NO de la Península Ibérica	Melissa Méndez-López



Dia 24/06/2022

SESSÃO 2 – Sala 2

Tema 4 (T4) - Solos e temas ambientais / Problemas ambientales y de suelos

Sala	Nº	Tema	Título	Apresentado por
2	P17	T4	Extractabilidad de metales pesados en suelos urbanos	Maria Roo Calvo
2	P18	T4	Genes de resistencia a antibióticos en los suelos: ¿Es posible su transferencia a las plantas?	Maria Teresa Gomez Sagasti
2	P19	T4	Evaluación del contenido de glomalina y su relación con la agregación en suelos urbanos	Remigio Paradelo Núñez
2	P20	T4	Short-term evolution of physico-chemical properties of Technosols made from contaminated soils by pyritic sludge	Antonio Aguilar Garrido
2	P21	T4	Restauración de estériles de mina con enmiendas orgánicas y especies vegetales: Impacto sobre las propiedades físicas del suelo	Carmela Monterroso
2	P22	T4	Remediation of a chlorpyrifos contaminated soil using novel bacterial strains and cyclodextrin. Evaluation of its effectiveness by ecotoxicity studies	Alba Lara-Moreno
2	P23	T4	Red de estaciones de medida de temperatura y humedad del suelo	Dolores Boquera Ferreiro
2	P24	T4	Os microrganismos do solo no montado: uma estratégia para adaptação às alterações climáticas	Márcia de Castro Silva
2	P25	T4	La fitorremediación de suelos afectados por la actividad cinegética: lecciones aprendidas, retos y futuras oportunidades	Maria Teresa Gomez Sagasti
2	P26	T4	Biorremediación de suelos contaminados con aceite de motor mediante bioestimulantes obtenidos de lodos de depuradora	Isidoro A. Gomez Parrales
2	P27	T4	Comportamiento de oxifluorfen en suelos enmendados con diferentes fuentes de materia orgánica y sometido a sequía severa	Isidoro A. Gomez Parrales
2	P28	T4	Soil and vegetation recovery in an area affected by residual pollution after remediation measures	Mario Paniagua López
2	P29	T4	Utilização de parâmetros físico-químicos e ecotoxicológicos na avaliação da remediação de solos degradados por atividades mineiras	Adriana Catarino
2	P30	T4	Cu e Zn em frações físicas de solos de vinhedos no Sul do Brasil	Cledimar Rogério Lourenzi
2	P31	T4	Toxicidad de amoxicilina sobre las comunidades bacterianas del suelo en suelos agrícolas	Vanesa Santás Miguel
2	P32	T4	Disipación asistida de un mix de PAHs en suelos contaminados. Efecto del tipo de suelo y compuestos que incrementan su disponibilidad	Fernando Madrid Díaz
2	P33	T4	Nematodes as soil status bioindicators: MaisSolo project	Maria Lurdes Inácio



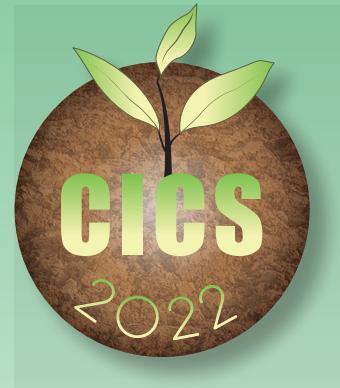
Dia 24/06/2022

SESSÃO 2 – Sala 3

Tema 4 (T4) - Solos e temas ambientais / Problemas ambientales y de suelos

Tema 5 (T5) - Solos e temas societais / Suelos y cuestiones sociales

Sala	Nº	Tema	Título	Apresentado por
3	P34	T4	Distribución espacial de metales contaminantes procedentes de la minería	Mª Ángeles Rodríguez González
3	P35	T4	<i>Lavandula stoechas</i> L. como especie fitorremediadora	Irene Gago Mangas
3	P38	T4	Concentración y reservorio de Hg en el sistema suelo-planta en el bosque caducifolio Mediterráneo nativo del NE de Portugal	Melissa Méndez-López
3	P39	T4	Márgenes multifuncionales en secano para un mejor balance en carbono y biodiversidad	Miguel A. Repullo Rubérriz de Torres
3	P40	T4	Evolução da salinidade do solo no perímetro de rega do Roxo	Maria da Conceição Gonçalves
3	P41	T4	Preliminary evaluation of physical characteristics of soils from Mediterranean cork oak forests: post fire long term assessment	Yacin Benhalima
3	P42	T4	Procesos de adsorción y desorción de azitromicina en subproductos procedentes de las industrias alimentaria y forestal	Avelino Núñez-Delgado
3	P43	T4	O controlo do nemátode das lesões radiculares <i>Pratylenchus penetrans</i> - actividad nematicida de compostos derivados de plantas	Cláudia Vicente
3	P44	T4	Alternativas de Manejo de Suelos en Regiones Áridas del Altiplano Sur de Bolivia	Cresencio Calle Cruz
3	P45	T4	Predicción de la densidad aparente en horizontes orgánicos de suelos de bosque dominados por <i>Quercus robur</i> en Galicia	Juan Carlos Nóvoa Muñoz
3	P46	T4	Efectos del cambio climático en la estructura molecular de la materia orgánica del suelo de una dehesa	Layla Márquez San Emeterio
3	P47	T4	Adaptation measures in the face of climate change, the Montado/Dehesa Iberian case: Soil Hydraulic Conductivity and Soil Bulk Density	Rui Bajouco
3	P1	T5	Monolitos edafológicos: una herramienta útil para dar a conocer el suelo más allá del ámbito universitario	Marina Getino Álvarez
3	P2	T5	Projeto ERASMUS+ Terratech na persecução dos objetivos da Estratégia do Prado ao Prato	Ruth Pereira
3	P3	T5	Overview of the knowledge about sustainable soil management practices in Europe	Ana Paz



Aprofundar o conhecimento

Comunicações orais

Soil diversity and soil properties limiting agricultural use in semi-arid landscapes of Israel

Diversidad y propiedades del suelo que limitan el uso agrícola en paisajes semiáridos de Israel

Dafna Casaretto^{1,2}

¹ Soil Conservation & Drainage Division, Ministry of Agriculture and Rural Development, P.O.B 30, Bayit Dagan 5025001, Israel,

² Department of Geography and Environment, Bar Ilan University, Ramat-Gan 32900, Israel

Author email: dafnak@moag.gov.il

Abstract

The semi-arid zone of the Mediterranean region is characterized by high spatial diversity of natural resources and its value for agriculture purposes. In Israel, desalination processes and wastewater treatments development allow a significant expansion of irrigated territories and the incorporation of new subtropical crops which demand high amount of irrigation water. This situation requires a suitability assessment of soils that were previously under dryland farming practices. For this purpose, a soil-landscape study was carried out in the Northwestern Negev region, considering environmental factors, aerial photographs of different years, detailed soil maps, morphological descriptions, and chemical data of selected soil profiles. The study revealed 8 soil types typical of the region, which allowed to characterize the soil diversity of the study area and link it to soil properties (14) that limit agricultural uses. The suggested criteria could be considered as a tool for land use planning which seeks to transform marginal lands into suitable lands for intensive agricultural purposes.

Keywords: soil diversity, limiting soil properties, land use planning, semi-arid zones.

Resumen

La zona semiárida de la región mediterránea se caracteriza por una gran diversidad espacial de recursos naturales y su valor para fines agrícolas. En Israel, el desarrollo de procesos de desalinización y tratamiento de aguas residuales permiten la expansión de territorios agrícolas irrigados y la incorporación de nuevos cultivos subtropicales los cuales demandan grandes cantidades de agua de riego. Esta situación requiere una evaluación de la aptitud de suelos usados previamente en actividades agrícolas de secano. Con este propósito, se realizó un estudio de suelo y paisaje en la región del Noroeste del Negev, considerando factores ambientales, fotografías aéreas de diferentes años, mapas de suelo detallados, descripciones morfológicas y datos químicos de perfiles de suelo. El estudio reveló 8 tipos de suelo típicos de la región, lo que permitió caracterizar la diversidad de suelos del área de estudio y vincularla a las propiedades del suelo (14) que limitan su uso agrícola. Los criterios sugeridos podrían ser considerados como una herramienta para la planificación del territorio con fines de transformación de tierras marginales en tierras aptas para la agricultura intensiva.

Palabras clave: diversidad del suelo, propiedades limitantes del suelo, ordenamiento territorial, zonas semiáridas

Introduction

Once considered a fruitless desert, the Northwestern Negev situated in the semi-arid zone of Israel, is nowadays one of the most productive agricultural regions of the country. Despite its small area, this region produces high yields and is rich in soil diversity (Dan & Nissim, 1988; Yaalon, 1997; Shapiro, 2006). Until the beginning of this century, there was a water supplement shortage for agricultural uses. Desalination processes and wastewater treatments development allowed a significant expansion of irrigated territories and the incorporation of new subtropical crops characterized by high demand for water. This situation required a suitability assessment of soils that were previously under dryland farming practices.

The optimal agricultural development of new irrigated territories involves assessment of three main soil issues: soil diversity, soil properties limiting agricultural use and soil distribution patterns. Considering these issues as a tool for proper land designation for agricultural uses, a soil-landscape study has been conducted in the semi-arid zone of Northwestern Negev.

Material and methods

The Northwestern Negev region is characterized by intensive agricultural land use with plenty of irrigated field crops and plantations, as well as numerous greenhouses. Sites unsuitable for farming are afforested mainly by different species of pines and eucalyptuses. Badland areas are recognized as tourist attractions due to their recreational value. The whole regional abounds with numerous cultural heritage sites of different periods. The study area (about 90,000 ha – Fig. 1) is situated in a semi-arid zone with an average annual rainfall of 200 to 400 mm.

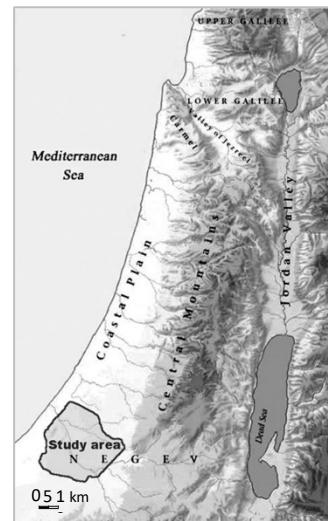


Fig.1. Location of the study area.

This area can be divided into three main geomorphological regions (Singer, 2007). The eastern one is represented by low smooth hills, composed of conglomerates and outcrops of carbonate Paleogene rocks (mainly chalks) with stony shallow Lithosols (see Fig.2). The central region is occupied by the ancient (Neogene-Pleistocene) alluvial plain. Its south area is covered by sandy loess Pleistocene sediments with Sandy soils, while the central and north areas consist of Pleistocene loess sediments with Light brown soils and sometimes Serozems. The west coastal region is formed by Pleistocene seaside dunes, composed of carbonate sandstone with a complex of specific soils among which Pararendzinas and Reddish-brown calcareous soils (local name - Husmas) dominate.

Several large ephemeral streams with Alluvial soils dissect the territory in an east–west direction, where the valleys of Gerar and Besor streams and their tributaries are the largest. Inside the valleys the badlands are common, where Regosols are usually found.

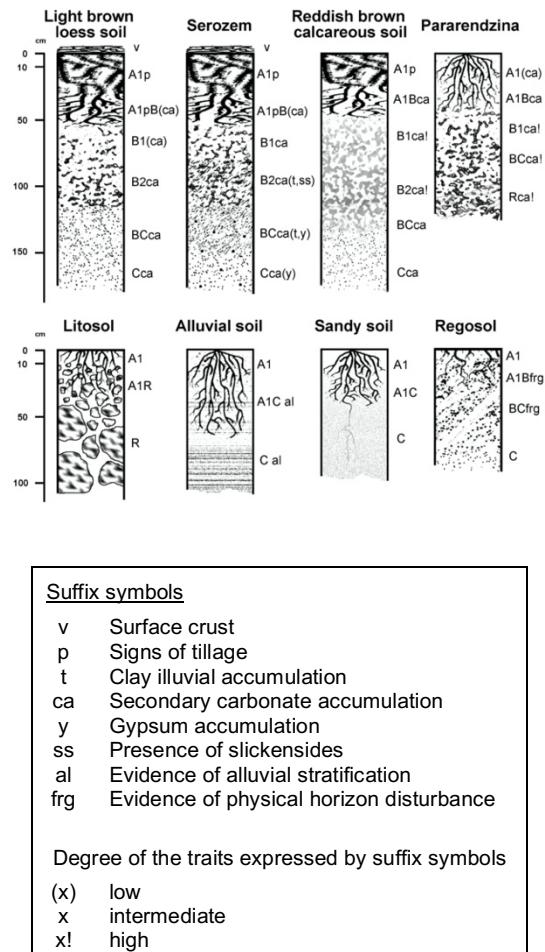


Fig.2. Main soil profiles in the Northwestern Negev.

In order to determine soil properties limiting agricultural use the following resources have been analyzed using ArcGIS Spatial Analyst extension: environmental factors, aerial photographs of different years, detailed soil maps, morphological descriptions and chemical data of selected soil profiles. This analysis allowed to create middle-scaled soil and soil limitations maps that can be used for land use planning. The soils were classified according to Israeli soil classification system (Dan & Koyumdjiski, 1979).

Results and discussion

Soil properties limiting intensive agricultural use

There is a wide range of soil properties that restrict the achievement of planned

yield and/or contribute to landscape transformation during agricultural use. In this study, soil properties concerning widespread plantations of citrus crops and avocado will be considered. Table 1 shows the main limiting properties typical for soils in the study area.

The first group of limiting properties is related to the soil profile itself represented as a vertical stratigraphic column divided into horizons. In terms of agricultural uses, the main quality of such a column is its internal drainage capacity due to the high amount of water required for sub-tropical crops. In this case, semi-arid soils receive 2,5-3 times more moisture than in natural conditions. At the same time, to obtain high yields moisture stagnation in the root layer is unsuitable. The most important properties that affect the degree of internal soil drainage are the following: transitions between genetic horizons in terms of soil texture (gradual transitions are ideal), absence of highly compacted horizons in the subsoil layer, absence of horizons and interlayers cemented by carbonate or gypsum, low soil dispersion of the soil mass during irrigation (SAR values lower than 8), and absence of dense rocks in the upper half-meter layer near the surface (for example, chalk or cemented conglomerate).

The second group concerns the chemical soil properties. In the semi-arid regions of Israel, the following thresholds are suggested: pH values lower than 8.5; electrical conductivity values caused by soluble salts should not exceed 4 dS/m, boron content in the paste filtrate lower than 1 ppm, total carbonates content lower than 25% of the weight of the fine-textured soil mass, and carbonates content in the clay fraction of soils lower than 10%.

Thirdly, as it is known, the soil profile is an open system closely related to landscape components. Therefore, it is required to assess, at least qualitatively, the degree of landscape and soils stability and their capacity to withstand physical changes under the influence of wind, rain and irrigation. In other words, soil erosion tendency should be taken into consideration. Regarding soils formed

from loess parent material, the following criteria are suggested: slopes steepness lower than 3-4%, absence of surface crust that enhances erosion effects, and the propensity of the territory to piping erosion. In areas where loamy soils to clay loamy soils spread out, deep cracks may appear on soil surface, especially if swelling three-layer montmorillonite clays are present. Moreover, in the case of areas covered with loamy soils to sandy soils, slope aspect plays an important role: sunny southern slopes tend to be less protected from wind erosion than northern ones. Lastly, the main challenge of sandy soils remains high water drainage rates, whereas regarding alluvial soils it is periodic flooding.

Table 1. Main limiting soil properties.

Limiting properties	Soils							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Crust	X	X						
Thickness				X	X			X
Sharp transition between horizons		X	X	X	X	X		X
Topsoil compaction	X	X						
Cementation by carbonates			X	X				
Cementation by gypsum		X						
Electrical conductivity		X						X
SAR	X	X	X					X
B content	X	X	X					X
CaCO ₃ (total)			X	X	X			
CaCO ₃ (clay)			X	X				
Water erosion	X	X						
Wind erosion							X	
Flooding					X			

Soils: 1 – Light brown loess soils; 2 – Serozems; 3 – Reddish brown calcareous soils; 4 – Pararendzinas; 5 – Lithosols; 6 – Alluvial soils; 7 – Sandy soils; 8 – Regosols.

Conclusions

Soil diversity assessment is an essential tool for land use planning, due to the demands for the transformation of marginal lands into arable lands, and the shifting from dryland farming to irrigated farming. Main soil properties (14) convenient for such assessment were listed in order to evaluate the semi-arid soils of Northwestern Negev, Israel. These properties are regarded as factors that limit the sustainable development of irrigated lands. This set of criteria may be applied in territories of the Mediterranean

region similar to the study area landscape in terms of climate, landform, parent material, and soils.

References

- Dan, J., & Koyumdjiski, H. (1979). *The classification of Israel Soils*. The Volcani Center, Bet Dagan, Israel.
- Dan, J., & Nissim, S. (1988). *Selected Soil Profiles From Israel*. Volcani Center: Bet Dagan, Israel.
- Shapiro, M. (2006). Soils of Israel. *Eurasian Soil Science*, 39(11), 1170–1175. <https://doi.org/10.1134/S1064229306110032>
- Singer, A. (2007). *The Soils of Israel*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-71734-8>
- Yaalon, D. H. (1997). Soils in the Mediterranean region: What makes them different? *CATENA*, 28(3–4), 157–169. [https://doi.org/10.1016/S0341-8162\(96\)00035-5](https://doi.org/10.1016/S0341-8162(96)00035-5)

Seguimiento de la salinidad en suelos de marisma recuperada con tomografía de inducción electromagnética e imágenes de NDVI

Salinity monitoring in reclaimed marsh soils with electromagnetic induction tomography and NDVI imagery

Gómez Flores, J.L.¹, Ramos Rodríguez, M.¹, González Jiménez, A.¹, Farzamian, M.², Herencia Galán, J.F.³, Salvatierra Bellido, B.⁴, Cermeño Sacristan, P.³, Vanderlinden, K.^{1*}

¹ IFAPA Centro Alameda del Obispo, Córdoba, Spain

² Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Oeiras, Portugal

³ IFAPA Centro Las Torres, Alcalá del Río (Seville), Spain

⁴I FAPA Centro Rancho de la Merced, Jeréz de la Frontera, Spain

*karl.vanderlinden@juntadeandalucia.es.

Resumen

La interacción entre la capa freática salina y somera y la agricultura intensiva da lugar a un frágil equilibrio entre la acumulación y lixiviación de sales en los suelos de marisma recuperada del sector de riego B-XII, en el suroeste de España. Evaluamos el potencial de la tomografía de inducción electromagnética (EMI) e imágenes de NDVI de Sentinel 2 para el seguimiento de la salinidad del suelo a escala de parcela en esta zona, usando mediciones de la conductividad eléctrica aparente (ECa) del suelo realizadas en 2017 y 2020. Las estimaciones de la conductividad eléctrica (EC) obtenidas mediante inversión de la ECa mostraron una fuerte correlación ($R \approx 0.90$) con la conductividad del extracto de pasta saturada (ECe) y la relación de absorción de sodio (SAR), lo que dio lugar a ecuaciones de calibración lineales con $R^2 \approx 0.80$ para ambos años y resultados de validación cruzada de exclusión (LOOCV) fiables para los horizontes subsuperficiales de $0.55 < R^2 < 0.81$. El patrón espacial de EC mostró correlación inversa con el del NDVI para tomate para industria, algodón y remolacha cultivados entre los años 2017 y 2019, alcanzando valores R de -0,64, -0,87 y -0,73, respectivamente.

Palabras clave: conductividad eléctrica aparente, distrito de riego B-XII, NDVI, salinidad, suelos de marisma recuperada.

Abstract

The presence of a shallow saline water table in combination with intensive agriculture in the reclaimed marshes of the B-XII irrigation district, in SW Spain, may disrupt the fragile balance between salt accumulation and leaching in the root zone. We evaluate the potential of electromagnetic induction tomography (EMI) and the use of Sentinel 2 NDVI imagery for field-scale soil salinity monitoring using soil apparent electrical conductivity (ECa) measured in 2017 and 2020. Depth-specific electrical conductivity (EC), obtained from the inversion of ECa, showed a strong correlation ($R \approx 0.90$) with laboratory-analysed saturated paste extract conductivity (ECe) and sodium adsorption ratio (SAR), resulting in linear calibration equations with $R^2 \approx 0.80$ for both years and reliable cross-validation of exclusion (LOOCV) results for the subsoil ($0.55 < R^2 < 0.81$). The spatial pattern of EC showed inverse correlation with NDVI for processed tomato, cotton and sugar beet, cropped between 2017 and 2019, reaching R values of -0.64, -0.87 and -0.73, respectively.

Keywords: apparent electric conductivity, B-XII irrigation district, NDVI, soil salinity, reclaimed marsh soils.

Introducción

El frágil equilibrio entre las tasas de acumulación y eliminación de sales en el perfil del suelo en regiones agrícolas de origen salino, supone un riego de resalinización que demanda herramientas eficientes para el seguimiento y evaluación del estado de la salinidad del suelo.

La técnica de la inducción electromagnética (EMI) permite caracterizar la variabilidad espacial del suelo y sus propiedades a escala de parcela (Doolittle & Brevik, 2014) midiendo simultáneamente la conductividad eléctrica aparente integrada (ECa) a distintas profundidades de exploración. Sin embargo, para obtener información sobre la distribución vertical de la conductividad eléctrica en el suelo (EC) es necesario recurrir a la inversión conjunta de la ECa (Triantafyllis & Monteiro Santos, 2013).

La mayoría de los estudios muestran relaciones positivas entre el NDVI y la ECa, pero en el caso de suelo salinos, y si la ECa está estrechamente correlacionada con la salinidad, se pueden esperar relaciones inversas.

En este trabajo evaluamos (1) el potencial de la tomografía EMI para proporcionar ecuaciones de calibración robustas que permitan estimar la conductividad en extracto de pasta saturada (ECe) y la relación de absorción de sodio (SAR) a partir de EC, usando datos mínimos de análisis de suelo, y (2) el potencial de las imágenes NDVI de Sentinel 2 para el seguimiento y la evaluación de la salinidad del suelo en el sector de riego B-XII (suroeste de España).

Materiales y métodos

Este estudio se desarrolló en una parcela agrícola de 4 ha del sector B-XII (Lebrija, España, Fig. 1) con un suelo arcilloso y una capa freática salina y somera, drenada artificialmente a 1 m de profundidad.

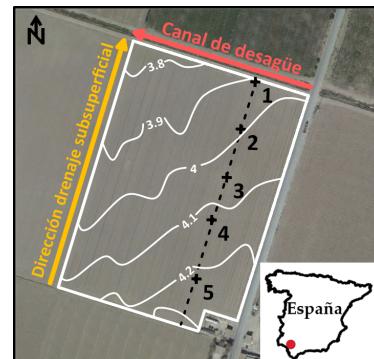


Fig. 1 – Parcela de estudio con topografía y localización de los cinco puntos de muestreo a lo largo del transecto.

Se realizaron mediciones de ECa en noviembre de 2017 y febrero de 2020 con profundidades de exploración teóricas cercanas a 0,5, 1, 1,5 y 3 m, usando un sensor DualEM-21S alojado en un trineo de PVC y remolcado por un vehículo todo terreno (ATV). Las mediciones de ECa georreferenciadas se interpolaron en una cuadrícula de 0,5 x 0,5 m utilizando el método de inverso de la distancia implementado en Surfer (Golden Software, LLC Boulder, CO) y se invirtieron utilizando el software EM4Soil (EMTOMO, Lisboa) para estimar EC a las profundidades: 0,1, 0,3, 0,5, 0,7 y 0,9 m.

Simultáneamente a las mediciones de ECa, se tomaron muestras de suelo en 5 puntos y a 5 profundidades en intervalos de 0,2 m. Se midió EC, pH, $[Na^+]$, $[K^+]$, $[Mg^{2+}]$, y $[Ca^{2+}]$ en la pasta saturada del suelo y el SAR se calculó como:

$$SAR = [Na^+] / [(Ca^{2+}) + (Mg^{2+}) / 2]^{0.5}, \quad (1)$$

con las concentraciones de cationes en meq/L.

La inversión 2D de ECa en 2017 y 2020 se realizó a lo largo del transecto donde se seleccionaron los 5 puntos de muestreo (Fig. 1). Los valores de EC se calibraron con los datos de ECe y SAR de las muestras de suelo y se validaron mediante validación cruzada de exclusión. La inversión 3D se realizó usando todos los datos de ECa disponibles en la parcela para producir mapas de ECe y SAR a distintas profundidades usando la calibración obtenida con la inversión 2D.

Se analizaron, con Google Earth Engine, 36 imágenes NDVI (Sentinel 2) con una

resolución espacial de 10 m, correspondientes a los períodos de cultivo entre 2017 y 2019: tomate, algodón y remolacha azucarera, respectivamente.

Resultados y discusión

La distribución espacial de ECa para la profundidad de exploración teórica de 1m (ECa-1) fue similar en 2017 (Fig. 2a) y en 2020 (Fig. 2b). Los valores de EC fueron mayores en el perfil de 2017 y mostraron para ambos años que el patrón espacial de la EC en el suelo superficial se origina en el patrón subsuperficial de EC.

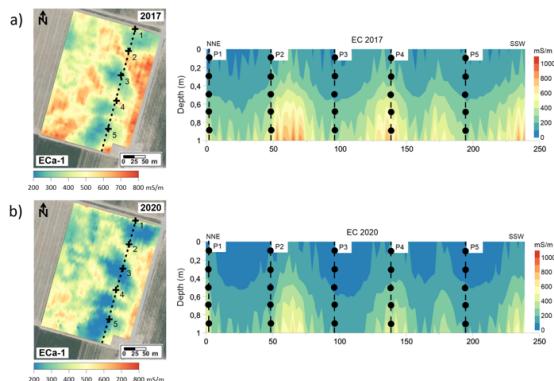


Fig. 2 – Distribución espacial de ECa-1 e inversión en el transecto para (a) 2017, (b) 2020.

Se observó una mayor correlación entre EC y ECe, $[Na^+]$ y SAR en 2017 que en 2020 (Tabla 1). La correlación incrementó con la profundidad para ambos años mientras que el horizonte superficial mostró una falta de correlación.

Se describieron las relaciones EC-ECe y EC-SAR con modelos lineales de calibración de $0,77 < R^2 < 0,83$ (Fig. 3).

Tabla 1 – Coeficiente de correlación de Pearson (R) entre EC-ECe y EC-SAR a distintas profundidades para 2017 y 2020.

R	Mean	Depth (m)				
		0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
2017	ECe	0.91	0.05	0.91	0.96	0.99
	SAR	0.88	0.33	0.72	0.96	0.93
2020	ECe	0.89	0.12	0.27	0.92	0.73
	SAR	0.88	0.04	-0.22	0.55	0.81

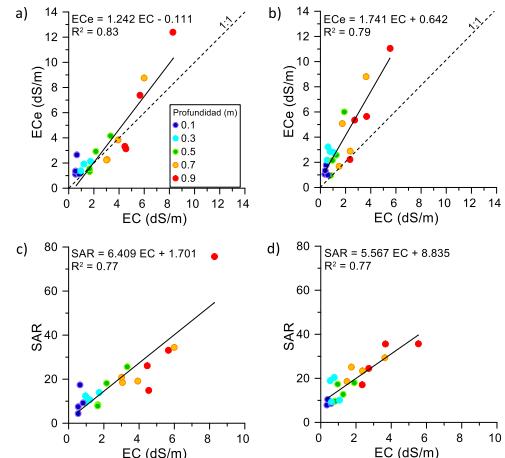


Fig. 3 - Relaciones EC-ECe para a) 2017 y b) 2020 y EC-SAR para c) 2017 y d) 2020.

Los resultados de la validación cruzada mostraron que las estimaciones de ECe y SAR solo fueron fiables en los horizontes subsuperficiales (0,5-0,9 m) (Tabla 2).

Tabla 2 – Resultados de la validación cruzada para Ece y SAR.

EC	ECe			SAR			
	RMSE	MAE	R ²	RMSE	MAE	R ²	
2017	Sup.	0.61	0.47	0.21	4.33	3.03	0.02
	Subsup.	1.4	1.23	0.81	11.6	8.26	0.55
2020	Sup.	0.86	0.7	0.21	7.16	5.75	0.07
	Subsup.	1.59	1.35	0.71	4.78	3.89	0.67

Los mapas de ECe y SAR para horizontes subsuperficiales (Fig. 4) indicaron que ECe aumentó en 2020 respecto a 2017, mientras que SAR diminuyó, sugiriendo una mayor concentración de cationes, pero con menor influencia de $[Na^+]$ en 2020 que en 2017.

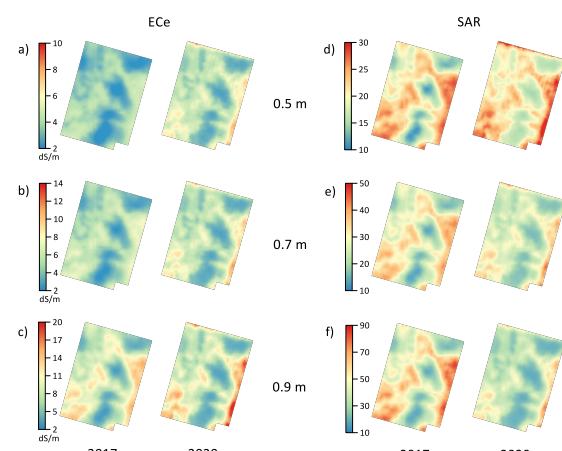


Fig. 4 - ECe (a-c), y SAR (d-f) para 2017 y 2020 a 0,5, 0,7 y 0,9 m de profundidad.

El NDVI mostró correlaciones negativas con EC, siendo similares en profundidad y para ambas mediciones con $R = -0,64$, $-0,87$ y $-0,73$ para tomate, algodón y remolacha azucarera, respectivamente, para la imagen de mayor NDVI (Fig. 5).

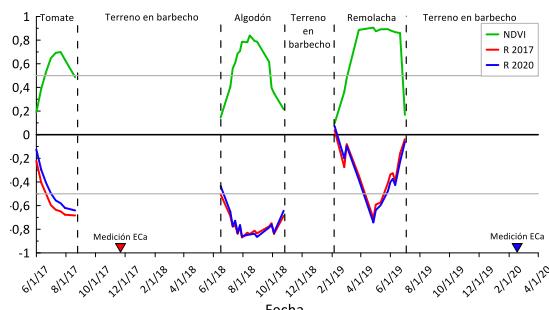


Fig. 5 - Evolución del NDVI medio y coeficiente de correlación de Pearson (R) entre la ECe a 0,9 m y el NDVI, en la parcela.

El NDVI fue, en general, más bajo en zonas de mayor ECe, reflejando un retraso en el desarrollo de los cultivos (Fig. 6). No obstante, la remolacha azucarera mostró menor sensibilidad en este aspecto (Fig. 6c) al finalizar su ciclo vegetativo al inicio del estiaje.

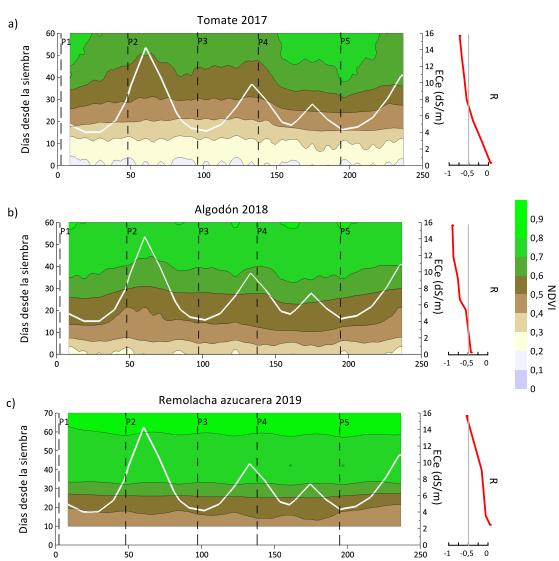


Fig. 6 - Evolución del NDVI a lo largo del transecto para a) tomate, b) algodón y c) remolacha azucarera desde el día de emergencia/trasplante hasta el día de máximo NDVI. Las líneas blancas y rojas representan la ECe estimada a 0,9 m de profundidad en 2017 y la evolución de su correlación con el NDVI, respectivamente.

Al margen de las distintas respuestas fisiológicas de los cultivos a la salinidad (Minhas et al., 2020), una explicación

plausible para estos resultados es que la remolacha azucarera es un cultivo de primavera que no requiere de los grandes aportes de agua de riego de la época estival, como sí ocurre con los cultivos de tomate y algodón. En éstos se favorece el ascenso de la capa freática salina hacia la zona radicular durante el periodo con mayores tasas de evaporación.

Conclusiones

La tomografía EMI e inversión permitió obtener modelos lineales de calibración ($R^2 \approx 0,80$) para la estimación de ECe y SAR a partir de EC en suelos de marisma recuperada del sector B-XII, sin necesidad de considerar más de cinco puntos de muestreo. No obstante, las estimaciones solo son fiables en la zona subsuperficial del perfil (0,5-0,9 m).

Las fuertes correlaciones inversas ($-0,87 < R < -0,64$) entre EC y NDVI de los cultivos considerados demuestran el potencial del uso combinado de la tomografía EMI e imágenes NDVI para el seguimiento y la evaluación de la salinidad a escala de parcela en el sector B-XII. La afección de la salinidad a los cultivos de la zona continua presente actualmente.

Agradecimientos

Trabajo financiado por la Agencia Estatal de Investigación de España mediante ayudas: PID2019-104136RRC21, PID2019-104136RR-C22, beca de doctorado PRE2020-095133; y ayuda AVA2019.018 por IFAPA/FEDER.

Referencias bibliográficas

- Doolittle, J.A., & Brevik, E.C. (2014). The use of electromagnetic induction techniques in soils studies. *Geoderma*, 223-225, 33-45.
- Google Earth Engine. Available online: <https://code.earthengine.google.com/> (accesed on 15th October, 2021).
- Minhas, P.S., Ramos, T.B., Ben-Gal, A., & Pereira, L.S. (2020). Coping with salinity in irrigated agriculture: Crop evapotranspiration and water management issues. *Agric. Water Manage*, 227, 105832.
- Triantafyllis, J., & Monteiro Santos, F.A. (2013). Electromagnetic conductivity imaging (EMCI) of soil using a DUALEM-421 and inversion modelling software (EM4Soil). *Geoderma*, 28-38.

Evaluación de la salinidad del suelo con la conductividad eléctrica y el NDVI en el sector B-XII, Lebrija (Sevilla)

Assessing soil salinity with electrical conductivity and NDVI in the B-XII irrigation district, Lebrija (Sevilla)

Ramos, Mario^{1*}, Farzamian, Mohammad², Gómez, José Luis¹, González, Alfonso³, Salvatierra, Benito⁴, Martínez, Gonzalo⁵, Vanderlinden, Karl¹

¹IFAPA Centro Alameda del Obispo, Avda. Menéndez Pidal s/n, 14004 Córdoba, España

²Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Oeiras, Portugal

³IFAPA Centro Rancho de la Merced, Cádiz, España

⁴Departamento de Física Aplicada, Radiología y Medicina Física, Universidad de Córdoba, Córdoba, España.

*mario.ramos.r@juntadeandalucia.es

Resumen

Se propone una metodología para estimar la salinidad del suelo y su relación con el NDVI a escala de parcela. Se midió la conductividad eléctrica aparente del suelo (CEa) con un sensor de inducción electromagnética (IEM) en una parcela del sector B-XII, Lebrija (Sevilla) y se obtuvieron imágenes bi- y tridimensionales de la conductividad eléctrica (CE) mediante inversión. La CE mostró buenas relaciones con los indicadores de salinidad del suelo ($R^2 > 70\%$), lo que permitió la estimación de dichos indicadores a partir de las imágenes de CE. Se evalúa la metodología y los resultados que arroja usando series históricas de 7 años de imágenes de NDVI y realizando de esta forma un seguimiento del efecto de la salinidad del suelo sobre el desarrollo de los cultivos. La identificación de zonas de salinización puntual con efectos negativos sobre el desarrollo de los cultivos permite apoyar la toma de decisiones en cuanto al manejo de suelo, agua y cultivo.

Palabras clave: conductividad eléctrica, humedad de suelo, salinidad, índices de cultivo, teledetección.

Abstract

A method is proposed to estimate soil salinity and its relationship with NDVI at the plot scale. Soil apparent electrical conductivity (ECa) was measured with an electromagnetic induction sensor (EMI) at a commercial plot in the B-XII irrigation district, Lebrija (Seville). Bi- and three-dimensional images of soil electrical conductivity (EC) were obtained using inversion. Estimated EC showed strong relationships with soil salinity indicators ($R^2 > 70\%$), allowing the estimation of these indicators from the EC images. The methodology and the obtained results were evaluated using historical NDVI imagery obtained during 7 cropping seasons and allowed us to monitor the effect of soil salinity on crop development. The identification of areas where sudden soil salinization occurs, with negative effects on crop development, is relevant for informing soil, water and the crop management decision-making

Keywords: electrical conductivity, soil moisture, salinity, spectral response of crops, remote sensing.

Introducción

La creciente diversificación de cultivos requiere la implementación de nuevos sistemas de manejo de suelo y agua que distan de los que se recomiendan tradicionalmente para suelos salinos, por lo que se requiere un seguimiento de las características del suelo para detectar el posible deterioro de su calidad. La inducción electromagnética (IEM) es una técnica geofísica que permite medir la conductividad eléctrica aparente (CEa) en distintos volúmenes de suelo ($\sim m^3$) de forma no invasiva, para estimar propiedades químico-físicas del suelo (Doolittle and Brevik, 2014) y puede usarse por tanto para tal fin. Tradicionalmente se han empleado calibraciones específicas para convertir estos mapas de CEa en mapas de propiedades del suelo indicativas de la salinidad/sodicidad (Corwin y Scudeiro, 2016). El desarrollo de códigos de inversión de datos de IEM ha permitido estimar la distribución vertical de la conductividad "real" (CE) a partir de la CEa medida con sensores multiseñal (Triantafyllis y Monteiro Santos, 2013), estimando imágenes bidimensionales de la CE en el perfil del suelo (Farzamian et al., 2019). Para el seguimiento del cultivo a escala de parcela se utiliza el índice NDVI obtenido de la plataforma Sentinel 2 (Huang et al., 2021). Dicha información permite orientar el manejo del cultivo y del agua, así como evaluar posibles efectos negativos en el desarrollo del cultivo como consecuencia del manejo implementado y/o del estado hídrico-químico del suelo. Los objetivos son (1) evaluar el uso de IEM e inversión para estimar la salinidad/sodicidad del suelo de marisma recuperada en el sector de riego B-XII (Lebrija, Sevilla), (2) relacionar los patrones espaciales de la CE a distintas profundidades con los patrones de NDVI y (3) usar la información proporcionada por estas técnicas para identificar zonas problemáticas en la parcela y hallar el origen de dichos problemas.

Materiales y métodos

El estudio se ha realizado en una parcela de regadío (12,5 ha) situada en una zona de marisma recuperada (sector de riego B-XII) en Lebrija (Sevilla) (Fig.1), con un elevado contenido en arcilla (60-70%) y una capa freática salina somera que se controla mediante un sistema de drenaje instalado a una profundidad de 1 metro. Se midió la CEa con un sensor DUALEM-21S (Dualem Inc., Milton, Canadá) el 9 de septiembre 2020.

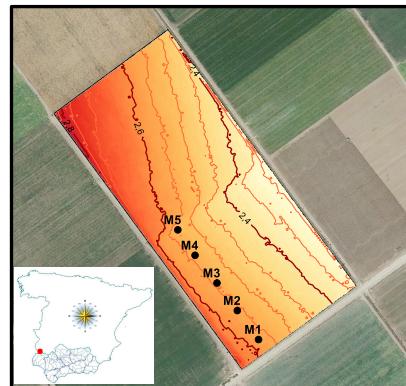


Fig 1 - Localización de la zona de estudio, topografía de la parcela experimental y posición de los cinco puntos de muestreo (M1-M5)

El sensor consta de una bobina que transmite un campo electromagnético a baja frecuencia (9 kHz) y dos pares de bobinas receptoras que proporcionan profundidades de exploración teóricas de 0,5, 1,0, 1,5 y 3,0 m. El sensor se aloja en un trineo de PVC que se arrastra con un vehículo todoterreno ATV, equipado con un sistema de posicionamiento GPS-RTK. Se interpoló la CEa de cada señal en una malla de 0,5 x 0,5 m usando el método del inverso de la distancia (Surfer, Golden Software, LLC, Boulder, CO) y se calcularon las estadísticas descriptivas. Se invirtieron las cuatro señales de CEa usando el código EM4Soil (EMTOMO, Lisboa), propuesto por Triantafyllis y Monteiro Santos (2013), para estimar la distribución vertical de la conductividad eléctrica "real" (CE). Los valores de CE se convirtieron posteriormente en humedad de suelo (θ), en conductividad eléctrica (CEe) y

concentración de Sodio (Nae), usando ecuaciones de calibración obtenidas a partir de los datos analíticos del suelo y los valores de CE extraídos de la inversión 3D. Se calculó el NDVI de la parcela y la correlación con el mapa de CE para las fechas con disponibilidad de imágenes Sentinel 2 con el fin de evaluar posibles efectos de la salinidad en el desarrollo de los cultivos. Los cálculos se realizaron en Google Earth Engine (Gorelick et al., 2017) usando un código desarrollado por Gómez-Giráldez et al. (2019). Durante la medición de la CEa se tomaron muestras de suelo en 5 puntos a lo largo de un transecto perpendicular a las tuberías de drenaje con incrementos de 0,2 m hasta 1,2 m de profundidad, utilizando una barrena de suelo tipo Edelman de 0,05 m de diámetro. Las 25 muestras de suelo obtenidas se separaron en dos sub-muestras, una para las analíticas y otra para determinar la humedad gravimétrica, secando las muestras a 105°C durante 48 horas.

Resultados y discusión

La CE incrementaba con la profundidad, indicando la presencia de material menos conductor en superficie que en profundidad, lo que posiblemente se debe a la presencia de la capa freática salina que se sitúa a 1 - 1,5 m de profundidad.

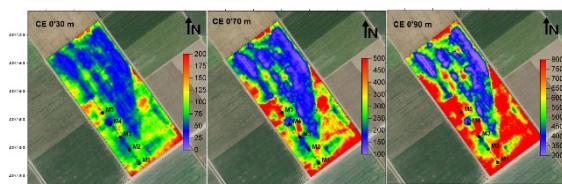


Fig. 2- Mapas de conductividad eléctrica (CE) para las profundidades de 0,3, 0,7 y 0,9 metros obtenidos tras la inversión 3D usando todas las mediciones de CEa y situación de los puntos de muestreo.

El coeficiente de variación muestra que la distribución espacial de la CEa es menos homogénea en superficie que en profundidad, posiblemente como consecuencia de la alteración de las características físico-químicas del suelo superficial generados por la actividad

agrícola. La inversión 3D realizada resultó en un RMSE de 24 mS/m. Los modelos usados para describir las relaciones CE-CEe, CE-Nae y CE-θ mostraron valores del coeficiente de determinación (R^2) entre 0,77 y 0,82 (Fig. 3). Se observa que la CEe y el Nae tienen una relación lineal con la CE, mientras la humedad tiene una relación logarítmica.

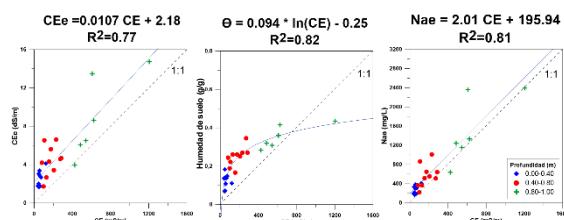


Fig. 3 - Relación entre la CE y CEe, CE y humedad de suelo, y CE y Nae para las muestras de suelo entre las profundidades 0-0,4 (azul), 0,4-0,8 (rojo) y 0,8-1,0 metros (verde).

Dichas variables posteriormente han sido convertidas en los mapas resultantes que se muestran en la figura 4. Se observa que zonas de mayor salinidad muestran en general una mayor humedad en este tipo de entornos. La relación entre el NDVI y la CE (para la profundidad de 0,3 metros) en todo el periodo con disponibilidad de imágenes Sentinel 2 (Fig. 5) muestra hay determinadas épocas en las que esta relación crece (de forma positiva o negativa). Durante épocas de menor demanda evaporativa, se favorece el crecimiento del cultivo por la presencia de las zonas de alta CE. Sin embargo, cuando nos encontramos en épocas de alta demanda evaporativa, la humedad del suelo y las elevadas tasas de evaporación pueden incrementar puntualmente la salinidad en el suelo y provocar elevadas concentraciones de Cl⁻ y Na⁺ en hoja, inhibiendo distintos pasos del metabolismo de N (Ashraf et al., 2018) manifestándose bajo la forma de clorosis, como se ha podido observar en campo. Se observa que en determinadas fechas (marcadas por cruces negras en la figura 5) que la correlación entre CE y NDVI alcanza valores inferiores a -0.5 que corresponden en su mayoría con el estiaje, cuando la salinidad afecta negativamente al desarrollo del cultivo.

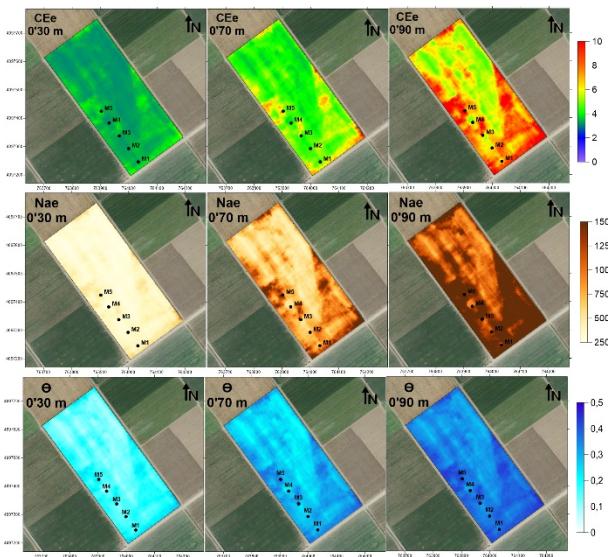


Fig. 4 - Mapas de CEe, Nae y humedad de suelo obtenidos a partir de las estimaciones de CE para las profundidades de 0,3, 0,7 y 0,9 metros.

Sin embargo, al finalizar el ciclo de cultivo y al comienzo del cultivo de 2021 se observa en ocasiones lo contrario, con correlaciones superiores a 0,5, posiblemente como resultado de la mayor humedad del suelo que beneficia el desarrollo del cultivo.

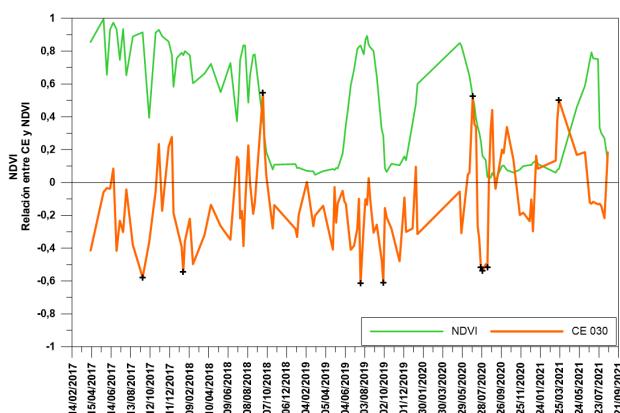


Fig. 5 - Evolución del NDVI y la correlación entre el NDVI y la CE a 0,3 metros desde 2017 hasta 2021

Conclusiones

El uso de sensores de IEM muestra un elevado potencial para realizar el seguimiento de la salinidad/sodicidad en los sistemas de marisma recuperada y proporcionan información para apoyar la toma de decisiones en el manejo de suelo y agua de precisión en este tipo de

entornos. Su combinación con imágenes de sensores remotos puede evaluar el posible impacto de las características del suelo en el desarrollo del cultivo. Futuros trabajos profundizarán en la mejora de las calibraciones teniendo en cuenta las variaciones de la textura y la humedad del suelo, explorando su dinámica espaciotemporal a escala de parcela.

Agradecimientos

Trabajo financiado por la Agencia Estatal de Investigación de España a través de los proyectos PID2019-104136RRC21 y PID2019-104136RR-C22, así como el contrato predoctoral PRE2020-095133 y por IFAPA / FEDER a través del proyecto AVA2019.018. Se agradece la colaboración de A.J. Salvatierra y del personal de Las Marismas de Lebrija C.S.A.

Referencias

- Ashraf, M., Shahzad, S.M., Imtiaz, M., Rizwan, M.S., 2018. Salinity effects on nitrogen metabolism in plants – focusing on the activities of nitrogen metabolizing enzymes: A review. *J. Plant Nutr.* 41:1065-1081.
- Doolittle, J.A., Brevik, E.C., 2014. The use of electromagnetic induction techniques in soils studies. *Geoderma*, 223-225, 33-45.
- Corwin, D.L., Scudiero, E., 2016. Field-Scale Apparent Soil Electrical Conductivity. *Methods Soil Analysis*, Vol 1, SSSA Book Ser. 5. SSSA, Madison, WI.
- Farzamian, M., Paz, M.C., Paz, A.M., Castanheira, N.L., Gonçalves, M.C., Monteiro Santos, F.A., Triantafyllis, J., 2019. Mapping soil salinity using electromagnetic conductivity imaging—A comparison of regional and location-specific calibrations. *Land Degrad. Dev.* 30, 3317.
- Gómez-Giráldez P.J., Aguilar C., Caño A.B., García-Moreno A., González-Dugo M.P., 2019. Remote sensing estimation of net primary production as monitoring indicator of holm oak savanna management. *Ecol. Indic.* 106, 105526.
- Gorelick N., Hancher M., Dixon M., Ilyushchenko S., Thau D., Moore R., 2017. Google Earth Engine: Planetary-scale geospatial analysis for everyone, *Remote Sens. Environ.*, 202, 18-27.
- Huang, S., Tang, L., Hupy, J.P. et al. A commentary review on the use of normalized difference vegetation index (NDVI) in the era of popular remote sensing. *J. For. Res.* 32, 1–6 (2021).
- Triantafyllis, J., Monteiro Santos, F.A., 2013. Electromagnetic conductivity imaging (EMCI) of soil using a DUALEM-421 and inversion modelling software (EM4Soil) *Geoderma*, 211, 28-38.

Estudio de las comunidades microbianas de suelos agrícolas orgánicos y convencionales lusitanos mediante análisis de ácidos grasos fosfolípidos

Study of microbial communities in Lusitanian organic and conventional agricultural soils by phospholipid fatty acid analysis

Soto Gómez, Diego^{1*}, Santás Miguel, Vanesa², Fernández Calviño, David²

¹ Departamento de Ingeniería Agronómica, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48, Cartagena, 30203, España

² Departamento de Biología Vegetal y Ciencia del Suelo, Facultad de Ciencias, Universidade de Vigo, As Lagoas s/n, Ourense, 32004, Spain

disoto@uvigo.es

Resumen

La comunidad microbiana de un suelo está condicionada por las condiciones del suelo y por el tipo de manejo que se hace del mismo. En este estudio se han analizado, mediante análisis de ácidos grasos fosfolípidos (PLFAs), las comunidades microbianas de varios suelos agrícolas, de la zona pedoclimática lusitana, bajo dos tipos de sistemas: convencional y orgánico. Los suelos orgánicos presentaron una mayor cantidad de PLFAs totales y asociados a bacterias y a hongos arbusculares micorrizicos. Observamos que las cantidades de estos ácidos grasos estaban relacionados con la cantidad de materia orgánica y de nitrógeno total del suelo. Por otro lado, en los suelos convencionales encontramos una mayor cantidad de ácidos grasos relacionados con ascomicetos y basidiomicetos y una mayor proporción hongos/bacterias. Esto está directamente correlacionado con una mayor proporción de macro-agregados (> 2 cm) e inversamente correlacionado con la cantidad de nitrógeno.

Palabras clave: PLFA, microbiología, edafología, hongos, bacterias.

Abstract

The microbial community of a soil is determined by the soil properties and by the type of soil management. In this study, the microbial communities of several agricultural soils in the Lusitanian pedoclimatic zone, under two management systems (conventional and organic), were characterized by phospholipid fatty acids (PLFAs) analysis. Organic soils showed a higher amount of total PLFAs and PLFAs associated with bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi. We observed that the amounts of these fatty acids were related to the amount of soil organic matter and total nitrogen. On the other hand, in conventional soils we found a higher amount of fatty acids related to ascomycetes and basidiomycetes and a higher fungi/bacteria ratio. This is directly correlated with a higher proportion of macro-aggregates (> 2 cm) and inversely correlated with the amount of nitrogen.

Keywords: PLFA, microbiology, soil science, fungi, bacteria.

Introducción

Los microorganismos presentes en el suelo participan en la descomposición de sustancias del suelo y en los ciclos de los nutrientes (Aislabie et al., 2013). A la hora de caracterizar las comunidades de microorganismos presentes en el suelo pueden emplearse técnicas como el análisis de los ácidos grasos fosfolípidos (PLFA), elementos presentes en las membranas celulares de casi todos los organismos del suelo, que se sintetizan en mayor medida durante etapas de crecimiento (Zelles, 1997; Zhang et al., 2019). A diferencia de lo que ocurre con los ácidos grasos neutros (NLFA), estos no están asociados al almacenamiento, por lo que no se suelen acumular en la materia orgánica edáfica (Bååth, 2003). Los PLFAs son, por lo tanto, buenos indicadores de la biomasa bacteriana presente en el suelo, pero además ofrecen información sobre la composición de esta biomasa. En la tabla 1 se pueden observar los ácidos grasos asociados con algunos importantes grupos de microorganismos (Joergensen, 2022).

Tabla 1: PLFAs presentes en los diferentes grupos

PLFAs	Microbianos Inespecíficos	14:0, 15:0, 16:0 ¹ , 17:0, 18:0, 20:0, 20:4ω6,9,12,15
PLFAs Bacterianos	G ⁺	Firmicutes i14:0, i15:0 ² , i16:0 ² , i17:0, i18, a15:0, a16:0, a17:0, a18:0, a19:0
		Actinobacterias 10Me16:0, 10Me17:0, 10Me18:0
	G ⁻	cy17:0, cy19:0, 16:1ω7, 16:1ω9, 17:1ω8, 18:1ω7
PLFAs Fúngicos	PLFAs Fúngicos Inespecíficos	18:3ω6,9,12 ¹
	AMF	16:1ω5c ²
	Zigomicetes	18:1ω9c ³
	Ascomicetes y Basidiomicetes	18:2ω6c ¹

microbianos (adaptado de Joergensen, 2022; Nichols et al., 1986; Zelles, 1997).

¹ Presentes también en plantas.

² Presentes también en G⁻.

³ Presente también en plantas y G⁻.

La estructura, distribución y composición de las comunidades microbianas

presentes en el suelo van a estar condicionada por características como son el pH, y la temperatura, pero también por factores relacionados con el tipo de manejo que se hace sobre ese suelo (Deslippe et al., 2005).

El objetivo de este trabajo es estudiar las diferencias entre las comunidades microbianas, caracterizadas mediante análisis de PLFAs, de suelos agrícolas de la zona pedoclimática lusitana, en los que se cultiva trigo empleando dos tipos de manejo diferentes: convencional y orgánico.

Material y métodos

Para la realización de este trabajo se tomaron muestras de diferentes campos dedicados al cultivo de trigo: 10 parcelas bajo un manejo convencional (en cinco zonas diferentes), y 13 bajo manejo orgánico (obtenidas en 6 localizaciones). Todas las parcelas se encontraban en la zona pedoclimática lusitana. En cada una de las parcelas se tomaron dos réplicas compuestas por cinco puntos de muestreo aleatorios.

A este suelo se le realizó una caracterización fisicoquímica, y se determinó: densidad aparente, textura, cantidad de materia orgánica, nitrógeno total, estabilidad de agregados, y cationes básicos, entre otras propiedades. Además, se analizaron los PLFAs mediante el método propuesto por Frostegard & Baath (1996), y se complementó la obtención de grupos de microorganismos usando el trabajo de Joergensen (2022).

Resultados y Discusión

En la Figura 1 presentamos un resumen de los resultados obtenidos para el análisis de los PLFAs. Se observa que existe una cantidad significativamente mayor de biomasa microbiana en los suelos dedicados a agricultura orgánica. Esto se mantiene también para las bacterias: tanto Gram negativas como positivas (firmicutes y actinobacterias). En los suelos de manejo orgánico también

existe una cantidad mayor de PLFAs microbianos inespecíficos. No obstante, si estudiamos las comunidades de hongos estas diferencias no están tan claras: si consideramos la cantidad total de PLFAs totales asociados a hongos podemos ver que no hay diferencias significativas considerando el tipo de manejo, y tampoco se observan diferencias significativas para el caso específico de los zigomicetos. Sin embargo, la tendencia que se observa para las bacterias es la misma que presentan las poblaciones de hongos micorrízicos arbusculares: la cantidad de estos es significativamente mayor en suelos agrícolas bajo un manejo orgánico. Por otro lado, los ascomicetos y basidiomicetos aparecen en mayor cantidad en los suelos de agricultura convencional. Con estos resultados, observamos también que la proporción de hongos/bacterias es significativamente menor en el caso de los cultivos de agricultura orgánica: 0.34 ± 0.01 en convencional, frente a 0.22 ± 0.02 en orgánico.

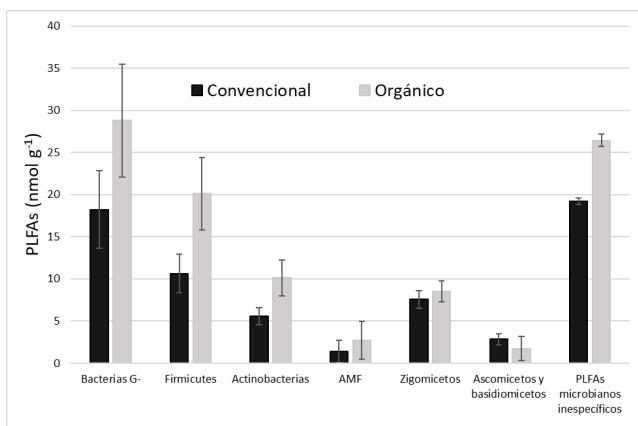


Figura 1. Cantidad de PLFAs (en nmol g⁻¹) en los dos tipos de manejo considerados: convencional (negro) y orgánico (gris). Las barras representan el error estándar.

Los resultados obtenidos tanto para la biomasa total como para la cantidad de PLFAs bacterianos concuerdan con los observados por Stagnari et al. (2014) en un clima mediterráneo. En este trabajo, al igual que en nuestro estudio, los suelos bajo un manejo orgánico presentan una mayor cantidad de materia orgánica y nitrógeno total, lo que favorece el desarrollo de las comunidades

bacterianas, y se traduce en una mayor cantidad de PLFAs totales (Kandeler et al., 1999). En nuestro caso, la materia orgánica total está correlacionada tanto con los PLFAs totales ($R = 0.72$), como con los procedentes de los diferentes grupos de bacterias: Gram negativo ($R = 0.79$), firmicutes ($R = 0.70$) y actinobacterias ($R = 0.67$).

Únicamente la cantidad de PLFAs relacionados con ascomicetos y basidiomicetos aparecen en una cantidad significativamente mayor en el manejo convencional. En un trabajo anterior (Kong et al., 2011) se ha observado que la cantidad de PLFAs asociados con hongos es mayor en los micro-agregados del suelo (entre 53 y 250 µm). En nuestro trabajo hemos encontrado dos correlaciones significativas que incluyen la proporción de macro-agregados (> 2000 µm): la primera con la cantidad de PLFAs de ascomicetos y basidiomicetos ($R = 0.63$), y la segunda con la relación PLFAs de hongos/bacterias ($R = 0.70$). Esto sugiere que el interior de los agregados es un hábitat mejor para la actividad fúngica. Y es importante mencionar que la proporción de este tipo de agregados es mucho mayor (del orden de 20 veces mayor) en los suelos convencionales.

Por lo tanto, es importante considerar que la relación de los PLFAs de hongos/bacterias es menor en los suelos bajo manejo orgánico, lo que puede deberse a una mayor cantidad de nitrógeno que en los suelos convencionales. Esta proporción (hongos/bacterias) suele estar inversamente relacionada con la cantidad de nitrógeno del suelo (Kong et al., 2011), algo que se cumple para nuestro trabajo ($R = -0.56$).

Conclusiones

Al estudiar, mediante análisis de PLFAs, las comunidades microbianas de suelos de la región pedoclimática lusitana bajo manejo convencional y orgánico, podemos concluir que: i) por un lado, los suelos bajo manejo orgánico presentan una cantidad significativamente mayor de PLFAs microbianos totales y relacionados con

grupos de bacterias (gram positivo y negativo) y hongos arbusculares micorrízicos, y estos están directamente correlacionados con la materia orgánica y el nitrógeno total; ii) los suelos convencionales presentan una cantidad significativamente mayor de PLFAs de hongos ascomicetos y basidiomicetos, correlacionados con la proporción de agregados mayores de 2 cm; y iii) la proporción PLFAs de hongos/bacterias es significativamente menor en los suelos orgánicos, y está directamente correlacionada con la proporción de agregados mayores de 2 cm, e inversamente correlacionada con la cantidad de nitrógeno total.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Comisión Económica Europea, por el Proyecto SoildiverAgro del Horizonte 2020 [acuerdo de subvención 817819].

Referencias bibliográficas

- Aislabie, J., Deslippe, J. R., & Dymond, J. R. (2013). Soil microbes and their contribution to soil services. *Ecosystem Services in New Zealand - Conditions and Trends*, Figure 2.
- Bååth, E. (2003). The use of neutral lipid fatty acids to indicate the physiological conditions of soil fungi. *Microbial Ecology*. <https://doi.org/10.1007/s00248-003-2002-y>
- Deslippe, J. R., Egger, K. N., & Henry, G. H. R. (2005). Impacts of warming and fertilization on nitrogen-fixing microbial communities in the Canadian High Arctic. *FEMS Microbiology Ecology*, 53(1). <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.12.002>
- Frostegard, A., & Baath, E. (1996). The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 22(1–2), 59–65. <https://doi.org/10.1007/BF00384433>
- Joergensen, R. G. (2022). Phospholipid fatty acids in soil—drawbacks and future prospects. *Biology and Fertility of Soils*, 58(1). <https://doi.org/10.1007/s00374-021-01613-w>
- 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(2). [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(98\)00115-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(98)00115-1)
- Kong, A. Y. Y., Scow, K. M., Córdova-Kreylos, A. L., Holmes, W. E., & Six, J. (2011). Microbial community composition and carbon cycling within soil microenvironments of conventional, low-input, and organic cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(1). <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.09.005>
- Nichols, P., Stulp, B. K., Jones, J. G., & White, D. C. (1986). Comparison of fatty acid content and DNA homology of the filamentous gliding bacteria *Vitreoscilla*, *Flexibacter*, *Filibacter*. *Archives of Microbiology*, 146(1). <https://doi.org/10.1007/BF00690149>
- Stagnari, F., Perpetuini, G., Tofalo, R., Campanelli, G., Leteo, F., Vella, U. Della, Schirone, M., Suzzi, G., & Pisante, M. (2014). Long-term impact of farm management and crops on soil microorganisms assessed by combined DGGE and PLFA analyses. *Frontiers in Microbiology*, 5(DEC). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00644>
- Zelles, L. (1997). Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere*, 35(1–2). [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00155-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00155-0)
- Zhang, Y., Zheng, N., Wang, J., Yao, H., Qiu, Q., & Chapman, S. J. (2019). High turnover rate of free phospholipids in soil confirms the classic hypothesis of PLFA methodology. *Soil Biology and Biochemistry*, 135. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.023>

Estudio de la influencia del uso del suelo en las relaciones entre variables físico-químicas a través de análisis de redes

Study of the influence of soil use on the relationships between physical-chemical variables through network analysis

Martín-Sanz, Juan Pedro^{1*}; Valverde-Asenjo, Inmaculada¹; de Santiago-Martín, Ana²; Quintana-Nieto, José Ramón¹; González-Huecas, Concepción¹; López-Lafuente, Antonio¹

¹ Departamento de Química en Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040-Madrid, España,

² Instituto IMDEA Agua, Avda. Punto Com, 2, 28805 Alcalá de Henares, Madrid, España.

* juanpmar@ucm.es

Resumen

El ser humano al emplear el suelo modifica paulatinamente sus propiedades lo que puede producir la pérdida o reducción de la salud del suelo. El objetivo de este trabajo fue analizar si diferentes usos del suelo producen diferencias en las relaciones de un set de 24 variables físico-químicas. La zona de estudio se situó al sureste de Madrid (España) en la que se muestrearon 10 puntos en los que los tres usos principales del suelo (cereal, olivar y natural) se encontraban colindantes. Las relaciones entre las variables físico-químicas para cada uso se determinaron por las correlaciones bivariadas de Spearman ($P<0,05$). El estudio de estas relaciones se llevó a cabo mediante técnicas de análisis de redes. El uso del suelo influyó en las relaciones entre las variables analizadas. Los suelos agrícolas, especialmente los de cereal, tuvieron una menor y peor cantidad de correlaciones. Los suelos agrícolas tuvieron una mayor tendencia a formar módulos independientes entre sí, lo que indicaría una menor resiliencia de estos suelos. Las variables físico-químicas más importantes cambiaron entre usos: relacionadas con la materia orgánica en la red del uso natural y relacionadas con distintos coloides inorgánicos en los usos agrícolas.

Palabras clave: uso del suelo, salud del suelo, correlaciones, análisis de redes, propiedades físico-químicas

Abstract

The human being when using the soil gradually modifies its properties which can cause the loss or reduction of the health of the soil. The objective of this work was to analyse whether different land uses produce differences in the relationships of a set of 24 physical-chemical variables. The study area was located southeast of Madrid (Spain) in which 10 points were sampled where the three main soil uses (cereal, olive grove and natural) were adjacent. The relationships between the physical-chemical variables for each use were determined by Spearman's bivariate correlations ($P<0.05$). The study of these relationships was carried out using network analysis techniques. Soil use influenced the relationships between the variables analysed. Agricultural soils, especially cereal soils, had fewer and worse number of correlations. Agricultural soils had a greater tendency to form modules independent of each other, which would indicate a lower resilience of these soils. The most important physical-chemical variables changed between uses: related to organic matter in the network of natural use and related to different inorganic colloids in agricultural uses.

Keywords: soil use, soil health, correlations, network analysis, physico-chemical properties

Introducción

En 1941, en su libro "Factors of Soil Formation: A System of Quantitative Pedology" Jenny define el suelo como un sistema abierto que se encontraría definido cuando se conocieran todas sus propiedades y las relaciones existentes entre ellas, un cambio en alguna propiedad propiciaría cambios en otras propiedades llegando a generar suelos diferentes (Jenny, 1941). El ser humano en su aprovechamiento del suelo produce continuamente variaciones en las propiedades del suelo: variaciones en los ciclos biogeoquímicos (C, N, P, etc.), reducción de población microbiana, introducción de metales pesados como elementos traza de fertilizantes, aumento de la densidad a causa de la maquinaria, etc. Estas variaciones continuadas en el tiempo implican la diferenciación entre la forma de relacionarse las distintas variables en suelos agrícolas respecto a sus contrapartes naturales, es decir que aquellos suelos con unos factores formadores similares pero con una menor influencia antropogénica.

La Comisión Europea en su documento "Caring for soil is caring for life - Ensure 75% of soils are healthy by 2030 for healthy food, people, nature and climate" (Veerman et al., 2020) plantea la misión de conseguir para el 2030 que al menos el 75 % de todos los suelos de los estados miembros de la Unión Europea sean sanos y capaces de proporcionar los servicios esenciales que dependen de ellos.

En este sentido, en este trabajo proponemos la posibilidad de estudiar la influencia del ser humano en los suelos no solamente en términos absolutos en cada variable analizada sino a través de las interrelaciones existentes y su modificación antropogénica. El objetivo de esta investigación es analizar si diferentes usos del suelo producen diferencias en la manera que tienen de relacionarse entre sí un set de variables físico-químicas. Creemos que el uso agrícola reduce la cantidad de correlaciones entre las variables de este tipo, lo que podría afectar a la funcionalidad y salud de estos suelos.

Material y métodos

La zona de estudio se situó al suroeste de la ciudad de Madrid (España), se muestraron un total de 10 puntos en los que se recogieron muestras de los tres usos principales del suelo: cereal (centeno y trigo), olivar y natural. Los puntos de muestreo se seleccionaron de forma que los tres usos fueran colindantes para minimizar las diferencias en los factores de formación del suelo ajenas a la influencia antrópica, perteneciendo al grupo de luvisoles. En todas las muestras se analizaron 24 propiedades físico-químicas del suelo: humedad a capacidad de campo (WHC), densidad aparente (BD), pH, conductividad eléctrica (EC), contenido en carbonato equivalente (CaCO_3), nitrógeno total (TN), carbono orgánico total (TOC), fósforo disponible (Pav), cloruro, nitrito, nitrato, sulfato y amonio solubles (Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-} y NH_4^+ respectivamente), porcentaje de arenas (Sand), limos (Silt) y arcillas (clay), óxidos de Fe y Mn amorfos (FeA y MnA), óxidos de Fe y Mn cristalinos (FeX, MnX), carbono y nitrógeno solubles en frío (Ccw, Ncw) y solubles en caliente (Chw, Nhw).

El análisis de las relaciones entre variables se realizó a través de análisis de redes. Este tipo de análisis parte de la representación gráfica (denominada grafo o red) de las variables en forma de puntos o círculos denominados nodos y de las relaciones existentes entre ellas mediante líneas denominadas aristas. En este estudio las relaciones entre variables se generaron a partir de las correlaciones bivariadas de Spearman ($P < 0.05$). Se llevaron a cabo 10 redes por uso, generadas a partir de la exclusión de un suelo de estudio en cada una de ellas, de esta manera se consiguieron diez redes distintas para cada uso lo que permitió su análisis estadístico.

Para la comparación de las redes obtenidas se utilizó la U de Mann-Whitney sobre las siguientes métricas (Cherven, 2013): i) el número de nodos, es decir, el número de variables que muestran al menos una correlación, ii) el número de aristas, es decir, el número de correlaciones, iii) grado medio, el número

medio de correlaciones que tiene una variable, iv) grado medio ponderado, el número medio de correlaciones que tiene una variable ponderada por su coeficiente de correlación, v) diámetro de la red, es la distancia máxima entre dos variables de la red, vi) densidad, es el número de correlaciones existentes con respecto al total posible, vii) modularidad, es una función que cuando se maximiza indica si las variables de la red forman grupos de variables o no, valores de esta función cercanos a cero indican que los nodos de la red forman un solo grupo, viii) transitividad, que es la probabilidad de que dos variables estén correlacionadas con una tercera, ix) componentes conexos, es decir, la cantidad de grupos de nodos diferenciados existen, y x) longitud media del camino, es la distancia media entre cualquier dos variables de la red. En el estudio de las redes, su representación y la obtención de las métricas de red se empleó el software Gephi 0.9.2, para los análisis estadísticos el software SPSS 23.

Resultados y discusión

En este estudio se ha analizado si el uso del suelo influye en las relaciones que existen entre un set de variables físico-químicas. Con este fin se ha llevado a cabo un análisis de las redes generadas a partir de las correlaciones bivariadas de Spearman ($P<0,05$) en dos usos agrícolas (cereal y olivar) comparándolos con suelos naturales.

El análisis de las métricas de las redes generadas mostró la influencia del uso en las relaciones entre las variables físico-químicas analizadas. Las redes de suelos naturales tuvieron la mayor cantidad de nodos, la mayor cantidad de aristas, el mayor grado medio y el mayor grado medio con pesos. Estos resultados indicaron que las variables analizadas en los suelos naturales se encuentran más relacionadas entre sí que en los suelos agrícolas, es decir, el uso del suelo se ha visto reflejado en las relaciones entre las variables. Las redes de suelos de cereal tuvieron un mayor valor de modularidad. Esto implica que las variables físico-químicas de los suelos de cereal forman módulos, lo que

conferiría a estos suelos una menor capacidad de resiliencia (Kharrazi, Yu, Jacob, Vora, & Fath, 2020).

Tabla 1 – Medias y desviación típica de las métricas de red de las redes parciales, N=10 salvo Modularidad-Cereal N=8, distintas letras implican diferencias significativas entre usos según U-Mann-Whitney con un p-valor corregido $<0,017$.

Métricas de red	Cereal	Olivar	Natural
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
Nodos	18±1,2 c	20,5±0,97 b	21,7±0,82 a
Aristas	18,4±3,6 c	27,3±3,83 b	52,3±8,87 a
Grado medio	2,04±0,32 c	2,66±0,34 b	4,83±0,89 a
Grado medio con pesos	0,15±0,14 c	0,91±0,23 b	1,44±0,42 a
Diámetro	4,8±1,14 b	8,3±0,95 a	5,9±1,45 b
Densidad	0,12±0,02 b	0,14±0,02 b	0,23±0,05 a
Modularidad	1,87±0,26 a	1,16±0,29 b	0,45±0,20 c
Clustering	0,38±0,12 b	0,38±0,13 b	0,62±0,11 a
Comp. conexos	3,5±0,85 a	1,5±0,71 b	1,9±0,57 b
Longitud media de camino	2,25±0,35 b	3,50±0,29 a	2,32±0,43 b

En la red de suelos naturales (Fig.1) las principales variables fueron el carbono y el nitrógeno, tanto totales (TN y TOC) como solubles (Ncw, Nhw, NH4+), y entre los coloides inorgánicos primó el papel de los óxidos amorfos tanto de Mn como de Fe (MnA y FeA). La mayor cantidad de nodos de esta red y sus valores altos de centralidad de eigenvector implicarían que varios nodos fueron importantes, lo que proporcionaría una mayor estabilidad a la red. En cambio, a causa de sus bajas concentraciones en materia orgánica, en las redes de los suelos agrícolas (Fig.1) las variables principales fueron los coloides inorgánicos, olivar el porcentaje en arcillas y los FeA, mientras que en el uso cereal los óxidos cristalinos de Fe, contenido soluble de nitratos (NO₃⁻) y el nitrógeno soluble en frío (Ncw), diferenciándose como principales en el uso.

Este estudio se llevó a cabo con suelos de distintos puntos pero que compartían un mismo grupo (luvisoles). Sin embargo, esta metodología podría emplearse en escala

de parcela tomando un número suficiente de muestras para establecer las correlaciones. Esto permitiría realizar comparativas temporales de cómo evolucionan las variables en una misma parcela o comparar dicha parcela con otras que tengan un manejo agrícola distinto (por ejemplo, entre la agricultura convencional y la agricultura de conservación).

Conclusiones

El análisis de redes permitió estudiar la influencia del uso agrícola (cultivos de cereal y olivar) en las relaciones que existen entre variables físico-químicas. El uso agrícola generó la disminución de las relaciones entre variables físico-químicas. Los suelos naturales, al tener una menor carga antropogénica, tuvieron una mayor cantidad de correlaciones y estas correlaciones un mayor coeficiente de correlación. La morfología de la red de los suelos naturales indicaría una mayor capacidad de resiliencia de esos suelos, mientras que la de los suelos agrícolas sería menor.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Comunidad de Madrid a través del Programa I+D CARESOIL (Ref.P2018/EMT4317) y financiado por la Unión Europea-NextGenerationEU a través del Ministerio de Universidades y de la convocatoria CT31/21 de la UCM.

Referencias bibliográficas

- Cherven, K. (2013). Network graph analysis and visualization with Gephi.
- Jenny, H. (1941). Factors of Soil Formation: A System of Quantitative Pedology. New York: McGraw-Hill Book Company.
- Kharrazi, A., Yu, Y., Jacob, A., Vora, N., & Fath, B. D. (2020). Redundancy, Diversity, and Modularity in Network Resilience: Applications for International Trade and Implications for Public Policy. Current Research in Environmental Sustainability, 2, 100006.

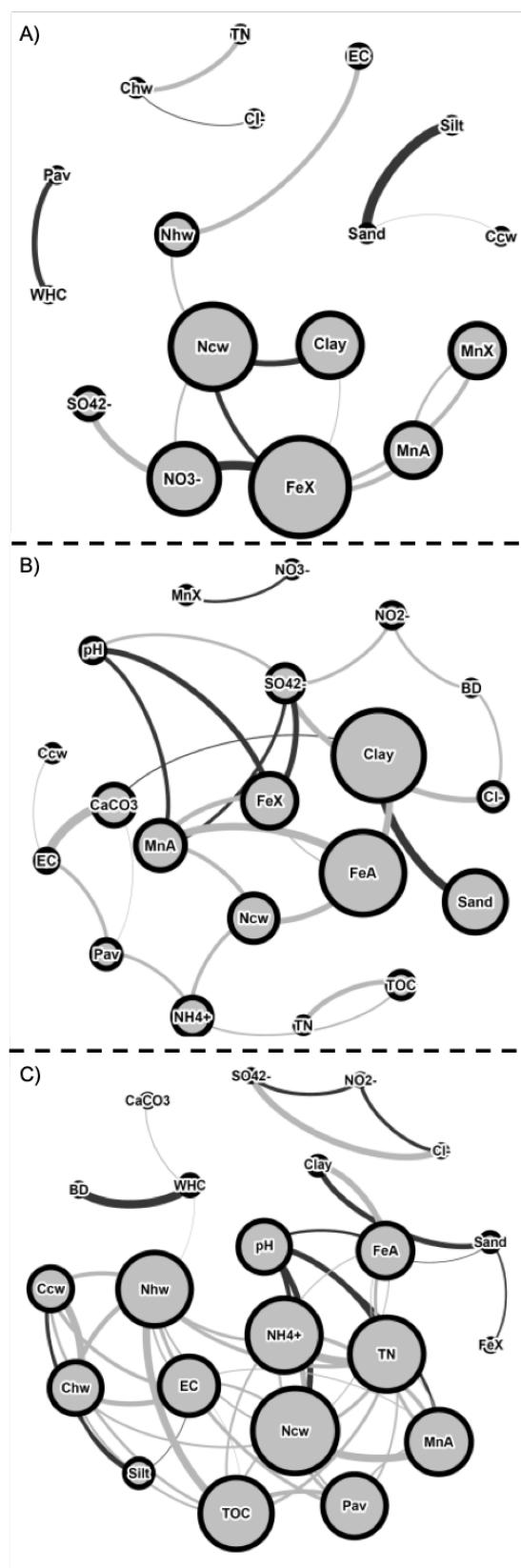


Fig. 1 – Grafos de las redes de los suelos de cereal (A), olivar (B) y natural (C). El diámetro de los nodos es proporcional a su centralidad de eigenvector. Las aristas claras son correlaciones positivas y las oscuras negativas, el grosor el porproporcional al coeficiente de correlación.

Características Edáficas das Áreas de Olival do Nordeste de Portugal: abordagem baseada em cartografia de solos e ocupação do solo

Edaphic Characteristics of Olive-growing Areas in Northeast Portugal: an approach based on soil and land use maps

Viana dos Santos, Renecleide^{1,2*}; Fonseca, Felícia¹; Royer, Ana Caroline^{1,2}; Hernandez, Zulimar³; Baptista, Paula¹; Figueiredo, Tomás de¹

¹ Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança (IPB). Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

² Universidade da Coruña, Grupo AQUATERRA, Centro de Investigacións Científicas Avanzadas (CICA), Rúa As Carballeiras, 15071, A Coruña, España

³ Ambiente de Montanha e Gestão de Ecossistemas, MORE CoLab - Laboratorio Colaborativo Montanhas de Investigação, Edifício Brigantia Ecopark, Av. Cidade de Léon 506, 5300-358 Bragança, Portugal

*renecleide@ipb.pt

Resumo

A oliveira é atualmente a cultura que ocupa a maior superfície agrícola em Portugal e a exploração dos seus frutos reveste-se de grande importância socioeconómica. Existe pouca informação disponível sobre as condições edáficas em áreas cultivadas com olivais no Nordeste de Portugal e como elas exercem influência na distribuição e desenvolvimento da cultura. Dessa forma, este estudo visa contribuir com a atualização da informação existente através da identificação das principais características edafoclimáticas das áreas olivícolas na Região. A informação de base para o estudo incluiu como fontes principais a Carta dos Solos e da Aptidão da Terra do NE Portugal, a Carta de Uso e Ocupação do Solo e a Carta Administrativa Oficial de Portugal. O olival cobre aproximadamente 105 mil ha no NE de Portugal e é a cultura que ocupa a maior área agrícola da Região. Os solos sob olivais são geralmente pouco profundos, pedregosos, ácidos e pobres em matéria orgânica, grande parte situando-se em terrenos declivosos. As oliveiras estão bem-adaptadas aos condicionalismos edafoclimáticos regionais, mas é necessário implementar práticas alternativas que promovam uma melhor gestão dos pomares, para o que é importante aprofundar o conhecimento dos solos das áreas de olival.

Palavras-chave: distribuição espacial do olival, limitações ao uso da terra, aptidão da terra, Mediterrâneo

Abstract

The olive tree is currently the crop that occupies the largest agricultural area in Portugal and the exploitation of its fruits is of great socio-economic importance. There is little information available on edaphic conditions in areas cultivated with olive groves in Northeast Portugal and how they influence the distribution and development of the crop. Thus, this study aims to contribute to the updating of existing information through the identification of the main soil and climate characteristics of the olive growing areas in the Region. The basic information for the study included as main sources the Land Aptitude Charter of NE Portugal, the Land Use and Occupation Charter and the Official Administrative Charter of Portugal. The olive grove covers approximately 105 thousand ha in NE Portugal and is the crop that occupies the largest agricultural area in the Region. Soils under olive groves are generally shallow, stony, acidic and poor in organic matter, most of which are located on sloping terrain. Olive trees are well adapted to regional soil and climate conditions, but it is necessary to implement alternative practices that promote better management of orchards, for which it is important to deepen knowledge of the soils of olive groves.

Keywords: spatial distribution of olive groves, land use limitations, land suitability, Mediterranean

Introdução

A oliveira é atualmente a cultura que ocupa a segunda maior superfície agrícola em Portugal (379 mil hectares em 2020) (INE, 2021). Os primeiros registos de cultivo da oliveira na Região de Trás-os-Montes (Nordeste de Portugal) datam dos fins do século XVI (Oliveira et al. 2020), sendo que a ascensão e estabelecimento dos olivais começou em meados do século XIX (Reis, 2014) e, desde então, a importância socioeconómica da cultura tem sempre aumentado. Atualmente o Nordeste tem uma participação de 28% na área agrícola total portuguesa destinada ao cultivo da oliveira.

Existe pouca informação disponível sobre as condições edáficas em áreas cultivadas com olivais no Nordeste (NE) de Portugal e como elas exercem influência na distribuição e desenvolvimento da cultura. Dessa forma, este estudo visa contribuir com a atualização da informação existente através da identificação das principais características edafoclimáticas das áreas olivícolas na Região.

Material e métodos

A informação de base para o estudo incluiu como fontes principais a Carta dos Solos e da Aptidão da Terra do NE Portugal (Agroconsultores & Coba, 1991; Araújo et al., 2004), a Carta de Uso e Ocupação do Solo (COS) de Portugal Continental para 2018 (DGT, 2019) e a Carta Administrativa Oficial de Portugal (CAOP) versão 2020, sendo toda a informação recortada pelos limites regionais.

Os dados obtidos foram em boa parte condicionados pelos limites da informação contida em Agroconsultores & Coba (1991) que segue o sistema FAO/UNESCO (1988). Trata-se de cartas à escala 1:100 000, cujas unidades cartográficas de solos são definidas como associações de unidades pedológicas, compostas por de uma a três dominantes e de uma a três subdominantes, ocorrendo em zonas caracterizadas por uma combinação específica de fatores pedogenéticos: clima, litologia e características do material originário dos solos, relevo e declive, presença de obstáculos e uso da terra

dominante. A COS 2018 (DGT, 2019) descreve os principais tipos de ocupação/uso do solo e sua proporção em níveis e classes hierárquicas, sendo para este estudo utilizado o nível de maior detalhe (4) para a representação dos olivais (classe 2.2.3.1). A CAOP disponibiliza os limites oficiais de Distrito, Concelho e Freguesia a nível de País.

A informação de base foi tratada em ambiente SIG com as ferramentas do ArcGIS@ESRI, a partir das tabelas de atributos de cada carta e das suas sobreposições. Os dados obtidos foram analisados com auxílio da ferramenta tabela dinâmica no Excel.

Resultados e discussão

O olival cobre aproximadamente 105 mil ha no NE de Portugal (cerca de 7% do território) e é a cultura que ocupa a maior área agrícola da Região (21%). Dos Concelhos que compõem a Região, 90% apresentam alguma área destinada ao cultivo de oliveiras em menor ou maior extensão, sendo a maior percentagem de superfície afetada por oliveiras situada na zona central de Trás-os-Montes (Mirandela, Macedo de Cavaleiros, Valpaços, Alfândega da Fé e Vila Flor), responsáveis por 55% da área agrícola com olivais e ao longo do rio Douro (Mogadouro, Torre de Moncorvo e Vila Nova de Foz Côa) com uma participação de 17% do total regional (Fig. 1).

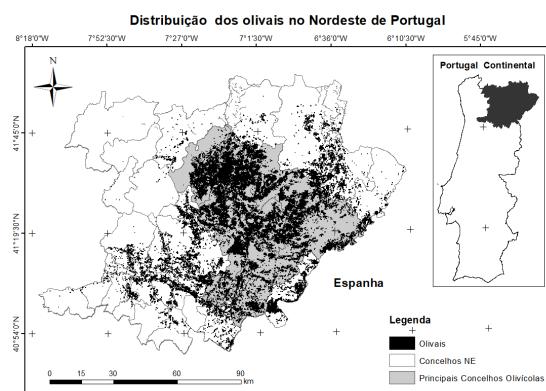


Fig. 1 – Esboço cartográfico da Distribuição dos olivais no NE de Portugal. Os Concelhos coloridos em cinzento (Mirandela, Macedo de Cavaleiros, Valpaços, Alfândega da Fé, Vila Flor, Mogadouro, Torre de Moncorvo e Vila Nova de Foz Côa) são os de maior contributo para a área olívcola regional.

Os olivais concentram-se na zona climática mais seca “Terra Quente” ($T > 14^{\circ}\text{C}$, $P <$

600mm, < 400m de altitude). As oliveiras são mais raras nas faixas noroeste e nordeste da “Terra Fria” ($T < 12,5^{\circ}\text{C}$, >700m de altitude), informação que está de acordo com a encontrada em Figueiredo (2002) e em Figueiredo et al. (2015) quando tratou, respetivamente, das características edáficas dos olivais em Trás-os-Montes e do índice de aridez para medir a suscetibilidade dos solos do NE de Portugal à desertificação.

Alguns Concelhos como Vila Pouca de Aguiar, Figueira de Castelo Rodrigo, Freixo de Espada À Cinta e São João da Pesqueira destinam percentagens de áreas consideráveis para cultivo de oliveiras, que abrangem respetivamente 36%, 22%, 11% e 11% da sua área total. Todavia, dentro do panorama da Região, as suas contribuições somam apenas 7% do total.

Os Leptossolos representam 80% da área sob olivais no NE, sendo as unidades secundárias êutrica (40%) e dístrica (38%) as mais representadas. Em relação à litologia, a maior parte dos Leptossolos deriva de xistos, a que se seguem as rochas básicas e granitos. Em seguida, tem-se os Antrossolos áricos que ocupam aproximadamente 11% da área (8% dístricos e 3% êutricos) e são desenvolvidos a partir de xistos e granitos. Os Cambissolos ocupam 7% da área, sendo quase em totalidade dístricos (6%) e a maioria deriva de granitos (Fig. 2).

Na sua maioria os solos são delgados, devido à dominância dos Leptossolos, com espessura útil < 50cm. Uma parte significativa corresponde a solos originalmente delgados, aprofundados por operações de preparação do terreno para a plantação (Antrossolos). As unidades secundárias dístricas dominam mais de metade da área, evidenciando que os solos são em sua maioria ácidos ou muito ácidos e pobres em matéria orgânica. Uma parte significativa das unidades secundárias são êutricas (44%) indicando solos com grau de saturação de bases $\geq 50\%$ e de reação subácida e neutra. Na sua maior parte, o material originário é constituído por xistos e rochas afins (Fig. 2).

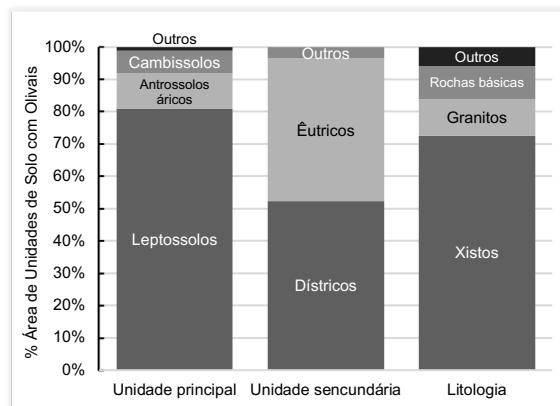


Fig. 2 – Distribuição das Unidades Solo sob olival (% área olívcola regional) de acordo com Unidade Principal e Secundária (FAO/UNESCO, 1988), e Litologia.

A maioria da área olívcola apresenta aptidão para a agricultura marginal (57%) e nula (34%), sendo apenas 2% das terras consideradas adequadas para uso agrícola e 7% estão condicionadas a investimentos antes da instalação dos olivais. Os principais fatores limitantes que explicam a classificação da aptidão da terra nas áreas de olival são a diminuta profundidade dos solos, a elevada pedregosidade, o domínio da reação ácida, e a evidente carência de água no solo durante parte do ano (Fig. 3).

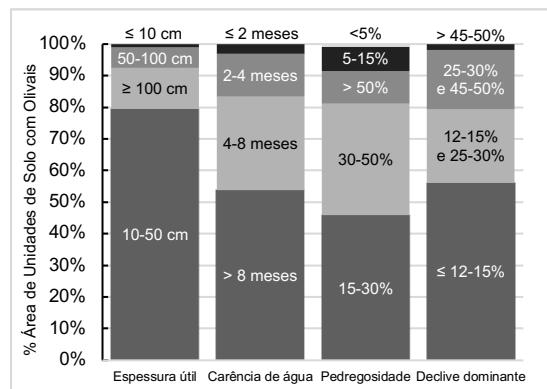


Fig. 3 – Distribuição de Unidades Solo sob olival (% área olívcola regional) de acordo com Espessura útil, Carência de água, Pedregosidade do solo e Declive do terreno.

Tais elementos caracterizadores dos solos olívcolas corroboram com os observados por Figueiredo (2013) em seu trabalho sobre os recursos pedológicos do Nordeste Transmontano, onde os indicadores de aptidão do solo evidenciam limitada espessura útil, elevada carência de água no solo e elevada pedregosidade.

Em relação a carência de água, foi observado que os solos sob o cultivo de oliveiras no NE apresentam maior período

de défice hídrico (> 8 meses em 54%) em relação ao total dos solos sob uso agrícola na mesma Região (27%), como assinalado por Figueiredo (2013), informação que evidencia como o recurso água é ainda mais limitante para a primeira situação. Da mesma forma, em extensão considerável a área olivícola regional, a pedregosidade do solo é elevada (30-50% em 35% da área) e muito elevada ($> 50\%$ em 10%). No conjunto do NE, estas percentagens são substancialmente menores (respectivamente, 19 e 4%).

Embora o plantio da oliveira seja realizado predominantemente em declives inferiores a 12/15%, os olivais também se encontram frequentemente em encostas mais declivosas (12/15% - 25/30% em 23% dos casos e $> 25/30\%$ em 20%). Um fator que pode diminuir o risco de erosão associado a estes declives é a elevada pedregosidade. No caso dos olivais do NE, a percentagem de elementos grosseiros é superior a 30% em 45% da área, o que sugere a proteção da superfície do solo contra perdas por erosão. Em contrapartida, estes dois fatores condicionam a trafegabilidade e as operações mecanizadas da cultura (Figueiredo et al., 2002).

Conclusões

Os olivais são um elemento caracterizador da paisagem e com grande importância para o desenvolvimento socioeconómico do Nordeste Transmontano. A sua distribuição e densidade concentram-se nas zonas climáticas mais secas e quentes, onde o caráter Mediterrâneo é mais marcante.

Os solos sob olivais são na sua maioria pouco profundos, pedregosos, ácidos e pobres em matéria orgânica. A cultura ocupa em grande parte terrenos declivosos.

Globalmente, as terras com olivais foram classificadas com aptidão marginal ou nula para a agricultura. No entanto, as oliveiras apresentam boa adaptação aos parâmetros edafoclimáticos regionais, com expressivas produções de azeites regionais de boa qualidade. Condição que indica a necessidade de adequação e

contextualização dos parâmetros utilizados na definição das limitações ao uso da terra pelo olival, de forma a trazer informações que melhor traduzam o observável no terreno.

As oliveiras estão bem-adaptadas aos condicionalismos edafoclimáticos regionais, mas é necessário implementar práticas alternativas que promovam uma melhor gestão dos pomares, para o que é importante aprofundar o conhecimento dos solos das áreas de olival.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao projeto “Man4Health - New management strategies in olive groves for improving soil health and crop yield”, NORTE-01-0145-FEDER-000060 pelo suporte a este trabalho.

Referências bibliográficas

- Agroconsultores & Coba. (1991). *Carta dos Solos, Carta do Uso Actual da Terra e Carta da Aptidão da Terra do Nordeste de Portugal*. Vila Real: PDRITM / IUTAD.
- Araújo, J., Figueiredo, T., & Castro, J. (2004). Sistema de Informação Geográfico da Carta de Solos do Nordeste de Portugal. *Congresso Ibérico da Ciência do Solo*, (p. 147). Bragança, Portugal.
- Direção Geral do Território (DGT). (2019). *Especificações técnicas da Carta de Uso e Ocupação do Solo (COS) de Portugal Continental para 2018*. Relatório Técnico.
- FAO/UNESCO. (1988). *Soil Map of the World, revised legend*. World Soil Resources Report 60. Rome: FAO.
- Figueiredo, Tomás de. (2013). *Uma panorâmica sobre os recursos pedológicos do Nordeste Transmontano*. Bragança: Escola Superior Agrária. (Série Estudos 84).
- Figueiredo, T., Nunes, L., & Fonseca, F. (2015). Os solos e a suscetibilidade à desertificação no NE de Portugal. Em *Proteção do solo e Combate à Desertificação: oportunidade para as regiões transfronteiriças* (pp. 87-100). Bragança, Portugal.
- Figueiredo, T., Almeida, A., & Araújo, J. (2002). Edaphic Characteristics of Olive-Tree Areas in the Trás-Os-Montes Region (Portugal): A Map-Based Approach. *Acta Hort.* (586), 151-154.
- INE. (2021). *Estatísticas Agrícolas-2020*. Lisboa: Instituto Nacional de Estatística.
- Oliveira, E., Galhano, F., & Pereira, B. (2020). *Alfaias agrícola portuguesa*. Lisboa: Editora Etnográfica Press. Coleção: Portugal de Perto.
- Reis, P. (2014). *O olival em Portugal: Dinâmicas, tecnologias e relação com o desenvolvimento rural*. Lisboa: ANIMAR; ISA e INIAV, I.P.

Application of electromagnetic induction and inversion modelling for 3D mapping of soil texture

Aplicação de indução eletromagnética e modelação inversa para o mapeamento 3D da textura do solo

Farzamian, M.^{1*}, Paz, A.¹, Castanheira, N.¹, Ramos, T.², Martinez Moreno, F.³, Rodríguez, M.⁴, Monteiro Santos, F.³, Alexandre, C.⁵, Vanderlinden, K.⁴, Gonçalves, M.C¹.

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV), Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal

² Instituto Superior Técnico, Centro de Ciência e Tecnologia do Ambiente e do Mar, Universidade de Lisboa, Av. Rovisco Pais, 1, 1049-001 Lisboa, Portugal

³ Instituto Dom Luiz (IDL), Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749–016, Lisboa, Portugal

⁴ IFAPA Centro Alameda del Obispo, Córdoba, Spain

⁵ Dept. de Geociências e MED, Universidade de Évora, apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal

*mohammad.farzamian@iniav.pt

Abstract

Using a DUALEM21 sensor, we conducted electromagnetic induction (EMI) surveys in an agricultural field in the Roxo irrigation perimeter in Alentejo, Portugal, to evaluate the potential of using this technique for 3D mapping of soil texture. We first processed apparent electrical conductivity data (EC_a) and then used a Quasi-3D inversion algorithm in order to obtain 3D electromagnetic conductivity images (EMCI) of the actual bulk soil electrical conductivity (EC). This is because the EC_a is a depth-weighted, average conductivity measurement and does not represent the actual EC variation with depth. Afterward, we evaluated the possibility of establishing a linear regression (LR) relationship between EC and soil texture collected from 13 soil sample locations at 3 layers to a depth of 0.60 m. We selected the locations for soil sampling based on the EC_a variations. Our analysis showed that it is possible to establish a relatively good LR between EC and clay, and between EC and sand ($R^2 > 0.60$), allowing us to convert EMCI into sand and clay content and generate sand and clay 3D maps down to 0.60 m depth.

Keywords: Electromagnetic induction, Inversion modelling, Soil texture mapping

Resumo

Neste estudo, foi feito um ensaio num campo agrícola inserido no perímetro de rega do Roxo, no Alentejo, usando o sensor de indução eletromagnética DUALEM21, de forma a analisar o seu potencial no mapeamento 3D da textura do solo. Os dados da condutividade elétrica aparente do solo (EC_a), obtidos com o sensor, foram transformados utilizando um algoritmo de modelação inversa, Quasi-3D, para obter imagens da condutividade elétrica (EMCI) 3D da condutividade elétrica do solo (EC). Esta transformação é necessária, uma vez que EC_a representa uma medição média, ponderada em profundidade, da EC e não a sua verdadeira variação com a profundidade. Analisou-se a relação linear entre a EC e a textura do solo, usando dados recolhidos em 13 pontos de amostragem, selecionados tendo em conta a variabilidade da EC_a . Em cada ponto de amostragem foram colhidas amostras em três camadas até à profundidade de 0.6 m. Os resultados mostram que existe correlação significativa entre EC e a fração argila e entre EC e a fração areia ($R^2 > 0.6$), sendo possível transformar as EMCI em mapas 3D do teor de argila e do teor de areia, até uma profundidade de 0.6 m.

Palavras-chave:

Indução eletromagnética, modelação inversa, mapeamento da textura do solo

Introduction

Knowledge about the spatial distribution of soil texture is very important for soil and water management. Traditional soil sampling is commonly used to determine the soil texture; however, this method rarely leads to a comprehensive soil mapping. This is because laboratory analysis of soil texture is expensive, soil samples are quite small, representing very localized sites and, usually, a high number of soil samples are needed to be representative of the soil properties at the management scales. Furthermore, soil sampling is highly time and work consuming, resulting in costly surveys. Geophysical techniques such as electromagnetic induction (EMI) provide enormous advantages compared to soil sampling because they allow for in-depth and non-invasive analysis, covering large areas in less time and at a lower cost (e.g. Farzamian et al. 2019, Paz et al. 2020). In this study, we show how the EMI method can be used in conjunction with soil sampling and laboratory analysis to estimate soil texture and develop 3D maps at the field scale.

Material and methods

Study site

This study was performed in a 23 ha almond field located at Montes Velhos, southern Portugal (37.94° N, 8.15° W, 111 m a.s.l.) (Fig. 1). The climate in the region is classified as semi-arid. The mean annual air temperature is 16.3°C , ranging from a minimum of 9.8°C in January to a maximum of 23.1°C in August. The mean annual precipitation is 454 mm and the mean annual reference evapotranspiration (ET₀) is 1363 mm for the period 1979 to 2020 (Hersbach et al., 2018). The soil is classified as Chromic Luvisol (IUSS Working Group WRB, 2014).

EMI surveys

The DUALEM-21 (Dualem Inc., Milton, Ontario, Canada) was used in this study to conduct the EMI survey. The instrument incorporates horizontal co-planar (HCP) and perpendicular (PRP) receiver arrays

that operate at a low frequency (9 kHz). The transmitter (Tx) is located at one end and is shared by two pairs of receiver arrays. The distance from the transmitter to the centre of the PRP receivers is 1.1 and 2.1 m. These give theoretical integrated depths of investigation of 0–0.5 m and 0–1.0 m, respectively. The distance from the transmitter to the HCP receivers is 1.0 and 2.0 m. These give depths of investigation of 0–1.5 m and 0–3.0 m, respectively. The DUALEM-21 was mounted on a PVC sled and pulled ~2 m behind a 4WD all-terrain vehicle (ATV). On the sled, the instrument was held approximately 0.10 m above the soil surface. The apparent electrical conductivity (ECa) survey was undertaken in December 2019 (Fig. 1). The DUALEM-21 data were geo-referenced (including elevation) using a real-time kinematic differential GPS receiver (Trimble, Sunnyvale, USA) and a rugged Allegro-TK6000 computer (Juniper Systems, Logan, UT, USA).

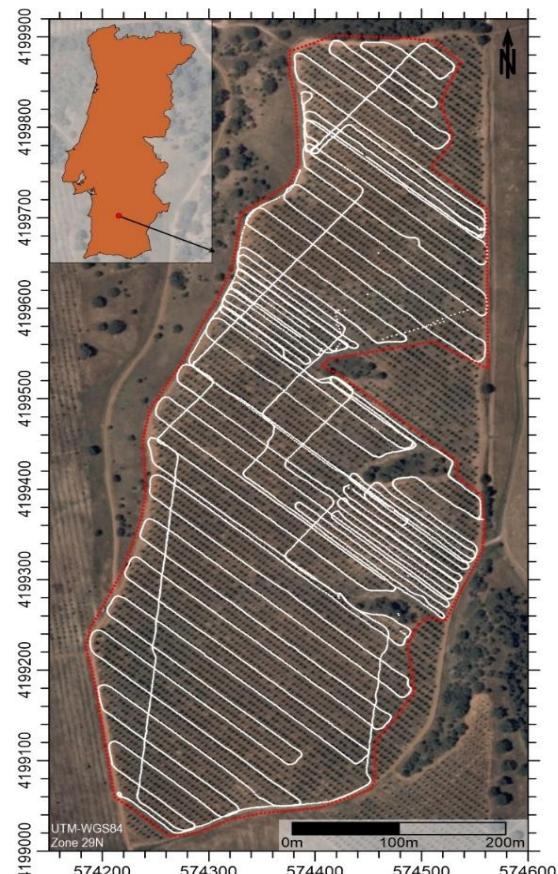


Fig. 1: Location of the study area. White lines and red dashed lines represent EMI data measurements and the limit of the study area respectively.

Soil Sampling

All samples were collected in the inter-row, between the almond trees. The soil was sampled at 13 selected locations along the DUALEM-21 survey transects. These locations were selected based on the spatial variations of EC_a. At each sampling point, soil samples were collected at depths of 0–0.2 and 0.2–0.4 m. Due to the stony nature of the field, only a small number of sampling points were dug to a maximum depth of 0.6 m (i.e. 0.4–0.6 m). All samples were air-dried, crushed, and passed through a 2 mm sieve. The particle size distribution was obtained using the pipette method for particles of diameter <0.002 mm (clay) and 0.02–0.002 mm (silt), and by sieving for particles 2–0.02 mm (sand).

Quasi-3D Inversion of EC_a data and in-situ calibration

The laterally constrained inversion algorithm developed by Monteiro Santos et al. (2011), was used to invert the collected EC_a data to obtain 3D electromagnetic conductivity images (EMCI) of the actual bulk soil electrical conductivity (EC). In this algorithm, the subsurface model consists of a set of 1-D models distributed according to the locations of the EC_a measurements. The inversion algorithm is based on the Occam regularisation and inversion of EC_a data was generated by applying an initial model of seven layers (i.e. 0.2, 0.4, 0.6, 1, 1.5, 3 m) which were kept fixed during the inversion process. The first three layers are equal to the depth of soil in which EC information is required for calibration and generation of soil properties from EMI data. Afterward, the EC values at borehole locations were extracted and the correlation between soil properties and EC was investigated through linear regression (LR) between EC and soil properties.

Results

Fig. 2 shows the spatial distribution of the measured EC_a in the two HCP and PRP orientations at 1 and 2 m depths. Fig. 2a shows the shallowest EC_a measurements, 1mPcon, which correspond to the lowest EC_a values. EC_a values are typically under

50 mS/m in general, but are relatively large in the eastern zone, exceeding 100 mS/m in the northeast. The EC_a values increase as the depth of investigation increases. This suggests that the soil's electrical conductivity generally increases with depth across the study area. The conductivity of the conductive zone in the northeast significantly increases with depth reaching values over 180 mS/m in 2mHcon, as shown in Fig. 2d. Observations of spatial and vertical conductivity distributions were used to determine borehole locations. The locations of boreholes were marked in Fig. 2.

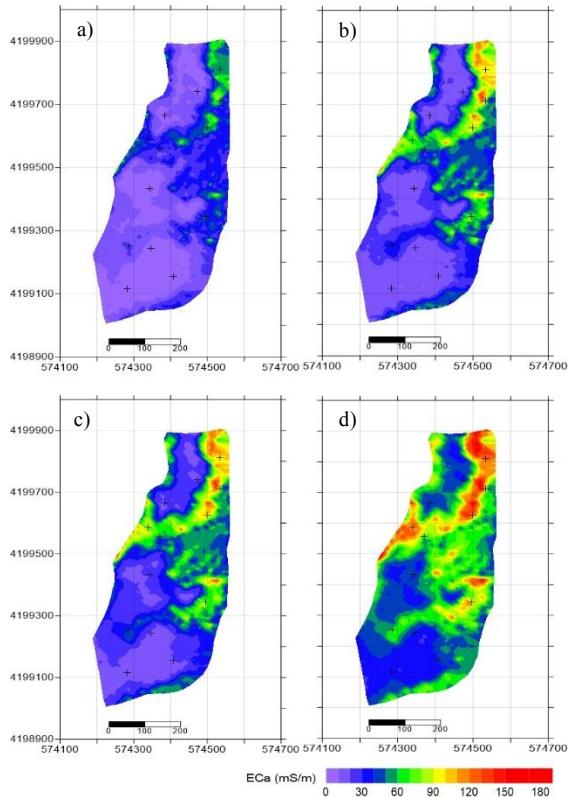


Fig. 2. Spatial distribution of EC_a for (a) 1mPcon, (b) 2mPcon, (c) 1mHcon, and (d) 2mHcon.

The EC_a data were inverted using the quasi-3D inversion to generate the EC maps at different depths. Table 1 shows the statistical report of soil properties at reference points and their correlation with EC. There was no correlation between electrical conductivity of the soil saturation paste extract (ECe) and EC. This is due to very small variability of soil salinity (ECe < 2 dS/m) in this field during the EMI survey. On the other hand, the clay content and sand content had a strong positive and negative correlation with EC respectively.

The clay content appears to be the soil property, dominating the EMI signal response. This strong correlation allows us to establish LR models to convert EC to clay and sand content. The obtained equations for clay and sand content are Clay% = 0.19 EC + 14.3 and Sand% = -0.16 EC + 66.36 respectively.

Table 1. Statistics of soil properties at the reference points. * presents the square of the correlation coefficient (R^2) between EC and soil properties.

	Min	Max	Mean	CV%	R^2*
ECe (dS/m)	0.27	1.92	0.71	0.70	0.00
Clay %	13.63	52.14	24.71	0.45	0.67
Silt %	10.27	23.20	18.90	0.20	0.15
Sand %	31.81	66.70	57.12	0.16	-0.68

We converted EMCI to 3D maps of clay and sand content and plotted the results for two depths, 0.2 and 0.4 m, in Fig. 3. The modelling results indicate relatively larger and smaller clay content in the eastern and southern zones respectively. When compared to Fig. 2, these zones coincide with greater and smaller EC respectively, as expected. As the depth increases, clay content increases which agrees with the general trend of increasing EC with depth. In contrast and in terms of sand content, greater sand content was observed in the southern and western zones and decreased as depth increased.

Conclusions

This study showed that it is possible to use the EMI sensor, DUALEM21, to obtain 3D maps of the clay and sand content of soils in an agricultural field in the Roxo irrigation perimeter. These maps are important as a basis for the characterization of the agricultural systems and will be used for more accurate estimates of the soil water balance which is critical for improving water use efficiency.

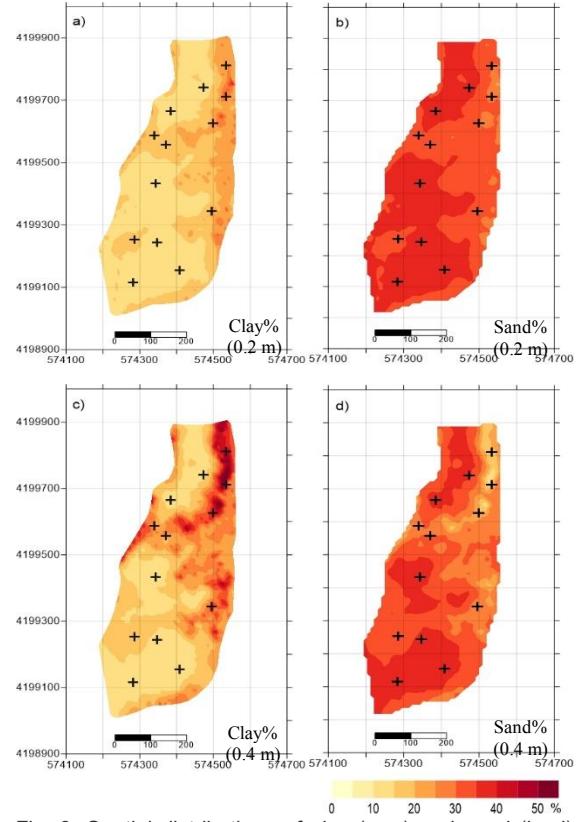


Fig. 3. Spatial distributions of clay (a, c) and sand (b, d) content using the quasi-3d inversion algorithm at two depths of 0–0.2 (a, b) and 0.2–0.4 (c, d).

Acknowledgments

This work was carried out with support from the project *Soil4Ever* (PTDC/ASP-SOL/28796/2017), financed by FCT.

Bibliography

- Farzamian, M., Paz, M.C., Paz, A.M., Castanheira, N.L., Gonçalves, M.C., Monteiro Santos, F.A., Triantafilis, J. (2019). Mapping soil salinity using electromagnetic conductivity imaging—A comparison of regional and location-specific calibrations. *Land Degrad. Dev.* 30, 3317.
- Hersbach, H., Bell, B., Berrisford, P., Bivat, G., Horányi, A., Muñoz Sabater, J., Nicolas, J., et al. (2018): ERA5 hourly data on single levels from 1979 to present. Copernicus Climate Change Service (C3S) Climate Data Store (CDS).
- 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 No. 106. FAO, Rome.
- Paz, A.M., Castanheira, N., Farzamian, M., Paz, M.C., Gonçalves, M. C., Monteiro Santos, F.A., Triantafilis, J. (2020). Prediction of soil salinity and sodicity using electromagnetic conductivity imaging. *Geoderma* 2020, 361, 114086.
- Monteiro Santos, F. A., Triantafilis, J., and Bruzgulis, K. (2011). A spatially constrained 1D inversion algorithm for quasi-3D conductivity imaging: application to DUALEM-421 data collected in a riverine plain, *Geophysics*, 76, B43–B53, 2011.

Índices de vegetación y variables climáticas para la evaluación de los servicios ecosistémicos como modelo para la gestión de espacios naturales protegidos

Vegetation indices and climatic variables for the evaluation of ecosystem services as a model for the management of protected natural areas

González-Morales, M.*; Fernández-Pozo, L.; Gago, I.; Urbano, J. Rodríguez, M^aA

Grupo de Investigación Análisis de Recursos Ambientales. Universidad de Extremadura. Avda. de Elvas s/n. 06006. Badajoz. España.

*mariagm@unex.es

Resumen

Garantizar y promover la sostenibilidad ambiental es uno de los principales objetivos de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible. Sin embargo, factores tales como actividades extractivas, culturales e incluso el cambio climático, resultan las principales causas de presión que determinan el estado en que se encuentra el territorio. Es importante disponer de herramientas que nos informen sobre el grado de consecución de los objetivos planteados, así como en la identificación de los impactos y sus consecuencias para así poder realizar una gestión que mantenga o incremente la biodiversidad y demás recursos del área. En un área protegida del suroeste de la península Ibérica, en la que tuvo lugar una importante actividad minera, hemos analizado la variación de un índice de vegetación (NDVI) y las variaciones climáticas como herramientas para una gestión sostenible. Los resultados muestran el impacto que la actividad extractiva y las variaciones climáticas han ocasionado en los recursos y por tanto, en los servicios ecosistémicos asociados al territorio. Las herramientas propuestas se han mostrado rápidas y precisas para la toma de decisiones y su aplicación en otras áreas puede servir de modelo para la consecución de los objetivos de la Agenda 2030.

Palabras clave: NDVI, Cambio climático, Áreas protegidas, Servicios Ecosistémicos.

Abstract

Ensuring and promoting environmental sustainability is one of the main objectives of the 2030 Agenda for Sustainable Development. However, factors such as extractive and cultural activities and even climate change are the main causes of pressure that determine the state of the territory. It is important to have tools that inform us about the degree of achievement of the objectives set, as well as the identification of impacts and their consequences to be able to carry out a management that maintains or increases the biodiversity and other resources of the area. In a protected area in the southwest of the Iberian Peninsula, where an important mining activity took place, we have analyzed the variation of a vegetation index (NDVI), climatic variations and the state of soils in a protected area in the southwest of the Iberian Peninsula as tools for sustainable management. The results show the impact that extractive activity and climatic variations have on the affected resources and therefore on the ecosystem services associated with the territory. The proposed tools have been shown to be fast and accurate for decision making and their application in other areas can serve as a model for achieving the objectives of the 2030 Agenda.

Keywords: NDVI, Climate change, Protected areas, Ecosystem Services.

Introducción

La gestión de áreas protegidas busca asegurar el cumplimiento de los objetivos para los cuales fueron creadas, así como garantizar su permanencia. Esto depende de factores intrínsecos del área, pero también externos, por lo tanto, se requiere tener el apoyo de instrumentos de planificación. Una herramienta para la evaluación de la gobernanza de los espacios naturales es el análisis de sus Servicios Ecosistémicos.

Daily et al. (1997) describen las principales conexiones entre los ecosistemas y el bienestar humano y define los Servicios Ecosistémicos (SE) como una amplia gama de condiciones y procesos a través de los cuales los ecosistemas, y las especies que forman parte de ellos, contribuyen a sostener y satisfacer la vida humana, a mantener la biodiversidad y a la producción de bienes.

El cambio climático, como variaciones en la frecuencia y/o distribución de fenómenos meteorológicos, tiene un amplio efecto sobre los ecosistemas, máxime en latitudes meridionales, como es el caso de la península Ibérica.

La producción vegetal es una de las funciones del suelo, y una de las herramientas para su estudio, es el análisis de índices de vegetación. Estos se calculan combinando bandas espectrales relacionadas con parámetros de las coberturas vegetales. El NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) es el más común.

En este trabajo hemos utilizado el NDVI y parámetros climáticos -precipitación y evapotranspiración (ETo)- como herramientas para el estudio de los SE, y estos a su vez como indicadores de la gestión de un área protegida, un Parque Periurbano de Conservación y Ocio, cuya principal actividad es la caza y en el que se localiza un área de minería metálica abandonada desde hace más de 100 años.

Material y métodos

Situado al suroeste de la provincia de Badajoz, en el municipio de Azuaga (fig. 1),

el Parque Periurbano de Conservación y Ocio La Sierra (DOE, 2002) ocupa una superficie de 2684 ha. En su entorno alberga una población aproximada de 11000 habitantes, resultando un territorio de baja densidad de población, 4 hab km⁻², cuyos recursos naturales (EEA, 2018) se centran en la agricultura, la ganadería y la caza. La región tiene un clima mediterráneo con influencia atlántica, escasas precipitaciones y una fuerte oscilación térmica entre el invierno y el verano.

Domina una litología de pizarra. El relieve es de escarpado a accidentado.

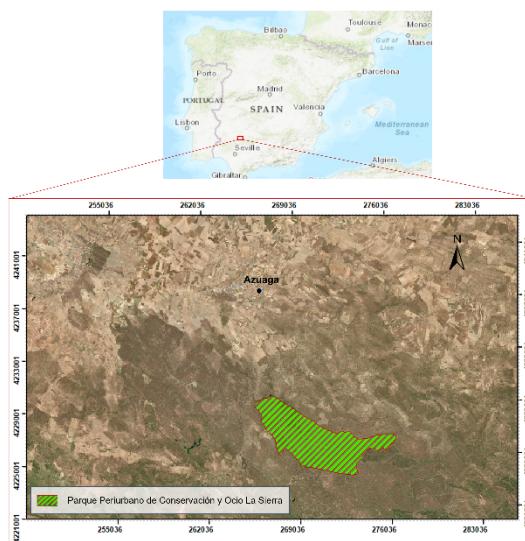


Fig. 1 – Zona de estudio.

La vegetación predominante es un bosque esclerófilo, acompañado de pequeños parches de coníferas, matorrales y pastizales (EEA, 2018). Los principales suelos desarrollados son Regosoles (EC, 2005). Es el hábitat de fauna incluida en el Catálogo Regional de Especies Amenazadas (DOE, 2001): aves como *Aquila adalberti*, *A. chrysaetos*, *Aegypius monachus*, o mamíferos, *Felis silvestris*.

Durante más de 50 años se mantuvo en actividad una mina de Pb-Zn. A inicios del siglo XX cesó la extracción y beneficio del mineral y se abandonaron instalaciones y escombreras.

Se han analizado las variables climáticas Evapotranspiración (ETo) y Precipitación

media mensual (P) de los últimos 60 años (1961-2021) y se ha calculado el índice de aridez (IA), para identificar si la zona de estudio tiende o no la desertificación (Cherlet, 2018).

Para calcular el NDVI en 1990 y 2021, se utilizaron las imágenes satelitales del landsat 5 y 8, respectivamente (USGS GloVis, 2022).

Resultados y discusión

Analizando las variables climáticas (cuadro 1), se comprueba que en los últimos 60 años se ha producido una disminución del 18% en la precipitación anual y un incremento en la ETo próximo al 5%. Estas variaciones han supuesto que el índice de aridez (P/ETo) pase de Subhúmedo húmedo a Subhúmedo seco y posibilita que la degradación de los suelos del parque pueda conducir al desencadenamiento de procesos de desertificación.

Cuadro 1 – Datos climáticos.

Periodo	P	ETo	IA
1961/1990	584	846	0.69
1971/2000	543	856	0.63
1981/2010	514	883	0.58
1991/2020	479	885	0.54

En cuanto al índice NDVI, figuras 2 y 3, observamos una ligera disminución de las zonas de vegetación a pesar de que han tenido lugar campañas de reforestación.

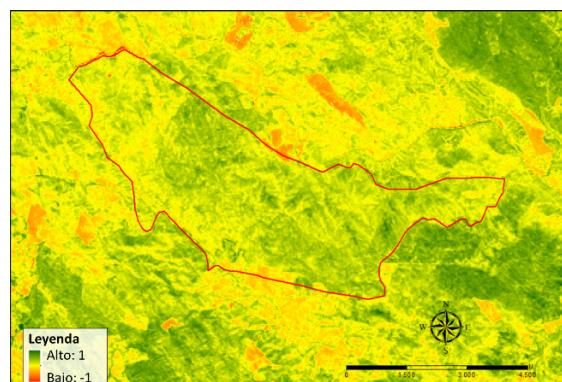


Fig. 2 – NDVI año 1990.

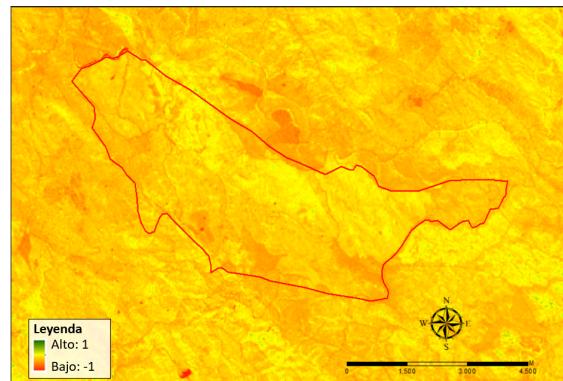


Fig. 3 – NDVI año 2021.

El Parque Periurbano de Conservación y Ocio La Sierra se caracteriza por dos fuerzas motrices: (i) la conservación de un espacio natural y (ii) los ingresos económicos derivados de la explotación cinegética. Esas fuerzas socioeconómicas deben ser motivo de reflexión para la toma de decisiones que ajusten la gestión del territorio.

La actividad minera desarrollada en este territorio y la carente gestión de los residuos tras el cese de las actividades ha provocado la contaminación de los suelos (Oropesa et al., 2019). Esta contaminación se ha extendido, en mayor o menor medida, por todo el Parque por un proceso continuo de contaminación difusa, ya sea por la alteración del mineral (Vanek et al., 2015) o por emisiones en la combustión del carbón en las centrales eléctricas (Vanek et al., 2016). Las escombreras y lodos de relave presentes, así como el funcionamiento de una central térmica de carbón hasta mediados de 2020 ubicada a 50 km del parque, pueden ser los responsables de esa contaminación.

La actividad cinegética en la zona estudiada es intensa y proporciona importantes beneficios económicos, estimados en torno al 1% del PIB de este territorio (Fedexcaza, 2018). Oropesa et al. (2019) destacaron el riesgo que suponen los residuos mineros para la fauna. Además, la munición de Pb puede entrar fácilmente en la red trófica a través de la ingestión de la caza (Bellinger et al., 2013).

Conclusiones

La conservación del territorio y los objetivos que se pretenden conseguir deben ser motivo de reflexión, ya que en un entorno cambiante es necesario la modernización de la gobernanza ambiental.

Aunque la presión ejercida sobre el territorio no es elevada, las características fisiográficas y ambientales del Parque, sus actividades previas y los impactos derivados de las variaciones climáticas, han provocado que la producción vegetal se vea afectada y como consecuencia el estado de los Servicios Ecosistémicos, afectando a la condición, la capacidad y el capital del suelo. Las variaciones detectadas en las variables analizadas, así como la contaminación de los suelos de la zona, puesta de manifiesto por otros autores, pueden ser la causa de afectación de los Servicios Ecosistémicos. Por tanto, deberían tomarse medidas para proteger la salud del ecosistema y la seguridad del suelo, así como ampliar el estudio de los impactos ejercidos sobre la vegetación y fauna del parque.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el gobierno Regional de Extremadura/ FEDER a través del proyecto IB18074 y del IGR18054.

Referencias bibliográficas

- Bellinger, D. C., Burger, J., Cade, T. J., Cory-Slechta, D. A., Finkelstein, M., Hu, H., Kosnett, M., Landrigan, P. J., Lanphear, B., Pokras, M., Redig, P. T., Rideout, B. A., Silbergeld, E., Wright, R., Smith, D. R. (2013). Health Risks from Lead-Based Ammunition in the Environment. *Environmental Health Perspectives*, 121(6), 178-179.
<https://doi.org/10.1289/ehp.1306945>
- Cherlet, M., Hutchinson, C., Reynolds, J., Hill, J., Sommer, S., von Maltitz, G. (2018). (Eds.), World Atlas of Desertification. Luxembourg: Publication Office of the European Union.
- Daily, G., Alexander, S., Ehrlich, P., Goulder, L., Lubchenco, J., Matson, P., Mooney, H., Postel, S., Schneider, S., Tilman, D., Woodwell, G. (1997). Ecosystem services: Benefits supplied to human societies by natural ecosystems. *Issues in Ecology*, 2, 1–16.
- DOE (2002). Decreto 113/2002, de 10 de septiembre, por el que se declara Parque Periurbano de Conservación y Ocio a la finca La Sierra en el término municipal de Azuaga. Diario Oficial de Extremadura (DOE) de 17 de septiembre de 2002, núm. 108.
- EC (2001). Decreto 37/2001, de 6 de marzo, por el que se regula el Catálogo Regional de Especies Amenazadas de Extremadura. Diario Oficial de Extremadura (DOE) de 13 de marzo de 2001, núm. 30.
- EC (2005). *Soil Atlas of Europe*. Luxembourg, Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
- EEA (2018). *Corine Land Cover 2018*. European Environmental Agency. Commission of the European Communities.
- Fedexcaza (2018). *Informe sobre la situación de la caza en la Comunidad Autónoma de Extremadura. Temporada 2017/18*. Federación Extremeña de Caza. <https://www.fedexcaza.com> (acceso 24/09/2021).
- Oropesa, A. L., Gala, J. A., Fernandez-Pozo, L., Cabezas, J., Soler, F. (2019). Lead content in soils and native plants near an abandoned mine in a protected area of south-western Spain: an approach to determining the environmental risk to wildlife and livestock. *Environmental Science and Pollution Research* 26, 30386–30398. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06197-5>
- USGS GloVis. (2022). USGS science for a changing world. U.S. Department of the Interior. <https://www.usgs.gov/centers/eros/science/glovis-help-index#questions> (acceso 10/02/2022).
- Vanek, A., Grösslova, Z., Mihaljevic, M., Ettler, V., Chrastny, V., Komárek, M., Tejnecky, V., Drabek, O., Penízek, V., Galusková, I., Vanecková, B., Pavlu, L., Ash, C. (2015). Thallium contamination of soils/vegetation as affected by sphalerite weathering/ A model rhizospheric experiment. *Journal of Hazardous Materials*, 283, 148-156.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.09.018>.
- Vanek, A., Grösslova, Z., Mihaljevic, M., Trubac, J., Ettler, V., Teper, L., Cabala, J., Rohovec, J., Zadorova, T., Penízek, V., Pavlu, L., Holubík, O., Nemecek, K., Houska, J., Drabek, O., Ash, C., 2016. Isotopic tracing of thallium contamination in soils affected by emissions from coal-fired power plants. *Environ. Sci. Technol.*, 50, 9864-9871. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01751>.
- DOE (2002). Decreto 113/2002, de 10 de septiembre, por el que se declara Parque Periurbano de Conservación y Ocio a la finca La Sierra en el término municipal de Azuaga. Diario Oficial de Extremadura (DOE) de 17 de septiembre de 2002, núm. 108.

Evaluación de las condiciones de quema controlada que influyen en atributos biológicos y físicos de suelos bajo *Echinospartum horridum*

Marta Escuer Arregui^{1*}, Oriol Ortiz Perpiñá¹, Ana Paula Conte Domínguez¹, David Badía Villas¹

¹ Escuela Politécnica Superior de Huesca, Universidad de Zaragoza, 22071 (Huesca). marta701803@gmail.com

Abstract

With the objective of evaluating the effects of fire on soil of varying burning severity, experimental burnings of soil samples under different burning temperatures and times have been conducted. Burned soil monoliths have been sampled immediately after burning and five months after greenhouse conservation, separating layers of 0-1 and 1-3 cm depth.

The impact of different burning severities was assessed based on the change of physical attributes (persistency of water repellency) and biological attributes (labile, intermediate, recalcitrant, microbial, and respired organic carbon). The results show that the most severe burns cause a big impact on organic matter, both on quantitative and qualitative levels, affecting the diverse organic carbon fractions, as well as the microbial biomass and activity. Most severe burns also cause a big water repellence on the 0-1 or in the 1-3 layers, depending on burning severity.

After five months, most of the assessed parameters have been returned to initial levels and post-fire water repellence have disappeared, suggesting a fast recovery of the soil properties after the disturbance caused by the burnings.

Fire, Hydrophobicity, Organic matter, Biological properties

Resumen

Con el objetivo de evaluar los efectos en el suelo de distintas severidades de quema, se han realizado quemas controladas de monolitos de suelo bajo distintas temperaturas y tiempos. Los monolitos han sido muestreados justo después de las quemas y tras cinco meses de conservación en invernadero, separando las capas de 0-1 y 1-3 cm.

Se han medido atributos físicos (persistencia de la repelencia al agua) y atributos biológicos (carbono orgánico, lábil, recalcitrante, intermedio, microbiano y respirado). Los resultados indican que las quemas de mayor severidad causan sobre la materia orgánica un fuerte impacto tanto a nivel cuantitativo como cualitativo, afectando a diversas fracciones del carbono orgánico, así como a la biomasa microbiana y su actividad. Las quemas de mayor severidad también causan una fuerte repelencia al agua en superficie o profundidad, en función de la duración de la quema.

A los cinco meses, la mayoría de los parámetros han vuelto a valores iniciales, y ha desaparecido la hidrofobicidad post fuego, lo que sugiere una rápida recuperación del suelo frente a la perturbación causada por el fuego.

Fuego, Hidrofobicidad, Materia orgánica, Propiedades biológicas

1. Introducción

En los Pirineos Centrales (NE-España), los pastos pirenaicos se han visto inmersos en las últimas décadas en un proceso de matorralización en el que juega un papel destacable el erizón (*Echinospartum horridum* (Vahl) Rothm) (Komac et al., 2013). Una de las prácticas más comunes para detener esta matorralización son las quemas prescritas (Montiel y Kraus, 2010).

El efecto del fuego en el suelo se presenta en mayor o menor intensidad según la severidad del fuego (De la Rosa et al., 2008) y la materia orgánica del suelo (MOS) y la repelencia al agua son propiedades interrelacionadas del suelo que pueden verse afectadas por el fuego (Mataix-Solera et al., 2011).

2. Material y métodos

Se han realizado cuatro tipos de quemas controladas de monolitos de suelo bajo distintas temperaturas y tiempos. Los monolitos han sido muestreados justo después de las quemas (T0) y tras cinco meses de conservación en invernadero, conservando la biomasa parcialmente calcinada y las cenizas en la superficie (T5+), y la otra mitad sin (T5-). De cada lote de 5 monolitos de suelo, uno se quemó a baja severidad (temperatura baja y tiempo corto, LS), uno a severidad media por duración (temperatura baja y tiempo largo, LL), uno a severidad media por temperatura (temperatura alta y tiempo corto, HS), uno a severidad alta (temperatura alta y tiempo largo, HL) y un último bloque no se quemó y se reservó como control (UU).

Se midieron las temperaturas alcanzadas cada segundo a distintas profundidades y a partir de estos datos se obtuvieron distintos indicadores de quema. Se midieron atributos físicos y biológicos en las capas de 0 a 1 cm y de 1 a 3 cm.

Los monolitos de suelo se obtuvieron en el municipio de Yebra de Basa (Huesca), en una zona de antiguos pastos subalpinos densamente tapizada de *Echinospartum horridum*, cuyo suelo se clasifica en WRB como Leptic Cambisol.

3. Resultados y discusión

Índices de quema

Como se observa en la *tabla 1*, los distintos tipos de quemas que se han ensayado han constituido verdaderamente un gradiente de severidades, como se pretendía en el diseño experimental. Ello se aprecia en prácticamente todos los indicadores que se muestran en la *figura 1*, y permiten ordenar las quemas, de menos a más severas, en el orden LS, LL, HS y HL.

Tabla 1. Parámetros de quema. Letras distintas indican diferencias significativas entre tipos de quemas, para cada parámetro y profundidad ($P<0.05$).

Profundidad (cm)	Quema	Tiempo > 50 °C (s)	Tiempo > 100 °C (s)	Tiempo > 300 °C (s)	Tiempo > 500 °C (s)	Índice de quema	
						Indice de quema	Indice de quema
0-1	HL	431±100 c	3418±1084 d	2012±553 c	1186±767 c	137±290 a	80873±358446 c
	HS	503±51 d	2387±1135 c	1674±824 c	1238±652 c	50±106 a	687383±353615 c
	LL	254±168 b	1481±530 b	710±823 b	291±614 b	208±439 a	246220±194079 b
	LS	305±131 b	1323±284 b	741±475 b	206±330 b	0±0 a	215914±143554 ab
1-3	UU	16±0 a	0±0 a	0±0 a	0±0 a	0±0 a	0±0 a
	HL	76±7 d	3450±1279 c	0±0 a	0±0 a	0±0 a	239947±92233 d
	HS	62±14 c	1613±1487 b	0±0 a	0±0 a	0±0 a	135735±75440 c
	LL	47±6 b	0,4±1 a	0±0 a	0±0 a	0±0 a	62507±13108 b
1-3	LS	43±6 b	0±0 a	0±0 a	0±0 a	0±0 a	23462±7227 ab
	UU	15±0 a	0±0 a	0±0 a	0±0 a	0±0 a	0±0 a

Atributos biológicos

Como se observa en la *figura 1*, tan solo la quema HL ha causado una pérdida significativa de C oxidable total, pese a que HS también ha alcanzado la misma temperatura. Parece que el distinto efecto de ambos tipos de quema vendría dado por el mayor tiempo de duración de HL frente a HS.

En el caso del carbono lábil (*figura 1*), encontramos un incremento generalizado, en mayor medida para las quemas más severas. El efecto directo del fuego parece desaparecer tras cinco meses.

En el carbono recalcitrante (*figura 1*), como efecto inmediato del fuego se observa una reducción generalizada, mayor para la quema más severa (HL). Por otro lado, a los cinco meses parece que los efectos del fuego persisten, sugiriendo que las formas recalcitrantes permanecen inalteradas.

Respecto a la biomasa microbiana (*figura 1*), como efecto directo del fuego se ha

observado una esterilización parcial y/o total en las quemas más severas. Por otro lado, en la respiración del suelo (*figura 1*), el efecto de la alta severidad solo se refleja en la quema HL. La dinámica de la actividad microbiana parece ser un reflejo no solo del impacto del fuego, sino también de cambios cualitativos en términos de incremento del carbono lábil y de la liberación de nutrientes por combustión. Tras cinco meses parece que los parámetros microbianos presentan un comportamiento parecido, en el que desaparecen las diferencias significativas respecto al control.

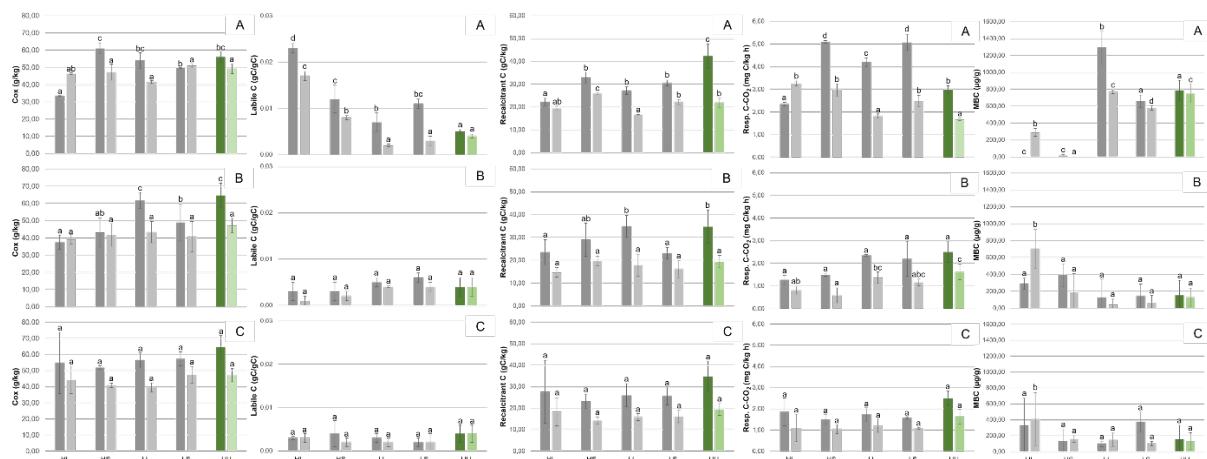


Figura 1. Atributos biológicos: carbono oxidable total (Cox); carbono lábil (Labile C); carbono recalcitrante (Recalcitrant C); respiración microbiana (Resp. C-CO₂) y biomasa microbiana (MBC) para cada tiempo, tipo de quema y profundidad (media ± desviación estándar). A: T0 (efecto inmediato de la quema); B: T5+cenizas (efecto de la quema tras cinco meses con ceniza); C: T5-cenizas (efecto de la quema tras cinco meses sin ceniza). Gris oscuro y verde oscuro: 0-1 cm; gris claro y verde claro: 1-3 cm.

Atributos físicos

Respecto a la repelencia al agua del suelo (*figura 2*), en el caso de las quemas más severas, se observan dos efectos: el desarrollo de una capa repelente subsuperficial y eliminación en superficie en el caso de HL y, en el caso de HS, se produce una repelencia alta en la capa superficial. La diferencia de comportamiento de la repelencia en ambos tipos de quemas más severas viene dada probablemente por la diferencia de duración de la quema. En el caso de las quemas menos severas (LL y LS), se produce una reducción de la repelencia natural aunque no se alcanza el umbral de temperatura a partir del cual se produce teóricamente su destrucción, y parece independiente de la duración de la quema.

La reducción general de la repelencia a los cinco meses, consideramos que puede tener varias causas: (a) la reorientación de las moléculas anfifílicas que revisten los componentes sólidos por efecto de la continua humectación de los bloques en el invernadero (Doerr et al., 2000); (b) la oxidación parcial de la materia orgánica pirogénica, que puede hacer que sea transferida a la solución del suelo (Velasco-Molina et al., 2016) donde un flujo de agua regular puede eliminarla por lavado (Granged et al., 2011); (c) la carboxilación de parte de sus componentes aromáticos, pudiendo ser solubilizada con relativa rapidez (Masiello, 2004); y/o (d) su mineralización por actividad metabólica de los microorganismos (Jordán et al., 2014).

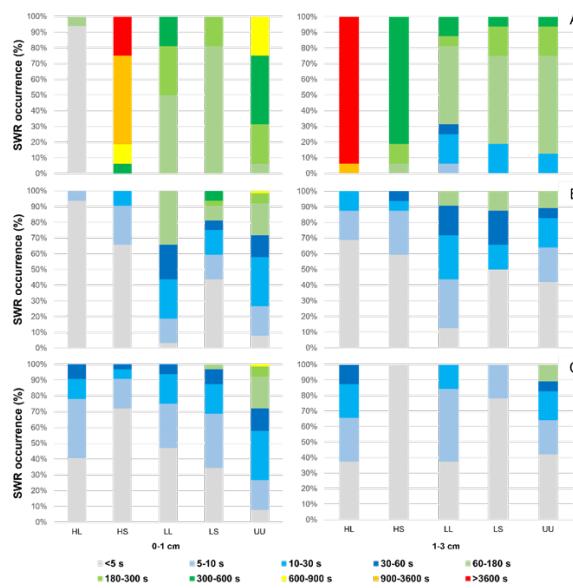


Figura 2. Ocurrencia de repelencia al agua del suelo (SWR occurrence) para cada tiempo, tipo de quema y profundidad. A: T0; B: T5+; C: T5-.

4. Conclusiones

Los distintos tipos de quemadas realizadas en condiciones experimentales permiten estudiar la respuesta del suelo frente a distintos grados de severidad, habiéndose conseguido reproducir en condiciones controladas desde quemadas de impacto muy leve hasta quemadas que han afectado profundamente el suelo. La mayoría de los efectos del fuego se han observado en la capa de 0 a 1 cm, mostrando la necesidad en estos tipos de trabajo de una toma de muestras siempre finamente estratificada para evitar la dilución de los efectos del fuego. Las diferencias observadas como efecto directo en los distintos tipos de bloques tienden a desaparecer en 5 meses en la capa superficial y prácticamente desaparecen en su totalidad en la capa de 1 a 3 cm.

En términos cuantitativos, el fuego ha producido una notable perdida de carbono orgánico total en la capa más superficial de la quema más severa, pero cualitativamente ha causado un incremento en las cantidades de carbono lóbil y una reducción en las cantidades de carbono recalcitrante.

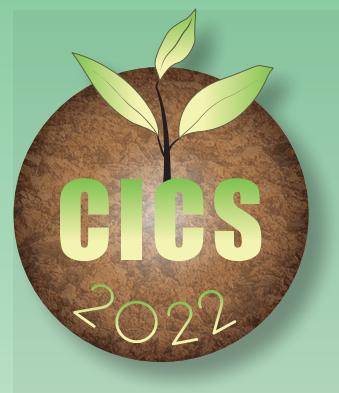
Uno de los impactos más notables del fuego ha sido la eliminación casi total de la biomasa microbiana en las quemadas más severas, mientras que en los bloques de menor severidad apenas se han observado efectos. Por otro lado, la elevada actividad microbiana

en los bloques quemados a severidad intermedia sería explicable por la liberación de carbono lóbil y los efectos de la temperatura en la biomasa microbiana.

El suelo presentaba una leve repelencia natural al agua, que es eliminada por el efecto de las quemadas de baja severidad, sin embargo, en las quemadas de mayor severidad se desarrolla una repelencia muy notable en las capas superficial o subsuperficial según la duración de la quema. Por otro lado, a los cinco meses, la repelencia al agua se reduce de forma significativa en todas las muestras.

5. Bibliografía

- De la Rosa, J. M., González-Pérez, J. A., González-Vázquez, R., Knicker, H., López-Capel, E., Manning, D. A. C., & González-Vila, F. J. (2008). Use of pyrolysis/GC-MS combined with thermal analysis to monitor C and N changes in soil organic matter from a Mediterranean fire affected forest. *Catena*, 74(3), 296–303. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2008.03.004>
- DeBano, L. F. (1981). Water Repellent Soils: a state-of-the-art (Vol. 46). https://doi.org/10.1007/978-3-030-01806-1_18
- Doerr, S. H., Shakesby, R. A., & Walsh, R. P. D. (2000). Soil water repellency: Its causes, characteristics and hydrogeomorphological significance. *Earth Science Reviews*, 51(1–4), 33–65. [https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(00\)00011-8](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(00)00011-8)
- Granged, A. J. P., Zavala, L. M., Jordán, A., & Bárcenas-Moreno, G. (2011). Post-fire evolution of soil properties and vegetation cover in a Mediterranean heathland after experimental burning: A 3-year study. *Geoderma*, 164(1–2), 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.05.017>
- Jordán, A., Gordillo-Rivero, Á. J., García-Moreno, J., Zavala, L. M., Granged, A. J. P., Gil, J., & Neto-Paixão, H. M. (2014). Post-fire evolution of water repellency and aggregate stability in Mediterranean calcareous soils: A 6-year study. *Catena*, 118, 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2014.02.001>
- Jordán, A., Zavala, L. M., Mataix-Solera, J., & Doerr, S. H. (2013). Soil water repellency: Origin, assessment and geomorphological consequences. *Catena*, 108, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2013.05.005>
- Komac, B., Kefi, S., Nuche, P., Escós, J., & Alados, C. L. (2013). Modeling shrub encroachment in subalpine grasslands under different environmental and management scenarios. *Journal of Environmental Management*, 121, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.01.038>
- Masiello, C. A. (2004). New directions in black carbon organic geochemistry. *Marine Chemistry*, 92(1-4 SPEC. ISS.), 201–213. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2004.06.043>
- Mataix-Solera, J., Cerdà, A., Arcenegui, V., Jordán, A., & Zavala, L. M. (2011). Fire effects on soil aggregation: A review. *Earth-Science Reviews*, 109(1–2), 44–60. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2011.08.002>
- Montiel, C., & Kraus, D. (2010). Best Practices of Fire Use - Prescribed Burning and Suppression Fire Programmes in Selected Case-Study Regions of Europe. In *Best Practices of Fire Use - Prescribed Burning and Suppression Fire Programmes in Selected Case-Study Regions in Europe* (Issue October).
- Velasco-Molina, M., Berns, A. E., Macías, F., & Knicker, H. (2016). Biochemically altered charcoal residues as an important source of soil organic matter in subsoils of fire-affected subtropical regions. *Geoderma*, 262, 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.08.016>



Aprofundar o conhecimento

Posters

Aplicación de distintas formas de materia orgánica en un cultivo de pimiento desarrollado en suelo

Application of different forms of organic matter in a pepper crop grown in soil

del Toro, Marina¹; Paneque, Patricia¹; Gómez, Isidoro¹; Parrado, Juan²; Tejada, Manuel^{1*}

¹Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola, ETSIA, Universidad de Sevilla, Crta. de Utrera km. 1, 41013

²Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, C/ Prof. García González 2, 41012

*Email: mtmoral@us.es

Resumen

El objetivo de este trabajo fue comparar los efectos de dos fuentes de materia orgánica (compost de desmotadora de algodón y gallinaza) en un cultivo de pimiento (*C. annunn* L. var. California) desarrollado en suelo. Se determinaron los efectos de estas enmiendas sobre la nutrición mineral de la planta de pimiento así como sobre la producción y contenidos minerales del fruto. Los resultados mostraron que la composición química de la materia orgánica aplicada al suelo influyó de forma diferente en el desarrollo del cultivo, destacando las plantas enmendadas con gallinaza las que mostraron mayores contenidos de macro y micronutrientes en hoja, así como en el fruto y mayor peso y número de pimientos recolectados. Posiblemente el mayor contenido en gallinaza que en el compost de algodón de péptidos de bajo peso molecular fácilmente asimilables por la planta, así como el mayor contenido de ácidos fulvicos los cuales se degradan más fácilmente que los ácidos húmicos y por tanto, proporcionar nutrientes para la planta de forma más rápida sean responsables de estos resultados obtenidos.

Palabras clave: pimiento, residuos orgánicos, nutrición mineral pimiento, producción frutos

Abstract

The objective of this work was to compare the effects of two sources of organic matter (cotton gin compost and poultry manure) on a pepper crop (*C. annunn* L. var. California) grown in soil. The effects of these amendments on the mineral nutrition of the pepper plant as well as on the production and mineral content of the fruit were determined. The results showed that the chemical composition of the organic matter applied to the soil had a different influence on the development of the crop, highlighting the plants amended with poultry manure, which showed higher contents of macro and micronutrients in the leaf, as well as in the fruit and higher weight. and number of peppers harvested. Possibly the higher content in poultry manure than in cotton compost of low molecular weight peptides easily assimilated by the plant, as well as the higher content of fulvic acids which are more easily degraded than humic acids and therefore provide nutrients for the plant faster are responsible for these results.

Keywords: pepper, organic wastes, pepper mineral nutrition, pepper fruit biomass production

Introducción

Durante muchos años, la aplicación de fertilizantes químicos ha sido una práctica agrícola muy usada en la agricultura intensiva (Ye et al., 2020). Sin embargo, el abuso continuo de estos fertilizantes sintéticos ha causado muchos efectos negativos relacionados con el agotamiento de los recursos naturales así como con la generación de gases de efecto invernadero, eutrofización de las aguas, salinización del suelo y problemas de seguridad alimentaria (González et al., 2015; Ye et al., 2020).

Por este motivo, la sostenibilidad de la producción agrícola es necesaria no solamente para satisfacer la demanda del consumidor mediante productos saludables, sino también para intentar eliminar o disminuir los problemas mencionados (Ye et al., 2020).

Para conseguir esta sostenibilidad agrícola en los últimos años se han venido utilizando diversos residuos orgánicos con el objeto no solo de mejorar las propiedades del suelo, sino también con el objetivo de reducir el uso de fertilizantes inorgánicos, evitando los problemas anteriormente descritos y mejorar la producción y calidad de las cosechas (Tejada et al., 2020).

Se sabe que los pimientos tienen altas cantidades de compuestos que promueven la salud, como vitaminas, carotenoides, capsaicinoides y compuestos fenólicos, todos con propiedades antioxidantes y capacidad de inducir mecanismos de protección contra radicales libres (Wahyuni et al., 2013).

En consecuencia, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de diferentes residuos orgánicos sobre propiedades químicas y rendimiento de un cultivo de pimiento desarrollado en suelo.

Material y métodos

Se emplearon dos residuos orgánicos como un compost de desmotadora de algodón (A) y una gallinaza (G), cuyas propiedades se muestran en la Tabla 1. El proceso de compostaje llevado a cabo

tanto para los restos de desmotadora de algodón como con la gallinaza se hicieron siguiendo los criterios descritos en Tejada et al. (2001). Todos los parámetros químicos se determinaron de acuerdo con la metodología descrita en Tejada & Benítez (2011; 2020).

Tabla 1 – Características principales de los materiales orgánicos (media ± error estándar, n=3)

	A	G
Materia orgánica (g kg^{-1})	368 ± 21	488 ± 29
C-ácidos húmicos (g kg^{-1})	75,1 ± 16	22,6 ± 2,7
C-ácidos fulvicos (g kg^{-1})	16,3 ± 1,8	49,9 ± 3,3
N total (g kg^{-1})	12,9 ± 2,1	29,5 ± 1,8
P total (g kg^{-1})	7,6 ± 1,3	11,9 ± 1,4
K total (g kg^{-1})	47,1 ± 8,6	27,8 ± 2,9
Distribución del peso molecular de proteínas (Da)		
> 10000	40,7 ± 8,0	38,8 ± 7,2
10000 - 5000	28,4 ± 6,2	26,9 ± 5,7
5000 – 1000	20,7 ± 5,2	19,0 ± 2,4
1000 – 300	6,0 ± 1,7	8,4 ± 1,6
< 300	4,2 ± 1,3	6,9 ± 1,0

El experimento se desarrolló en septiembre 2016 a mayo de 2017 en Córdoba en un suelo experimental que presentaba un pH de $7,4 \pm 0,2$, $259 \pm 15 \text{ g/kg}$ de arcilla, $348 \pm 21 \text{ g/kg}$ de arena y 597 g/kg de arena. El contenido de materia orgánica era $15,4 \pm 1,6 \text{ g/kg}$ y el de N-Kjeldahl de $0,45 \pm 0,07 \text{ g/kg}$. La metodología empleada en la determinación de dichos parámetros está descrita en Tejada & Benítez (2011).

Se adquirieron plántulas de pimiento (*C. annuum* L. var. California) en un vivero comercial. Dichas plántulas presentaban una altura aproximada de 25 cm.

El diseño de campo experimental fue en bloques completos al azar con tres repeticiones en un total de 9 parcelas de $4 \times 5 \text{ m}$. Las plántulas se transplantaron manualmente a cada parcela experimental y la densidad de plantación fue de $2,5 \text{ plantas m}^2$.

Las parcelas se fertilizaron con los residuos orgánicos descritos. En este sentido, los tratamientos fertilizantes fueron: (1) tratamiento control, parcelas no

enmendadas orgánicamente; (2) tratamiento TA, parcelas enmendadas con A a una dosis de 15 t ha⁻¹ (5520 kg materia orgánica ha⁻¹), y (3) tratamiento TG, parcelas enmendadas con G a una dosis de 11,31 t ha⁻¹ (5520 kg materia orgánica ha⁻¹).

Los residuos orgánicos se mezclaron mecánicamente con el suelo.

El cultivo se sostuvo verticalmente mediante un sistema de cuerdas de nylon.

Para cada tratamiento fertilizante, las plantas se regaron regularmente dos veces por semana.

Con el objeto de determinar la influencia de dichos residuos orgánicos sobre la planta y fruto de pimiento, a los 200 días después de la plantación manual de las plántulas se tomaron muestras de hojas para su análisis nutricional (macro y micronutrientes).

Por otro lado, se recolectaron todos los frutos de pimiento de las plantas cultivadas para cada tratamiento fertilizante y se combinaron para determinar la producción de biomasa medida como peso fresco. Así como su composición mineral. Solo se consideraron los frutos de las plantas en la etapa de desarrollo de 200 días.

Tanto para la composición mineral de hojas como de frutos, las muestras vegetales se lavaron, secaron y trituraron. La determinación de Kjeldahl-N se determinó mediante el método MAPA (1986) para materia fresca, mientras que para P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn y Zn se realizó en los extractos se realizó mediante ICP-OES.

Con el objeto de observar posibles diferencias significativas entre los tratamientos, se realizaron análisis de varianza, utilizando el paquete estadístico Statgraphics Plus 2.1.

Resultados y Discusión

La Tabla 2 muestra los contenidos de macro y micronutrientes en la hoja a los 200 días de implantar el cultivo en cada parcela experimental. Los resultados indican un aumento de dichos elementos tras la aplicación de materia orgánica al suelo. No obstante, este aumento es mayor en el caso del tratamiento TG que en TA.

Tabla 2 – Contenido de nutrientes minerales de la hoja de pimiento (media ± error estándar) (materia seca) para cada tratamiento fertilizante. Filas seguidas de la(s) misma(s) letra(s) no son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

	TC	TA	TG
N [†] (g/kg)	11,5a ± 0,8	13,0b ± 1,1	15,9c ± 1,3
P (g/kg)	6,9a ± 0,8	8,7b ± 1,6	9,6c ± 1,3
K (g/kg)	11,7a ± 2,3	15,6b ± 1,9	19,3c ± 2,0
Ca (g/kg)	27,3a ± 1,8	31,6b ± 1,4	35,4c ± 2,5
Mg (g/kg)	4,9a ± 0,7	6,0b ± 1,3	7,1c ± 1,2
Fe (mg/kg)	170a ± 18	186b ± 27	205c ± 24
Mn (mg/kg)	68,2a ± 2,5	75,6b ± 1,8	83,9c ± 2,7
Cu (mg/kg)	6,0a ± 1,1	7,0b ± 1,4	8,6c ± 1,5
Zn (mg/kg)	39,5a ± 2,4	47,6b ± 3,1	53,9b ± 2,8

[†]: materia fresca

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Reyes et al. (2017) los cuales pusieron de manifiesto la importancia de la materia orgánica en la nutrición mineral del pimiento.

Los contenidos de macro y micronutrientes en hoja dependió de la composición química de la materia orgánica aplicada. Tejada & Benítez (2020) destacaron que las plantas tienen la capacidad de absorción de péptidos de bajo peso molecular. Estos mismos autores también destacan que los residuos orgánicos con mayor contenido en ácidos fulvicos que húmicos se degradaban más rápidamente, ya que dichos ácidos fulvicos son menos complejos que los ácidos húmicos. Puesto que el mayor contenido de estos péptidos de bajo peso molecular y de ácidos fulvicos se encuentran en la gallinaza, es muy normal que las plantas desarrolladas en este residuo orgánico muestren valores más altos de nutrientes en las plantas enmendadas con tal residuo orgánico.

La Tabla 3 muestra los contenidos de macro y micronutrientes en pimiento (fruto) a los 200 días de la implantación del cultivo.

Los resultados indican el efecto positivo positivo de la materia orgánica en los contenidos minerales del pimiento, destacando los mayores valores en los frutos cuyas plantas se enmendaron con la gallinaza. Posiblemente la mejor nutrición mineral observada en plantas enmendadas

con gallinaza fue la causa por la que los frutos recogidos mostraron mayores contenidos minerales.

Tabla 3 – Contenido de nutrientes minerales en pimiento (media ± error estándar) (peso fresco) para cada tratamiento fertilizante. Filas seguidas de la(s) misma(s) letra(s) no son significativamente diferentes ($p<0,05$)

	TC	TA	TG
N ⁱ (g/kg)	7,5a ± 2,0	11,3b ± 3,7	15,9c ± 4,0
P (g/kg)	3,4a ± 1,2	4,5b ± 1,4	5,6c ± 1,2
K (g/kg)	8,1a ± 1,6	10,4b ± 2,4	13,c9 ± 2,9
Ca (g/kg)	0,96a ± 0,11	1,5b ± 0,3	1,8b ± 0,2
Mg (g/kg)	1,1a ± 0,3	1,7b ± 0,5	2,1b ± 0,4
Fe (mg/kg)	39,8a ± 4,5	50,1b ± 3,3	61,2c ± 4,9
Mn (mg/kg)	8,4a ± 1,7	12,5b ± 1,4	14,9b ± 2,0
Cu (mg/kg)	3,7a ± 1,4	5,0b ± 1,1	6,2b ± 1,3
Zn (mg/kg)	11,5a ± 1,5	18,4b ± 1,8	24,3c ± 2,1

La Tabla 4 muestra los parámetros de producción determinados, indicando nuevamente el efecto de la materia orgánica sobre el número de pimientos recolectados como en su peso fresco. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores, como por ejemplo (Reyes et al., 2017), los cuales observaron un aumento significativo de la producción de pimientos cuando las plantas fueron enmendadas con un vermicopost y un compost obtenido a partir de compost de jacinto de agua.

Tabla 4 – Parámetros de producción en el de pimiento (media ± error estándar) (peso fresco) para cada tratamiento fertilizante. Filas seguidas de la(s) misma(s) letra(s) no son significativamente diferentes ($p<0,05$)

	TC	TA	TG
Pimientos recolectados	290a ± 17	317b ± 24	338c ± 19
Peso fresco (g/fruto)	38,6a ± 2,9	43,2ab ± 3,1	48,7b ± 2,4

Nuevamente los mayores valores se presentan para las plantas enmendadas con gallinaza. Posiblemente, también la mejor nutrición mineral de la planta de pimiento enmendada en este tipo de residuo orgánico sea responsable de que los frutos obtenidos muestren los mejores valores de producción.

Conclusiones

Nuestros resultados indicaron que la composición química del residuo orgánico aplicado al suelo influye de forma diferente en la nutrición mineral del pimiento, así como en la producción y composición mineral de los frutos obtenidos.

Los mayores valores se presentaron cuando se enmendó con un residuo orgánico con mayor contenido en péptidos de bajo peso molecular, fácilmente asimilables por la planta, y mayor contenido en ácidos fulvicos, los cuales se degradan más fácilmente que los ácidos húmicos y por tanto, proporcionar nutrientes para la planta de forma más rápida.

Referencias bibliográficas

- González, M., Cea, M., Medina, J., González, A., Díez, M., Cartes, P., Monreal, C. & Naria, R. (2015). Evaluation of biodegradable polymers as encapsulating agents for the development of a urea controlled-release fertilizer using biochar as support material. *Sci. Total Environ.* 505, 446-453. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.10.014.
- MAPA. (1986). *Métodos oficiales de análisis*. Secretaría Gral. Téc. del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación 1, 221–285.
- Tejada, M., & Benítez, C. (2020). Effects of different organic wastes on soil biochemical properties and yield in an olive grove. *Appl. Soil Ecol.* 146, 103371. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103371>.
- Ye, L., Zhao, X., Bao, E., Li, J., Zou, Z. & Cao, K. 2020. Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality. *Sci. Rep.* 10, 177. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56954-2>.
- Reyes, J.J., Luna, R.A., Reyes, M.R., Zambrano, D. & Vázquez, V.F. (2017). Fertilización con abonos orgánicos en el pimiento (*Capsicum annuum* L.) y su impacto en el rendimiento y sus componentes. *Centro Agrícola* 44, 88-94.
- Tejada, M., & Benítez, C. (2011). Organic amendment based on vermicompost and compost: differences on soil properties and maize yield. *Waste Manag. Res.* 29, 1185-1196. <https://doi.org/10.1177/0734242X10383622>.
- Tejada, M., & Benítez, C. (2020). Effects of different organic wastes on soil biochemical properties and yield in an olive grove. *Appl. Soil Ecol.* 146, 103371. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103371>.
- Tejada, M., Dobao, M.M., Benítez, C. & González, J.L. (2001). Study of composting of cotton residues. *Bioresour. Technol.* 79, 199-202. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00059-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00059-1).
- Wahyuni, Y., Ballester, A.R., Sudarmonowati, E., Bino, R.J. & Bovy, A.G. 2013. Secondary metabolites of *Capsicum* species and their importance in the human diet. *J. Natur. Prod.* 76, 783-793. doi: 10.1021/np300898z.

Actividades de la Sección de Enseñanza del Suelo y Concienciación Ciudadana de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo (SECS: 2020-2022)

Activities of the Soil Education and Public Safety Section of the Spanish Society of Soil Science (SECS: 2020-2022)

Lull, Cristina^{1*}, Soriano, María Desamparados^{2*}

¹ Departamento de Química, Escuela Politécnica Superior de Gandía, C/ Paranimf 1, 46730 Grao de Gandía, Valencia, España.

² Departamento de Producción Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de València, Camí de Vera s/n, E-46022 Valencia, España, asoriano@prv.upv.es

*clull@upvnet.upv.es

Resumen

Se mencionan las diferentes actividades desarrolladas por la Sección de Enseñanza del Suelo y Concienciación Ciudadana de la SECS desarrolladas en los distintos niveles educativos, cuya finalidad consiste en dar a conocer desde los niveles de enseñanza primaria hasta la universidad el conocimiento de los suelos. Entre ellas, se encuentran la creación de distintos juegos y actividades para mejorar los conocimientos sobre suelos y minerales.

Con el ánimo de divulgar el conocimiento de suelos y biodiversidad se han organizado concursos de dibujos con escolares estudiantes de primaria y secundaria, organizado en el marco de la celebración del Día Mundial del Suelo (DMS), así como una jornada sobre biodiversidad en suelos junto a la sección de Biología del Suelo.

Este año, el DMS se celebró con una conferencia sobre salinidad del suelo dado que, la salinización es uno de los problemas mundiales más importantes para la producción agrícola, la seguridad alimentaria y la sostenibilidad, así el 5 de diciembre se celebró el DMS 2021 en su campaña "Detener la salinización de los suelos, aumentar su productividad" cuyo objetivo es crear conciencia sobre la importancia de mantener ecosistemas saludables y luchar contra la salinización, alentando a todas las sociedades a comprometerse a mejorar la salud del suelo.

Palabras clave: Actividades, Sección de Enseñanza del suelo, concienciación sobre el suelo.

Abstract

Mention is made of the different activities carried out by the Section of Soil Education and Public Safety of the SECS developed at the different educational levels whose purpose is to make known from the levels of primary education to the university the knowledge of soils. Among them are the creation of different games and activities to improve knowledge about soils and minerals.

With the aim of disseminating the knowledge of soils and biodiversity, they have organized drawing competitions in schoolchildren for primary and secondary school students, organized within the framework of the celebration of World Soil Day, as well as a day on biodiversity in soils together with the Soil Biology section.

This year World Soil Day was celebrated with a conference on soil salinity since salinization is one of the most important global problems for agricultural production, food security and sustainability, so on December 5 World Soil Day 2021 was celebrated in its campaign "Stop the salinization of soils, increase their productivity" which aims to raise awareness about the importance of maintaining healthy ecosystems and fighting salinization, encouraging all societies to commit to improving soil health.

Keywords: Section of Soil Education, activities, soil awareness

Introducción

La Sección de Enseñanza de la Sociedad Española de la Ciencia del suelo, apoya y denuncia la necesidad de ofertar materias con contenidos en ciencias del suelo en los estudios de Primaria y Secundaria, así como en las Titulaciones Universitarias.

Actualmente los conocimientos sobre el suelo no se aportan en enseñanzas medias ni tampoco en bachillerato excepto en la asignatura optativa de Geología, donde se incluye un tema sobre el suelo y los horizontes.

En las titulaciones superiores, la Edafología sólo se imparte en las Titulaciones de Ciencias Ambientales, Agronomía, y Ciencias Biológicas, siendo en algunos casos asignaturas optativas.

Por ello, es necesario introducir conocimientos sobre el suelo en los niveles bajos y para ello se precisa motivar al alumnado con actividades relacionadas con el suelo. Por este motivo la Sección de Educación de la SECS viene realizando en los últimos años diversas actividades para alcanzar esta meta.

Actividades desarrolladas

Durante el año 2021 el objetivo de las diferentes actividades realizadas por la Sección de Enseñanza del Suelo y Concienciación Ciudadana de la SECS desarrolladas en los distintos niveles educativos consistieron en dar a conocer el papel de los suelos, diseñando actividades para ampliar el conocimiento de los suelos en los estudiantes e inculcando la idea de conservar y proteger los suelos.

Entre las actividades desarrolladas en este año se realizaron talleres que incluyeron un *breakout de suelos* y *Quién es quién en minerales?*, actividades desarrolladas con alumnos de primer curso del Grado en Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural, y del Grado en Ingeniería Forestal y del Medio Natural de la Universitat Politècnica de València (UPV).

Como en otros años se ha llevado a cabo el concurso de dibujos del alumnado, y este último año para celebrar el Día Mundial del Suelo 2021, "Salinización del suelo", la

Sección de Enseñanza del Suelo y Concienciación Ciudadana de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo (SECS) organizará una Jornada internacional para concienciar sobre la importancia de preservar a los suelos de las sales. Este evento, "Salinidad de suelos", se realizó el día 2 de diciembre en la ETSIAMN de la Universitat Politècnica de València

La conferencia corrió a cargo del Dr. Jorge Batlle, profesor de la Universidad de València y Presidente de la Sociedad Internacional de Suelos Salinos; el experto en su conferencia disertó sobre las causas y problemas de salinidad en los suelos. Con asistencia del alumnado de la Titulación de Agronomía y haciendo hincapié en el problema de salinización de los suelos como una de las vías de investigación prioritarias en la ciencia del suelo.

Otro de los concursos ya clásicos en esta sección ha sido el de dibujos escolares para estudiantes de primaria y secundaria "Desafío contra la salinidad de suelos", organizado en el marco de la celebración del Día Mundial del Suelo. En el año 2021 el lema de este día fue "Mantengamos suelos aptos para el desarrollo vegetal", donde como en otros años participaron un gran número de colegios a nivel nacional, otorgando numerosos premios entre los concursantes de los distintos niveles de primaria y secundaria.



Fig. 1- Concurso dibujo escolares.

También y dentro de los talleres de aplicación se ha realizado en el IES Bernat de Sarria de Benidorm el taller de vermicompostaje con niños de la ESO. En el que se enseña a los niños la necesidad de reciclar los residuos por vermicompostaje desarrollando esta actividad junto con el grupo de vermicompostaje de la Universitat Politècnica de Valencia. Durante dicha actividad los alumnos aprendieron a preparar lechos para las lombrices en mezclas adecuadas para su desarrollo y monitorizando variables edáficas como contenido en agua y temperatura del

sustrato. Los vermicompost obtenidos se aplicaron posteriormente al desarrollo vegetal en una segunda fase.

La pandemia cribó numerosas actividades entre ellas el paseo por los suelos vinícolas en la provincia de Valencia, que sólo se pudo realizar con un pequeño número de asistentes.

Ya en el año 2022 se ha realizado una jornada de campo sobre medidas de infiltración, usando infiltrómetros de disco, sobre diferentes superficies y tratamientos; Medidas de humedad y CO₂ usando sensores de humedad y captadores de CO₂ en diferentes condiciones y simulación de lluvia. Se organizó para estudiantes del Grado de Ingeniería Forestal y de Medio Rural de la Universidad Politécnica de Valencia. Celebrada en las instalaciones de dicha universidad contó con gran cantidad de asistentes tanto alumnos como profesores de dicha universidad y de la Universitat de Valencia Estudi General.

La Sección de Enseñanza del Suelo y Concienciación Ciudadana se ha propuesto recopilar y proporcionar material educativo para profesores y estudiantes escolares para ser utilizado tanto en las aulas como fuera de ellas. En la página web edafoeduca.es se están recopilando dichos recursos docentes.

Para celebrar el Día Mundial del Suelo 2020, "Mantengamos el suelo vivo: protejamos la biodiversidad del suelo", las Secciones de Biología del Suelo y Enseñanza del Suelo y Concienciación Ciudadana de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo (SECS) organizaron una Jornada internacional online, con la finalidad de concienciar sobre la importancia de preservar la biodiversidad del suelo. Este evento, "La biodiversidad del suelo: fuente de vida del planeta tierra", que a su vez se enmarca dentro de las actividades organizadas por la Sociedad Latino Americana de la Ciencia del Suelo (SLCS)-UNIDA, tuvo lugar el día 4 de diciembre. Fue presidido por el Dr. Jorge Mataix Solera, presidente de la SECS, quien, presentó las nuevas ediciones del cómic "Vivir en el suelo" en polaco (ChrońmyGleby) y en chino (生活在土壤) promovidas por nuestra compañera la Dra. Montserrat Diaz Raviña (IIAG-CSIC), coordinadora de estos proyectos.

La Jornada contó con el profesor de investigación CEBAS-CSIC Dr. Carlos García Izquierdo con la conferencia "Cuidar el suelo es cuidar la vida". y del papel clave del suelo para la vida y por tanto para el medio ambiente, de la preocupación por la salud del suelo, de la complejidad de definir la calidad de un suelo, de parámetros biológicos y bioquímicos como indicadores de la calidad del suelo y de distintas técnicas para el estudio de la biodiversidad microbiana como la medida de los PLFAs, metagenómica, metatranscriptómica, metaproteómica y meta-metabolómica. También insistió en la necesidad de conocer los efectos del cambio climático sobre los suelos y del gran papel de los suelos para la consecución de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Abordó la hoja de ruta de la Comisión Europea para la nueva estrategia de la UE para la protección del suelo y la importancia del suelo para el Pacto Verde Europeo. Indicó instrumentos en la UE relacionados con la protección del suelo como "Caring for Soil is Caring for Life", la Convocatoria Green Deal (perteneciente a Horizonte 2020) y la nueva herramienta EJP SOIL para crear un entorno propicio para mejorar la contribución de los suelos agrícolas a desafíos sociales clave, como la adaptación y mitigación del cambio climático, la producción agrícola sostenible, etc. Por último, recalcó la necesidad de divulgar en todos los niveles la importancia del suelo.

La segunda conferencia, "Usos de suelo y comunidades microbianas en la provincia de Carchi (Ecuador)", fue impartida por el profesor Dr. Luis Roca Pérez de la Universitat de València. Explicando cómo la composición de las comunidades microbianas del suelo se ven afectadas por diversos factores, entre ellos los derivados de la acción antrópica, cambios de uso y cultivos, los cuales pueden conducir a una pérdida de la biodiversidad derivadas de la alteración de algunas de las propiedades del suelo.

La tercera conferencia fue impartida por el profesor de biología Dr. Nicolás Lucas Domínguez quien compartió unas

reflexiones sobre la génesis y evolución del proyecto interdisciplinar de educación ambiental “After the Fire”, realizado con alumnado de Enseñanza Secundaria (IES A Pontepedriña, Santiago de Compostela). Por último, la Dra. Montserrat Diaz Raviña, Investigadora Científica del Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia del CSIC (IIAG-CSIC) y presidenta de la Sección de Biología de la SECS impartió la charla “Innovación de recursos didácticos en la enseñanza del suelo como sistema vivo”. En el año 2000, el Consello da Cultura Galega publica, en gallego, el cómic “Vivir no solo”, con el objetivo de dar conocer, entre los más jóvenes, de una forma atractiva y novedosa, la importancia del suelo y la necesidad de protegerlo. Los protagonistas del cómic (el caracol, el topo y la lombriz que viven en el suelo y un grupo de jóvenes) nos van mostrando todos los aspectos de suelo como sistema vivo (concepto, formación, componentes, funciones, amenazas, degradación y recuperación de su calidad), con el fin de resolver un conflicto surgido en un pueblo relacionado con la gestión del suelo. Durante el periodo 2015-2020 se adapta y edita en varios idiomas para su divulgación a nivel nacional e internacional.

En esta línea, se dio a conocer la labor de otros docentes implicados en esta motivación educativa por la ciencia del suelo que se recogen en la página web de **edafogeduca**, entre los que se muestran el comic **Biodiversidad** (C. Llull), los proyectos de **Aprendizaje Servicio** y realización de prácticas de laboratorio relacionadas con el **análisis del suelo** del IES Miguel Catalán (Coslada), el **mercadillo suelos y ecología** impulsado por el Dr. Josep Llinares de la Escuela Politécnica Superior de Gandía de la Universidad Politécnica de Valencia, el folleto divulgativo **Vermicompostaje** impulsado por miembros de la Sociedad de la Ciencia del suelo (C. Lull, y MD. Soriano) en colaboración con el IES Bernat de Sarria de Benidorm (Laura García-España). Y en el ámbito internacional, las actividades con perfiles de suelos realizadas por Carlos Ivan Bonilla Pascuas, docente de ciencias naturales de Fómeque del departamento de Cundinamarca en Colombia con sus

estudiantes de 2º de bachillerato, y con niños de edades entre los 11 y 13 años.



Fig. 1- Experiencia de vermicompostaje con escolares.

Los enlaces a las presentaciones de las conferencias y el video de la Jornada están disponibles en la página web de la SECS:

-Conferencia “Cuidar el suelo es cuidar la vida” C García-Izquierdo (CEBAS-CSIC).
<https://www.secs.com.es/wp-content/uploads/2020/12/Carlos-Garcia-DMS-2020.pdf>

-Conferencia “After the fire, un proyecto interdisciplinar en el contexto del Día Mundial del Suelo”, N Lucas Domínguez (IES-Pontepedriña).
https://www.secs.com.es/wp-content/uploads/2020/12/WSD-2020_Jornadas-Diversidad_Despois-do-Lume.pdf

-Conferencia “Innovación de recursos didácticos en la enseñanza” por la Dra. Montserrat Diaz Raviña (IIAG-CSIC).
<https://www.secs.com.es/wp-content/uploads/2020/12/M-Di%CC%81az-Ravin%CC%83a-DMS-2020.pdf>

- Video de la jornada:
https://www.youtube.com/watch?v=dO_xsCodZuQ

Evolución del horizonte argílico en una secuencia de suelos sobre materiales calizos en la zona de Alzira (Valencia)

Evolution of the argillic horizon in a soils sequence on limestone materials in the Alzira area (Valencia)

Soriano, María Desamparados^{1*}, Pons, Vicente², Boluda, R.², García-España, Laura², Roca-Pérez, Luis²

¹ Departamento de Producción Vegetal, Universitat Politècnica de València, Cami de Vera s/n, 46022 Valencia (España).

² Departamento de Biología Vegetal, Universitat de València, C/Vicente Estelles, Burjasot 46100 Valencia (España)

*asoriano@prv.upv.es

Resumen

La evolución de los horizontes argílicos de los suelos se ven afectados tanto por el material de origen como por la topografía del área. En suelos del litoral valenciano se observa la diferente evolución de los suelos con horizonte argílico Bt en zonas elevadas, en zonas intermedias y zonas bajas de las laderas o fondos de valle. En el primer caso sobre calizas consolidadas se desarrolla un horizonte Bt decarbonatado localizado entre las grietas de las calizas. El perfil intermedio presenta el horizonte Bt enterrado bajo un coluvio de ladera mientras que en el fondo de valle sobre arenas descalcificadas y sedimentos cuaternarios no es visible dicho horizonte. La diferente evolución origina desde Luvisoles crómicos sobre calizas consolidadas a Fluvisoles decalcificados en los cauces y fondos de valle. Estos cambios texturales son originados por la alternancia litológica y a la inestabilidad de las laderas.

Palabras clave: horizonte argílico, propiedades, materiales calizos.

Abstract

The evolution of the argillic horizons of the soil is affected both by the source material and by the topography of the area. In soils of the Valencian coast, the different evolution of the soils with Argillic Horizon Bt is observed in elevated areas, in intermediate zones and low areas of the slopes or valley bottoms. In the first case on consolidated limestones. There is a decarbonated Bt horizon developed between the limestone cracks. The intermediate profile presents the bt horizon buried, while on the valley floor this horizon is not visible. The different regional evolution Chromic luvisoles on consolidated limestones to Fluvisols in the channels. These textural changes are caused by lithological alternation and the instability of the slopes.

Keywords: argillic horizons, properties, limestone materials.

Introducción

La exposición y pendiente de las laderas son dos de los factores formadores que junto a la litología originan la evolución de suelos diferentes, todo ello sin descontar el resto de factores que dan origen o modifican el desarrollo de los suelos (Pedraza, 1996; Tomas, 2001; Chinchilla et al., 2011). En la evolución de los suelos, parámetros como el pH y la materia orgánica reaccionan rápidamente frente a los cambios externos, mientras que el contenido en arcillas y la CIC alcanzan el equilibrio mucho más despacio. Potenciano et al. (1997) indican la presencia de zonas de acumulación de arcillas iluviales en paleocanales verticales de paleosuelos rojos en una cuenca terciaria, indicando diferente génesis en horizontes argílicos (García-España et al., 2019).

El objetivo de nuestro trabajo es el reconocimiento de paleosuelos con horizonte argílico, y su relación con sus procesos de formación que han originado una diferente evolución de estos suelos.

La zona de estudio se localiza en las primeras cadenas montañosas próximas a la costa en la provincia de Valencia, en los municipios de Alcira y Llaurí, donde se encuentran elevaciones de 500 m de altitud como la Sierra de la Murta y el Cavall de Bernat. Los materiales (IGME, 1982) corresponden a rocas mesozoicas formadas durante los períodos Jurásico y Cretácico fuertemente consolidadas representadas por los períodos Cenomaniano, Turoniano y Campaniano y formadas por calizas, margocalizas y margas.

Tectónicamente el sinclinal del Cretácico superior constituye la Sierra de las Agujas cuyo flanco norte constituye la Sierra Corbera. Esta unidad está atravesada por dos fallas normales que producen su hundimiento.

Los sedimentos marinos adquieren gran importancia en el fondo del valle donde se extiende el Cuaternario. Se localizan puntualmente calizas arenosas y arenas descarbonatadas. La morfología de los relieves muestra crestas y cavidades que

forman rocas carbonatadas, infiltraciones de agua al interior de la sierra forman los acuíferos de la zona a los pies de las laderas. El tipo climático de la zona es Seco-subhúmedo con un índice de humedad de 0 a 20. Corológicamente la zona pertenece a la región mediterránea. Según Rivas Martínez (1987) corresponde al piso Termomediterráneo con ombroclima seco.

Metodología

Se estudian tres perfiles de suelos en la zona de estudio dos de ellos se desarrollan sobre materiales calizos consolidados localizados en distintas posiciones topográficas, desde la zona alta de la ladera en exposición E, zona media en exposición N-E y zona baja en orientación S-W, este último desarrollado sobre calizas arenosas en las proximidades de terrazas aluviales (IGME, 1982).

Se determina la clase textural de los horizontes de los suelos (método de la pipeta de Robinson), materia orgánica y sus fracciones, pH y CE, carbonatos, CIC (MAPA, 1988).

Resultados

De los perfiles de suelos estudiados (FAO, 1988), El primer perfil se ha clasificado como Luvisol crómico. Este se localiza en la zona más alta de las laderas, sobre calizas consolidadas.

El luvisol crómico presenta alto contenido de arcilla en el horizonte Bt descarbonatado, que descansa sobre la roca caliza consolidada (Soriano, 1988; Cano, 1977). Este horizonte Bt posee pH neutro y alto valor de CIC, mientras que el horizonte Ah posee una textura más arenosa y elevado contenido de materia orgánica (García-España et al., 2019).

El segundo perfil clasificado como Luvisol crómico-mollico presenta alto contenido de materia orgánica en los horizontes superficiales Ah₁ y Ah₂, con textura francoarenosa y con un horizonte 2Bt enterrado procedente de un suelo anterior.

Luvisol crómico	Leptosol mólico-luvico	Fluvisol háplico
		

Fig. 1 – Perfiles representativos del área de estudio.

Tabla 1 – Propiedades del perfil 1 Luvisol.

Prop.	Luvisol		
	Ah	B	R
Textura	Franco arcillosa	Arcillosa	-
Estructura	Granular	Bloques angulares	-
% CRA	30	56	-
pH	7,0	7,5	-
CE dS/m	0,102	0,156	-
CIC cmol_c/kg	27	35	-

El horizonte enriquecido con arcilla eluvuada presenta un incremento de la densidad aparente (Novillo et al., 2018; Phillips, 2007).

Tabla 2 – Propiedades del perfil Luvisol 2.

Prop.	Leptosoll			
	Ah ₁	Ah ₂	2Bt	R
Textura	Franco-arcillosa	Franca	Arcillosa	-
Estructura	granular	granular	bloques	-
% CRA	22	20	45	-
pH	7,0	7,5	7,5	-
CE dS/m	0,105	0,105	0,126	-
CIC cmol_c/kg	27	22	32	-

El perfil Fluvisol se localiza en la zona baja de la ladera de exposición sur sobre materiales arenosos de decalcificación, con elevado contenido en la fracción gruesa y bajos valores de materia orgánica y de la CIC (Novillo et al., 2018).

En todos los casos son suelos saturados en bases siendo el calcio el catión dominante en el complejo de cambio.

Tabla 3 – Propiedades del perfil Fluvisol.

Prop.	Fluvisol			
	Ap	BC	C ₁	C ₂
Textura	Franco arenosa	Franco arenosa	Arenosa	Arenosa
Estructura	Granular	Particular	Particular	Particular
% CRA	16	15	12	11
pH	7,0	7,2	7,0	7,1
CE dS/m	0,221	0,252	0,216	0,259
CIC cmol_c/kg	12	8	7	6

Interpretación de los procesos edáficos

Los procesos de edafogénesis han marcado la diferente evolución de los suelos estudiados. La formación edáfica 1 corresponde a un Luvisol crómico (F.A.O. 1988) de escaso espesor, descalcificado con una secuencia de horizontes Ah, Bt, R, que corresponde a un suelo muy evolucionado en una posición topográfica estable. El horizonte Ah (10YR4/6) posee abundante contenido en materia orgánica, con elevada evolución de la materia orgánica en este ambiente edáfico. El perfil se encuentra muy erosionado con escaso espesor. En profundidad se encuentra un horizonte Bt argílico que presenta cutanes de arcilla en poros y patinas arcillosas (5YR5/4). En la formación edáfica 2, la secuencia de horizontes corresponde a Ah₁, Ah₂, 2Bt, R. Corresponde a un Leptosol mólico desarrollado sobre antiguo argílico en zonas donde empiezan a aflorar las calizas arenosas, cuyos sedimentos son depositados sobre antiguos argílicos fosilizados y descalcificados (5YR4/4)

(Cano et al., 1997; Larreal et al., 2004; Porta et al., 2008).

En la unidad 3, se desarrolla un Fluvisol háplico-arénico sobre calizas arenosas en la proximidad de antiguas terrazas aluviales. Estos suelos se localizan en exposición S-W donde afloran depósitos de arenas descalcificadas de tonos rojos que originan suelos arenosos, descarbonatados y de escasa evolución, con una secuencia de horizontes Ap, BC, C₁, C₂ y donde el horizonte argílico no aparece desarrollado en el espesor del perfil explorado.

En general y desde el punto de vista agrícola, los Luvisoles son suelos productivos pues su horizonte argílico presenta una alta capacidad de retención de agua y un alto valor en su capacidad de intercambio catiónico, que les confiere una mayor fertilidad. No obstante, la desaparición del horizonte superficial y la consiguiente aparición del horizonte argílico afectarían negativamente al drenaje del suelo y al rendimiento del cultivo (Guardado et al., 2018).

Conclusiones

El estudio de la evolución de los horizontes argílicos en la zona de la comarca de la Ribera en Valencia muestra cambios en los horizontes estudiados, desde las zonas más estables y evolucionadas, pasando por horizontes argílicos enterrados en la zona intermedia y la posible inexistencia de dicho horizonte en la zona más baja de exposición sur, con cambios texturales originados por la alternancia litológica y a la inestabilidad de las laderas.

Referências bibliográficas

- Cano, A. F. (1997). *Génesis y evolución paleoambiental de los suelos de la Sierra de Carrascoy (Murcia)* (Doctoral dissertation, Universidad de Murcia).
- Chinchilla, M., Alvarado, A., & Mata, R. (2011). Factores formadores y distribución de suelos de la subcuenca del río Pirrís, Talamanca, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 35(1), 33-57.
- F.A.O. (1988). World Reference Base for Soil Resources. *World Soil Resource Report 64*. ISSS-AISS-IBG ISRIC. 88 p.
- García-España, L., Soriano Soto, M. D., Boluda Hernández, R., Salvador Sanchís, P., & Pons Martí, V. (2019). Propiedades y características mineralógicas de los suelos tipo en zonas vitícolas valencianas. *Macla*, 2019, vol. 24.
- López, R. G., & Alday, J. J. G. (2018). Alfisoles en la comarca de La Manchuela, Albacete (España). In *Actas de las III Jornadas sobre el Medio Natural Albacetense* (Albacete, 5 al 8 de octubre de 2016) (pp. 31-41). Instituto de Estudios Albacetenses "Don Juan Manuel".
- IGME (1982). Mapa Geológico de España. Escala 1:50.000. Hoja de Alcira. Instituto Geológico y Minero de España.
- Larreal, M., Jiménez, L., Wilhelmus, P., & Noguera, N. (2004). Aspectos micromorfológicos, morfológicos, físicos y químicos de los Typic Haplargids en la altiplanicie de Maracaibo. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 21, 257.
- MAPA (1988). Mètods Oficials de Anàlisis de Suelos. . Ministerio de Agricultura , Pesca y Alimentación. Madrid.
- Pedraza, J. D. (1996). *Geomorfología: principios, métodos y aplicaciones* (No. 551.4 PED).
- Phillips, J.D. 2007. Development of Texture Contrast Soils by a Combination of Bioturbation and Translocation. *Catena*. 70 : 92-104.
- Potenciano, A., Espejo, R. & Garzón G. (1997). Caracterización y ambiente de formación de los Paleosuelos. *Geogaceta*, 22 (1), 157-160.
- Martín García, J. M., Delgado, G., Sánchez Marañón, M., Párraga, J. F., & Delgado, R. (1996). Los suelos rojos en las principales clasificaciones. Universidad de Huelva. *Geogaceta*, 20 – 5. Revisión.
- Novillo, I.M., Carrillo, D., Danilo, M., Nabel, V.. Alban, K., Morales, E. & Lourdes, F. 2018. Propiedades físicas del suelo en diferentes sistemas agrícolas en la provincia de Los Ríos, Ecuador. *Temas Agrarios*, vol 23, nº 2, 177-187.
- Porta, J., López-Acevedo, M., Poch, R.M. (2008). Introducción a la Edafología, uso y protección del suelo. Ed. Mundiprensa. Madrid, Spain.
- Tomàs, A. V. (2001). La Geologia, Anselm Crusells, Pep Cunillera i Montserrat Robusté. *Quaderns de Vilaniu*, (39), 77-79.
- Soriano, MD. (1988). *Estudio de los Luvisoles desarrollados sobre materiales calizos en la provincia de Valencia*. Universitat de València. Tesis Doctoral 325 p.

Adsorción/desorción de tetraciclina y sulfadiazina incorporadas conjuntamente a suelos de cultivo de Galicia (NW Spain)

Sorption/desorption of tetracycline and sulfodiazine co-incorporated in cropping soils from Galicia (NW Spain)

Cela-Dablanca, Raquel¹; Barreiro, Ana¹; Ferreira, Gustavo¹; Santás-Miguel, Vanesa²; Rodríguez-López, Lucia²; Arias-Estevez, Manuel²; Núñez-Delgado, Avelino¹; Fernandez-Sanjurjo, María J.¹; Álvarez-Rodríguez, Esperanza^{1*}

¹ Departamento de Edafología e Química Agrícola. Escola Politécnica Superior de Enxeñaría, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, España

² Área de Edafología e Química Agrícola. Facultade de Ciencias, Universidade de Vigo, Ourense, España

*esperanza.alvarez@usc.es

Resumen

Se estudió la competencia entre la tetraciclina (TC) y la sulfadiazina (SDZ) por los sitios de adsorción de diferentes suelos agrícolas, en un sistema binario y uno simple, mediante ensayos de adsorción/desorción tipo batch. En el sistema binario los porcentajes de adsorción de TC fueron siempre más elevados (alrededor 100%) que los de SDZ (10-90%). En este sistema, la desorción de TC fue siempre inferior al 5% y la de SDZ generalmente inferior al 10%. Comparando la adsorción de TC y SDZ entre los sistemas simples y binario, observamos que el porcentaje de SDZ adsorbido es mucho más alto en el sistema binario. Por el contrario, la adsorción de TC no se ve afectada por la presencia de SDZ, obteniéndose porcentajes de adsorción similares en ambos sistemas. En cuanto a la desorción, la de SDZ en el sistema simple alcanza el 100% en algunos suelos, mientras que en presencia de TC el porcentaje desciende al 10%; la desorción de TC no está afectada por la presencia de SDZ y no se supera el 4% en ningún caso. Los resultados indican un mayor riesgo de contaminación ambiental por SDZ que por TC, que desciende cuando ambos antibióticos se incorporan simultáneamente.

Palabras clave: retención, liberación, antibióticos, competencia

Abstract

The competition between tetracycline (TC) and sulfadiazine (SDZ) for the sorption sites of different agricultural soils was studied in binary and simple systems, using sorption/desorption batch-type experiments. The TC sorption percentages in the binary system were higher (around 100%) than those for SDZ (10-90%). In this binary system desorption was always smaller than 5% for TC and generally smaller than 10% for SDZ. Comparing TC and SDZ sorption between the binary and simple systems, we observed that the percentage of adsorbed SDZ was much higher in the binary one. Conversely, TC sorption was not affected by the presence of SDZ, showing similar sorption percentages in both systems. Regarding the desorption values, in the simple system SDZ reached 100% in some of the soils, while in the presence of TC this percentage decreased to 10%. TC desorption was not affected by the presence of SDZ, and the desorption values did not surpass 4% in any case. The results indicate a higher environmental contamination risk for SDZ than for TC, that decreases when both antibiotics are incorporated to the soils simultaneously.

Keywords: retention, release, antibiotics, competition

Introducción

Los antibióticos del grupo de las tetraciclinas (TCs) y las sulfonamidas (SAs) se usan ampliamente en medicina veterinaria para tratar enfermedades y, en algunos países, como promotores del crecimiento (Szymańska et al., 2019). España es uno de los países de la Unión Europea (UE) con mayor consumo de estos fármacos en producción animal (unas 3000 t/año) (Conde-Cid et al., 2018) y para el año 2030 se espera a nivel mundial un incremento del consumo del 67% (Van Boeckel et al., 2015).

Los antibióticos generalmente se metabolizan escasamente y hasta un 90% es excretado por las heces y la orina, pudiendo incorporarse al medio ambiente a través de las aguas residuales y de los purines añadidos a los suelos como fertilizantes (Szymańska et al., 2019). Estos fármacos se han detectado en diferentes compartimentos ambientales, tales como el suelo y el agua, y también en alimentos (Yufeng et al., 2020). En Galicia (NW Spain), la presencia de TCs y SAs se ha detectado en purines, suelos y cultivos (Conde-Cid et al., 2018). Cuando estos antibióticos entran en el suelo, pueden causar problemas relacionados con el aumento de la resistencia bacteriana a antibióticos, o pasar a las aguas y a la cadena trófica, lo que supone un riesgo para la salud humana y animal (Bengtsson-Palme & Larsson, 2016; Grenni et al., 2018).

La adsorción irreversible de los antibióticos por los componentes del suelo puede ser el principal factor de control para evitar la entrada de estos fármacos en la cadena trófica. Pero este proceso depende de las características tanto del suelo como de los antibióticos. En cuanto al suelo, el contenido y calidad de la materia orgánica, el tipo de arcilla, los cationes cambiados y el pH son determinantes (Conde-Cid et al., 2020); mientras que las propiedades de los antibióticos que más influyen en su interacción con el suelo son su solubilidad en agua, los grupos funcionales que presentan, así como su número de constantes de disociación en ácido (pK_a) (Wang & Wang, 2015). La entrada conjunta

de varios antibióticos en el suelo puede modificar su comportamiento individual en relación con la interacción con el suelo. A este respecto, hay muy pocos estudios de adsorción competitiva entre sulfonamidas y tetraciclinas (Yufeng et al., 2020).

El objetivo de este trabajo es estudiar, mediante ensayos de adsorción/desorción tipo batch, la competencia entre una tetraciclina (la tetraciclina: TC) y una sulfonamida (sulfadiazina: SDZ) por los sitios de adsorción de 6 suelos de cultivo con distintas propiedades, comparando la adsorción/desorción de cada antibiótico entre sistemas simples (un solo antibiótico presente) y binarios (dos antibióticos presentes simultáneamente).

Material y métodos

El estudio se realizó en 6 suelos de cultivo de Galicia (NW Spain) que presentan un amplio rango de pH (4,49-7,06) y de contenido en materia orgánica (1,07-10,92%), que fueron muestreados en dos zonas de agricultura y ganadería intensivas (A Limia, provincia de Ourense, y Sarria, provincia de Lugo). Se muestreó la capa superior del suelo (0-20 cm), y en el laboratorio las muestras fueron secadas al aire, tamizadas (<2 mm), y homogenizadas para su análisis y uso en los estudios de adsorción/desorción.

Se realizaron dos tipos de ensayos de adsorción/desorción de tipo batch: sistema binario (con TC y SDZ presentes al mismo tiempo); y sistema simple (con cada antibiótico por separado). Se usaron alícuotas de 1 g de suelo, a las que se le añadieron 40 mL de CaCl_2 conteniendo antibiótico (uno de ellos o ambos), en cinco concentraciones diferentes (1, 3, 5, 25, 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) y se agitaron durante 24 h. Posteriormente se centrifugaron y filtraron, midiendo en la disolución de equilibrio la concentración de antibiótico/s mediante HPLC (Thermo-Fisher Modelo LPG 3400 SD, USA), utilizando una longitud de onda de 360 nm para TC y de 270 nm para SDZ. La desorción se midió posteriormente en las mismas muestras.

Los resultados se ajustaron a los modelos de Freundlich, Langmuir, Lineal y Temkin

utilizando el programa SPSS v27. Adicionalmente, para analizar la posible competencia por los sitios de adsorción, los modelos Lineal y de Freundlich fueron adaptados para el sistema binario. Los resultados de adsorción/desorción de los sistemas binario y simple se compararon para la concentración de antibiótico de 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Resultados y discusión

La adsorción de TC y SDZ se incrementa a medida que aumenta su concentración añadida (Fig. 1). Para la máxima concentración añadida (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$), los valores de adsorción de TC son similares entre los distintos suelos (máximo de 1795 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ en la muestra 3AL), con porcentajes de adsorción próximos al 100% en todos ellos (Fig. 1). En cuanto a la SDZ, se observan diferencias en la adsorción entre los distintos suelos, siendo el pH y contenido en materia orgánica las propiedades que más afectan en el proceso de adsorción. Observando los datos, se obtiene, para la concentración más elevada valores mínimos de 200 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ en el suelo 3AL ($\text{pH}=4,74$), y máximos próximos a 1600 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ en el suelo 51S ($\text{pH}=7,06$) (Fig. 1). Los porcentajes de SDZ adsorbidos disminuyen con el aumento en la concentración del antibiótico añadido en la muestra 3AL, hasta un mínimo del 10%, mientras que la muestra 51S presenta, en general, valores próximos al 100%.

Esta mayor adsorción y persistencia de TC en el suelo ha sido descrita previamente (Jiang et al., 2020). SDZ se adsorbe principalmente mediante interacciones electrostáticas (Wang et al., 2015), mientras que TC lo hace además por puentes catiónicos, complejación superficial o enlaces de H (Wegst-Uhrich et al., 2014), lo que justificaría su mayor retención.

Los ajustes al modelo Lineal son buenos, con R^2 generalmente superiores a 0.90 (Tabla 1). En estos sistemas binarios, el coeficiente K_d es muy superior para TC respecto a SDZ, lo que justifica la mayor adsorción de TC observada (Fig. 1), y que también ha sido descrita en sistemas

simples (Conde-Cid et al., 2020). Aplicando el modelo Lineal a los dos antibióticos (TC+SDZ) en el sistema binario (Tabla 1), obtenemos un buen ajuste y un K_d inferior al de TC sola pero superior al de SDZ sola, lo que indicaría una adsorción de SDZ más favorable en el sistema binario, al contrario de lo que ocurriría para TC. En cuanto a los demás modelos el de Langmuir no presentaba un buen ajuste, mientras que sí es bueno para los de Freundlich y Temkin.

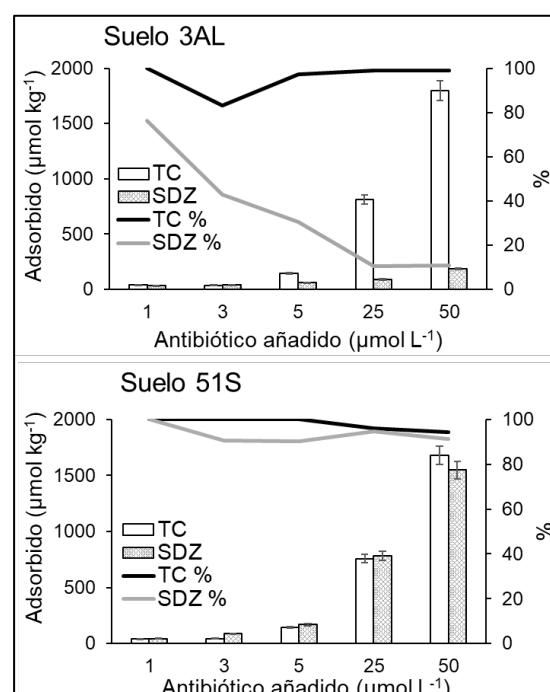


Fig. 1 – Adsorción de tetraciclina (TC) y sulfadiazina (SDZ) en dos de los suelos agrícolas (AL: A Limia; S: Sarria) en un sistema binario.

La desorción de TC es muy inferior a la observada para SDZ, y prácticamente irreversible. La desorción de SDZ no supera el 20% en los suelos con mayor concentración de antibiótico añadido. La mayor adsorción y energía de retención de las TCs con relación a las SAs fue señalada en estudios previos y se puede relacionar con los diferentes mecanismos de unión a los coloides del suelo que presentan las TCs frente a las SAs (Wegst-Uhrich et al., 2014).

Al comparar la adsorción/desorción en los sistemas simple y binario, observamos que ni la adsorción ni la desorción de TC se ven afectada por la presencia de SDZ, debido a

la mayor afinidad de la TC por los coloides del suelo. Sin embargo, la presencia de TC parece potenciar la adsorción de SDZ, obteniéndose diferencias superiores al 65% entre los dos sistemas. Cuando SDZ se encuentra en un sistema binario con TC también disminuye la desorción (generalmente <5%), frente al 100% del sistema simple. Por tanto, TC no compite con SDZ por los sitios de adsorción de los coloides del suelo, sino que su presencia favorece la adsorción de SDZ.

Tabla 1 – Parámetros del modelo de adsorción Lineal de tetraciclina (TC) y sulfadiazina (SDZ) de suelos de cultivo de A Limia (AL) y Sarria (S). K_d : coeficiente relacionado con la capacidad de adsorción; R^2 : coeficiente de determinación. * Obtenido del ajuste al sistema binario.

Suelo	Antibiótico	K_d ($L\ kg^{-1}$)	Error	R^2
3AL	TC	3425,88	576,08	0,901
	SDZ	4,76	0,646	0,896
	TC+SDZ*	49,07	1,251	0,995
19AL	TC	1124,69	133,12	0,947
	SDZ	47,06	7,331	0,903
	TC+SDZ*	122,23	13,229	0,911
50AL	TC	4119,73	189,84	0,991
	SDZ	380,27	31,625	0,972
	TC+SDZ*	735,24	47,434	0,983
6S	TC	532,93	37,58	0,981
	SDZ	195,89	14,827	0,977
	TC+SDZ*	296,65	20,210	0,982
51S	TC	685,03	37,95	0,988
	SDZ	434,02	30,830	0,960
	TC+SDZ*	537,14	30,531	0,975
71S	TC	9554,35	2134,52	0,831
	SDZ	484,69	43,567	0,936
	TC+SDZ*	971,34	84,606	0,942

Conclusiones

Cuando se incorporan conjuntamente TC y SDZ a los suelos en un sistema binario, TC se adsorbe prácticamente en su totalidad y de forma irreversible, mientras que SDZ se adsorbe menos y se libera más al medio. El riesgo de que SDZ entre en la cadena trófica es menor cuando se incorpora al suelo con TC que cuando lo hace sola. Este efecto sinérgico no es recíproco, pues

SDZ no afecta a la adsorción/desorción de TC, en las concentraciones estudiadas.

Agradecimientos

Al Ministerio de Ciencia, Innovación e Universidades de España: proyectos RTI2018-099574-B-C21 y RTI2018-099574-B-C22.

Referencias

- Bengtsson-Palme, J., & Larsson, D.G.J. (2016). Concentrations of antibiotics predicted to select for resistant bacteria: proposed limits for environmental regulation. *Environment International* 86, 140–149.
- Conde-Cid, M., Álvarez-Esmorís, C., Paradelo-Núñez, R., Núñez-Delgado, A. (2018). Occurrence of tetracyclines and sulfonamides in manures, agricultural soils and crops from different areas in Galicia (NW Spain). *Journal of Cleaner Production* 197, 491–500.
- Conde-Cid, M., Núñez-Delgado, A., Fernández-Sanjurjo, M.J., Álvarez-Rodríguez, E., Fernández-Calviño, D., & Arias-Estévez, M. (2020). Tetracycline and sulfonamide antibiotics in soils: Presence, fate and environmental risks. *Processes* 8, 1479-1519.
- Grenni, P., Ancona, V., Caracciolo, A.B. (2018). Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: a review. *Microchemical Journal* 136, 25–39.
- Jiang, Y., Zhang, Q., Deng, X., Nan, Z., Liang, X., Wen, H., Huang, K., & Wu, Y. (2020). Single and competitive sorption of sulfadiazine and chlortetracycline on loess soil from Northwest China. *Environmental Pollution*. 263, 114650-114664.
- Szymańska, U.; Wiergowski, M.; Sołtyszewski, I.; Wiergowska, G., Woźniak, M. K. (2019). Presence of antibiotics in the aquatic environment in Europe and their analytical monitoring: Recent trends and perspectives. *Microchemical Journal* 147, 729-740.
- Van Boeckel, T.P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A.,..., & Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (18), 5649-5654.
- Wang, S., & Wang, H. (2015). Adsorption behavior of antibiotic in soil environment: a critical review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering* 9.
- Wang, N., Guo, X., Xu, J., Hao, L., Kong, D., & Gao, S. (2015). Sorption and transport of five sulphonamide antibiotics in agricultural soil and soil-manure systems. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 50, 23-33.
- Wegst-Uhrich, S.R., Navarro, D.A.G., Zimmerman, L., & Aga, D.S. (2014). Assessing antibiotic sorption in soil: a literature review and new case studies on sulfonamides and macrolides. *Chemistry Central Journal* 8, 5-10.
- Yufeng, J., Qian, Z., Xueru, D., Zhijiang N., Xinru L.,..., & Yingjin, W. (2020). Single and competitive sorption of sulfadiazine and chlortetracycline on loess soil from Northwest China. *Environmental Pollution* 263, 114650-114660.

Adsorción y desorción de Cu y As(V) en distintos suelos y bioadsorbentes

Adsorption and desorption of Cu and As(V) in different soils and bioadsorbents

Cela-Dablanca, Raquel¹; Barreiro, Ana¹; Santás-Miguel, Vanesa²; Rodríguez-López, Lucía²; Arias-Estévez, Manuel²; Núñez-Delgado, A¹; Álvarez-Rodríguez, E¹; Fernández-Sanjurjo, M.J^{1*}

¹ Departamento de Edafología e Química Agrícola, Escola Politécnica Superior de Enxeñaría, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, España

² Área de Edafología e Química Agrícola. Facultade de Ciencias, Universidade de Vigo, Ourense, España

*mf.sanjurjo@usc.es

Resumen

La aplicación agrícola de purines constituye una vía de entrada de Cu y As(V) en los suelos receptores de ese abonado. En este trabajo se estudia la capacidad de adsorción y desorción de Cu y As(V) por parte de diferentes suelos y bioadsorbentes. Para ello, se seleccionaron seis suelos de dos zonas de Galicia (NO España) de elevada actividad agrícola, y tres supproductos abundantes en la región (corteza de pino, cenizas de combustión de roble y concha de mejillón). Para llevar a cabo este estudio se realizaron ensayos tipo batch, en los que se fueron añadiendo concentraciones crecientes de cada uno de los dos contaminantes a 1 g de cada suelo o bioadsorbente, y se mantuvieron en agitación durante 24 h. La adsorción de Cu es mayor en los suelos con más materia orgánica y/o mayor pH, alcanzando casi el 100%, mientras que la desorción en estos suelos no supera el 15%. Sin embargo, en la adsorción de As(V) no se aprecian diferencias claras entre los suelos de diferente pH. En cuanto a la desorción de As, los suelos con pH más alto desorben en mayor medida, alcanzando un máximo de hasta un 67%.

Palabras clave: suelos, residuos, metales pesados, retención, liberación

Abstract

Slurry amendment is one of the ways of Cu and As(V) entry into agricultural soils. In this work, Cu and As sorption and desorption characteristics are studied for different soils and bio-adsorbents. Specifically, six soils from two different areas of Galicia subjected to high agricultural activity, as well as three by-product materials abundant in the region were selected. Batch experiments were carried out, adding increasing concentrations of both pollutants to 1 g of each soil or bioadsorbent, then shaking during 24 h. The results indicate that Cu sorption is higher in soils with higher pH values and/or organic matter contents, reaching up to 100% of sorption, while desorption is less than 15%. However, As(V) adsorption is similar independent of the soil pH. Regarding As(V) desorption, those soils having higher pH values showed increased desorption percentages, achieving up to a maximum of 67%.

Keywords: soils, residues, heavy metals, retention, release

Introducción

Es creciente la tasa de introducción de metales pesados y metaloides en el suelo a través de fertilizantes, pesticidas, estiércol, lodos de depuradora, riego con aguas residuales o actividades industriales (Keshavarzi y Kumar, 2019), lo que genera preocupación por su impacto sobre el medio ambiente y la salud humana (Baltas, et al., 2020). La toxicidad de estas substancias está acrecentada por la imposibilidad del organismo afectado de excretarlas, por lo que tienden a bioacumularse, de modo que, aunque en el medio ambiente no presenten concentraciones elevadas, pueden alcanzar concentraciones dañinas en su paso a la cadena trófica (Zaynab, et al., 2022).

El arsénico es un elemento que causa una especial preocupación por su elevada toxicidad y facilidad de transporte, ya que puede movilizarse en los valores de pH más frecuentes de las aguas subterráneas, amenazando así los recursos de agua potable (Podgorski and Berg, 2020). El Cu es un micronutriente esencial para los seres humanos y para el desarrollo vegetal, pero es tóxico en altas concentraciones (Macías y Calvo, 2009).

La capacidad de retención del suelo puede ser un factor importante en la mitigación de los efectos tóxicos de estos metales/metaloides, pero a largo plazo pueden saturarse las superficies adsorbentes de los suelos, aumentando el riesgo de paso a aguas, plantas, y a la cadena trófica. La utilización de materiales bioadsorbentes puede ser una alternativa eficiente y de bajo costo para aumentar la capacidad de retención del suelo.

El objetivo de este trabajo es estudiar, mediante ensayos de adsorción/desorción, la retención de Cu y As(V) por suelos de cultivo de Galicia con distintas características y también la capacidad de retención de distintos subproductos de la industria forestal (ceniza de roble y corteza de pino) y de la industria alimentaria (concha de mejillón).

Material y métodos

Se seleccionaron suelos de dos zonas de Galicia con agricultura intensiva. Tres de ellos en Sarria (Lugo) y otros tres en A Limia (Ourense). Estos suelos han sido previamente estudiados y descritos por Conde-Cid et al. (2018). Los suelos fueron seleccionados en función de su pH y materia orgánica. Cada muestra deriva de 10 submuestras simples recogidas en zig-zag en cada parcela.

Los subproductos utilizados fueron cenizas de combustión de astillas de roble, corteza de pino y concha de mejillón sin calcinar. Su caracterización se detalla en Romar-Gasalla et al. (2018).

Para conocer la capacidad de adsorción/desorción de los suelos y bioadsorbentes se realizaron ensayos tipo batch, en los que se añadieron a 1 g de suelo o sorbente 40 mL de disolución con diferentes concentraciones de Cu y As (100, 200, 400, 800 y 1600 $\mu\text{mol L}^{-1}$) en CaCl_2 0.005 M. Se agitaron durante 24 horas y posteriormente se centrifugaron durante 15 minutos a 40 rpm y se filtraron. En la disolución de equilibrio se determinó el carbono orgánico disuelto (DOC), el pH y la concentración de Cu o As. La cantidad de Cu o As adsorbida fue calculada por la diferencia entre la concentración añadida y la concentración remanente en la disolución de equilibrio.

Una vez finalizada la adsorción se estudió la desorción, para conocer la reversibilidad del proceso. Para ello, a cada una de las muestras se les añadieron 40 mL de CaCl_2 0.005 M y se repitió el mismo proceso que en la adsorción.

Los datos de adsorción obtenidos experimentalmente fueron ajustados a los modelos Lineal, Freundlich, Langmuir y Temkin.

Resultados y discusión

Adsorción

Tanto para el Cu como para el As(V), cuánto mayor es la concentración añadida, mayor es la adsorción. Además, en general, la adsorción de Cu es más elevada que la de As, especialmente en el grupo de suelos de Sarria (S).

Considerando la concentración más alta de Cu o As(V) añadida ($1600 \mu\text{mol L}^{-1}$), los valores máximos de adsorción de Cu se encuentran en los suelos 51S y 71S, con valores de $37687 \mu\text{mol kg}^{-1}$ y $44019 \mu\text{mol kg}^{-1}$ respectivamente, mientras que para el As los valores máximos de adsorción se encuentran en un suelo de A Limia (AL), concretamente 50AL ($17075,78 \mu\text{mol kg}^{-1}$) y en el suelo 71S ($22979,85 \mu\text{mol kg}^{-1}$).

La adsorción de Cu es inferior en los suelos de A Limia que en los de Sarria (Fig. 1).

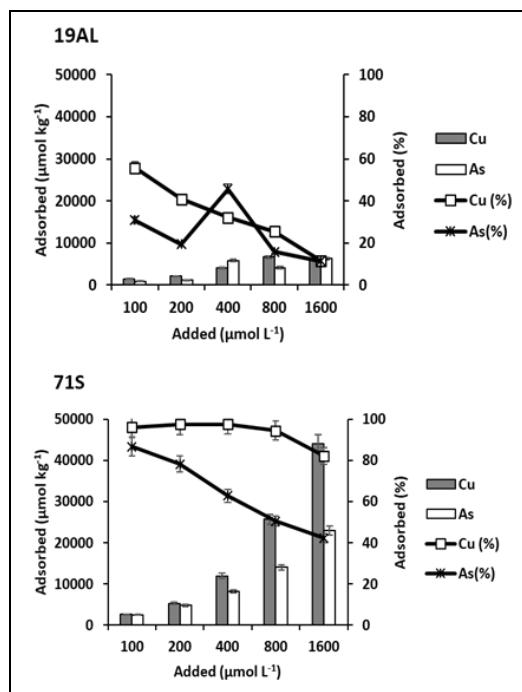


Fig. 1- Adsorción de Cu y As(V), expresada en $\mu\text{mol kg}^{-1}$ y en porcentaje, de un suelo de A Limia y uno de Sarria

Dentro de cada grupo de suelos, la adsorción es más elevada en los que presentan más contenido en materia orgánica y mayor capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICe) (50AL y 71S), coincidiendo con lo señalado por Shaheen et al. (2017). Además, otros factores, como el pH, influyen en la adsorción. Los suelos de mayor pH presentan cargas negativas en los componentes de carga variable, principalmente en la materia orgánica, pero también en los componentes no cristalinos, los cuales son más abundantes en los suelos S.

Para As(V), no se observan diferencias claras entre la adsorción de los suelos S y AL, sugiriendo que el pH de los suelos no

ejerce un efecto tan evidente en la adsorción de As. Mamindy-Pajany et al. (2011) obtuvieron porcentajes de adsorción del 100% de As sobre hematita para pH entre 2 y 11.

En los bioadsorbentes la adsorción es mayor para el Cu que para el As. En el Cu, la mayor adsorción corresponde al bioadsorbente con pH más alto, la ceniza, seguida de la concha y de la corteza (Fig. 2). Según aumenta el pH se incrementa la carga negativa en los coloides de carga variable, favoreciendo la retención catiónica. En este sentido los minerales no cristalinos, que aportan una carga variable, son mucho más abundantes en la ceniza que en la concha, lo que podría explicar la mayor adsorción de Cu en la ceniza. Para el As(V), también es la ceniza la que más adsorbe, mientras que, en la concha, y sobre todo en la corteza, la adsorción es mucho más baja (Fig. 2).

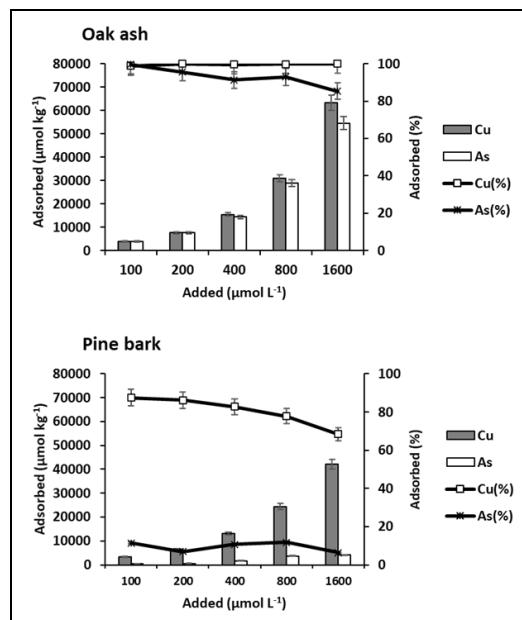


Fig. 2- Adsorción de Cu y As(V), expresada en $\mu\text{mol kg}^{-1}$ y en porcentaje, de la ceniza y la corteza

La adsorción de ambos contaminantes se ajustó bien a los modelos de Langmuir, Freundlich y Temkin. Los tres modelos explican satisfactoriamente la adsorción de Cu y As en todos los suelos y en casi todos los bioadsorbentes, con una R^2 que oscila entre 0,784 y 0,999 para Langmuir, 0,638 y 0,997 para Freundlich, y entre 0,656 y 0,999 para Temkin.

Desorción

Los suelos AL presentan desorción similar para ambos contaminantes, mientras que en los suelos S (con pH más altos) desorben mucho más As que Cu. Además, la desorción del Cu es mucho mayor en los suelos de la zona AL que en los de la S. En los suelos AL se desorbe como máximo entre un 12% y un 39% de Cu, mientras que en los suelos S el rango es más menor (entre el 5% y el 15%). Para el As, la desorción en los suelos AL no supera el 40%, sin embargo, en los suelos S se alcanza un máximo del 67%. Para ambos elementos, los suelos que tienen mayor desorción, son los que adsorbieron menos. Varios autores destacan la influencia del pH en la desorción de los metales pesados en los suelos (Ören y Kaya, 2006; Korchagin, et al., 2020).

En cuánto a la desorción de Cu por los bioadsorbentes, el bioadsorbente que presenta los valores de desorción más altos es la corteza, seguido de la concha y la ceniza, inversamente a la adsorción, como sucede con los suelos. Sin embargo, con respecto al As(V), la secuencia de desorción es: concha > corteza > ceniza.

Conclusiones

Tanto en los suelos como en los bioadsorbentes, la adsorción de Cu es superior a la de As(V). En el caso del Cu, el pH y el contenido de materia orgánica son los factores que más afectan en su adsorción, mientras que no es tan claro en el As(V), aunque también se ve que existe una influencia del pH y de la materia orgánica en su adsorción por los suelos. Los tres bioadsorbentes presentan una alta adsorción de Cu y As, siendo mayor en la ceniza.

Los datos de adsorción presentan un buen ajuste a los modelos de Freundlich, Langmuir y Temkin para ambos elementos.

Agradecimientos

Al Ministerio de Ciencia, Innovación e Universidades de España: proyectos RTI2018-099574-B-C21 y RTI2018-099574-B-C22.

Referencias bibliográficas

- Baltas, H., Sirin, M., Gokbayrak, E., Ozcelik, A.E. (2020). A case study on pollution and a human health risk assessment of heavy metals in agricultural soils around Sinop province, Turkey. *Chemosphere*, 241,125015-125025.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125015>
- Conde-Cid,M., Álvarez-Esmorís, C., Paradelo-Núñez, R., Núvoa-Muñoz, J.C., Arias-Estevez, M., Álvarez-Rodríguez, E., Fernández-Sanjurjo, M.J., Núñez-Delgado, A. (2018) Occurrence of tetracyclines and sulfonamides in manures, agricultural soils and crops from different areas in Galicia (NW Spain). *Journal of Cleaner Production*. 197, 491-500.<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.217>
- Keshavarzi, A., Kumar, V. (2019). Spatial distribution and potential ecological risk assessment of heavy metals in agricultural soils of Northeastern Iran. *Geology, Ecology, and Landscapes*, 4, 87-103.
<https://doi.org/10.1080/24749508.2019.1587588>
- Korchagin, J., Moterle, D. F., Escosteguy, P. A. V., Bortoluzzi, E. C. (2020). Distribution of copper and zinc fractions in a Regosol profile under centenary vineyard. *Environmental Earth Sciences*, 79(19), 1-13.
<https://doi.org/10.1007/s12665-020-09209-7>
- Macías, F., Calvo de Anta, R. (2009). Niveles Genéricos de Referencia de Metales Pesados y Otros Elementos Trazas en los Suelos de Galicia (in Spanish). Xunta de Galicia, Consellería de Medio Ambiente e Desenvolvemento Sostible, Spain.
- Mamindy-Pajany, Y., Hurel, C., Marmier, N., Roméo, M. (2011). Arsenic (V) adsorption from aqueous solution onto goethite, hematite, magnetite and zero-valent iron: effects of pH, concentration and reversibility. *Desalination*, 281, 93-99.
<https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.07.046>
- Podgorski, J., Berg, M. (2020). Global threat of arsenic in groundwater. *Science*, 368, 845-850. DOI: 10.1126/science.aba1510
- Ören, A.H., Kaya, A. (2006). Factors affecting adsorption characteristics of Zn²⁺ on two natural zeolites. *Journal of Hazardous Materials*, 131, 59-65.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.09.027>
- Romar-Gasalla, A., Santás-Miguel, V., Núvoa-Muñoz, J.C., Arias-Estevez, M., Álvarez-Rodríguez, E., Núñez-Delgado, A., Fernández-Sanjurjo, M.J. (2018). Chromium and fluoride sorption/desorption on un-amended and waste-amended forest and vineyard soils and pyritic m material. *Journal Of Environmental Management*, 222(2018),3-11.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.05.050>
- Shaheen, S.M., Shams, M.S., Khalifa, M.R., El-Daly, M.A., Rinklebe, J. Various soil amendments and wastes affect the immobilization and phytoavailability of potentially toxic elements in a sewage effluent irrigated sandy soil. *Ecotoxicology Environmental Safety*. 2017; 142: 375-387.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.026>
- Zaynab, M., Al-Yahyai, R., Ameen, A., Sharif, Y., Ali, L., Fatina, M., Khan, K.A., Li, S. (2022). Health and environmental effects of Heavy metals. *Journal of King Saud University-ScienceVolume*, 34, 101653-101661.
[doi:10.1016/j.jksus.2021.101653](https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101653)

Retención de azitromicina en diferentes suelos de Galicia Azithromycin retention in different soils of Galicia

Cela-Dablanca, R^{1*}; Barreiro, Ana¹; Santás-Miguel, Vanesa²; Rodríguez-López, Lucía²; Arias-Estévez, Manuel²; Álvarez-Rodríguez, Esperanza¹; Núñez-Delgado, Avelino¹; Fernández-Sanjurjo, María J¹.

¹ Departamento de Edafología e Química Agrícola, Escola Politécnica Superior de Enxeñaría, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, España

² Área de Edafología e Química Agrícola. Facultade de Ciencias, Universidade de Vigo, Ourense, España

*raquel.dablanca@usc.es

Resumen

El aumento del consumo del antibiótico azitromicina en los últimos años favorece su presencia en el medio ambiente, al que llega por medio de vertidos, lo que es un problema de especial preocupación. Respecto a la entrada de este antibiótico al suelo, la principal vía son los vertidos procedentes de plantas de tratamiento de aguas residuales. Pero, en el suelo puede sufrir retención. Por ello, en este trabajo se estudia la capacidad de diferentes suelos de Galicia para adsorber azitromicina, por medio de ensayos tipo batch, en los que a muestras de 2 g de suelo se le añadieron 5 ml de disolución con concentraciones crecientes del antibiótico. Comparando los datos se observó que, a concentraciones pequeñas de azitromicina añadida, su adsorción es del 100%, independientemente de las propiedades de los suelos, sin embargo, cuando la concentración añadida es igual o superior a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, los resultados de adsorción son desiguales, y concretamente los suelos con pH más altos son los que presentan los mayores valores de adsorción. Respecto a la desorción del antibiótico, sus concentraciones se situaron por debajo del límite de detección, lo que indica la escasa reversibilidad del proceso adsorptivo.

Palabras clave: azitromicina, adsorción, suelos, pH.

Abstract

The increased consumption of the antibiotic azithromycin in last years has favored its presence in the environment, constituting a relevant matter of concern. WWTP effluents are the main source of azithromycin reaching soils. However, soils may retain this antibiotic. In view of that, in this work we studied the capacity of different soils of Galicia to adsorb azithromycin, which was performed by means of batch-type experiments, where different concentrations of the antibiotic were added to aliquots of 2 g of different soils. The results indicate that when low concentrations of azithromycin were added, sorption achieved 100%, however, when the concentration added was 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ or more, soils behaved differently, with those having high pH value being the ones showing greater adsorption. As regards concentrations of desorbed azithromycin, they were under the detection limit, indicating the scarce reversibility of the adsorption process.

Keywords: azithromycin, sorption, soils, pH.

Introducción

La azitromicina es un antibiótico perteneciente a la subclase de los macrólidos de segunda generación y de amplio espectro, que actúa contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Vermillion Maier y Tjeerdema, 2018). En 30 países europeos, este grupo de antimicrobianos junto con los betalactámicos, las lincosomidas, las estreptograminas y las tetraciclinas representaron el 83,5% de las ventas totales de antibióticos en 2013 (ECDC, 2015). En España, en el 2020, el consumo de azitromicina aumentó significativamente, debido a que fue utilizada para el tratamiento de afecciones secundarias relacionadas con el COVID-19 en hospitales (González-Zom, 2021).

El aumento del consumo de este antibiótico también favorece su mayor presencia en el medio ambiente, ya que el 75% de la azitromicina ingerida es excretada (Sidhu, et al., 2019a), debido a que es metabolizada parcialmente y se libera a través de la orina y las heces (Kümmerer, 2009), llegando así a las plantas de tratamiento de aguas residuales, cuyos efluentes constituyen una de las principales vías de entrada de antibióticos en el medio (Rizzo, et al., 2013). La eficacia de las plantas de tratamiento de aguas residuales depende de varios factores, como el tipo de tratamiento, la composición de la comunidad microbiana, o la naturaleza del antibiótico a tratar. Concretamente, la azitromicina pertenece a un grupo de antibióticos de especial relevancia por su prevalencia en el medio ambiente (Martínez-Polanco, et al., 2022).

Parte de los antibióticos que no se consiguieron eliminar tras el tratamiento de las aguas residuales pueden acabar en los lodos que produce este tratamiento, y pueden llegar a los suelos agrícolas mediante la aplicación de biosólidos (Topp, et al., 2016). El comportamiento de los antibióticos como contaminantes en el suelo depende de las propiedades del suelo, tales como el contenido de carbono orgánico y arcilla, la textura y el pH (OCDE., 2008), y de las de los antibióticos, como su estructura, grupos funcionales (Tolls, et al., 2003) y grado de ionización (Ribeiro y Schmidt, 2017).

En este trabajo se pretende conocer la capacidad para adsorber azitromicina de una

serie de suelos de Galicia con diferentes propiedades físico-químicas, lo que condiciona el riesgo ambiental que puede suponer la presencia de este antibiótico en tales ambientes edáficos.

Material y métodos

Se seleccionaron 21 suelos de diferentes zonas de Galicia (NW España), en función de su pH y contenido de materia orgánica. Seis de ellos corresponden a parcelas con plantaciones de maíz (M1-M6), 12 son suelos de viñedo (VO1-V05; VP1-VP7) y tres son suelos forestales (FP, FE, FC).

Cada muestra de suelo está formada por 10 submuestras recogidas en zig-zag en la capa superficial (0-20 cm). Una vez recogidas, las muestras fueron secadas en una estufa a 40 °C hasta peso constante, y a continuación se cribaron con un tamiz de 2 mm de diámetro de luz y se almacenaron hasta su análisis. Estos suelos fueron caracterizados previamente por Cela-Dablanca, et al. (2021).

Los estudios de adsorción/desorción se llevaron a cabo mediante ensayos tipo batch, en los que a 2 gramos de suelo se le añadieron 5 ml de disolución con concentraciones crecientes de azitromicina (0; 2,5; 5; 10; 20; 30; 40; 50; 200; 400; 600 $\mu\text{mol L}^{-1}$), se agitaron durante 24 h y posteriormente se centrifugaron durante 15 min a 4000 rpm y se filtraron. En la solución de equilibrio se determinó el pH (con pHímetro), así como la concentración de antibiótico (por medio de HPLC, con un equipo Thermo-Fisher Modelo LPG 3400 SD, EE.UU.). Una vez finalizado el proceso de adsorción, se estudió la desorción para conocer la reversibilidad del proceso. Para ello, a cada muestra resultante del estudio previo de adsorción se le añadieron 5 ml de CaCl_2 y posteriormente se repitió el mismo proceso y determinaciones que en la adsorción.

Resultados y discusión

Adsorción

El porcentaje de azitromicina adsorbida fue del 100% para todos los suelos en el rango de 2,5-50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de concentraciones de antibiótico añadidas. Sin embargo, en las concentraciones más altas añadidas (200-600 $\mu\text{mol L}^{-1}$) sí se observan notorias

diferencias entre los distintos suelos. En este rango alto de concentraciones, los suelos con cultivo de maíz presentan altos porcentajes de adsorción, oscilando entre 52% y 100%, valores muy similares a los obtenidos en los suelos de viñedo sobre esquisto/pizarra (entre 48% y 100%). En cambio, en los suelos de viñedo sobre granito los valores de adsorción varían en un rango más amplio (entre 26% y 100%), y los suelos forestales son los que presentan los porcentajes de adsorción más bajos, oscilando entre 13,25% y 37,27% (Fig. 1).

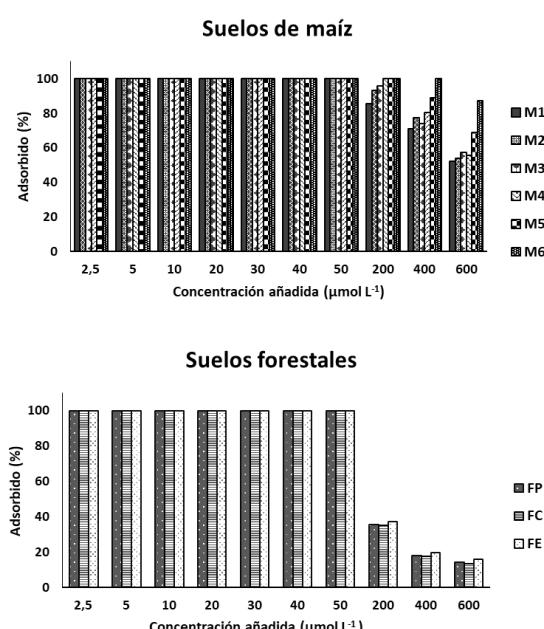


Fig 1.- Adsorción (expresada en porcentaje), de azitromicina en suelos dedicados al cultivo de maíz (M1-M6) y en suelos forestales (FP, FC y FE)

La adsorción de azitromicina es mayor en los suelos que presentan valores de pH más altos (M5, M6, VP6 y VP7). Hay que tener presente que el pH del suelo, así como su capacidad de intercambio catiónico (CICe), contenido y tipo de arcilla, contenido en minerales no cristalinos de Fe y Al, y también contenido y características de su materia orgánica, son los principales factores que afectan a la retención/liberación de diversos contaminantes orgánicos presentes en el medio edáfico (Miller, et al., 2016). La azitromicina, a pH entre 4-9 (el que presentan los suelos de este trabajo) posee grupos funcionales cargados

positivamente, lo que le permite interactuar electrostáticamente con las superficies cargadas negativamente. La materia orgánica y los componentes no cristalinos de Fe y Al del suelo presentan carga variable, por lo que la carga negativa va aumentando a medida que lo hace el pH, reteniéndose (por interacciones con esas cargas) la azitromicina que está principalmente como catión divalente. Los suelos forestales presentan una escasa adsorción de azitromicina porque, a pesar de tener un contenido elevado tanto en materia orgánica como en minerales no cristalinos, su pH es muy bajo, y por lo tanto hay pocas superficies con cargas negativas disponibles para la adsorción de este antibiótico por medio de interacciones de tipo electrostático.

El modelo de adsorción que presentó un mejor ajuste a los datos experimentales fue el de Freundlich, en el que el 33% de los suelos obtuvieron un valor de $R^2 > 0,85$, mientras que en los modelos Lineal y de Langmuir solo se superó este valor de R^2 en el 5% y 18% de los suelos, respectivamente.

Desorción

La concentración de azitromicina desorbida por parte de los suelos estudiados fue siempre inferior al límite de detección, lo que indica que la azitromicina se adsorbe muy fuertemente a estos suelos, de modo que el proceso de retención es prácticamente irreversible. Estos resultados coinciden con los obtenidos en estudios previos, en los que se hace referencia a una fuerte adsorción de azitromicina tanto en biosólidos (Gravensen y Judy, 2020) como en suelos enmendados con biosólidos (Sidhu, et al., 2019b).

Conclusiones

Cuando la concentración añadida del antibiótico azitromicina es menor de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$, la adsorción es del 100% en todos los suelos de este estudio, mientras que al aumentar (siendo mayor o igual a $200 \mu\text{mol L}^{-1}$) se observa que los suelos que tienen valores de pH más altos son los que

presentan mayor adsorción. Además, la desorción es prácticamente nula, indicando la irreversibilidad de la adsorción de azitromicina en estos suelos.

Agradecimientos

Al Ministerio de Ciencia, Innovación e Universidades de España: proyectos RTI2018-099574-B-C21 y RTI2018-099574-B-C22.

Referencias bibliográficas

- Cela-Dablanca, R., Nebot, C., Rodríguez-López, L., Fernández-Calviño, D., Arias-Estévez, M., Núñez-Delgado, A., Álvarez-Rodríguez, E., & Fernández-Sanjurjo, M.J. (2021). Retention of the Antibiotic Cefuroxime onto Agricultural and Forest Soils. *Applied Sciences*, 11(10), 4663-4675. <https://doi.org/10.3390/app11104663>
- ECDC Antimicrobial consumption interactive database (ESAC-Net). http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/esac-net-database/Pages/database.aspx (2015)
- Gonzalez-Zorn, B. (2021). Antibiotic use in the COVID-19 crisis in Spain. *Clinical Microbiology and Infection*, 27, 646-647. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.09.055>
- Gravesen, C., & Judy, J.D. (2020). Effect of biosolids characteristics on retention and release behavior of azithromycin and ciprofloxacin. *Environmental Research*, 184, 109333-109340. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109333>
- Kümmerer, K. (2009). The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use – present knowledge and future challenges. *Journal of Environmental Management*, 90, 2354-2366. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2009.01.023>
- Martínez-Polanco, M.P., Valderrama-Rincón, J.A., Martínez-Rojas, A.J., Luna-Wandurraga, H.J., Díaz-Báez, M.C., Bustos-López, M.C., & Valderrama-Rincon, J.D. (2022). Degradation of high concentrations of azithromycin when present in a high organic content wastewater by using a continuously fed laboratory-scale UASB bioreactor. *Chemosphere*, 287, 132191-132200. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132191>
- Miller, J.H., Novak, J.T., Knocke, W.R., & Pruden, A. (2016). Survival of antibiotic resistant bacteria and horizontal gene transfer control antibiotic resistance gene content in anaerobic digesters. *Frontiers in Microbiology*, 7, 263-274. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00263>
- OECD Guideline for the testing of chemicals: adsorption - desorption using a batch equilibrium method. [http://www.epa.gov/scipoly/sap/meetings/2008/october/106_adsorption_desorption_using.pdf]
- Ribeiro, A.R., & Schmidt, T.C., 2017. Determination of acid dissociation constants (pK_a) of cephalosporin antibiotics: Computational and experimental approaches. *Chemosphere*, 169, 524-533. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.097>
- Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M.C., Michael, I., & Fatta-Kassinos, D. (2013). Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review. *Science of the Total Environment*, 447, 345-360. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.032>
- Sidhu, H., O'Connor, G., Ogram A., & Kumar, K. (2019a). Bioavailability of biosolids-borne ciprofloxacin and azithromycin to terrestrial organisms: Microbial toxicity and earthworm responses. *Sciences of the Total Environment*, 650, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.004>
- Sidhu, H., D'Angelo, E., & O'Connor, G. (2019b). Retention-release of ciprofloxacin and azithromycin in biosolids and biosolids-amended soils. *Science of the Total Environment*, 650, 176-186. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.005>
- Topp, E., Renaud, J., Sumarah, M., & Sabourin, L. (2016). Reduced persistence of the macrolide antibiotics erythromycin, clarithromycin and azithromycin in agricultural soil following several years of exposure in the field. *Science of The Total Environmental*, 562, 136-144. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.210>
- Vermillion Maier, M.L., & Tjeerdema, R.S. (2018). Azithromycin sorption and biodegradation in a simulated California river system. *Chemosphere*, 190, 471-480. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.008>

Discriminação espacial e temporal de atributos do solo através de análise estatística multivariada: Um caso de estudo em culturas anuais regadas no Sul de Portugal

Spatial and temporal discrimination of soil attributes through multivariate statistical analysis: A case study in irrigated annual crops in South Portugal

Tomaz, Alexandra^{1,2*}; Martins, Inês¹; Catarino, Adriana¹; Mourinha, Cláisse¹; Dôres, José¹; Fabião, Marta³; Boteta, Luís³; Coutinho, João⁴; Patanita, Manuel^{1,2}; Palma, Patrícia^{1,5}

¹ Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Beja, R. Pedro Soares S/N, 7800-295 Beja, Portugal

² GeoBioTec, NOVA School of Science and Technology, Campus da Caparica, 2829-516 Caparica, Portugal

³ Centro Operativo e de Tecnologia de Regadio, Quinta da Saúde, Apartado 354, 7800-999 Beja, Portugal

⁴ Centro de Química, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

⁵ Instituto de Ciências da Terra (ICT), Universidade de Évora, 7000-671 Évora, Portugal

*atomaz@ipbeja.pt

Resumo

Efetuou-se o estudo da variabilidade temporal e espacial de variáveis do solo, durante três anos em três parcelas agrícolas com culturas anuais regadas, em duas camadas (0-20 cm e 20-40 cm), recorrendo a Análise Fatorial (FA) e Análise Discriminante (DA). Com a FA agruparam-se os parâmetros observados num menor número de variáveis latentes relacionadas com atributos do solo. A DA foi usada para classificar e identificar os atributos mais influentes na discriminação no tempo e no espaço. A FA realizada para a camada superficial incluiu fatores relacionados com a textura, capacidade de retenção de água e nutrientes, composição química e fertilidade do solo. Na camada subsuperficial, a estrutura fatorial foi semelhante, com quatro fatores relacionados com a textura, composição química, disponibilidade de nutrientes e fertilidade do solo. Os fatores mais influentes na discriminação temporal (datas de amostragem) em ambas camadas foram os relacionados com a composição química. Quanto à diferenciação espacial (parcelas), o fator dominante na camada superficial foi a textura e na camada subsuperficial, a disponibilidade de nutrientes. Os resultados obtidos apresentam potencialidade para a identificação de indicadores de qualidade do solo ou para a avaliação multidimensional e integrada de padrões de variação temporal e espacial de funções do solo resultantes de práticas de gestão ou de processos de degradação.

Palavras-chave: atributos do solo, análise estatística multivariada, análise fatorial, análise discriminante, culturas regadas

Abstract

A study of temporal and spatial variability of soil variables was carried out during three years, in three farm plots with irrigated annual crops, in two layers (0-20 cm and 20-40 cm), using Factor Analysis (FA) and Discriminant Analysis (DA). With FA, the observed parameters were grouped into a smaller number of latent variables related to soil attributes. DA was used to classify and identify the most influential attributes in time and space discrimination. The FA performed for the surface layer included factors related to texture, water and nutrient retention capacity, chemical composition, and soil fertility. In the subsurface layer, the factor structure was similar, with four factors related to texture, chemical composition, nutrient availability, and soil fertility. The most influential factors in temporal discrimination (sampling dates) in both layers were those related to chemical composition. As for the spatial differentiation (plots), the dominant factor in the surface layer was texture and in the sub-surface layer, the availability of nutrients. The results obtained show potential for the determination of soil quality indicators or for the multidimensional and integrated assessment of patterns of temporal and spatial variation of soil functions resulting from management practices or degradation processes.

Keywords: soil attributes, multivariate statistical analysis, factorial analysis, discriminant analysis, irrigated crops

Introdução

O conhecimento das relações entre as práticas culturais e as propriedades do solo pode contribuir para melhor compreender a variabilidade espacial e temporal na produtividade e dos impactos ambientais resultantes dessas práticas (Jagadamma et al., 2008). A complexidade dos processos envolvidos na relação solo-ecossistema dá origem a conjuntos vastos de observações cuja análise implica o uso de ferramentas estatísticas capazes de analisar simultaneamente as variáveis envolvidas. O uso de Análise de Componentes Principais (PCA), Análise Fatorial (FA), Regressão Linear Múltipla (MLR) e/ou Análise Discriminante (DA) tem sido aplicado em variados campos de investigação agrícola (Yeater & Villamil, 2018). Neste trabalho, analisou-se a variabilidade temporal e espacial de parâmetros agronómicos do solo, em três parcelas com culturas anuais regadas, em duas camadas, durante três anos, recorrendo à estatística multivariada (FA e DA), nomeadamente: (i) FA para agrupar os parâmetros observados num menor número de variáveis latentes tradutoras de atributos do solo; (ii) DA para classificar e identificar os atributos dominantes para a discriminação no tempo e no espaço. Esta abordagem integrada e multidimensional pode ser aplicada no desenvolvimento de indicadores de qualidade do solo ou para avaliar padrões de mudança ambiental causada por práticas de gestão agronómica ou outras influências antropogénicas.

Material e métodos

2.1 – Área de estudo

O estudo foi desenvolvido entre 2018 e 2020, em três parcelas regadas por *center-pivot* (Pivot 3 (P3), com 13.1 ha, Pivot 4 (P4), com 15.0 ha, e Pivot 5 (P5), com 10.3 ha, localizadas no aproveitamento hidroagrícola Brinches-Enxoé (Alentejo). Em P3 e P5 predominam Cambissolos calcários e Vertissolos crómicos; em P4 os solos são predominantemente Vertissolos pélicos e calcários. Os fertilizantes utilizados foram principalmente

formulações contendo azoto (N), fósforo (P_2O_5) e potássio (K_2O) aplicados em fundo, à sementeira (Quadro 1).

Quadro 1 – Dados agronómicos (S - data de sementeira; DTR - dotação total de rega; N - azoto, P_2O_5 - fósforo e K_2O - potássio aplicados; C - data de colheita; Y - Produtividade)

Ano			
	P3	P4	P5
2018	Girassol	Girassol	Milho
	S 18/04	27/04	18/07
	DTR (mm) 252	461	480
	N (kg/ha) 127	109	202
	P_2O_5 (kg/ha) 34	40	144
	K_2O (kg/ha)	12	216
2019	C 27/08	18/09	17/01
	Y (kg/ha) 3470	4156	5500
	Milho	Trevo	Girassol
	S 13/06	20/05	16/05
	DTR (mm) 750	151	357
	N (kg/ha) 253	-	57
2020	P_2O_5 (kg/ha) -	88	72
	K_2O (kg/ha) -	-	100
	C 17/11	18/09	15/09
	Y (kg/ha) 11000	1703 kg/ha	3257
	Girassol	Cebola	Milho
	S 09/03	11/01	15/06
	DTR (mm) 542	321	516
	N (kg/ha) sem dados	113	82
	P_2O_5 (kg/ha) de	-	59
	K_2O (kg/ha) fertilizantes	-	121
	C 13/08	21/08	15/10
	Y (kg/ha) 8660	26848	9182

2.2 – Amostragem e parâmetros analisados

As amostragens de solos realizaram-se em 5 datas: T1 e T2, em 2018; T3 e T4, em 2019; T5 em 2020. T1 e T3, realizaram-se no início da campanha de rega; T2, T4 e T5, realizaram-se no final da campanha de rega. Efetuou-se a colheita de amostras compostas, por cada 5 ha, a partir da mistura de subamostras recolhidas em pontos marcados aleatoriamente, em ziguezague (Varennes, 2003). Após colheita, as amostras foram secas ao ar e crivadas com malha de 2mm, para análise dos seguintes parâmetros: textura (areia grossa, areia fina, limo e argila; g/kg) (ISO 11277:2020); capacidade de troca cationica (CTC), cálcio, magnésio, potássio, sódio e alumínio de troca (cmol (+)/kg) (ISO 11260:2018); pH (H_2O 1:2.5 (p/v)), condutividade elétrica (CE; dS/m) (H_2O 1:2 (p/v)); matéria orgânica (MO; %) (Walkley-Black); azoto Kjeldahl (N; %); fósforo (mg P_2O_5 /kg) e potássio (mg K_2O /kg) extraíveis (Egner-Rhiem). As frações granulométricas da terra fina, os catiões de troca e a CTC foram obtidos apenas na primeira amostragem para caracterização inicial das parcelas.

2.3 – Análises estatísticas

As FA foram conduzidas separadamente para cada camada do solo. Os fatores foram retidos quando apresentaram *eigenvalues* >1, proporção de variância > 10% e contribuição de pelo menos duas variáveis com cargas fatoriais > | 0.50 | . Os scores dos fatores foram usados para a DA, determinando o(s) fator(es) que mais contribui(em) para a diferenciação espacial e temporal. Realizou-se uma Análise Canónica (CCA) e selecionaram-se os coeficientes normalizados da primeira função discriminante para verificar o peso de cada fator na discriminação (Shukla et al., 2006). Todas as análises estatísticas foram realizadas com *Statistica 7*.

3. Resultados e discussão

Em P3, os solos apresentaram em qualquer das camadas classe textural franco-argilosa; em P4, franco-argilosa e argilo-limosa; em P5, verificou-se maior variabilidade, quer horizontal quer vertical, ocorrendo as classes texturais franca, franco-argilo-limosa, franco-argilosa e argilo-limosa. A CTC estimada foi muito alta em todas as parcelas (> 50 cmol (+)/kg), em concordância com a natureza argilosa destes solos Vertissolos (Varennes, 2003). Os valores médios dos parâmetros químicos avaliados mostraram que os solos das parcelas são não salinos e apresentaram reação pouco alcalina, baixos teores de MO e reduzidos valores de N total (Quadros 2 e 3). Os valores de P₂O₅ na camada 0-20 cm foram, em média, altos em P3 e P4 a muito altos em P5. Na camada sub-superficial, ocorreram valores um pouco menores e a classe de fertilidade para o P₂O₅ em P4 foi média, mantendo-se nas restantes parcelas. No que respeita ao K₂O, os valores foram, em geral, elevados, correspondendo a classes de fertilidade alta a muito alta. A FA realizada para a camada 0-20cm permitiu extrair quatro fatores (Quadro 4), responsáveis por 75.04% da variância total. O fator 1 apresentou cargas fatoriais com valores absolutos > 0.50 nos teores de areia grossa, areia fina e limo, desta forma associado ao atributo *textura*.

Quadro 2 – Valores médios gerais dos parâmetros químicos e agronómicos nas parcelas P3 (n=45), P4 (n=36) e P5 (n=36) (camada 0-20cm)

pH	CE (dS/m)	MO (%)	N total (%)	P ₂ O ₅ (mg/kg)	K ₂ O (mg/kg)
P3	8.23	0.33	1.27	0.092	169.5
P4	8.05	0.30	1.24	0.076	146.8
P5	8.18	0.24	1.55	0.088	328.3

Quadro 3 – Valores médios gerais dos parâmetros químicos e agronómicos nas parcelas P3 (n=45), P4 (n=27) e P5 (n=36) (camada 20-40cm)

pH	CE (dS/m)	MO (%)	N total (%)	P ₂ O ₅ (mg/kg)	K ₂ O (mg/kg)
P3	8.29	0.27	1.23	0.084	130.2
P4	7.99	0.29	1.19	0.069	96.5
P5	8.19	0.27	1.33	0.073	216.6

O fator 2 correlacionou-se com o teor de argila e CTC, tratando-se de um fator de *capacidade de retenção de água e nutrientes*. O fator 3 mostrou-se altamente correlacionado com pH, CE e N, associado essencialmente à *composição química*. O fator 4, representativo da *fertilidade*, apresentou-se altamente correlacionado com a MO, P₂O₅ e K₂O.

Quadro 4 – Cargas fatoriais, *eigenvalues*, percentagem da variância total e percentagem acumulada da variância num modelo de quatro fatores para 11 variáveis na camada 0-20cm (cargas fatoriais de variáveis altamente correlacionadas assinaladas a negrito)

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
pH	0.215	0.043	-0.719	-0.186
CE	0.093	0.111	0.893	0.070
MO	-0.061	-0.195	0.100	-0.542
N total	0.198	0.035	0.753	-0.251
P ₂ O ₅	0.015	0.068	-0.257	-0.799
K ₂ O	-0.323	-0.092	0.073	-0.741
Areia grossa	0.897	-0.259	0.004	0.152
Areia fina	0.943	-0.256	0.053	0.100
Limo	-0.793	-0.527	-0.042	-0.169
Argila	-0.413	0.861	0.001	0.008
CTC	0.008	0.830	0.088	0.183
Eigenv.	2.988	2.224	1.837	1.206
% Var.	27.16	20.22	16.70	10.97
% Var. Acum	27.16	47.38	64.08	75.04

Na camada 20-40 cm, a FA reteve 4 fatores responsáveis por 75.72% da variância total (Quadro 5). A estrutura do modelo fatorial foi a seguinte: fator 1 altamente correlacionado com % de areia grossa, areia fina, limo e argila, logo, representativo da propriedade *textura* do solo; fator 2 apresentou correlação com CE e N total, relacionando-se com a *composição química*; fator 3 altamente correlacionado com CTC e K₂O, logo, essencialmente representativo da *disponibilidade de nutrientes*; fator 4, apresentou elevada correlação com pH, MO e P₂O₅, ou seja, transponde o atributo *fertilidade*. A DA realizada com os scores fatoriais dos casos para a camada 0-20 cm, indicou o fator 3 (*composição química*) como predominante na variabilidade temporal, com uma Wilks'

Lambda parcial de 0.597, e o fator 1 (*textura*) como o fator dominante para a variabilidade espacial, apresentando um *Wilks' Lambda* parcial de 0.648. No caso da camada 20-40 cm, a DA revelou preponderância dos fatores 2 (*composição química*) e 3 (*disponibilidade de nutrientes*) na discriminação temporal (*Wilks' Lambda* parcial de 0.358) e espacial (*Wilks' Lambda* parcial de 0.532), respetivamente.

Quadro 5 – Cargas fatoriais, *eigenvalues*, percentagem da variância total e percentagem acumulada da variância num modelo de quatro fatores para 11 variáveis na camada 20-40cm (cargas fatoriais de variáveis altamente correlacionadas assinaladas a negrito)

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
pH	0.195	-0.288	0.241	0.752
CE	0.038	0.863	-0.148	-0.200
MO	0.063	0.363	-0.092	0.562
N total	0.032	0.894	0.124	0.066
P ₂ O ₅	-0.141	-0.211	-0.443	0.594
K ₂ O	-0.464	0.233	-0.695	0.228
Areia grossa	0.929	0.024	-0.275	0.005
Areia fina	0.925	0.041	0.237	0.085
Limo	-0.869	-0.007	-0.099	-0.050
Argila	-0.869	-0.052	0.127	-0.034
CTC	-0.302	0.043	0.758	0.094
Eigenv.	3.614	1.953	1.611	1.152
% Var. Total	32.85	17.75	14.65	10.47
% Var. Acum	32.85	50.60	65.25	75.72

As primeiras funções discriminantes (Y) no tempo obtidas com CAA para as duas camadas, responsáveis por 71.03% e 79.39% da variância total, foram as seguintes: (i) 0-20 cm: $Y = -0.252$ (Factor 1) - 0.175 (Factor 2) + 0.973 (Factor 3) - 0.170 (Factor 4); (ii) 20-40 cm: $Y = -0.284$ (Factor 1) - 1.012 (Factor 2) - 0.319 (Factor 3) + 0.081 (Factor 4).

Confirmando-se, através dos coeficientes de cada fator, que é o atributo *composição química* aquele que mais influência tem na diferenciação temporal, denotando a influência das práticas culturais, provavelmente, da fertilização, e indiretamente, da disponibilidade de MO, através da variável N total. No caso da variabilidade espacial, obtiveram-se as seguintes primeiras funções discriminantes, responsáveis por 85.52% e 97.92% da variância total: (i) 0-20 cm: $Y = -1.941$ (Factor 1) - 0.563 (Factor 2) + 0.062 (Factor 3) - 0.054 (Factor 4); (ii) 20-40 cm: $Y = +0.719$ (Factor 1) + 0.284 (Factor 2) + 0.964 (Factor 3) + 0.554 (Factor 4).

O atributo *textura* (fator 1) é preponderante na diferenciação entre parcelas, no caso da camada superficial. Já na camada sub-superficial, esta diferenciação é maioritariamente influenciada pela

disponibilidade de nutrientes (fator 3). Estes resultados indicam a importância da mineralogia do solo, da presença de argila e da sua estreita relação com a capacidade de troca catiónica na variabilidade espacial encontrada.

Conclusões

O uso de ferramentas de análise estatística multivariada pode ajudar a compreender melhor a dinâmica temporal e espacial e as relações entre as variáveis e as funções do solo. A FA realizada com dados recolhidos permitiu obter dois modelos similares de quatro fatores relacionados com a textura, capacidade de retenção de água e nutrientes, composição química, disponibilidade de nutrientes e fertilidade do solo. Os fatores mais influentes na discriminação temporal e espacial foram a composição química, a textura e a disponibilidade de nutrientes.

Agradecimentos

O estudo é co-financiado pela União Europeia pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional, incluído no COMPETE 2020 através do projeto Instituto da Ciências da Terra (UIDB/04683/2020; POCI-01-0145-FEDER-007690), dos projetos GeoBioTec (UIDB/04035/2020) e Centro de Química (UIBD/00616/2020), financiados pela FCT, e pelo Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural através do Grupo Operacional FitoFarmGest (PDR2020-101-030926).

Referências bibliográficas

- Jagadamma, S., Lal, R., Hoeft, R. G., Nafziger, E. D. & Adee, E. A. (2008). Nitrogen fertilization and cropping system impacts on soil properties and their relationship to crop yield in the central Corn Belt, USA. *Soil and Tillage Research*, 98(2), 120–129.
<https://doi.org/10.1016/j.still.2007.10.008>
- Shukla, M. K., Lal, R. & Ebinger, M. (2006). Determining soil quality indicators by factor analysis. *Soil and Tillage Research*, 87(2), 194–204.
<https://doi.org/10.1016/j.still.2005.03.011>
- Varennes, A. D. (2003). *Produtividade dos Solos e Ambiente*. Escolar Editora.
- Yeater, K. & Villamil, M. (2018). *Multivariate Methods for Agricultural Research* (pp. 371–399).
<https://doi.org/10.2134/appliedstatistics.2015.0083.c14>

O uso da biomassa foliar de eucalipto como biocida: efeitos nas propriedades do solo

The use of Eucalyptus leaf biomass as biocide: effects on soil properties

Teixeira, Tiago¹, Cruz, Telmo^{2,3}, Pato, Pedro¹, Pinto, Mafalda^{2,3}, Fidalgo, Fernanda^{2,3}, Pereira, Ruth^{2,3}, Cachada, Anabela^{3,4*}, Patinha, Carla¹

¹Geobiotec & Departamento de Geociências, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

²Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, 4169-007 Porto, Portugal

³GreenUPorto, Campus de Vairão, Rua da Agrária 747, 4485-646 Vila do Conde, Portugal

⁴CIIMAR-UP, Terminal de Cruzeiros do Porto de Leixões, 4450-208 Matosinhos, Portugal

Resumo

A área florestal portuguesa é dominada principalmente por *Eucalyptus globulus* e, sendo esta uma espécie invasora e muito inflamável, é importante controlar a sua proliferação. Neste sentido, o projeto PEST(bio)CIDE, assentando numa perspetiva de economia circular, pretende explorar o potencial fitotóxico das folhas do eucalipto e utilizar a sua biomassa foliar como um biocida eficaz e ambientalmente seguro. Deste modo, é possível associar um benefício económico a uma melhor gestão das áreas de eucalipto regeneradas após incêndio. Espera-se ainda que a introdução de biomassa no solo melhore a sua qualidade e a sua eficácia no aumento da reserva de carbono e na fertilidade do solo. Neste sentido, o presente trabalho foca-se na avaliação dos efeitos que a introdução da biomassa de eucalipto tem nas propriedades físico-químicas e biológicas do solo. Para isto, realizou-se uma experiência em microcosmos, em condições controladas, na qual se avaliou o efeito da adição de diferentes percentagens de folhas de eucalipto em algumas propriedades físico-químicas do solo e na atividade de enzimática da desidrogenase, ao longo do tempo.

Eucalyptus globulus, economia circular, espécies invasoras, agricultura sustentável

Abstract

The Portuguese forest area is mainly dominated by *Eucalyptus globulus* and, as this is an invasive and very flammable species, it is important to control its proliferation. In this sense, the PEST(bio)CIDE project, based on a circular economy perspective, aims to explore the phytotoxic potential of eucalyptus leaves and use its foliar biomass as an effective and environmentally safe biocide. In this way, it is possible to associate an economic benefit with a better management of the eucalyptus areas regenerated after fire. It is also expected that the introduction of biomass into the soil will improve its quality and its effectiveness in increasing the carbon stock and soil fertility. In this sense, the present work focuses on the evaluation of the effects that the introduction of eucalyptus biomass has on the physicochemical and biological properties of the soil. For this, an experiment was carried out in microcosms, under controlled conditions, in which the effect of the addition of different percentages of eucalyptus leaves on some physicochemical soil properties and on the dehydrogenase enzymatic activity over time was evaluated.

Eucalyptus globulus, circular economy, invasive species, sustainable agriculture

Introdução

O eucalipto (*Eucalyptus globulus*) é uma espécie invasora, com um crescimento expressivo na ocupação da área florestal portuguesa nas últimas décadas. As características intrínsecas do eucalipto resultam não só num rápido repovoamento em terrenos arridos, mas também na sua dispersão para outras áreas. Deste modo, o acrescendo do seu interesse económico, atualmente é uma das espécies dominantes no território nacional (ICNF, 2019). No entanto, o eucalipto é considerado muito inflamável, o que potencia o risco de incêndio, sendo por isso importante controlar a sua proliferação.

Neste sentido, o projeto PEST(bio)CIDE visa, através da valorização da biomassa foliar de eucalipto, oferecer uma resposta para uma melhor gestão das áreas de eucalipto regeneradas após um incêndio florestal e sua proliferação.

Estudos anteriores indicam que existe um potencial fitotóxico das folhas do eucalipto, uma vez que os compostos envolvidos na tolerância contra insetos e agentes patogénicos (Batisch et al, 2008) revelaram também capacidade herbicida contra espécies-alvo (Oerke, 2006). Deste modo, o projecto PEST(bio)CIDE propõe, numa perspectiva de economia circular, a utilização da biomassa foliar de eucalipto como biocida eficaz e ambientalmente seguro. Espera-se também que a incorporação das folhas de eucalipto no solo, possa trazer benefícios para a qualidade do mesmo e contribua para o sequestro de carbono. Deste modo, este trabalho pretende avaliar os efeitos ao longo do tempo da incorporação de diferentes percentagens de biomassa foliar de eucalipto em algumas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo.

Material e métodos

Para a realização deste trabalho utilizou-se um solo natural (cambissolo húmico), recolhido no Campus de Vairão da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Após recolha, o solo foi imediatamente congelado de modo a que a comunidade microbiana fosse

devidamente preservada. Antes da implementação do ensaio em microcosmos o solo foi descongelado, crivado a 4mm (para retirar raízes e restos de plantas) e homogenizado. A amostra foi dividida em várias subamostras às quais foram misturadas diferentes percentagens (0% - CTR; 2,5% e 5,0%, m/m) de folhas de eucalipto jovem, préviamente seco a 60°C, fragmentado e crivado a 4mm. Foi feito um ajuste da humidade do solo a 75% da sua capacidade de retenção da água. Para cada condição e tempo de permanência definidos (0, 7, 14, 30 e 90 dias) foram preparadas 3 réplicas. Todas as subamostras foram colocadas numa câmara fitoclimática com condições controladas de temperatura (20°C) e fotoperíodo, e a humidade reposta semanalmente.

Após cada período definido, os solos foram secos e crivados a 2 mm para as seguintes análises fisico-químicas: humidade (após secagem numa estufa a 105±5°C até massa constante); capacidade de retenção de água (segundo o protocolo ISO 17512-1); pH (suspenção 1:5 v/v em água de acordo com a norma ISO 10390:2020); condutividade elétrica (medida na suspensão 1:5 v/v após 24h). Determinou-se também a atividade da enzima desidrogenase nas amostras de solo, utilizando como substrato o cloreto de trifeniltetrazólio. A quantificação do trifenilformazão produzido, após incubação a 40°C durante 24h, foi realizada espetrofotometricamente a 546nm (Shinner et al, 1996).

A análise estatística (GraphPad Prism 8), consistiu na realização de ANOVA a duas dimensões, seguida de teste de comparação múltipla para verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes tratamentos e também para avaliar o efeito do fator tempo.

Resultados e discussão

Efeito da adição de eucalipto nas propriedades fisico-químicas do solo

Ao analisar a Tabela 1 verifica-se que o aumento da percentagem de folhas de eucalipto no solo resulta numa ligeira diminuição do teor de humidade. Por outro lado, os valores referentes à capacidade de retenção de água (CRA) no solo (Fig. 1) demonstram que existe um aumento significativo quando se incorpora 5,0% de folhas de eucalipto no solo. Verificou-se também que o tempo de incubação não afeta este parâmetro, uma vez que não se observaram diferenças significativas entre os dois períodos avaliados (0 e 90 dias) para cada um dos tratamentos.

Tabela 1- Valores médios e respetivo desvio padrão (DesvPad) do teor de humidade para cada tratamento testado, no dia 0.

Tratamento	Média ± DesvPad (%)
CTR (0%)	23,9±0,5
2,5%	22,6±0,2
5,0%	21,7±1,0

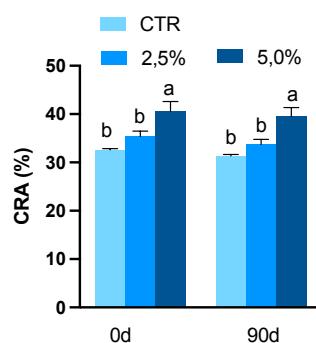


Fig.1- Valores da percentagem de capacidade de retenção de água (CRA) no solo para cada um dos tratamentos, no início do ensaio (0 dias) e após 90 dias. Letras diferentes acima das barras indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os diferentes tratamentos, para cada período de incubação

No que diz respeito ao pH, ao analisar a Fig. 2 verifica-se que as amostras do dia 0 e após 7 dias apresentam um comportamento semelhante, ou seja, uma diminuição significativa do pH à medida que a percentagem de eucalipto no solo aumenta. No entanto, após 14 dias verifica-se um aumento dos valores de pH nas amostras que contêm eucalipto, principalmente no tratamento de 5%. Após 90 dias já não se observam diferenças nos valores de pH dos diferentes tratamentos. Ou seja, apesar da incorporação de folhas de eucalipto afetar negativamente o pH do solo, tornando-o fortemente ácido, este

efeito é temporário e o solo consegue recuperar os seus níveis de pH originais após duas semanas.

A condutividade elétrica (Fig. 3), uma medida da quantidade de sais no solo, foi avaliada apenas no início do ensaio (0 dias) e após 90 dias. Verificou-se que este parâmetro aumenta significativamente à medida que se aumenta a percentagem de folhas de eucalipto no solo, não se observando nenhuma diferença entre os dois períodos de incubação avaliados. Este aumento da condutividade elétrica poderá indicar a salinização dos solos, que afeta negativamente a qualidade dos mesmos. Por outro lado, pode estar relacionado com um aumento da concentração de nutrientes disponíveis. A integração destes resultados com outros parâmetros que estão a ser analisados, como por exemplo o teor de nutrientes disponível, irá permitir entender melhor o aumento da condutividade observado.

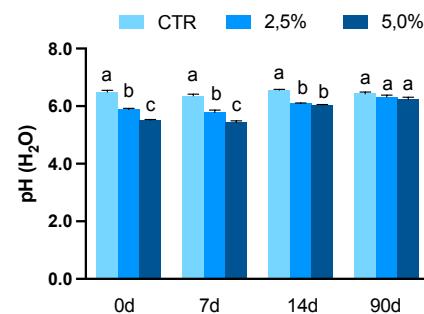


Fig.2- Valores de pH para cada um dos tratamentos, após diferentes períodos de incubação (0, 7, 14 e 90 dias). Letras diferentes acima das barras indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os diferentes tratamentos, para cada período de incubação.

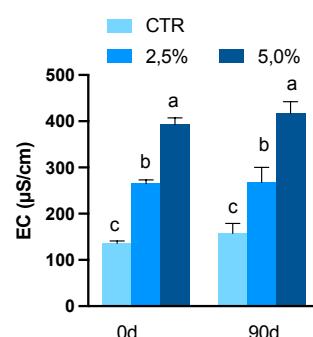


Fig.3- Valores de condutividade elétrica (EC) para cada um dos tratamentos, no início do ensaio (0 dias) e após 90 dias. Letras diferentes acima das barras indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os diferentes tratamentos, para cada período de incubação.

Efeito da adição de eucalipto na atividade enzimática do solo

A atividade da enzima desidrogenase é frequentemente utilizada como um indicador da atividade biológica dos solos, pois é uma medida da intensidade do metabolismo microbiano (Gianfreda & Rao, 2010; Schinner et al., 1996). Os resultados obtidos (Fig. 4) indicam um aumento significativo da atividade da desidrogenase nos tratamentos com incorporação de eucalipto, para todos os tempos de incubação. O facto de este aumento se verificar logo no início do ensaio (dia 0), pode indicar a existência de algum tipo de interferência na determinação desta enzima. No entanto, os resultados após 90 dias mostram um aumento notório da atividade no tratamento de 5,0%, quer em relação aos restantes tratamentos quer para este tratamento ao longo do tempo. Este resultado poderá estar relacionado com a degradação das folhas de eucalipto, uma vez que as desidrogenases têm um papel importante na oxidação da matéria orgânica do solo. Os trabalhos ainda em curso, tais como a avaliação deste parâmetro para períodos de incubação mais longos e a caracterização da matéria orgânica dos solos, irão permitir obter resultados mais consistentes.

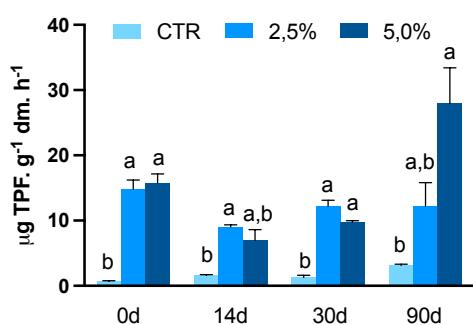


Fig.4 - Atividade da enzima desidrogenase para cada um dos tratamentos, após diferentes períodos de incubação (0, 14, 30 e 90 dias). Letras diferentes acima das barras indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os diferentes tratamentos, para cada período de incubação.

Conclusões

Considerando o crescimento expressivo do eucalipto na ocupação da área florestal portuguesa, e atendendo também ao facto de ser de uma espécie invasora e muito

inflamável, é importante controlar a sua proliferação. Este controlo, nomeadamente através da utilização das folhas do eucalipto como herbicida contra espécies-alvo, está a ser avaliado no projeto Pest(bio)Cide. Por outro lado, a incorporação da biomassa foliar no solo altera as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, tal como demonstram os resultados preliminares apresentados neste trabalho. No entanto, e de modo a concluir se estas alterações são benéficas ou não para os solos, será necessário integrar outros parâmetros físicos químicos e biológicos que estão a ser determinados, assim como avaliar tempos de incubação mais longos.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela FCT/MCTES, através do projecto PCIF/GVB/0150/2018 e do financiamento estratégico UIDB/04423/2020 e UIDP/04423/2020 (CIIMAR), UIDB/05748/2020 e UIDP/05748/2020 (GreenUPorto), e UID/GEO/04035/2020 (GEOBIOTEC). Os autores agradecem também o financiamento individual a T. Teixeira (BI/UI95/9864/2021), T. Cruz (UI/BD/151044/2021), M. Pinto (2021.07342.BD), A. Cachada (CIND/00058/2017).

Referências bibliográficas

- Daizy R.Batish, Harminder Pal Singh, Ravinder Kumar Kohli & Shalinder Kaur (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*. Volume 256, Issue 12. doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008
- Gianfreda, L., & Rao, M. A. (2010). The Influence of Pesticides on Soil Enzymes. In *Soil Enzymology* (Vol. 22, pp. 293–312). doi.org/10.1007/978-3-642-14225-3
- Instituto de Conservação da Natureza e Florestas (ICNF)-nota informativa: principais indicadores RJAAR. Nº 3/ 1º semestre 2019.
- OERKE, E. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43. doi:10.1017/S0021859605005708
- Schinner, F., Ohlinger, R., Kandeler, E., & Margesin, R. (1996). *Methods in Soil Biology* (1st ed.). doi:10.1007/978-

Comparación del microbioma de suelos calcáreos y yesosos en parcelas de secano bajo clima Mediterráneo.

Comparison of the microbiome of calcareous and gypseous soils in rainfed field plots under Mediterranean climate

Sierra, María-José^{1*}; García-Montero, Rocío¹; Rodríguez-Rastrero, Manuel¹; Millán, Rocio¹

¹ CIEMAT, Departamento de Medio Ambiente, Avenida Complutense 40, E-28040 Madrid, Spain

[mj.sierra@ciamat.es](mailto:mj.sierra@ciemat.es)

Resumen

El papel de los microorganismos en el mantenimiento de un suelo sano y equilibrado es primordial debido a las distintas funcionalidades que ofrecen, los cuales, a su vez, influirán directamente sobre los servicios ecosistémicos de dicho suelo. Su utilización como indicador de la salud del suelo puede ser de gran relevancia a nivel global. En los agroecosistemas, la composición y funcionalidad del microbioma, condicionadas por una cadena de variables ambientales, es un factor determinante en su capacidad productiva. Este trabajo se centra en las diferencias existentes entre el microbioma de un suelo calcáreo y uno yesoso dedicados ambos, al monocultivo de cebada. Para ello se evalúan factores como la diversidad, abundancia o funcionalidad de dichos microbiomas. Los resultados de este trabajo, dado las bajas ratios hongo/bacteria, señalan degradación en ambos casos. Aunque, atendiendo a la mayor diversidad del suelo calcáreo, este parece estar más sano. Por otra parte, hay más especialización, reflejada en mayores abundancias relativas de ciertos microorganismos, en el suelo yesoso. Este último presenta además mayor funcionalidad que puede estar relacionada con la adaptación de dichos microorganismos a mayores factores de estrés.

Palabras clave: microbioma, salud del suelo, suelo calcáreo, suelo yesoso, agricultura de secano.

Abstract

The role of microorganisms in maintaining healthy and balanced soil is essential due to the different functionalities they offer, which, in turn, will directly influence the soil ecosystem services. The use of microbiome as an indicator of soil health can be of great relevance at a global level. In agroecosystems, the composition of the microbiome together with the functionalities it offers, balanced or not, will determine the agricultural production of the soil. And all this will be influenced by a chain of interconnected variables that differ between ecosystems. This work focuses on the differences between the microbiome of a calcareous soil and a gypseous soil, both dedicated to barley monoculture. Factors such as microbiome diversity, abundance or functionality are evaluated. The results of this work, given the low fungus/bacteria ratios, indicate soil degradation in both cases. If we consider the greater diversity of the calcareous soil, this seems to be the healthiest. On the other hand, there is more specialization, reflected in greater relative abundances of certain microorganisms, in the calcareous gypsum soil. The latter also has greater functionality that may be related to the adaptation of these microorganisms to greater stress factors.

Keywords: microbiome, soil health, calcareous soil, gypseous soil, rainfed agriculture.

Introducción

El papel de los microorganismos en el mantenimiento de un suelo sano y equilibrado es primordial debido a las distintas funcionalidades que ofrecen, que, a su vez, influirán directamente sobre los servicios ecosistémicos de dicho suelo. Los microorganismos del suelo participan en la descomposición y en el ciclo de nutrientes y sirven como indicadores de cambios de usos y de la salud del ecosistema. En un suelo, la diferencia en la composición del microbioma puede estar marcada por numerosos factores interconectados (Wixon & Balser, 2009).

El objetivo principal de este trabajo es estudiar diferencias existentes en la composición del microbioma de un suelo agrícola calcáreo y un suelo agrícola calcáreo yipsícola, dedicados ambos al monocultivo. Esto nos ayudará a conocer la salud de dichos suelos basándonos en factores como la diversidad, abundancia o funcionalidad de dichos microbiomas y nos dará pistas para llevar a cabo un manejo sostenible de este tipo de suelos.

Material y métodos

En febrero de 2022, fueron recogidas 18 muestras de suelo a una profundidad de entre 3 y 20 cm, en dos localizaciones distintas correspondientes a dos parcelas experimentales situadas en Casasana (Guadalajara, España) y en Buendía (Cuenca, España) a unos 32 km de distancia entre sí por carretera. Casasana está caracterizada por un suelo desarrollado en margas yesíferas; y Buendía muestra un suelo desarrollado en un depósito de gravas, arenas y arcillas muy calcáreas. En ambas ubicaciones los suelos son pobres en materia orgánica, N, P y K y tienen pH básico. Los dos suelos han estado dedicados al monocultivo de cebada, estando en el momento del muestreo sin cultivar.

En dichas muestras se realizó un análisis general del microbioma del suelo en el que se incluye la distribución de hongos y bacterias; y su abundancia, diversidad y funcionalidad.

Tabla 1. Características de ambos suelos.

	Casasana	Buendía
Coordenadas	40°31'44,44"N 2°38'11,19"W	40°22'10,43"N 2°46'18,72"W
Altitud (m s.n.m.)	976	688
P media anual (mm)	610	472
pH	7,7	8,6
MO (%)	0,50 ± 0,08	1,13 ± 0,17
CaCO ₃ (%)	31,5 ± 7,8	49,9 ± 2,27
* ¹ Yeso (%)	15 ± 8,9	0
* ² Ca ²⁺ (cmol+ kg ⁻¹)	279,8 ± 31,2	45,8 ± 0,85
N _T (%)	0,06 ± 0,01	0,14 ± 0,02
P asimilable (mg kg ⁻¹)	6,4 ± 1,1	4,1 ± 1,5
K asimilable (mg kg ⁻¹)	46,9 ± 6,6	27,1 ± 7,5
Textura (<2mm)	Franco-arcillosa	Franco-arcillo-arenosa
Elemen. gruesos (%)	12,9 ± 2,4	21,3 ± 3,4

*¹Yeso semicuantitativo por DRX.

*²Se asume que el complejo de cambio del suelo está saturado en Ca²⁺ (en estos valores interviene evidentemente el Ca²⁺ disuelto).

Resultados y discusión

En Buendía existen 1747 taxones microbianos, (975 hongos y 768 bacterias) y en Casasana 1421 (685 hongos y 732 bacterias). El índice de biodiversidad en Buendía es significativamente mayor que en Casasana. La menor diversidad en Casasana puede indicar que las condiciones específicas de ese suelo, con valores altos de yeso y por tanto, de Ca²⁺ en la solución del suelo, niveles más bajos de N_{total} o menor contenido en materia orgánica (Tabla 1), resultan estresantes para la microbiota desplazando microorganismos en favor de aquellos más especializados. Por otra parte el suelo de Buendía es más diverso en hongos que en bacterias mientras que en Casasana ocurre lo contrario. Aunque la diversidad de hongos es mayor en Buendía que en Casasana, la ratio en abundancia de hongos/bacteria es mayor en Casasana (0,08) que en Buendía (0,02). En cualquier caso son ratios muy bajas, similares a las encontradas en suelos dedicados a agricultura intensiva, lo que puede tomarse como un indicador de degradación (Six *et al.*, 2006) en ambos suelos.

El índice de funcionalidad se clasifica en Casasana como muy alto y en Buendía

como medio. En Casasana los índices significativamente más altos interesantes a destacar son el referente a la solubilización de K, de P inorgánico, de asimilación de Fe, equilibrio del ciclo del S o el de ciclado de N.

Hongos

Buendía presenta una mayor diversidad que Casasana dentro de los filos *Basidiomycota* y *Ascomycota*. En el resto de filos la diversidad es similar a excepción del filo *Glomeromycota* que solo tiene representación en Buendía (micorrizas arbusculares: MA).

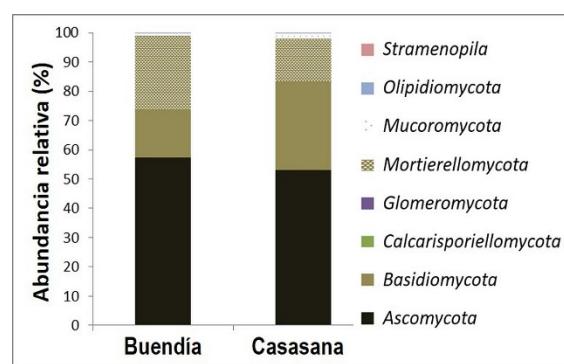


Fig. 1 – Abundancia relativa de los distintos filos de hongos en Buendía y Casasana.

En cuanto a abundancia relativa, en las dos localizaciones casi el 100 % de los hongos se reparten entre *Ascomycota*, *Basidiomycota* y *Mortierellomycota* (Fig. 1). *Ascomycota* es similar en ambas localizaciones, *Basidiomycota* en Casasana casi dobla a Buendía y *Mortierellomycota* en Buendía casi dobla a Casasana.

Micorrizas: MA solo aparecen en Buendía donde su abundancia relativa es menor de 0,2 % y la diversidad es también pequeña. Aparece el género *Diversispora* y la especie *Otospora bareae*. Este tipo de micorrizas, aunque tiene menos requerimientos de carbono, depende mucho de su planta hospedadora. El suelo de Casasana, en el momento del muestreo, estaba totalmente desnudo y el de Buendía presentaba algo de vegetación natural. Por otra parte, la ausencia de MA puede ser causa de una competencia colectiva y efectos antagónicos de la comunidad microbiana

existente, además de otros factores como el bajo pH (Svenningsen *et al.*, 2018).

Por otra parte las ectomicorrizas (ECM) tienen una tolerancia ambiental más amplia (Branco, 2010). En Buendía hay una mayor diversidad, mientras que en Casasana hay una mayor abundancia relativa. Es destacable en Casasana *Cortinarius diasemospermus* (3,25 % en Casasana vs 0,39 % en Buendía). En cuanto a esto, mencionar el estudio de Aponte *et al.* (2010) donde se observó que altos niveles de Ca y pH en el suelo suponían una relación significativa con bajos niveles de diversidad de ECM. En nuestro caso ambos suelos presentan saturación en Ca^{2+} con pHs alcalinos (coherente con la abundancia de CaCO_3), sin embargo el Ca^{2+} medido en Casasana es más de 6 veces mayor que en Buendía debido a la presencia de yeso. Por lo tanto, entre estos dos suelos, el factor limitante a la diversidad podría ser la abundancia de Ca^{2+} en vez del pH. Otro factor a tener en cuenta en las estructuras de las comunidades de ECM es el N (Talbot and Treseder, 2010). Así, Buendía, con mayores valores de N_{total} que Casasana, presenta mayor diversidad mientras que Casasana presenta mayor abundancia relativa. Hay mayor especialización en el lugar con menos recursos de N.

En cuanto al resto de hongos, se mantiene una mayor diversidad en Buendía con respecto al suelo de Casasana. Destacar dentro del género *Mortierella* (similar en diversidad en las dos localidades), la especie *M. alpina* muy afectada por los niveles de N en el suelo (Kikukawa *et al.*, 2018). Su abundancia relativa es 4,5 veces mayor en Buendía que en Casasana (18,61 % vs. 4,10 %).

Bacterias

Buendía presenta una mayor diversidad que Casasana dentro de los filos *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, *Gemmationadota* y *Myxococcota*. Por su parte Casasana presenta mayor diversidad en los filos *Acidobacteriota* y *Firmicutes*. En el resto de los filos la diversidad es similar.

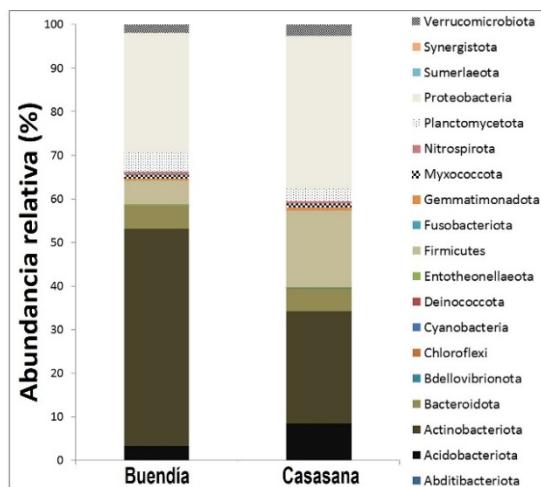


Fig. 2 – Abundancia relativa de los distintos filos de bacterias en Buendía y Casasana.

En cuanto a abundancia relativa, en las dos localizaciones casi el 100 % de las bacterias se reparten entre *Acidobacteriota*, *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, *Firmicutes* y *Proteobacteria* (Fig. 2). Siendo la abundancia de *Bacteroidota* similar en ambos suelos, de *Acidobacteriota*, *Firmicutes* y *Proteobacteria* mayor en Casasana que en Buendía (2,6; 3,2 y 1,3 veces, respectivamente) y de *Actinobacteriota* mayor en Buendía que en Casasana (2,6 veces).

En cuanto a bacterias interesantes en agricultura, serían destacables, dentro del filo *Proteobacteria*, géneros relacionados con enfermedades como *Pseudomonas* o *Ralstonia*. La abundancia relativa del primero es significativamente mayor en Casasana que en Buendía (15,4 veces mayor: 1,23 % vs 0,08 %) y el segundo solo está presente en Casasana en una abundancia relativa de 1,18 %. Por otra parte, dentro del filo *Actinobacteriota*, sería destacable la presencia de géneros considerados como beneficiosos como *Blastococcus* o *Solirubrobacter* con una abundancia relativa significativamente mayor en Buendía que en Casasana (2,50 % vs. 0,08 %, 8,72 % vs. 2,04; respectivamente). Esto vuelve a indicar que dentro de dos suelos degradados, la calidad del suelo yesoso (Casasana) parece menor.

Conclusiones

El microbioma del suelo calcáreo es más diverso que el del suelo yesoso. Sin embargo, en este último hay más especialización, reflejada en mayores abundancias relativas de ciertos taxones. El suelo yesoso presenta además mayor funcionalidad que puede estar relacionada con la adaptación de dichos microorganismos a factores de estrés como mayores niveles de Ca²⁺ o menores contenidos en N, en comparación con el suelo calcáreo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con el Proyecto de Colaboración Internacional: ConnectFarms (SusCrop-ERA-NET, PCI2021-122085-2A) dentro del Plan Estatal de Investigación Científica, Técnica y de Innovación 2021-2023. Agradecemos a la empresa Biome Makers Spain S.L. los análisis de laboratorio referentes al microbioma del suelo.

Referencias bibliográficas

- Aponte, C., García, L. V., Marañon, T. & Gardes, M. (2010). Indirect host effect on ectomycorrhizal fungi: Leaf fall and litter quality explain changes in fungal communities on the roots of co-occurring Mediterranean oaks. *Soil Biol Biochem* 42, 788-796. doi:10.1016/j.soilbio.2010.01.014
- Branco, S. & Ree, R. H. (2010) Serpentine soils do not limit mycorrhizal fungal diversity. *PLoS ONE* 5(7), e11757. doi:10.1371/journal.pone.0011757
- Kikukawa, H., Sakuradani, E., Ando, A., Shimizu, S. & Ogawa, J. (2018). Arachidonic acid production by the oleaginous fungus *Mortierella alpina* 1S-4: A review. *J Adv Res* 11,15–22. doi:10.1016/j.jare.2018.02.003
- Svenningsen, N. B., S. Watts-Williams, Joner, E., Battini, F., Efthymiou, A., Cruz-Paredes, C., Nybroe, O. & Jakobsen, I. (2018). Suppression of the activity of arbuscular mycorrhizal fungi by the soil microbiota. *The ISME Journal* 12, 1296–1307. doi:10.1038/s41396-018-0059-3
- Six, J., Frey, S. D., Thiet, R. K. & Batten, K. M. (2006). Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Sci Soc Am J* 70(2), 555–569. doi:10.2136/sssaj2004.0347
- Talbot, J.M. & Treseder, K. K. (2010). Controls over mycorrhizal uptake of organic nitrogen. *Pedobiologia* 53, 169–179. doi:10.1016/j.pedobi.2009.12.001
- Wixon, D. & Balser, T. (2009). Complexity, climate change and soil carbon: a systems approach to microbial temperature response. *Syst Res Behav Sci* 26(5), 601–620. doi:10.1002/sres.995

Los suelos de brezales húmedos atlánticos de *Erica mackayana* del N de Galicia

The soils of Atlantic wet heathlands of Erica mackayana in N of Galicia

Pontevedra-Pombal, Xabier^{1*}; Fagández, Jaime²; García-Rodeja, Eduardo¹

¹Grupo de Investigación GEMAP, Departamento de Edafología e Química Agrícola, Facultade de Bioloxía, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Galiza

²Grupo de Investigación BIOCOST, Centro de Investigacións Científicas Avanzadas, Departamento de Bioloxía, Facultade de Ciencias, Universidade da Coruña, 15071 A Coruña, Galiza

[*xabier.pombo@usc.es](mailto:xabier.pombo@usc.es)

Resumen

Los brezales son un tipo de hábitat con una estrecha y compleja relación entre las comunidades vegetales, dominadas por especies arbustivas de hoja perenne y unos suelos que se caracterizan por su pobreza en nutrientes y un elevado contenido en materia orgánica. Para caracterizar los suelos de los brezales húmedos atlánticos del norte de Galicia, dominados por la especie *Erica mackayana*, se estudiaron las propiedades físico-químicas y se caracterizó la materia orgánica en noventa parcelas de 18 sitios. El principal responsable de la nutrición de estos hábitats es una materia orgánica poco evolucionada a través de un intenso biorreciclado con un fuerte control local por condiciones microclimáticas y con poca relevancia de la naturaleza litológica. La capacidad de intercambio catiónico es baja y tiende a estar dominada por Al. En este contexto, el impacto del calentamiento climático y los cambios de uso del suelo sobre la evolución de la materia orgánica, así como la posibilidad de estabilización en compuestos organoalumínicos será el principal responsable de la evolución del sistema suelo-planta en este hábitat.

Palabras clave: propiedades del suelo, materia orgánica del suelo, brezal, biodiversidad

Abstract

Heathlands are a habitat type with a close and complex relationship between plant communities dominated by evergreen shrub species and soils characterised by nutrient poverty and high organic matter content. To characterise the soils of the Atlantic wet heathlands of northern Galicia, dominated by the *mackayana* species, physico-chemical properties were studied and organic matter was characterised in ninety plots at 18 sites. The main responsible for the nutrition of these habitats is a poorly evolved organic matter through an intense biorecycling with a strong local control by microclimatic conditions and with little relevance of the lithological nature. Cation exchange capacity is low and tends to be saturated in Al. In this context, the impact of climate warming and land use changes on the evolution of organic matter, as well as the possibility of stabilisation in organoaluminic compounds will be mainly responsible for the evolution of the plant-soil system in this habitat.

Keywords: soil properties, soil organic matter, heathland, biodiversity.

Introducción

Los *brezales húmedos atlánticos* (código Red Natura 4020*) son un hábitat de elevado valor para la biodiversidad y para la mitigación del calentamiento climático, por lo que han sido considerados como de interés prioritario en la UE (European Commission, 2013). Estos ecosistemas, dominados por comunidades arbustivas higrófilas de Ericáceas en climas oceánico-templados, se localizan desde el nivel del mar hasta 2000 m s.n.m. Se considera que los suelos propios de este hábitat son muy ricos en materia orgánica, con tendencia a la hidromorfía, ácidos, oligotróficos y turbosos (Davies et al., 2004).

En el NO de la Península Ibérica, donde son más abundantes, ocupan un área de, al menos, 6×10^5 ha como formaciones dominantes, junto con una extensión relevante de sotobosque. En las zonas de montaña del norte de Galicia estas formaciones se definen por la presencia de *Erica mackayana* (Fraga et al., 1990), cuya distribución mundial se limita a la región cantábrica y al oeste de Irlanda.

Sin embargo, a pesar de su gran valor medioambiental y de ocupar una superficie considerable en el NO peninsular, y en contraste con las latitudes altas ($>47^\circ$), la caracterización profunda de los suelos que los sustentan es escasa o, en el mejor de los casos, fragmentada.

En este estudio, aportamos una aproximación a la caracterización profunda de los suelos de los brezales húmedos atlánticos de *Erica mackayana* en Galicia.

Material y métodos

El área se sitúa en la zona norte de Galicia a altitudes entre 400 y 700 m s.n.m., en un dominio húmedo templado, con una precipitación media anual de 1.300 mm, una T_a media de 14 °C y una amplitud térmica que oscila entre 13,5 y 14,5 °C. Existe un fuerte control orográfico de las precipitaciones.

Se prospectaron 90 parcelas de 18 sitios (5 parcelas por sitio) cubriendo en lo posible el rango de variación regional (altitud, litología, orientación) (Figura 1; Tabla1).

Tabla 1 – Características de las áreas de estudio.

Área	Altitud, m s.n.m.	Pendiente %	Orientación	Litología
Abadín	659	10	N-NO	esquisto félscico/arenisca cuarcítica
Buio	675	20	NO	cuarcita
Bustelo	623	36	NO	esquisto félscico/arenisca cuarcítica
Capelada	475	9	SE	anfibolita/ granulita
Carba	725	28	NE	cuarcita
Eume	571	19	NE	esquisto félscico/ granito de dos micas
Faladoira	553	9	NE	pizarra félscica/ cuarcita
Forgoselo	486	11	NE	granito de dos micas
Goia	709	8	—	cuarcita
Loba	623	10	E-SE	esquisto y pizarra félscica
Meira	763	17	W-SO	cuarcita/ arenisca cuarcítica
Mondoñedo	642	20	S-SO	granodiorita
Muras	693	22	SO	gneis anfibólico
Panda	493	10	—	esquisto porfiroide/ metagrauvaca
Penalonga	420	29	N-NE	pizarra
Toxiza	718	25	NE	granodiorita
Viveiro	456	14	NE	granodiorita
Xistral	667	16	SO	cuarcita

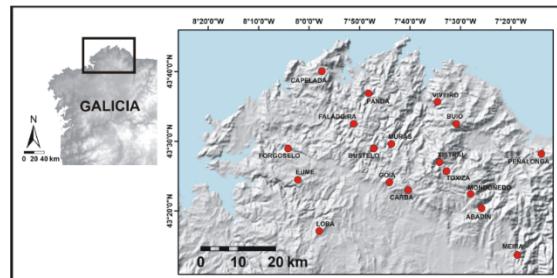


Figura 1. Localización de las áreas de muestreo. Modificado de Fagández & Pontevedra-Pombal, 2022.

En el punto central de cada parcela se muestreó el horizonte superficial hasta su máxima profundidad, entre 15 y 25 cm en todos los casos. Este horizonte contiene más del 90% del sistema radicular de estas formaciones vegetales. En la mayoría de los casos, este horizonte fue dividido en dos subhorizontes a partir de sus rasgos morfológicos (topografía del límite y su transición, la presencia, naturaleza y abundancia de arenas y gravas, color, grado de hidromorfia, estructura y consistencia de los agregados, porosidad y abundancia y tamaño de las raíces). Los suelos mostraron, en general, una capa oscura, orgánica o mineral muy rica en

materia orgánica de 3 a 6 cm (hor. H, O o A), seguida, con espesor variable, por otra mineral, pero aún rica en materia orgánica (hor. Ah) y, en algunos lugares, por capas orgánicas hidromorfas (hor. H).

Las muestras se conservaron a 4 °C. Las determinaciones analíticas se realizaron sobre muestras de suelo secas al aire y tamizadas (<2 mm); para algunas determinaciones fueron secadas (105 °C) y molidas. Todos los análisis se realizaron por duplicado y se repitieron cuando el coeficiente de variación superó el 10%.

Se determinaron densidad del suelo (DS), pérdida de masa por ignición (LOI), C y N totales, pH en agua (pH_w) y KCl (pH_k), P disponible (P_{Bray}), capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICe), C oxidable con K_2CrO_7 (C_{dic}), C extraíble con $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (C_{pir}) y con agua (C_{au}) y las fracciones funcionales a partir del fraccionamiento químico (Strosser, 2010). El C recalcitrante (C_{rec}), la fracción más estable y menos reactiva, se obtiene de la diferencia entre C_t y C_{dic} , el C oxidable (C_{ox}) es la diferencia entre C_t y C_{rec} , el C oxidable no humificado (C_{onh}) es la diferencia entre C_{ox} y C_{pir} , el C oxidable humificado (C_{hum}), altamente reactivo, es la diferencia entre el C_{ox} y el C_{onh} , el C soluble (C_{sol}), fracción humificada más lábil, es la suma del C extraído con agua fría y caliente.

Los datos fueron tratados a través de un análisis de correlación bivariada de Spearman y se aplicó la prueba H de Kruskall-Wallis ($H_{\text{k-w}}$), tomando como moduladores de las propiedades del suelo las variables ambientales litología, orientación, altitud, pendiente y tipo de horizonte.

Resultados y discusión

Propiedades fisicoquímicas

Las rutas edafogenéticas generales dan lugar a suelos alumínicos, de tipo podzólico o gleyico, y tendencia a la aturberación. En las partes más escarpadas, se desarrollan suelos esqueléticos, con rasgos policíclicos y horizontes A úmbricos o H hísticos. En los sectores menos energéticos hay una fuerte ralentización del

drenaje y el desarrollo de condiciones hidromorfas más o menos intensas, una elevada acumulación de materia orgánica y la aparición de suelos turbosos. Son suelos (Tabla 2) de baja densidad, muy orgánicos, con un alto contenido en C orgánico y relaciones C:N de moderadas a altas, lo que indicaría una materia orgánica poco mineralizada, y con una reacción ácida a muy ácida. El contenido medio de P disponible es alto, pero muestra una elevada variabilidad inter e intra-suelos. La CICe es baja, muy variable y con alta saturación en Al (en ocasiones > 60%), y relaciones Al:Ca muy altas.

Tabla 2 – Promedio y desviación (DE) de diferentes propiedades de los suelos estudiados. DS, densidad del suelo; LOI, pérdida de masa por ignición; pH_w , pH en agua; pH_k , pH en solución de KCl; sB, suma de cationes básicos; SAI, saturación con Al.

Propiedades		Media	DE
DS	g cm^{-3}	0,53	0,21
LOI	%	43,90	23,42
C	%	22,76	10,44
N	%	1,24	0,49
C:N		18,12	3,91
pH_w		4,11	0,42
pH_k		3,26	0,49
P	mg kg^{-1}	35,86	41,72
sB	cmolc kg^{-1}	5,24	5,17
CICe	cmolc kg^{-1}	7,46	4,83
SAI	%	38,44	23,86
Al:Ca		3,50	5,14

La reacción del suelo mostró una correlación negativa con la MOS ($r^2: 0,616$, $p < 0,001$). El P disponible mantiene correlaciones significativas y positivas ($p < 0,001$) con la LOI, el C, el N, y, particularmente, con la relación C:N. El valor y la variabilidad de la CICe están controlados por el pH ($r^2: 0,503$; $p < 0,001$). La CICe es mayor cuando el complejo de intercambio está dominado por cationes básicos ($r^2: 0,947$; $p < 0,001$) y alcanza valores mínimos cuando aumenta la SAI ($r^2: -0,825$; $p < 0,001$).

Fracciones de carbono de la MOS

Los valores medios de las diferentes fracciones de C (Tabla 3) indican que la mayoría del C orgánico de estos suelos se puede oxidar con dicromato potásico, está todavía en una fase oxidable, mientras que la cantidad de C muy lábil, extraído con agua, es muy pequeña.

Tabla 3 – Promedio, en g kg⁻¹, y desviación (DE) de las diferentes fracciones de carbono extraídas de la materia orgánica de los suelos estudiado.

	C _t	C _{dic}	C _{pir}	C _{au}
Media	265,68	238,69	39,83	9,35
DE	111,64	113,54	10,40	4,81

Casi el 13% del C_t es C_{rec} (Figura 2), mientras que el C_{onh}, que representa el 73 %, es la fracción dominante, la C_{hum} supone el 15% del carbono orgánico total y el C_{sol} no alcanza el 4%.

Tanto C_{onh} como C_{sol} tienen una fuertes correlaciones positivas ($p<0,001$) con el contenido en P y con la CICe y sus cationes básicos, mientras que el C_{hum} tiene elevadas correlaciones positivas ($p<0,0001$) con el Fe y el Al del complejo de intercambio y con la relación Al:Ca.

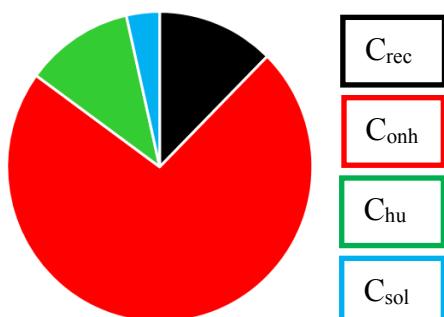


Figura 2. Proporción de las fracciones de carbono de la materia orgánica del suelo respecto al carbono total.

A excepción del pH, todas las propiedades y fracciones del carbono analizadas muestran valores condicionados (H_{k-w}; $p<0,05-0,0001$) en función de si el horizonte es superficial o subsuperficial indicando una diferenciación rápida de los procesos de biorreciclado y de la actividad microbiana sobre la materia orgánica. Estos mecanismos quedan corroborados por el hecho de que no se han observado cambios en las propiedades de los

horizontes superficiales de estos suelos asociados a la diferente litología. Las distintas fracciones de la materia orgánica están claramente condicionadas por la orientación y la altitud del área de muestreo lo que podría estar indicando un condicionante microclimático.

Conclusiones

Las propiedades de estos suelos pueden ser clave como filtros ecológicos para la conservación de este hábitat, al dificultar o impedir la invasión por otras comunidades más sensibles a la acidez, a una reducida CIC, a la toxicidad por Al. Esta comunidad de brezal está plenamente adaptada a estas condiciones, y depende en gran medida de la eficacia del biorreciclado en el horizonte superficial. La MOS es abundante pero predomina una fracción inestable que puede evolucionar hacia fracciones más recalcitrantes o más lábiles, aunque su estabilización en compuestos organoalumínicos parece ser un mecanismo relevante.

Referencias bibliográficas

- Davies, CE., Moss, D., Hill, MO. (2004). *EUNIS habitat classification revised 2004*. European Topic Centre on Nature Protection and Biodiversity, European Environment Agency.
- European Commission. (2013). *Interpretation Manual of European Union Habitats EUR 28* E.C.-DG Environment, Nature ENV B.3Brussels.
- Fagúndez, J., Pontevedra-Pombal, X. (2022). Soil properties of North Iberian wet heathlands in relation to climate, management and plant community. *Plant and Soil*. doi: [10.1007/s11104-022-05393-6](https://doi.org/10.1007/s11104-022-05393-6)
- Fraga, MI., Sahuquillo, E., García-Tasende, MA. (1990). Los brezales de Galicia (Noroeste de España), su historia y estado actual. *Travaux du Centre de Géographie Humaine et Sociale*, 17, 139-145.
- Strosser, E. (2010). Methods for determination of labile soil organic matter: an overview. *Journal of Agrobiology*, 27, 49-60. doi: 10.2478/s10146-009-0008-x

Diversidad edáfica en viñedos de Montesa y Torresalas (DOP Somontano, NE-España)

D. Badía^{1*}, A. Jiménez¹, M. Muñoz¹, C. Martí¹, O. Ortíz¹, J. Casanova¹, J. A. Cuchí¹

C. Duque², J. Echandi²

¹Escuela Politécnica Superior de Huesca. Universidad de Zaragoza-IUCA.

²Bodegas Sommos. Crtra. Nacional 240, Km. 155. Barbastro

[^{*}badia@unizar.es](mailto:badia@unizar.es)

Resumen

En este trabajo se caracterizan, clasifican y evalúan los suelos de dos zonas próximas a Barbastro (Montesa y Torresalas), en la Denominación de Origen Protegida Somontano (NE-España). Bajo un régimen de humedad xérico, las propiedades y formación de los suelos están íntimamente relacionadas con su posición en el relieve y, especialmente con su material parental. En Montesa, sobre margas y areniscas Oligo-Miocenas predominan los Calcisols, con Cambisols en unidades geomorfológicas menos estables. En Torresalas se encuentran Gypsisols sobre yesos Oligo-Eocenos y Calcisols sobre depósitos detríticos de terraza aluvial Pleistocena. Respecto a la aptitud para el cultivo de la viña, en Montesa se obtienen unos homogéneos índices de Potencial de Vigor (fuerte) y de Potencial de Precocidad (moderadamente débil) del terreno. En Torresalas, ambos índices muestran mayor heterogeneidad, con un potencial de vigor que varía entre débil y fuerte, y un potencial de precocidad que varía entre moderadamente débil y moderadamente fuerte. Las variedades blancas (Gewürztraminer, Chardonnay) adquieren una elevada mineralidad sobre Gypsisols, lo que confiere a los vinos una peculiar personalidad. Las variedades tintas prefieren cultivarse sobre el resto de grupos de suelos, muy carbonatados, donde los vinos adquieren taninos de calidad y en un nivel adecuado.

Palabras clave: Transecto, suelos, WRB, Terroir

Abstract

Soils are characterized, classified and evaluated in two areas near Barbastro (Montesa and Torresalas), in the Somontano Protected Designation of Origin (NE-Spain). Under a xeric humidity regime, the properties and formation of the soils are closely related to their position in the relief and, especially, to their parent material. In Montesa, on Oligo-Miocene marls and sandstones, Calcisols predominate, with occasional Cambisols in less stable geomorphological units. In Torresalas there are two very different zones, with Gypsisols on Oligo-Eocene gypsum and Calcisols on detritic deposits of a Pleistocene alluvial terrace. Regarding the suitability for vineyard cultivation, in Montesa high values of the Vigor Potential index and moderately weak values of the Precocity Potential have been obtained. In Torresalas, both indices show greater heterogeneity, with Vigor Potential ranging from weak to strong, and Precocity Potential ranging from moderately weak to moderately strong. The white varieties (Gewürztraminer, Chardonnay) acquire a high minerality on Gypsisols, which gives the wines a peculiar personality. The red varieties prefer to grow on the rest of the soil groups, very carbonated, where the wines acquire an adequate level of tannins and quality.

Key words: Transect, soils, WRB, Terroir.

Introducción

Cada suelo, resultado de la interacción del clima sobre un material parental en un relieve determinado, ejerce una evidente influencia sobre el crecimiento de un cultivo y del viñedo en particular. Dentro del contexto vitivinícola, a las unidades ambientales homogéneas, y sometidas a determinadas prácticas vitivinícolas, se les denomina “terroir” (Morlat, 2010). En estas unidades, el papel del suelo es fundamental y su conocimiento permite valorizar el producto agrario resultante (Badía et al., 2014).

En este trabajo se caracterizan las principales tipologías de suelos, y sus propiedades, en viñedos de dos zonas de la Denominación de Origen Protegida Somontano (Barbastro, Huesca): Montesa y Torresalas, zonas próximas, aunque con una geología muy diferente.

Material y métodos

Se realiza un transecto en cada zona y se describen, macromorfológicamente (FAO, 2006), los perfiles de suelos más representativos para proceder a su muestreo. De la fracción de tierra fina, se analizan sus principales propiedades físicas y químicas: pH, carbonatos, yeso, materia orgánica, CE 1:5, estabilidad estructural, granulometría y capacidad de retención de agua disponible (CRAD), siguiendo los métodos estándar (Badía et al., 2006). Los suelos se clasifican siguiendo la WRB (IUSS, 2015); en este trabajo sólo se indica el Grupo de Suelo de Referencia (GSR) + Calificador principal. Además, se obtienen los índices de evaluación para el cultivo de la viña (Morlat, 2010): el potencial de vigor del terreno (PVT) y el de precocidad (PPT).

Área de estudio

Ambas zonas de estudio (Montesa y Torresalas) se encuentran en las proximidades de la ciudad de Barbastro, en el Noreste de España (Figura 1). La precipitación media es de unos 450 mm/año y la temperatura media mensual ligeramente superior a los 14°C (régimen

xérico-térmico). En Montesa se cultivan variedades tintas (Cabernet-Sauvignon, Merlot, Tempranillo, Syrah), en secano; en Torresalas se cultivan var. blancas (Chardonnay y Gewürztraminer) y tintas (Cabernet-Sauvignon y Tempranillo), en regadío. En ambas zonas, el sistema de conducción es en espaldera alta, formada en cordón Royat, con una densidad de plantación de 4.115 cepas/ha (Casanova, 2009).



Figura 1. Localización del área de estudio

Los viñedos se localizan a unos 500 metros de altitud en Montesa y a 350 m en Torresalas. En Montesa son frecuentes las laderas de suave pendiente, alternando con modestas plataformas en resalte, resultado de la erosión diferencial del sustrato: margas, areniscas y conglomerados, de la Fm. Sariñena (Oligoceno inferior - Mioceno medio superior), en disposición subhorizontal. En Torresalas, el relieve resulta ligeramente ondulado, desarrollado sobre margas y yesos de la Fm. yesos de Barbastro (Eoceno superior - Oligoceno inferior), dispuestos en estratos verticales, a los que se superpone, al Este, una terraza aluvial del Pleistoceno (Qt5), casi un centenar de metros por encima de la actual confluencia de los ríos Cinca y Vero (IGME, 2014).

Resultados

Los suelos en Montesa son de reacción básica, sin problemas de salinidad, bajo

contenido en materia orgánica, baja estabilidad estructural y alta CRAD. Son suelos poco desarrollados, que presentan mayoritariamente una secuencia Ap-Ckc-(R), con varias discontinuidades líticas al identificarse diversas margas litocromas (Ck-2Ckc-3Ckc) o, areniscas y conglomerados de cemento calizo (R), que se van sucediendo conforme varía la topografía (Figura 2). Todos esos suelos presentan una acumulación de carbonatos secundarios, en forma de concreciones, definiéndose un horizonte de diagnóstico cálcico (en general, con más del 50% en masa de carbonato cálcico equivalente en la matriz, es decir con carácter Hypercalcic). Se trata de Haplic Calcisol.

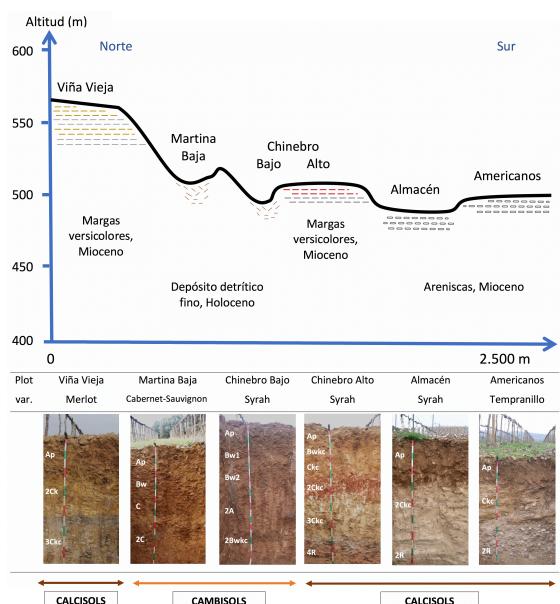


Figura 2- Transecto de suelos en Montesa.

Sobre arenas o conglomerados compactos, los suelos son pedregosos y con contacto lítico a cierta profundidad; se califican como Akroskeletal Endoleptic Calcisol. En fondos de valle en cuna, los suelos muestran secuencias Ap-Bw-C; se clasifican como Calcaric Cambisols. En ocasiones estos suelos se encuentran sobre suelos enterrados. En Montesa, el PVT es fuerte (medio con presencia de contacto lítico) y el PPT es moderadamente débil.

En Torresalas, los GSRs que encontramos son, de nuevo, los Calcisols pero aquí con

Gypsisols, ambos habituales en el Somontano (Badía et al., 2006). Los Calcisols se identifican sobre depósitos detríticos aluviales (Qt5), al Este, y los Gypsisols al Oeste, sobre margas con yesos (Figura 3). Cada perfil en dicha formación geológica adquiere peculiares propiedades, según se desarrolle sobre margas yesosas (Haplic Gypsisol), sobre yeso alabastrino (Endoleptic Gypsisol), o sobre coluvios (Endocalcic Gypsisol), con variable contenido en yeso. Sobre la terraza aluvial, el predominio de depósitos detríticos gruesos o finos condiciona diversas propiedades como la pedregosidad, la profundidad efectiva, y en definitiva la CRAD (Pérez de los Reyes et al., 2022).

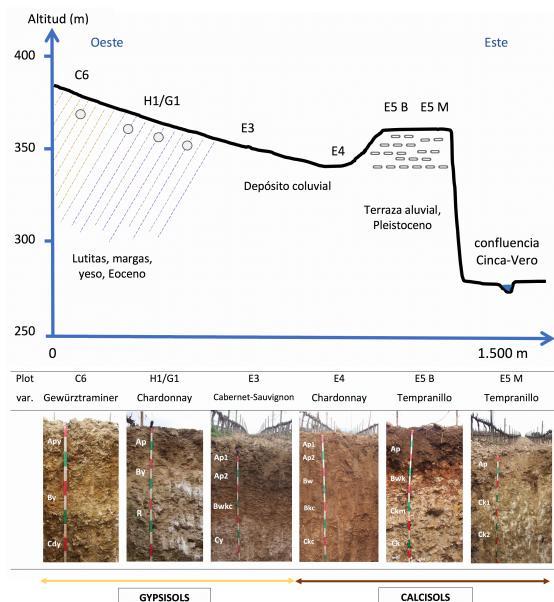


Figura 3- Transecto de suelos en Torresalas.

La variabilidad en las propiedades indicadas es responsable del amplio rango obtenido tanto para el PVT (de 6 a 12) como para el PPT (de 36 a 47) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Índices del potencial de vigor (PVT) y de precocidad del terreno (PPT) para la viña, en porcentaje (%), obtenidos para los perfiles estudiados.

Índices		Zona	
		Montesa	Torresalas
PVT	Débil	0	17
	Medio	17	33
	Fuerte	83	50
PPT	Mod. Débil	0	33
	Mod. Fuerte	100	50
	Fuerte	0	17

Los diferentes Calcisols y los Calcaric Cambisols, tanto en Torresalas como en Montesa, con alto contenido en carbonatos, muestran una mayor aptitud para el cultivo de las variedades tintas, donde éstas son capaces de producir vinos ricos en taninos de calidad (Bonfante et al., 2014), que resultan jugosos y redondos en boca. Por su parte, los Gypsisols de Torresalas (aunque con heterogéneo contenido en yeso: de hypogypsic a hypergypsic) resultan muy adecuados para el cultivo de las variedades blancas, al conferirles al vino matices muy originales, como una elevada mineralidad y acidez, acentuando su calidad.

Conclusiones

Bajo un régimen climático del suelo xérico-térmico, en el relieve con suaves pendientes del Somontano, los suelos se han clasificado como Calcisols (58%), Cambisols (17%) y Gypsisols (25%). Su distribución se ve condicionada por la topografía y, especialmente, por el material parental: así Calcisols y Cambisols se desarrollan sobre sedimentos detriticos y los Gypsisols sobre sedimentos evaporíticos. Los diversos Calcisols y los Calcaric Cambisols, abundantes en Montesa, tienen un fuerte potencial de vigor (salvo limitaciones al enraizamiento por presencia de contacto lítico u horizonte petrocálcico) y presentan mejor aptitud para variedades tintas. Por otro lado, los Gypsisols de Torresalas, entre moderada y extremadamente yesosos, con un potencial de vigor medio, resultan más adecuados para variedades blancas. La diversidad de suelos es un factor más a identificar en el reconocimiento de los factores que influyen en la personalidad y calidad de los vinos del Somontano.

Referencias

- Badía, D., Martí, C., Cuchí, J.A., Casanova, J. (2006). *Los suelos de los viñedos en la denominación origen Somontano de Barbastro*. 205 pp. Colección Ciencias, 8. Ed. Prensas Universitarias de Zaragoza.
- Bonfante, A., Agrillo, A., Albrizio, R., Basile, A., Buonomo, R., De Mascellis, R., Gambuti, A., Giorio, P., Guida, G., Langella, G., Manna, P., Minieri, L., Moio, L., Siani T. & Terribile, F. (2014). Viticulture microzoning: a functional approach aiming to grape and wine qualities. *SOIL Discussions*, 1(1), 1203-1237.
- Casanova, J. (2009). *Caracterización de variedades de vid (Vitis vinifera L.) de la provincia de Huesca*. Tesis doctoral. 218 pp. Huesca.
- FAO (2006). *Guidelines for soil description*. 4th edition. 97 pp. Rome.
- Instituto Geológico y Minero de España (2014). Mapa geológico de España. E.1:50.000 Barbastro, 287. 40 pp. Madrid.
- IUSS. 2015. *Base de referencia mundial del recurso suelo: Sistema internacional de clasificación de suelos para la nomenclatura de suelos y la creación de leyendas de mapas de suelos*. Informes sobre recursos mundiales de suelos, 106. FAO. Roma.
- Morlat R. 2010. *Traité de viticulture de terroir*. Editions Tec & Doc. París.
- Pérez de los Reyes, C., Sánchez-Ormeño, M., Bravo Martín-Consuegra, S., García-Pradas J., Pérez de los Reyes M.L., Alberto Ramírez A., Amorós Ortíz-Villajos, J.A., García Navarro F.J., Jiménez-Ballesta, R. (2022). The influence of depth on the water retention properties of vineyard soils. *Agricultural Water Management* 261: 107384
- Badía, D., Cuchí, J.A., Casanova, J., Martí, C., Rodríguez, J.M. Ayuso, J.M. & Albar, J. (2014). Herramientas para la transferencia del conocimiento geo-edáfico: aplicación a los viñedos de Secastilla (DO Somontano, NE-España). In *Retos y oportunidades en la Ciencia del Suelo*. Macías, F., Díaz-Ravíña, M., Barral, M.T. (Eds.). VI Congreso Ibérico de la Ciencia del Suelo. Santiago de Compostela del 22 al 25 de junio de 2014.

Cuantificación del sistema radicular de cultivos en sistema de riego por aspersión intensivo

Crop root quantification in intensive sprinkler irrigation system

Usón, Asunción^{1*}; Daniel, Isidoro²; Dechmi, Farida^{2,3}

¹ Escuela Politécnica Superior. Universidad de Zaragoza. Carretera Cuarte s/n 22071 HUESCA

² Departamento de Sistemas Agrícolas, Forestales y Medio Ambiente (Unidad asociada a EEAD-CSIC Suelos y Riegos), Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Avda. Montañaña 930, 50059 Zaragoza,

³ Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Zaragoza, España. España.

*mauson@unizar.es

Resumen

Este trabajo pretende cuantificar la distribución en profundidad del sistema radicular de los principales cultivos en riego por aspersión en el Valle medio del Ebro (España), para poder utilizar esta información en modelos de simulación de cultivos e hidrológicos. Se han muestreado cilindros de suelos en antesis de los cuatro cultivos principales de la zona: cebada, maíz, alfalfa y guisante, de los que se han extraído las raíces por lavado. En ningún cultivo se observaron raíces por debajo de 40cm y hasta esa profundidad la densidad del sistema radicular disminuye en profundidad claramente para maíz y alfalfa. Casi el 80% de las raíces se encuentran en los primeros 20cm del suelo, aunque la cebada ha mostrado una distribución más homogénea en profundidad. Para todo el perfil del suelo, se han encontrado más raíces en este trabajo que en estudios previos, sobre todo para cebada y maíz debido a la intensificación del cultivo en regadío. Sin embargo, los cultivos de leguminosas en suelos de textura fina han mostrado menor cantidad de raíces. Los resultados obtenidos ayudarán a mejorar la modelización hidrológica y de los flujos de nutrientes en sistemas de riego por aspersión intensivos a escala de parcela y de cuenca.

Palabras clave: sistema radicular, modelización de cultivos, regadío, aspersión.

Abstract

The main goal of this work is to quantify the depth distribution of crop root system under sprinkler irrigation in the Ebro Valley (Spain), in order to use this information in hydrological and crop simulation models. Soil cylinders have been sampled in the anthesis phase of the four main crops: barley, corn, alfalfa and peas. Crop roots have been extracted by washing. No roots were observed below 40 cm for all considered crops. Up to that depth the density of the root system clearly decreases with depth for maize and alfalfa. Almost 80% of the roots are found in the first 20 cm of the soil, although barley has shown a more homogeneous distribution in depth. Considering all soil profile, more roots density have been found in this work than in previous studies, especially for barley and corn, which is justified by the intensification of irrigated cultivation. However, legume crops on fine-textured soils have shown less roots density. The results obtained will help to improve the hydrological and nutrient load modeling in sprinkler intensive irrigation systems at both field and watershed scales.

Keywords: crop root, crop modelization, irrigation, sprinkler.

Introducción

El desarrollo del sistema radicular de un cultivo depende de las características intrínsecas del cultivo (género, especie, variedad) como de los condicionantes del medio: humedad del suelo a lo largo del ciclo de cultivo, textura o compactación.

Cuantificar la distribución en profundidad del sistema radicular de un cultivo interesa tanto para predecir el desarrollo de dicho cultivo como para conocer la capacidad de absorción de agua y nutrientes en el perfil del suelo. Estas dos características son esenciales para la modelización del desarrollo de los cultivos.

Los modelos de simulación de cultivos son especialmente útiles para realizar balances hídricos a nivel de cuenca ya que permiten analizar la evolución de los cultivos y de sus necesidades hídricas en grandes superficies de terreno.

En la zona regable de La Violada (Huesca) se llevan realizando balances hídricos a nivel de cuenca desde hace tiempo (Barros *et al.*, 2012; Jiménez-Aguirre & Isidoro, 2018) y, además, se han aplicado modelos hidrológicos para explicar el movimiento de agua y nutrientes en la cuenca, que necesitan modelizar el desarrollo de los cultivos (Malik *et al.* 2020). El cambio hidrológico más importante en esta cuenca ha sido la transformación de sus sistema de regadío, pasando de riego en superficie a riego por aspersión con mucha mayor frecuencia.

Es esperable que esos cambios en el perfil de humedad del suelo se traduzcan en un distinto desarrollo del sistema radicular, por lo que se realiza este trabajo con el objetivo de conocer la distribución del sistema radicular de los cuatro cultivos dominantes (cebada, maíz, alfalfa y guisante) en dos suelos distintos de la zona regable de La Violada.

Material y métodos

Se trabajó en la zona regable de La Violada (Huesca, España) durante el año 2021, que dispone de un mapa de suelos

a nivel de detalle (Jiménez-Aguirre *et al.*, 2018a) y en la que se controló el desarrollo de la fenología de los cultivos principales en parcelas para calibrar y validar un modelo de cultivo.

Se ha cuantificado el sistema radicular en 4 cultivos y en dos tipos de suelos distintos según se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1 – Distribución de los muestreos de sistema radicular por cultivos y tipos de suelo (Jiménez-Aguirre *et al.*, 2018a).

Cultivo	Unidad de suelo	Unidad hidrológica
Cebada	Calcixeruptípico, franco gruesa	I Glacis
	Haploxeruptípico, gipsico, limoso fina	II Fondos de valle con yeso
Maíz	Xerofluenttípico, limoso fina	III Fondos de valle sin yeso
Alfalfa	Xerofluenttípico, limoso fina	III Fondos de valle sin yeso
Guisante	Haploxeruptípico, gipsico, franco fina	II Fondos de valle sin yeso

El método de cuantificación del sistema radicular ha sido extracción mediante cilindro de volumen conocido (100 cm^3) a distintas profundidades, hasta la observación visual de raíces. Se extrae la muestra de los cilindros y se lava sobre un tamiz de $500\mu\text{m}$ y se seca y pesa la muestra en estufa. Posteriormente, siguiendo la metodología de (Chirinda *et al.*, 2012) se calcina a 550°C .

Los resultados se expresan en peso de raíces por unidad de superficie en todo el perfil del suelo y peso de raíces por unidad de volumen en cada tramo de profundidad. Posteriormente, se realiza un ANOVA de uno o dos factores con el paquete estadístico SPSS.

Resultados y discusión

Respecto a la cantidad de raíces expresada en g dm^{-3} , el análisis de varianza de dos factores (cultivo y profundidad) muestra diferencias significativas por la profundidad ($p=0,0006$) y por su interacción con el cultivo ($p=0,0132$). La disminución de las raíces en profundidad es gradual hasta 20 cm y

significativamente inferior hasta 40 cm. Estas variaciones en profundidad son muy marcadas para el cultivo de alfalfa; para maíz y guisante la disminución es más gradual y para la cebada es más irregular (Tabla 2).

Tabla 2 – Cantidad de raíces, valores medios en tramos de 10 cm expresadas en g dm⁻³. Valores medios y desviación estandar.

Cultivo	Profundidad			
	5 cm	15 cm	25 cm	35 cm
Cebada	12,65 ±7,22	21,51 ±17,84	3,95 ±4,28	6,57 ±11,88
Maíz	15,45 ±1,87	6,42 ±0,45	4,35 ±0,54	0,38 ±0,05
Alfalfa	36,05 ±29,93	1,51 ±1,73	0,42 ±0,53	0,24 ±0,18
Guisante	6,25 ±5,97	1,93 ±2,12	1,49 ±2,48	1,54 ±2,86
MEDIA	15,69 a ± 15.90	11,08 ab ±14,55	2,88 b ± 3,40	3,56 b ±8,43

Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes con P<0,05

También se analizó el peso de raíces en cada tramo de profundidad en relación a la cantidad total de raíces (Tabla 3). De nuevo se encuentran diferencias significativas respecto a la profundidad (p<0,0001) y por su interacción con el cultivo (p=0,0428).

Tabla 3 – Porcentaje de raíces para cada cultivo en tramos de 10 cm. Valores medios y desviación estandar.

Cultivo	Profundidad			
	5 cm	15 cm	25 cm	35 cm
Cebada	28,31 ±16,17	48,14 ±39,93	8,85 ±9,59	14,70 ±26,59
Maíz	58,09 ±7,05	24,14 ±1,69	16,35 ±1,69	1,44 ±0,19
Alfalfa	94,32 ±78,32	3,94 ±4,50	1,09 ±1,34	0,64 ±0,48
Guisante	55,73 ±53,24	17,25 ±18,92	13,28 ±22,15	13,75 ±26,41
MEDIA	49,64 a ± 45,65	30,30 ab ±31,24	10,00 b ± 12,86	10,80 b ±22,13

Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes con P<0,05.

Aunque la mayor parte de trabajos sobre sistemas radiculares expresan los resultados en número de raíces por unidad de superficie (Chilundo *et al.*,

2017), la distribución en profundidad sigue el mismo patrón que el encontrado en nuestro trabajo. La misma distribución ha sido encontrada por Otto *et al.* (2009), cuantificando las raíces en peso.

También se ha realizado un análisis de varianza para el contenido de raíces según la zona hidrológica (Jiménez-Aguirre *et al.*, 2018b) aunque no se han detectado diferencias significativas (p=0,4324). Los valores medios y las desviaciones estándar se muestran en el Tabla 4 y es destacable las altas desviaciones estándar de las medias que enmascaran las posibles diferencias. Es necesario resaltar que la unidad I Glacis es la que muestra un comportamiento hidrológico más diferenciado por su textura más gruesa y presencia de elementos gruesos, sin embargo en esta unidad solamente se ha cuantificado el sistema radicular del cultivo de cebada.

Tabla 4 – Cantidad de raíces, valores medios en tramos de 10 cm expresadas en g dm⁻³ por zonas hidrológicas.

Zona hidrológica	Raíces (g dm ⁻³)	Desv. estándar
I Glacis	11,81	15,39
II Fondos de valle con yeso	7,25	8,82
III Fondos de valle sin yeso	10,95	17,75

Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes con P<0,05.

Finalmente se ha cuantificado la cantidad de raíces en todo el perfil del suelo y se ha expresado en g m⁻² en el Cuadro 5. Para el cultivo de cebada se ha diferenciado las muestras de la zona hidrológica I (Glacis) y la II (Fondos de Valle con yeso). El análisis de varianza ha mostrado diferencias significativas (p<0,0001) por el tipo de cultivo.

Tabla 5 – Cantidad de raíces, valores medios en el conjunto del perfil expresadas en g m⁻².

Cultivo	Raíces (g/m ²)	Desv. estándar
Cebada (zona hidrológica 1)	2330,84 a	495,66
Cebada (zona hidrológica 2)	1973,51 a	310,01
Maíz	1344,09 b	97,50
Alfalfa	643,21 c	406,42
Guisante	616,29 c	157,71

Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes con P<0,05.

Los cultivos de cereales han mostrado sistemas radiculares muy densos en los primeros 40 cm, mientras que las especies leguminosas han dado valores menores. En el trabajo de recopilación realizado por Hu *et al.* (2018) también revelan una mayor cantidad de raíces en los cultivos de cereales.

Conclusiones

Aunque no se encontró efecto de la unidad hidrológica en el desarrollo del sistema radicular, únicamente la cebada tiene una cantidad considerable de raíces a partir de 30 cm.

En cultivos regados por aspersión no se ha detectado visualmente presencia de raíces por debajo de 40 cm.

Los cultivos de cereales en regadío por aspersión producen elevadas cantidades de raíces en los primeros centímetros del suelo debido a la aplicación de dosis de riego pequeñas con una frecuencia alta.

Las leguminosas en suelos de textura fina y bajo riego por aspersión de alta frecuencia, desarrollan su sistema radicular principalmente en los primeros 20 cm de suelo.

El método de muestreo de raíces con cilindros y lavado posterior tiene limitaciones tanto para el propio muestreo como para el lavado en texturas finas. Se recomienda utilizar métodos alternativos para la cuantificación del sistema radicular.

Agradecimientos

Este trabajo es parte del proyecto de I+D+i RTI2018-100987-R-I00 (Estudio de las vías de movimiento de nutrientes en sistemas de regadío para su sostenibilidad medioambiental) financiado por AEI (10.13039/501100011033) y "FEDER Una manera de hacer Europa".

Referencias bibliográficas

- Barros, R., Isidoro, D. & Aragüés,R. (2012). Irrigation management, nitrogen fertilization and nitrogen losses in the return flows of La Violada irrigation district (Spain). Agriculture, Ecosystems & Environment, 155, 161-171 doi.org/10.1016/j.agee.2012.04.004.
- Chilundo,M., Joelb, A., Wesströmb, I., Brito, R. & Messin, I. (2017). Response of maize root growth to irrigation and nitrogen management strategies in semi-arid loamy sandy soil. Field Crops Research, 200, 143–162 http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2016.10.005
- Chirinda, N., Olesen, J.E., Porter, J.R. (2012). Root carbon input in organic and inorganicfertilizer-based systems. Plant Soil. 359, 321–333.
- Hu, T., Sørensen, P., Wahlströma, E.M., Chirinda, N., Sharifa, B., Lia, X. & Olesena, J.E. (2018). Root biomass in cereals, catch crops and weeds can be reliably estimated without considering aboveground biomass. Agriculture, Ecosystems and Environment, 251, 141–148. http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.09.024
- Jiménez-Aguirre, MT. & Isidoro, D. (2018).Hydrosaline Balance and Nitrogen Loads from an irrigation district before and after modernization. Agricultural Water Management, 208,163-175 doi.org/10.1016/j.agwat.2018.06.008.
- Jiménez-Aguirre, MT., Isidoro,D. & Usón, A. (2018)a Soil variability in La Violada Irrigation District (Spain): II Characterizing hydrologic and salinity features. Geoderma, 311, 67-77 doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.04.024.
- Jiménez-Aguirre, MT., Isidoro, D., & Usón,A. (2018)b. Soil variability in La Violada Irrigation District (Spain): I Delineating soil units for irrigation. Geoderma, 311, 78-90, doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.04.025.
- Malik,W., Jiménez-Aguirre, MT., & Dechmi, F. (2020). Coupled DSSAT-SWAT models to reduce off-site N pollution in Mediterranean irrigated watershed, Science of The Total Environment, 745, 141000, doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141000.
- Duarte, Otto. A.R., Ocheuze-Trivelin, P.C., Junqueira-Franco, H.C., Faroni, C.E. & Vitti, A.C. (2009) Root system distribution of sugar cane as related to nitrogen fertilization,evaluated by two methods: monolith and probes. R. Bras. Ci. Solo, 33, 601-611

Cartografía digital de propiedades edáficas superficiales en las zonas agrícolas de El Órbigo y La Cepeda (León, NO España)

Digital Soil Mapping of surface soil properties in El Órbigo and La Cepeda agricultural areas (León, NW Spain)

Rodríguez-Fernández, Judit¹, Ferrer-Juliá, Montserrat¹ y Alcalde-Aparicio, Sara^{2*}

¹ Área de Geodinámica externa, Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, Campus de Vegaazana, Universidad de León 24071, España

²Área de Edafología y química agrícola, Escuela de Ingeniería Agraria y Forestal (EIAF), Avda. Portugal, 41, Universidad de León, 24071, España,

*salca@unileon.es

Resumen

La escasez de información edafológica y cartografía tradicional ha desembocado en la búsqueda de nuevas técnicas que permitan solucionar esta problemática, de forma que se pueda obtener una cobertura completa y homogénea de la superficie. El objetivo principal de este trabajo es la elaboración de una cartografía de propiedades edáficas de interés como son materia orgánica, arena, limo y arcilla del suelo a través de la aplicación de la metodología *Digital Soil Mapping* en el área de Benavides de Órbigo (León). Para ello, se seleccionaron 75 muestreos de suelo ya existentes y distintas covariables ambientales relacionadas con los factores formadores del suelo. Con estas se llevó a cabo el análisis estadístico mediante la combinación de la regresión lineal múltiple y modelos lineales generalizados para obtener el mejor modelo de predicción para cada variable estudiada, además de los residuos generados por el modelo y la estimación del error. De todas las variables, el mejor valor de ajuste $R^2=0,55$ y el error más bajo 2,145 se obtuvo con la materia orgánica, mientras que arena, limo y arcilla obtuvieron unos ajustes más limitados (0,368, 0,459 y 0,426, respectivamente). Por todo ello, se llegó a la conclusión de que, aunque el método es aplicable y útil, presenta todavía grandes limitaciones, por lo que es importante incidir en la búsqueda de soluciones que permitan obtener mejoras sustanciales en los resultados obtenidos.

Palabras clave: cartografía digital edáfica, covariables ambientales, geoestadística, *scorpan*, modelos de predicción.

Abstract

The lack of soil information and soil maps has led into a search for new techniques to solve this problem, so that a complete and homogeneous coverage of the surface can be obtained. The main objective of this study is the mapping of edaphic properties of interest such as organic matter, sand, silt and clay through the application of the Digital Soil Mapping methodology in the area of Benavides de Órbigo (León). For this purpose, 75 existing soil sampling data and different environmental covariates related to soil-forming factors were selected. The statistical analysis was carried out through the combination of multiple linear regression and generalized linear models to obtain the best prediction model for each variable, in addition to the residuals generated by the model and the error estimation. Among all the variables, the best $R^2=0.55$ fitting value and the lowest error 2.145 was obtained for organic matter; while sand, silt and clay reached more limited fitting values (0.368, 0.459 and 0.426, respectively). For this reason, it was concluded that, although the method is widely applicable and useful, it still has great limitations, so it is quite important to point out the search for solutions that allow to obtain considerable improvements in the results.

Keywords: soil mapping, environmental covariates, geostatistics, *scorpan*, prediction models.

Introducción

El modelo scorpan (McBratney *et al.*, 2003; Lagacherie & McBratney, 2006; Minasny & McBratney, 2016) como base para la Cartografía Digital de Suelos (Digital Soil Mapping o DSM), considera que, a partir de la integración de distintos factores formadores del suelo en una función, se pueden predecir las clases de suelo (S_c) o los atributos (S_a). Estos factores comprenden el propio suelo (s), el clima (c), los organismos (o), el relieve o topografía (r), el material parental (p), la edad (a) y la posición espacial (n). Cada uno de estos factores se define a partir de distintas covariables ambientales. De esta forma, en cada ubicación donde se dispone de datos de perfiles de suelo, por un lado, se obtienen los valores de las propiedades edáficas y, por otro, se estima los valores de cada una de las covariables ambientales seleccionadas para el estudio. Todo ello permite la realización de una regresión lineal múltiple, con el objetivo de modelizar las relaciones entre la variable dependiente y las distintas covariables en los puntos de muestreo, y usar esas relaciones para estimar los valores en lugares sin muestrear (Hengl *et al.*, 2007). En España, la aplicación de este tipo de metodologías que se incluyen en el DSM es todavía muy limitada y se ha aplicado principalmente para estimar la distribución del carbono orgánico del suelo, y menos frecuente, en otras propiedades del suelo como la textura. En el presente estudio, se propone estimar (S_a) los porcentajes de materia orgánica del suelo. En cuanto a los factores formadores del suelo se han seleccionado el clima (c), la vegetación (o), la topografía (r) y el material parental (p).

Área de estudio

El área de estudio se corresponde con una extensión aproximada de 530 km² en el área de Benavides de Órbigo, en el noroeste de la Península Ibérica (Figura 1), caracterizada por un clima continental templado. Se distinguen relieves paleozoicos situados al oeste y norte constituidos por pizarras, areniscas y cuarcitas. Se encuentran principalmente en estas formaciones de la zona de relieves en pendiente asociaciones de Regosoles

lépticos/Umbrisoles hámicos y Leptosoles úmbricos con inclusiones de Leptosoles líticos (Alonso Herrero *et al.*, 2010). El resto de la zona está formada por materiales silíceos asociados a conglomerados, arenas, limos y arcillas del Mioceno y del Cuaternario. Las asociaciones de Umbrisoles húmicos/Regosoles dísticos junto con Cambisoles crómicos se encuentran en las zonas de laderas y vertientes. En la zona centro y noreste, en las terrazas medias y altas, dominan los Acrisoles úmbricos y abruéticos con inclusiones de Acrisoles profónicos y gléicos. Destacan asociaciones de Cambisoles eútricos y dísticos en zonas de terrazas bajas, junto con Fluvisoles y Regosoles dísticos, cerca de los cursos fluviales (Alonso Herrero *et al.*, 2010).

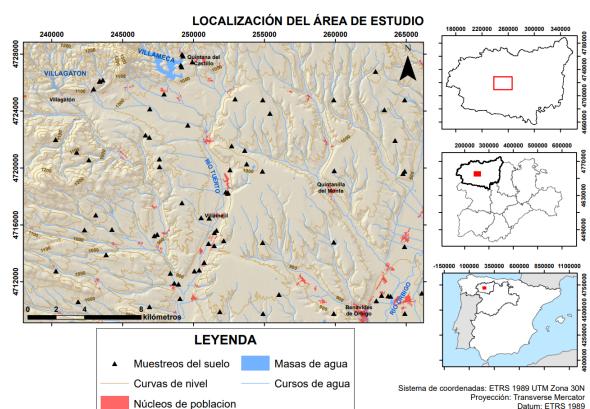


Figura 1. Localización del área de estudio.

Material y métodos

Las fuentes de datos y los materiales utilizados para estimar las covariables de clima, vegetación, topografía y material parental siguiendo el método propuesto, se explican a continuación.

- 45 muestreos de los primeros 25-30 cm de suelo pertenecientes a la Base de Datos de los Suelos de Castilla y León (ITACyL, 2012) con datos de % materia orgánica, arcilla, limo y arena.

- 30 perfiles realizados para el Plan Piloto del Mapa de suelos de la Provincia de León (Alonso Herrero *et al.*, 2010), de los que se ha seleccionado solo los datos del horizonte A: el valor único para dichos horizontes se estimó como media ponderada en función de la profundidad de cada subhorizonte A.

- Modelo de Elevación Digital (MED) del Centro Nacional de Información Geográfica (CNIG, 2014), con una resolución espacial de 25m x 25m para la estimación de todas las variables topográficas: altitud (m), pendiente (grados), orientación (radianes) e índice topográfico de humedad (TWI).
- Los datos climáticos se estimaron a partir de los mapas ráster (500x500m) derivados del modelo de simulación SIMPA (MITECO, 2019), obteniendo la precipitación media anual (mm), la temperatura media anual (°C) y la evapotranspiración potencial media anual (mm) del período hidrológico 1940/1-2017/8; excepto la radiación solar anual derivada a partir del MED.
- 35 imágenes del satélite Sentinel2 de junio-septiembre 2017 y octubre-mayo de 2018 de la Agencia Espacial Europea (ESA, 2018) con las que se estimó el valor del Índice de Vegetación Normalizado (NDVI) mínimo, máximo y promedio para el período seco (junio, julio, agosto y septiembre) y el período húmedo (resto meses), después de analizar la evolución pluviométrica en el periodo simulado por el modelo SIMPA.
- Cartografía de usos de suelo del Sistema de Información de Ocupación del Suelo de España (SIOSE) del año 2014 (escala 1:25k) que se reclasificó en cuatro clases: suelo desnudo, agrícola-prado-pastizal, matorral y bosque. Al ser esta covariable de tipo categórico, se transformó cada clase a una variable numérica ordinal.
- Cartografía geológica continua del proyecto GODE escala 1:50k del IGME (2008) para la extracción de la litología, que también se reclasificó para simplificar el número de clases litológicas en función del grado de consolidación, tamaño de grano y naturaleza litológica y se transformó a variable numérica ordinal.

Mediante operaciones de SIG se extrajo el valor de cada una de estas covariables para los 75 puntos con datos de % materia orgánica y se realizó un análisis estadístico para derivar el modelo correspondiente a DSM. Previamente, se dividió de manera aleatoria el número de puntos en dos grupos: 55 se utilizaron para calibrar el modelo y 20 para validar. En primer lugar, se realizó un análisis de las correlaciones

entre las distintas covariables de NDVI, para eliminar aquellas que mostrasen una dependencia lineal elevada (coeficiente de Pearson superior a 0,65, $p<0,01$). Con todas covariables resultantes (tanto de NDVI como del resto de factores) se estimaron diversas regresiones lineales múltiples (MLR) siguiendo el método de “eliminación hacia atrás”. De todos los modelos resultantes, se seleccionaron dos que presentasen un valor de R^2 adecuado teniendo en cuenta su valor de significancia y el número de covariables menor posible. Tras esta selección, se estimaron modelos lineales generalizados (GLM) utilizando las covariables que representaban cada uno de los modelos seleccionados, obteniéndose un valor del Criterio de Información de Akaike (AIC), el cual permite evaluar la idoneidad de un modelo estadístico concreto en comparación con otros modelos. Posteriormente, se seleccionó aquel modelo que menor valor de AIC presentaba o, en caso de que presentasen índices similares, se seleccionó el que menos covariables contenía. Se validaron los resultados comparando en los 20 puntos seleccionados para validación el valor predicho (estimado) con el valor real (medido), mediante la estimación del error cuadrático medio. Finalmente, la interpolación espacial de los residuos se realizó siguiendo el método del inverso de la distancia (IDW) y se aplicó la ecuación del modelo.

Resultados y discusión

Tras la realización de la MLR, se seleccionaron los modelos *d* y *g*, con valores de R^2 de 0,552 y 0,543, respectivamente y, tras el análisis GLM se seleccionó el modelo *g*, al tener ambos modelos el mismo AIC y ser este el que menos covariables considera (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de la MLR y del GLM.

Modelo	R^2	AIC	Sig.
<i>d</i>	0,552	260,586	0,000
<i>g</i>	0,543	260,586	0,000

A su vez, analizando el RMSE, el valor es similar para los muestreros de calibración

como para los de validación, así como para el conjunto total de los datos (Tabla 2).

Tabla 2. RMSE obtenido para los muestreos de calibración, los de validación y totales.

Error (RMSE)		
55 muestreos	20 muestreos	75 muestreos
2,130	2,186	2,145

Estos resultados son mejores que los obtenidos por otros autores, que presentaban un R^2 menor y RMSE mayor. Comparando los valores medidos con los estimados para ambos conjuntos de datos, se observa que no existe una gran diferencia entre ambos (Figura 2).

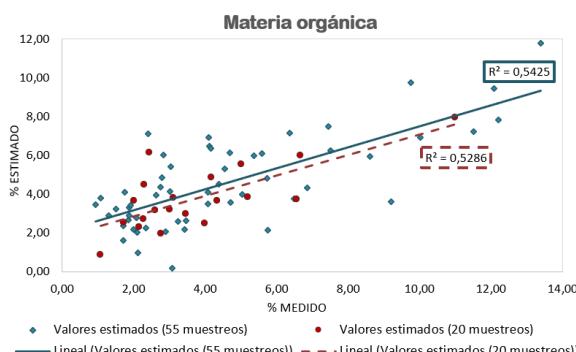


Figura 2. Valores medios estimados y observados para la variable de materia orgánica.

En cuanto al análisis geoestadístico, los residuos de la materia orgánica muestran una ligera sobreestimación en el centro y noreste del área de estudio, mientras que se subestiman, principalmente, al sur y oeste (Figura 3).

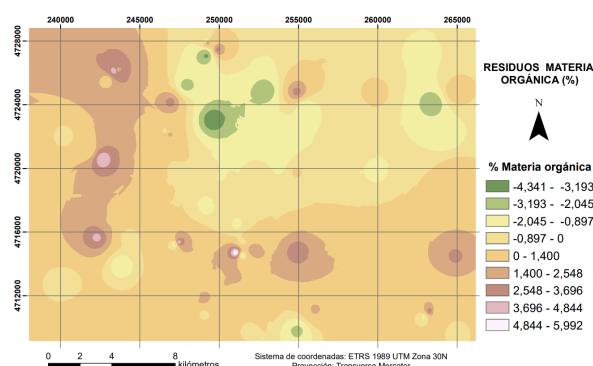


Figura 3. Interpolación de los residuos de materia orgánica.

Como resultado final, los mayores porcentajes de materia orgánica se encuentran al norte de la zona siendo más elevados al noroeste (Figura 4).

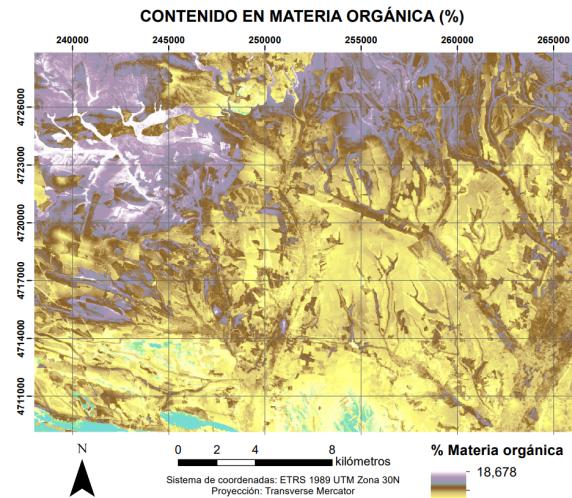


Figura 4. Distribución espacial de la materia orgánica (%) en la zona con los resultados del modelo.

Conclusiones

1) Los resultados obtenidos son mejorables, pues se han hallado valores de R^2 bastante bajos. Se debe revisar el origen de los muestreos con el fin de ver la afección a los resultados. 2) No hay grandes diferencias entre el grupo de calibración y validación, por lo que se corrobora la utilidad de la segmentación del conjunto de datos. 3) El muestreo de la cartografía convencional edáfica sigue siendo necesario, pues es un elemento clave para reducir los errores. 4) El método del DSM presenta aún grandes limitaciones a pesar de su gran aplicabilidad.

Agradecimientos

Investigación financiada por FEDER/Ministerios de Ciencia e Innovación-Agencia Estatal de Investigación/ Proyecto ESP2017-89045-R

Referencias bibliográficas

- Alonso Herrero, E. & vvaa (2010) *Plan Piloto del Mapa de Suelos de la Provincia de León*. E1:50k. Memoria Hoja160 (Benavides). Universidad de León.
- Hengl, T., Heuvelink, G.B. & Rossiter, D.G. (2007) About regression-kriging: From equations to case studies. *Computers & geosciences*, 33(10),1301-15. <https://doi.org/10.1016/j.cageo.2007.05.001>
- Lagacherie, P. & McBratney, A.B. (2006) Spatial soil information systems and spatial soil inference systems: perspectives for digital soil mapping. *Developments in soil science*, 31, 3-22. [https://doi.org/10.1016/S0166-2481\(06\)31001-X](https://doi.org/10.1016/S0166-2481(06)31001-X)
- McBratney, A. B., Santos, M. M. & Minasny, B. (2003) On digital soil mapping. *Geoderma*, 117(1-2), 3-52. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(03\)00223-4](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(03)00223-4)
- Minasny, B. & McBratney, A. B. (2016) Digital soil mapping: A brief history and some lessons. *Geoderma*, 264,301-311. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.07.017>

Mineralogía de la tierra fina y las arcillas en una secuencia de paleosuelos en la isla de Mallorca

Forss, Antoni*, Vadell, Jaume

Departament de Biologia, Universitat de les Illes Balears; Ctra. Valldemossa km 7,5; 07122 Palma

*antonioforss@uib.es

Resumen

Se estudia una secuencia de paleosuelos superpuestos desarrollados en el Cuaternario. Se han diferenciado 18 horizontes a lo largo del perfil del suelo con una profundidad de 12,5 m. Para cada horizonte se ha cuantificado el contenido mineral de la tierra fina (< 2 mm) y los minerales de arcilla correspondientes a la fracción $<0,002$ mm. Los filosilicatos constituyen los minerales mayoritarios de estos horizontes. Los carbonatos de calcio son también muy abundantes, pero con importantes diferencias entre horizontes desde horizontes decarbonatados a otros en que constituyen la fracción mayoritaria. El cuarzo, los feldespatos potásicos y las plagioclásas son otros componentes comunes. Las illitas constituyen el mineral de arcilla más común, presentándose en forma pura y formando interestratificados con esmectitas. Las cloritas y caolinitas son otras especies de arcillas presentes en todos los horizontes. La composición mineral del conjunto de horizontes de estos paleosuelos pone de manifiesto un origen común de los materiales que los constituyen.

Palabras clave: suelos mediterráneos, Luvisol, Calcisol, illitas, interestratificados illita-esmectita.

Abstract

Mineralogy of fine earth and clays in a paleosol sequence on the island of Mallorca. A sequence of overlapping paleosols developed in the Quaternary is studied. Along a soil profile of 12.5 m have been differentiated eighteen horizons. For each horizon, the mineral content of the fine earth (< 2 mm) and the clay minerals corresponding to the <0.002 mm fraction have been quantified. The most common minerals of these horizons are phyllosilicates. Calcium carbonates are also very abundant, but with important differences between horizons, from decarbonated ones to others in which carbonates constitute the main fraction. Quartz, K-feldspars and plagioclases are other common components. Illites are the most common clay mineral, occurring in pure form and forming interstratified illite-smectite mixtures. Chlorites and kaolinites are other clay species present in all horizons. The mineral composition of the whole of horizons of these paleosols reveals a common origin of the materials that constitute them.

Keywords: Mediterranean soils, Luvisol, Calcisol, illites, interstratified illite-smectite.

Introducción

Los paleosuelos constituyen registros que integran la interacción de los factores formadores, en los que el material originario y el clima son especialmente relevantes. A partir de la caracterización edafológica se pueden inferir las condiciones edafoclimáticas que han intervenido.

Bajo las condiciones climáticas mediterráneas, partiendo de materiales calcáreos y con alto contenido en minerales de arcilla, la movilización de los carbonatos, mayoritariamente de calcio, y la iluviación de arcillas en suelos descarbonatados constituyen los rasgos más comunes. La movilización de los carbonatos se manifiesta a través de los procesos de descarbonatación en los horizontes eluviales y la acumulación en los horizontes iluviales en forma de acumulaciones de carbonatos que pueden adquirir diferentes morfologías (Alonso-Zarza & Wright, 2010). Por otra parte, como proceso contiguo a la descarbonatación se facilita el arrastre de arcillas, depositándose en horizontes de acumulación.

En procesos acumulativos donde se superponen materiales de diferente edad y grado de evolución, además de los rasgos comentados, la composición mineral es un indicador de los procesos de alteración que han intervenido (Fedoroff & Courty, 2013).

En el presente trabajo se estudia la composición mineral de la tierra fina y de las arcillas de 18 horizontes correspondientes a una secuencia de paleosuelos constituidos por Luvisoles y Calcisoles.

Material y métodos

El perfil está localizado en el cuadrante occidental de la isla de Mallorca (ETRS89 31N; 481506 E, 4382408 N), en la periferia del Pla de Sant Jordi, llanura que limita con la Bahía de Palma. Se localiza a una cota de 29 m s.n.m., en un terreno

que define una ligera vaguada que limita los procesos erosivos. El perfil tiene una profundidad de 12,5 m, siendo el resultado de una excavación de una cantera para la extracción de tierra para el acondicionamiento de ajardinamientos de un campo de golf contiguo.

El material litológico basal está constituido por calcarenitas bioclásticas del Plioceno superior con superposiciones de materiales cuaternarios constituidos por limos, arcillas y gravas.

Para el análisis de difracción de rayos X (DRX) se ha usado un difractómetro Siemens (Bruker) D5000. La mineralogía global de la fracción de tierra fina (< 2 mm) se han preparado muestras de polvo orientadas al azar. La identificación de las fases minerales se ha obtenido mediante el software EVA, y la cuantificación de las se ha llevado a cabo mediante el método de los poderes reflectantes, a partir de una modificación del método propuesto por Schultz (1964). La determinación de los minerales de arcilla se realizó a partir de agregados orientados de acuerdo con el método definido por Moore & Reynolds (1997). La cuantificación se ha realizado mediante el programa informático NEWMOD2 (Mertens et al., 2016).

Resultados y discusión

Mineralogía de la tierra fina

En la Tabla 1 se indican los contenidos minerales de la tierra fina (<2 mm) y de las arcillas (<0,002 mm). La cuantificación de la tierra fina se realiza sobre tierra fina pulverizada, mientras que la cuantificación de los minerales de arcilla se realiza a partir de agregados orientados sometidos a distintos tratamientos. En estos resultados no se han incluido dos horizontes petrocálcicos (Bkm) hipercálcicos correspondientes a las profundidades entre 220-240 cm y 535-560 cm.

Globalmente, los filosilicatos y la calcita constituyen los dos componentes mayoritarios. Los contenidos en

carbonatos (calcita + aragonito) son contrastados desde horizontes completamente descarbonatados a otros de acumulación (cálcicos). La forma mayoritaria es la calcita, pero en algunos horizontes se detectan contenidos significativos de aragonito, forma mineral presente en conchas de gasterópodos y foraminíferos (Betzler *et al.*, 2011) procedentes de sistemas dunares próximos.

El contenido en cuarzo no muestra una diferenciación clara a lo largo de los

distintos horizontes. Presentan contenidos elevados los dos horizontes superiores (0-45 cm) mientras que en el resto del perfil son comunes los contenidos entre el 5% y el 10%. Feldespatos y plagioclásas presentan valores bajos, entre el 1 y el 3%. Únicamente el horizonte superior (capa arable) presenta un contenido claramente diferenciado: a los altos contenidos de cuarzo se une un contenido en feldespatos también elevado (7,6%).

Tabla 1: Composición mineral de la tierra fina (<2 mm) realizada mediante DRX y distribución de los minerales de arcilla presentes en la fracción de <0,002 mm determinada sobre agregados orientados siguiendo, también, la técnica de DRX. Qz: cuarzo; Fil: filosilicatos; Fdk: feldespatos-K; Plg: plagioclásas; Cc: calcita; Arg: aragonito, Ilt: illita; IS R3 (0,95): Interestratificado de illita-esmectita dispuestas de una forma regular, IS R0 (0,60): Interestratificado de illita-esmectita dispuestas de forma desordenada con una proporción illita:esmectita 60:40. Chl: clorita; Kln: caolinita; Para cada una de las fracciones (<2 mm y <0,002 mm), los contenidos minerales están expresados en g/kg.

Hor.	Prof. (cm)	fracción <2 mm.						fracción <0,002 mm.				
		Qz	Fil	Fdk	Plg	Cc	Arg	Ilt	IS R3	IS R0	Chl	Kln
Ap	0-25	243	517	76	27	137	0	392	342	101	76	89
Bw	25-45	139	638	27	27	164	6	482	277	72	72	96
C	45-85	90	308	6	11	578	7	278	496	78	70	78
2Bkc	85-125	86	683	13	26	179	13	412	359	46	92	92
2Bkc2	125-145	98	481	25	30	348	18	409	348	61	91	91
2Bkc3	145-180	90	457	7	13	428	5	447	326	57	75	95
3Btkc	180-220	82	843	7	18	48	2	417	358	67	67	92
3Bkc	240-290	56	317	10	14	594	9	383	346	113	68	90
3Bkc2	290-425	62	649	10	16	260	3	408	367	50	75	100
4Btkc	425-500	96	881	10	13	0	0	420	366	110	45	98
4Bkc	500-535	25	327	3	5	640	0	360	324	173	58	86
5Bkc	560-690	40	505	10	14	429	2	376	350	129	52	92
5Bkc2	690-720	54	507	3	14	420	2	380	352	121	63	83
5C	720-800	85	335	6	24	550	0	371	346	134	64	86
6Btkc1	800-880	98	859	16	27	0	0	412	308	130	61	99
6Btkc2	880-970	50	837	6	33	69	6	364	303	182	61	91
6Btkc3	970-1170	70	914	6	10	0	0	376	341	141	24	118
7Bt	1170-1250	95	867	23	15	0	0	377	358	113	19	132

Mineralogía de las arcillas

Las illitas constituyen la especie mayoritaria, tanto en formas puras como interestratificadas con esmectitas y en distintos grados de ordenación (IS R0 y

R3). Se caracterizan por un alto grado de cristalinidad, indicador de un proceso de formación original en condiciones de enterramiento profundo con elevada presión y temperatura, en un proceso de illitización (Meunier, 2005). Las formas interestratificadas R3 presentan un

ordenamiento regular con una proporción de esmectita inferior al 5% y R0 con una ordenación al azar y una proporción de esmectita de alrededor del 40%.

La clorita tiene presencia en todos los horizontes, con contenidos entre el 2 y el 9%. Es en los horizontes inferiores, más antiguos que presenta los contenidos más bajos (Tabla 1). La distribución de las intensidades de las reflexiones a distintos ángulos sugiere un alto contenido de hierro propio del clinocloro (Moore & Reynolds, 1997). La génesis de la clorita también podría formar parte de la secuencia diagenética de formación de interestratificados illita/esmectita (R3), anteriormente mencionado, como uno de los productos obtenidos pudiéndose considerar, también, un mineral heredado.

Otro mineral común es la caolinita, con una presencia regular a lo largo de todo el perfil. Este mineral puede tener un origen diagenético como resultado de la meteorización de feldespatos potásicos, o de otras transformaciones indicando suelos antiguos (Andreucci et al., 2012). Por otra parte, el polvo proveniente del Sahara en diferentes períodos del cuaternario también puede haber contribuido a su presencia, como se observa en muchas áreas de la cuenca del Mediterráneo (Muhs et al., 2010).

Conclusiones

La calcita y los filosilicatos constituyen las formas minerales dominantes a lo largo de todo el perfil, presentando entre sí, una correlación negativa altamente significativa ($R^2= 0,92$), lo que sugiere un origen común de estos materiales y donde los carbonatos de calcio modifican los contenidos relativos de estos minerales debido a sus movimientos.

Las illitas constituyen la forma dominante, siendo la presencia de esmectitas importante pero, en todos los casos, en formas interestratificadas con illitas, sin que manifiesten los típicos desplazamientos expansivos de las especies puras.

Las cloritas y caolinitas presentan, también, contenidos muy similares a lo

largo de todo el perfil, con un ligero cambio en los horizontes más antiguos disminuyendo ligeramente el contenido en cloritas y aumentando la presencia de caolinitas.

Las proporciones en que se encuentran las diferentes formas de arcillas constituyen, también, un argumento en favor del origen común de estos materiales.

Bibliografía

- Alonso-Zarza, A. M., & Wright, V. P. (2010). Calcretes. *Developments in sedimentology*, 61, 225-267.
- Andreucci, S., Bateman, M. D., Zucca, C., Kapur, S., Akşit, I., Dunajko, A., & Pascucci, V. (2012). Evidence of Saharan dust in upper Pleistocene reworked palaeosols of North-west Sardinia, Italy: palaeoenvironmental implications. *Sedimentology*, 59(3), 917-938.
- Betzler, C., Braga, J. C., Jaramillo-Vogel, D., Roemer, M., Huebscher, C., Schmiedl, G., & Lindhorst, S. (2011). Late Pleistocene and Holocene cool-water carbonates of the Western Mediterranean Sea. *Sedimentology*, 58, 643-669.
- Fedoroff, N., & Courty, M. A. (2013). Revisiting the genesis of red Mediterranean soils. *Turkish Journal of Earth Sciences*, 22(3), 359-375.
- Mertens, G., Reynolds III, R. R., & Adriaens, R. R. (2016). NEWMOD-2 A Computer Program for Qualitative and Quantitative 1-D X-ray Diffraction Pattern Modeling. In *Fifth EAGE Shale Workshop* (Vol. 2016, No. 1, pp. 1-3). European Association of Geoscientists & Engineers.
- Meunier, A. (2005). *Clays*. Springer Science & Business Media.
- Moore, D. M., & Reynolds, R. C. (1997). *X-ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals*. Oxford University Press. 2. ed. 378 pp.
- Muhs, D. R., Budahn, J., Avila, A., Skipp, G., Freeman, J., & Patterson, D. (2010). The role of African dust in the formation of Quaternary soils on Mallorca, Spain and implications for the genesis of Red Mediterranean soils. *Quaternary Science Reviews*, 29(19-20), 2518-2543.
- Schultz, L. G. (1964) Quantitative interpretation of mineralogical composition from X-ray and chemical data for the Pierre Shale: U.S. Geol. Surv, 391-C, C1-C31.

The Iberian Montado/Dehesa in face of climate change: Soil effects (bulk density and hydraulic conductivity)

O Montado/Dehesa Ibérico face às alterações climáticas: Efeitos no solo (massa volémica aparente e condutividade hidráulica)

Bajouco, Rui^{1*}; Penedos, Cláudia¹; Velez, Jorge²; Velez, Sandra² and Alexandre, Carlos^{1,2}

¹ MED – Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development, University of Évora, Pólo da Mitra, Apartado 94, 7006-554 Évora, Portugal, *mbsl@uevora.pt

² Department of Geosciences, University of Évora, Largo dos Colegiais, nº 2, 7004-516 Évora, Portugal

Abstract

A sustainable management of the soil is an imperative for all land use systems. The LIFE Montado-Adapt project proposed to implement several soil conservation and protection practices, in order to fight landscape and climate change in the Montado/Dehesa Iberian agro-silvo-pastoral system. This work showcases an evaluation of the effect of some soil protection measures, such as soil reduction/zero tillage and improvement of the pastures, in 4 pilot areas of the project, on 2 soil physical parameters: soil hydraulic conductivity (k_s) and soil bulk density (BD). After 3 years, a k_s decrease was observed, 22% ($0.61 \text{ Log}_{10} k_s$), being more accentuated in areas with livestock cattle exist, reaching to 37% ($0.83 \text{ Log}_{10} k_s$). Contrary to k_s , BD increased in areas where livestock pasture occurs, between 12 and 4%, a consequence of livestock trampling. In areas where pastures do not occur, a decrease was observed, 3 and 4%, consequence of the no-tillage policy of soils, which promotes a better root development, accumulation of organic matter and soil aggregation. Even after 3 years, the soil conservation and protection practices seem to promote changes both k_s and BD of the soils.

Keywords: cattle traffic, soil compaction, under trees canopy, open field, sustainable soil management.

Resumo

A gestão sustentável do solo é um imperativo para todos os sistemas de uso do território. O projeto LIFE Montado-Adapt propôs-se a implementar medidas de conservação e proteção do solo, por forma a combater a alteração da paisagem e as alterações climáticas do sistema agro-silvo-pastoril Montado/Dehesa Ibérico. Neste trabalho avaliou-se o efeito de medidas de conservação do solo, como redução/não mobilização e a melhoria das pastagens, em 4 áreas piloto do projeto, sobre 2 características físicas do solo: Condutividade hidráulica do solo (k_s) e massa volémica aparente (MVA). Ao fim de 3 anos, observou-se a diminuição de k_s , na ordem dos 22% ($0.61 \text{ Log}_{10} k_s$), sendo mais acentuada nas áreas com gado de pastagens chegou aos 37% ($0.83 \text{ Log}_{10} k_s$). Ao contrário de k_s , a MVA aumentou nas áreas onde ocorre gado pastagens, entre 12 e 4%, sendo possível consequência do pisoteio do gado. Nas áreas onde não ocorrem pastagens, a diminuição, na ordem dos 3 e 4%, consequência da não mobilização dos solos, promovendo um maior enraizamento vegetal, acumulação de matéria orgânica e agregação do solo. As práticas de conservação e proteção do solo parecem promover alterações, ao fim de 3 anos tanto na k_s como na MVA.

Palavras-Chave: pisoteio do gado, compactação do solo, sob a copa das árvores, áreas abertas, gestão sustentável do solo.

Introduction

According to the European Environmental Agency, the agro-sylvopastoral Montado/Dehesa systems, are classified as High Nature Value Farming Systems (Paracchini, et al., 2008). Combining biodiversity and the pursue of farming on certain types of land and the conservation of regional farming systems (Berrahmouni & Regato, 2007), the Montado/Dehesa systems through agriculture and forestry are targets of public policies concerning the provision of goods supply (Pinto-Correia, et al., 2011). Over the last decades the Montado/Dehesa systems have faced several perturbations, such as intensification and/or extensification, that have led to the landscape change (Pinto-Correia, 1993) and served, both ways, as a menace to their ability for goods supply. Covering nearly 4 million ha of the southwestern Iberian Peninsula and being a system of high importance in the southern European region, due to its economic, social and environmental value; the conservation and management optimization are of great concern in an era of climate change and need of maximum optimization of goods production (Pinto-Correia, et al., 2011).

Measures for soil conservation and protection, aiming to fight the effects of climate change, such no/reduced-tillage and bio-diversification/improvement of pasture plants were applied in 12 pilot areas distributed between Alentejo (Portugal), Extremadura and Andalusia (Spain), and monitorized between 2018 and 2021 (EU-Life, 2016). The LIFE Montado-Adapt project aimed to “promote the adaptation of the Montado/Dehesa system in Portugal and Spain...to mitigate the consequences of climate change...” (LIFE Montado-Adapt, 2022), by evaluating the effects of such soil conservation practices regarding the soil carbon sequestration, promoting water infiltration and soil water retention.

This work presents an assessment of the changes of soil saturated hydraulic conductivity (k_s) and bulk density (BD), prior and after the soil conservation practices took place, between 2018 and 2021, in 4 of the project pilot areas.

Materials and Methods

Study sites

Pilot areas used in this work were (Life Montado-Adapt 2022): Dehesa of Guijo, Malpartida de Plasencia, Cáceres, Spain (n=6, L3); Dehesa of Boyal de la Piedra, Villasbuenas de Gata, Cáceres, Spain (n=6, L4); National Forest of Cabeção, Mora, Portugal (n=8, L8); Ribeira Abaixo, Santa Margarida da Serra, Grândola, Portugal (n=6, L12).

In the 4 showcased pilot areas, measures such reduced or no tillage, diversified plantation and improved pastures took place, as described by the LIFE Montado-Adapt (2022). In table 1 are presented some general characterization of the presented pilot areas.

Table 1. General conditions and characteristics of the presented pilot areas (LIFE Montado-Adapt, 2022).

pilot area	L3	L4	L8	L12
plot (ha)	6.15	3.8	3.2	4.08
cattle	+	+	-	-
Soil textural classe	Loam	Sandy-loam Loamy-sand	Sandy	Loam Silty-loam
Tree species		Quercus rotundifolia L. Quercus suber L.		

Soil sampling and analysis

Random sampling occurred in two moments the first between January-March of 2018 and the second between June and July of 2021. The soil sampling involved two strata: under the canopy of trees (UC) and open field (OF), outside the canopy influence. Each pilot area had six to eight sampling sites. In each site, two collection points were carried out along the N-S axes, about 1 m from the trunk under the tree canopy and about 2 m apart from each other in the

open field areas, with cylinders, of 100 cm³.

The cylinder samples were used to determine the soil bulk density, BD, (g cm⁻³) and the saturated hydraulic conductivity (CaCl₂ 0.005M), k_s (mm h⁻¹), in a laboratory permeameter using the Eijkelkamp® apparatus, with the constant head method.

Soil k_s values were log₁₀ transformed to overcome environmental variability and obey normality assumptions. Statistical analysis for data description, means T-test ($\alpha=0.05$) were performed using the XLSAT Microsoft® software.

Results and discussion

Soil Hydraulic conductivity, k_s

The observed k_s decreased on average 22%, since the first sampling in 2018, Fig. 1, with statistical significance ($\alpha=0.05$, $p=0.005$, $n=26$). With the L3 and L4 areas showing the highest soil k_s reduction, 37% and 30% since 2018 (2.25 and 2.35 mm h⁻¹), respectively. It must be noted that these areas are subjected to high livestock grazing pressure, which has been shown to be a cause of soil compaction and soil permeability reduction (Chandler *et al.*, 2018).

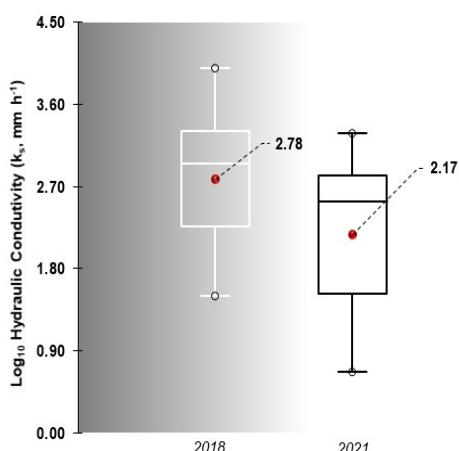


Fig. 1 – BoxPlot's representation of the soil hydraulic conductivity, k_s (Log₁₀, mm h⁻¹), of the 2018 and the 2021 sampling, the means are in bold.

Nevertheless, L8 and L12 areas also presented a decrease, 16 and 13% (2.84 and 3.46 mm h⁻¹), respectively, since

2018. In these cases, the reduced or even no tillage management may have a significant role, especially in L8, where the soil samples are of sand texture. Although seasonal effects on k_s (and also on bulk density) are not fully understood, they may have played a role in results obtained (Hu *et al.*, 2012). However, it can be relevant that higher reduction in k_s was observed in the L3 and L4 areas, which are grazing areas.

When assessing the changes in k_s values under and out of tree canopy influence, although there was a trend for a decrease in all pilot areas, the differences were only statistically significative in the OF areas, Fig. 2, where a decrease of nearly 28% was observed. This stresses that soils in OF areas are more prone to stand negative impacts related to cattle, people and machinery traffic, namely due to potentially more traffic intensity in these areas, among other factors.

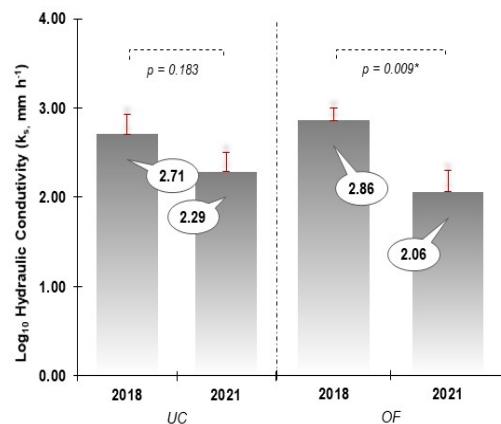


Fig. 2 – Bars and standard errors of the effects of the soil conservation practices system implantation on soil hydraulic conductivity, k_s, under (UC, $n=13$) and outside (OF, $n=13$) of tree canopy influence (* $\alpha=0.05$, significance level).

Soil Bulk Density, BD

The soil bulk density increased on average 5% since 2018 (1.23 g cm⁻³), Fig. 3, but no statistical significance was observed. Wherein L3 area showed the higher increase, 12%, since 2018 (1.16 g cm⁻³) while L4 and L8 only increased 4 and 5% (1.37 and 1.20 g cm⁻³),

respectively. However, L12 area decreased 4% in relation to the observed 2018 BD (1.20 g cm^{-3}), with no statistical significance. It must be noted that the L8 had an outlier, prompted by the presence of a stone in the collecting cylinder. Without this outlier, the L8 area BD also decreases, nearly 3% ($n=5$).

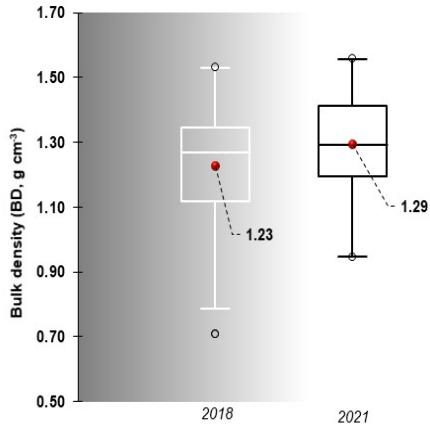


Fig. 3 – BoxPlot's representation of the soil Bulk density, BD (g cm^{-3}), of the 2018 and the 2021 sampling, the means are in bold.

The average soil BD increase in the L3 and L4 areas may be the effect of the livestock high density in these pilot areas (Chandler, et al, 2018), which is not observed in the L12 and L8 (without the outlier). There were no observed statistical significative changes in the samples collected in the UC or OF sites, with the soil conservation practices.

Conclusion

The soil conservation practices may already be stressing its effects on soil physical properties, such k_s and BD, especially in the areas where no livestock pressure exists. The decrease in soil permeability may be an effect of the reduced/no tillage practices, leading to a more stable and aggregated soil superficial horizon, which also promotes a lower BD, due to trees and plant roots development, especially in areas without cattle, people, machinery traffic.

Acknowledgments

Rui Bajouco and Claudia Penedos were supported by LIFE15 CCA/PT/000043

MONTADO & CLIMATE; A NEED TO ADAPT.

References

- Berrahmouni, N., & Regato, P. (2007). Cork oak forest landscapes: a whole world beyond cork. In: Berrahmouni, N., Escuté, X., Regato, P., Stein, C. (eds) Beyond cork — a wealth of resources for people and nature: lessons from the Mediterranean. WWF Mediterranean Programme, Madrid, pp 8–16
- Chandler, K., Stevens, C., Binley, A., & Keith, A. (2018). Influence of tree species and forest land use on soil hydraulic conductivity and implications for surface runoff generation. *Geoderma*, 310, 120-127. [doi: org/10.1016/j.geoderma.2017.08.011](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.08.011)
- EU-Life public database, European Commission, LIFE-Montado-adapt on LIFE Public Database. (2016). MONTADO & CLIMATE; A NEED TO ADAPT. (Inquiry: 2022-04-10) https://webgate.ec.europa.eu/life/publicWebsite/index.cfm?fuseaction=search.dspPage&n_proj_id=5658
- Hu, W., Shao, M.A. and Si, B.C. (2012), Seasonal changes in surface bulk density and saturated hydraulic conductivity of natural landscapes. *European Journal of Soil Science*, 63: 820-830. <https://doi.org/10.1111/j.13652389.2012.01479.x>
- LIFE MONTADO-ADAPT, Montado & Climate, a need to adapt. (Inquiry: 2022-04-10) <https://www.lifemontadoadapt.com/index.php>
- Paracchini, M., Petersen, J., Hoogeveen, Y., Bamps, C., Burfield, I., & van Swaay, C. (2008). High nature value farmland in Europe: an estimate of the distribution patterns on the basis of land cover and biodiversity data. European Commission, Joint Research Centre, Institute for Environment and Sustainability, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg
- Pinto-Correia, T. (1993). Threatened landscape in Alentejo, Portugal: the 'montado' and 'agro-other-silvo-pastoral' systems. *Landscape and Urban Planning*, 24, 43-48. [doi: org/10.1016/0169-2046\(93\)90081-N](https://doi.org/10.1016/0169-2046(93)90081-N)
- Pinto-Correia, T., Ribeiro, N., & Sá-Sousa, P. (2011). Introducing the montado, the cork and holm oak agroforestry system of Southern Portugal. *Agroforestry Systems*, 82, 99–104. [doi: org/10.1007/s10457-011-9388-1](https://doi.org/10.1007/s10457-011-9388-1)

Diversidade de artrópodes bioindicadores em dois sistemas culturais do Ribatejo: Monocultura/sucessão cultural

Diversity of bioindicator arthropods in two cultural systems in the Ribatejo region: Monoculture/cultural succession

Valério, Elsa^{1*}, Godinho, Maria¹, Santos Coelho, Rosa¹, Nunes, Ana Paula², Figueiredo, Elisabete³

¹ Instituto Politécnico de Santarém - Escola Superior Agrária, Quinta do Galinheiro - S. Pedro, 2001-904 Santarém.
elsa.valerio@esa.ipsantarem.pt

² COTHN, Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional, Estrada de Leiria, S/N
2460-059 Alcobaça

³ LEAF-Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food. Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa.
Tapada da Ajuda. 1349-017 Lisboa. Portugal

Resumo

Os artrópodes representam uma grande percentagem do total de espécies da fauna do solo e, independentemente das funções que desempenham fornecem importantes serviços ao ecossistema que dependem de práticas culturais/fitossanitárias que condicionam espécies presentes e suas interações. Neste trabalho, avaliou-se abundância dos *taxa* de artrópodes considerados como bioindicadores de qualidade do solo, entre 2018 e 2021, no Ribatejo, em dois campos piloto com diferentes sistemas culturais: (i) rotação de batata e milho (Golegã) e (ii) sistema de monocultura de tomate para indústria (Vila Franca Xira). Nos dois campos instalaram-se 16 armadilhas "pitfall" com etilenoglicol, em cada momento de amostragem/local, tendo sido recolhidas após 7 dias. Os artrópodes capturados foram separados em morfotipos e identificados. O número total de morfotipos separados foi 62, 157, 132 e 117, em 2018, 2019, 2020 e 2021, respectivamente. O campo com monocultura manifestou, durante os 4 anos de amostragem, biodiversidade de artrópodes inferior ao campo com rotação. No que diz respeito aos carabídeos, no campo com rotação observaram-se 9 (2019) e 13 morfotipos (2020), respectivamente, e no campo com monocultura 3 morfotipos (2019) e nenhum carabídeo (2020). Os resultados indicam tendência para maior biodiversidade e populações mais equilibradas com a continuação da prática de rotação.

Palavras-chave: artrópodes de solo, bioindicadores, Carabidae, culturas intensivas

Abstract

Arthropods represent a large percentage of the soil fauna and, regardless of the functions they perform, they all provide important ecosystem services, which depend on cultural/phytosanitary practices that influence the species present and their interactions. In the present study, the abundance of different *taxa* of arthropod bioindicators of soil quality were evaluated along 2018-2021 in the Ribatejo region in two experimental fields with different crop systems: (i) potato and maize rotation (Golegã) and (ii) processing tomato monoculture system (Vila Franca Xira). Sixteen pitfall traps with ethylene glycol were installed for 7 days at each sampling time/site. The captured arthropods were separated into morphotypes and identified. The results revealed that the total number of separate morphotypes was 62, 157, 132 and 117, in 2018, 2019, 2020 and 2021, respectively. The field with monoculture revealed, during the 4 years of sampling, an arthropod biodiversity lower than the field with crop rotation. With regard to carabids, in the field with rotation, 9 (2019) and 13 morphotypes (2020) were observed, respectively; and in the field with monoculture only 3 morphotypes (2019) and no carabid (2020) were collected. A trend towards greater biodiversity and more balanced populations was observed with the rotation practice maintenance.

Keywords: soil arthropods, bioindicators, Carabidae, intensive crop systems

Introdução

Os solos são um recurso natural com relevância para o suporte das atividades humanas, designadamente produção de alimentos e biomassa. A prestação de serviços de ecossistema que assume forte relevância na atualidade, está intimamente relacionada com a vida no solo. Tendo em consideração que os organismos que vivem no solo são os responsáveis diretos pelo seu funcionamento, atuando, entre outros, nos processos de gênese, decomposição de resíduos orgânicos, reciclagem de nutrientes e recuperação de áreas contaminadas, justifica a importância e reforça a necessidade da inclusão dos indicadores biológicos (bioindicadores) nas avaliações de qualidade do solo. (Seaton et al., 2021).

Este trabalho foi realizado no âmbito do projeto MaisSolo e teve como objetivo perceber se haveria efeito dos diferentes sistemas culturais na comunidade de artrópodes do solo.

Biodiversidade de artrópodes de solo

Os artrópodes representam cerca de 97% do total de espécies de animais do solo (Decaëns et al., 2006) e todos, independentemente das funções que desempenham, fornecem importantes serviços ao ecossistema.

Os microartrópodes, como alguns ácaros e colêmbolos (Figuras 1a, 1b), são muito importantes na cadeia alimentar, regulando em grande parte o processo de decomposição da matéria orgânica, seja diretamente, através da sua ingestão e digestão, seja indiretamente, convertendo-a física e quimicamente em substratos passíveis de serem usados por outros organismos.



Figura 1 – Microartrópodes de solo: a) ácaro; b) colêmbolo.

Por outro lado, artrópodes de maiores dimensões como formigas (Figura 2) e térmitas, promovem o revolvimento do solo, contribuindo para modificar as suas características físicas, ao alterar a estrutura, composição mineral e orgânica e movimentos da água e sua retenção no solo (Culliney 2013).

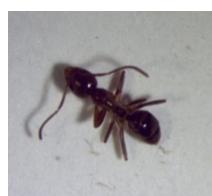


Figura 2 – Himenóptero da família Formicidae.

Outros macroartrópodes, como os aracnídeos (i.e. escorpiões, aranhas e opiliões) (Figura 3a) e insetos (i.e. carabídeos e estafilinídeos) (Figura 3b, 3c) são importantes predadores, contribuindo para a regulação das populações de pragas (Gonçalves et al., 2018).



Figura 3 – Macroartrópodes de solo: a) aracnídeo; b) carabídeo; c) estafilinídeo.

A biodiversidade do solo e a manutenção das cadeias alimentares suportadas por estes organismos permitem assegurar os fluxos de energia e a resiliência dos sistemas. A destruição acelerada dos solos e a necessidade de contrariar estes processos têm conduzido a estudos que permitem demonstrar e comunicar as evidências dos efeitos benéficos da preservação da biodiversidade do solo.

Material e métodos

Os artrópodes do solo foram monitorizados de 2018 a 2021 em dois campos piloto com

diferentes sistemas culturais: (i) rotação de batata e milho (campo A, situado na Golegã) e (ii) sistema de monocultura de tomate para indústria (campo B, situado na Lezíria de Vila Franca de Xira). Em cada um dos locais foram instaladas 16 armadilhas tipo “pitfall” com etilenoglicol, durante um período de 7 dias, em cada colheita de amostras, a qual foi adaptada às culturas principais instaladas e respetivo ciclo cultural. Assim, em cada um dos momentos monitorizados efetuaram-se duas amostragens no campo A e uma no campo B (2018), três em cada campo (2019 a 2020), duas no campo A e três no campo B (2021). Os artrópodes capturados foram observados em laboratório, separados em morfotipos e identificados até à família, género e espécie, sempre que a conservação dos indivíduos o permitiu, de acordo com protocolo elaborado para o efeito.

Resultados e discussão

As capturas, em número total de indivíduos, variaram de ano para ano e entre campos. Foram encontrados organismos pertencentes aos quatro sub-filos de artrópodes, Chelicerata, Hexapoda, Crustacea e Myriapoda, sendo que é na classe Insecta que se encontra a maior parte dos organismos capturados (cerca de 80%) (Valério et al., 2021).

No que se refere à diversidade, na cultura principal, o número total de morfotipos separados foram 62, 157, 132 e 117 em 2018, 2019, 2020 e 2021 respetivamente.

O número de morfotipos nos dois campos, com diferentes sistemas culturais, revelou cenários distintos (Figura 4).

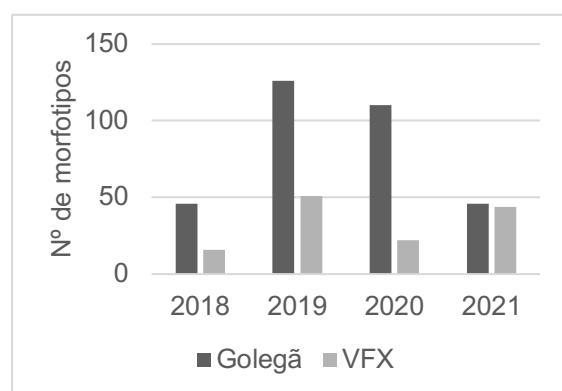


Figura 4 – Número de morfotipos capturados nos dois campos em estudo.

Pode-se afirmar que o campo em estudo onde se pratica a monocultura de tomate (campo B) manifestou, durante os 4 anos de amostragem, uma biodiversidade de artrópodes inferior ao campo A, com um sistema cultural que inclui rotações/sucessões de culturas. Em 2021 a diferença não foi tão relevante, todavia importa referir que esse ano não pode ser comparado aos anteriores pois foi realizada menos uma amostragem no campo A, onde, à semelhança dos 3 anos anteriores, seria expectável um maior número de indivíduos diferentes.

O grupo taxonómico com maior número de indivíduos capturados, no campo onde se pratica monocultura, pertenceu à ordem Collembola (Figura 5). A intensificação agrícola é conhecida por alterar a diversidade de grupos individuais da biota do solo tornando as teias alimentares menos diversificadas e compostas por organismos de menor dimensão, como é o caso dos colêmbolos (Tsiafouli et al., 2015). Neste campo, não foram encontrados artrópodes pertencentes às ordens Lepidoptera, Orthoptera e Dermaptera. A intensificação do uso da terra resulta em menos grupos funcionais da biota do solo e menos taxonomicamente relacionados (Tsiafouli et al., 2015).

Para melhor compreender o efeito das práticas sobre este comportamento, optou-se por apresentar, com maior detalhe o grupo dos carabídeos por serem muito interessantes para o estudo dos impactes sobre as comunidades de seres vivos nos solos, uma vez que são fortemente sensíveis às alterações induzidas pelo homem (Menta & Remelli, 2020; Niemelä et al., 1993).

Comparando os anos de 2019 e 2020, com procedimento experimental semelhante, verificou-se que no campo com sistema de rotação se observaram 9 e 13 morfotipos pertencentes a esta família, em 2019 e 2020, respetivamente. No campo com monocultura, em 2019, foram observados apenas três morfotipos, sendo de destacar que não se recolheram carabídeos em 2020.

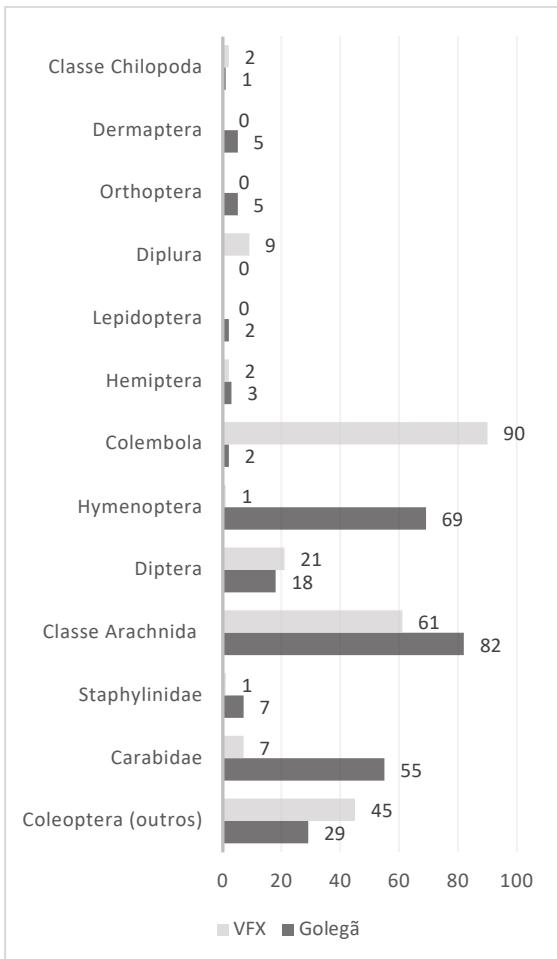


Figura 5 – Distribuição por classes: Arachnida (inclui as ordens Araneae, Opilione e Acari), ordens e famílias (Carabidae e Staphylinidae) dos artrópodes capturados em 2021, nos dois campos em estudo.

Através de índices de biodiversidade, podemos verificar que, em 2020, no campo com rotação foi obtido um maior número de morfotipos, menor índice de Simpson e maior de equabilidade do que em 2019, apesar de terem sido capturados menos carabídeos (103 em 2019, 83 em 2020). Este aspecto indica uma tendência para maior biodiversidade e populações mais equilibradas com a continuação da prática de rotação. Os resultados de 2020 revelam maior número de indivíduos dos géneros presentes numa parcela com maior diversidade em plantas.

Conclusões

Os dados sugerem uma tendência para uma maior biodiversidade de artrópodes em sistemas culturais que incluem rotações/sucessões de culturas e

populações mais equilibradas com a continuação da prática de rotação o que aumenta a expectativa de melhores resultados futuros onde a rotação e as culturas de cobertura constituem uma prática agronómica de forma regular.

Agradecimentos

PDR 2020-101-030821 (MaisSolo)

Referências bibliográficas

- Culliney, T.W. 2013. Role of arthropods in maintaining soil fertility. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 163: 629–659. doi: 10.3390/agriculture3040629
- Decaëns, T., Jiménez, J.J., Gioia, C., Measey, G.J., Lavelle, P. 2006. The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology*, 42: S23–S38. doi: 10.1016/j.ejsobi.2006.07.001
- Gonçalves, F., Carlos, C., Pinto, R., Torres, L. 2018. O solo das vinhas da Região Demarcada do Douro está vivo! UTAD, 55 pp.
- Menta, C., Remelli, S. 2020. Soil health and arthropods: from complex system to worthwhile investigation. *Insects*, 11(54). doi:10.3390/insects11010054
- Niemelä, J., Langor, D., Spence, J.R. 1993. Effects of clear-cut harvesting on boreal ground-beetle assemblages (Coleoptera: Carabidae) in Western Canada. *Conservation Biology*, 7: 551–561. https://www.jstor.org/stable/2386683
- Seaton, F.M., Barrett, G., Burden, A., Creer, S., Fitios, E., Garbutt, A., Griffiths, R.I., Henrys, P., Jones, D.L., Keenan, P., Keith, A., Lebron, I., Maskell, L., Pereira, M.G., Reinsch, S., Smart, S.M., Williams, B., Emmett, B.A., Robinson, D.A. 2020. Soil health cluster analysis based on national monitoring of soil indicators. *European Journal of Soil Science*, 72: 2414–2429. doi: 10.1111/ejss.12958
- Tsiafouli, M.A., Thébaud, E., Sgardelis, S.P., de Ruiter, P.C., van der Putten, W.H., Birkhofer, K., Hemerik, L., de Vries, F.T., Bardgett, R.D., Brady, M.V., Bjornlund, L., Jørgensen, H.B., Christensen, S., Hertefeldt, T.D., Hotes, S., Gera Hol, W.H., Frouz, J., Liiri, M., Mortimer, S.R., Setälä, H., Tzanopoulos, J., Uteseny, K., Pižl, V., Starý, J., Wolters, V., Hedlund, K. 2015. Intensive agriculture reduces soil biodiversity across Europe. *Global Change Biology*, 21: 973–985. doi: 10.1111/gcb.12752
- Valério, E., Godinho, M.C., Santos Coelho, R., Figueiredo, E. 2021. Conhecer e melhorar o solo para a sustentabilidade dos sistemas hortoindustriais. Projecto MaisSolo - Parte 2: 3. Artrópodes como bioindicadores. Agrotec, nº40: 31-33

Processamento de dados de temperatura do solo para simulações computacionais de um agro-ecossistema

Processing of soil temperature data for computational simulations of an agroecosystem

Paz, M.C.^{1*}, Santos, S.A.P^{1,2}, Barreira, R.^{3,4}

¹ CIQuiBio, Escola Superior de Tecnologia do Barreiro, Instituto Politécnico de Setúbal, Rua Américo da Silva Marinho, 2839-001 Lavradio, Portugal

² LEAF, Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

³ INCITE, Escola Superior de Tecnologia do Barreiro, Instituto Politécnico de Setúbal, Rua Américo da Silva Marinho, 2839-001 Lavradio, Portugal

⁴CMAFcIO, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisbon, Portugal

*catarina.paz@estbarreiro.ips.pt

Resumo

Os serviços de ecossistema, como a limitação natural de pragas, incluem-se nas estratégias de gestão de agro-ecossistemas e o seu uso pode ser otimizado com base no conhecimento provindo da modelação computacional das pragas, dos seus predadores, e da paisagem. Neste artigo focamo-nos no processamento de dados de temperatura do solo, necessários para o funcionamento dos modelos de praga-predador *Bactrocera oleae* (mosca da azeitona) e *Haplodrassus rufipes* (aranha do solo) no olival. A metodologia de processamento permitiu-nos (1) completar as lacunas existentes na série de dados de temperatura do solo, recolhidos com periodicidade horária, (2) convertê-la numa série com periodicidade diária, e ainda (3) criar uma variável adicional, a temperatura média diária do solo durante o crepúsculo vespertino. Este último passo possibilita que não haja uma perda de informação no que diz respeito àquele período específico do dia, reduzindo-se o erro associado à desaquatação da resolução temporal da variável climática média diária para exprimir um fenómeno que ocorre apenas durante um determinado número de horas do dia.

Palavras-chave: temperatura do solo, processamento de séries climáticas, conversão de resoluções temporais, linguagem R, modelação computacional de agro-ecossistemas

Abstract

Ecosystem services, such as natural pest control, are included in agro-ecosystem management strategies and their use can be optimized based on knowledge from computational modelling of pests, predators, and landscape. In this article we focus on the processing of soil temperature data, necessary for the operation of the predator-pest models *Bactrocera oleae* (olive fly) and *Haplodrassus rufipes* (soil spider) in the olive grove. The processing methodology allowed us to (1) complete the gaps in the series of soil temperature data, collected on an hourly basis, (2) convert it into a series with daily periodicity, and (3) create an additional variable, the average daily temperature of the soil during the twilight. This last step prevents the loss of information regarding that specific period of the day, reducing the error associated with the deauration of the temporal resolution of the average daily climatic variable to express a phenomenon that occurs only during a certain number of hours of the day.

Keywords: soil temperature, climate series processing, conversion of temporal resolutions, R language, computational modelling of agroecosystems

Introdução

A limitação natural de pragas é um serviço de ecossistema que consiste no aumento das populações de inimigos naturais das pragas através do estabelecimento de componentes paisagísticas que lhes fomeçam alimento alternativo e refúgio (Villa et al., 2020, 2021), e que pode ser integrado nas estratégias de gestão dos agro-ecossistemas. O uso deste serviço pode ser otimizado conhecendo o seu funcionamento, o que pode ser feito através da modelação computacional das pragas, dos seus predadores, e da paisagem (Corral & Calegari, 2011; Topping, et al., 2019; Ziolkowska, et al., 2021). Neste contexto, o projeto OLIVESIM está a construir um sistema de modelos para simular os comportamentos de espécies de pragas da oliveira e de seus inimigos, na região de Trás-os-Montes (Portugal), através do sistema ALMaSS (Animal, Landscape and Man Simulation System), que recebe séries de dados de ações de gestão agrícola e de variáveis climáticas, com periodicidade diária (Topping, et al., 2003). De facto, para alguns dos artrópodes modelados, a temperatura do solo é usada como dado de entrada na modelação computacional, uma vez que a temperatura desempenha um papel fundamental nas várias fases da sua vida e também porque interagem espacialmente ao nível do solo.

Para que a modelação computacional possa funcionar, as séries de dados climáticos devem ter uma estrutura temporal regular. No entanto, muitas vezes não estão completas, o que exige a aplicação de metodologias viáveis para o preenchimento das lacunas existentes. Por outro lado, uma série de dados climáticos é formada por dados recolhidos com uma dada periodicidade, que pode ser diferente da necessária para o sistema computacional, o que implica uma conversão de periodicidade. No caso da conversão de séries de dados com periodicidade horária em séries de dados com periodicidade diária, que neste caso são as usadas pelo sistema ALMaSS, há uma redução da resolução temporal e, portanto, uma perda de informação no que diz respeito a períodos específicos do dia. Isto pode ser um problema quando se tenta simular, por exemplo, um comportamento animal que ocorre durante um período específico do dia. Uma forma de segregar esse período

específico é criar variáveis diárias que são calculadas usando apenas os dados horários compreendidos nesse período do dia.

Neste trabalho, debruçamo-nos sobre o processamento da série de temperatura do solo necessária para o funcionamento dos modelos de praga-predador *Bactrocera oleae* (mosca da azeitona) (Paz, et al., 2021) e *Haplodrassus rufipes* (aranha do solo) (Barreira, et al., 2021), ambos artrópodes dependentes da temperatura do solo em certas fases ou durante toda a sua vida. De facto, a aranha habita os primeiros centímetros do solo, e a mosca pupa na mesma zona durante os meses mais frios do ano, tornando-se um potencial alimento para a aranha. Completámos as lacunas existentes na série de dados recolhida, e convertermos a sua periodicidade de horária para diária, criando também uma variável adicional, a temperatura média diária do solo durante o crepúsculo vespertino, que é o momento em que a aranha normalmente se move para caçar (Benhadi-Marín, J., comunicação pessoal).

Material e métodos

A temperatura do solo foi medida com periodicidade horária, de 2010 a 2020, a uma profundidade de 0,05 m, na estação meteorológica de Mirandela. Esta estação faz parte da rede de estações meteorológicas automáticas do Instituto do Mar e da Atmosfera (IPMA). O Quadro 1 resume as características da série de dados recolhida, que foi depois processada utilizando a linguagem R (R Core team, 2020), seguindo a sequência apresentada na Fig. 1.

Quadro 1 – Características da série de dados de temperatura do solo medidos com periodicidade horária na estação meteorológica de Mirandela. Entende-se por lacuna um grupo de valores em falta seguidos.

Comprimento da série	96360
Número de valores em falta	9172
Percentagem de valores em falta	10%
Número de lacunas	88
Comprimento de lacuna mais frequente	1
Maior comprimento de lacuna	4285

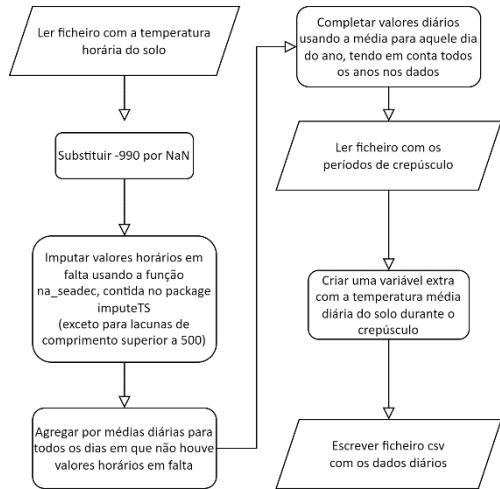


Fig. 1 – Sequência de processamento dos dados de temperatura do solo. A série de dados de temperatura do solo, medidos com periodicidade horária no período 2010-2020, apresenta, como esperado, um padrão de sazonalidade, pelo que se qualifica para o uso da função `na_seadec`, contida no pacote `imputeTS`, na tarefa de imputação de valores nas lacunas com comprimento inferior a 500 valores consecutivos em falta. O pacote `imputeTS` foi especificamente desenvolvido para a imputação de valores em falta em séries temporais univariadas (Moritz & Bartz-Bielstein, 2017).

Depois de completada a série de dados horários, calculou-se a temperatura média diária do solo (T_s), efetuando a média das 24 medições horárias de cada dia. Para o cálculo da temperatura média diária do solo durante o crepúsculo (T_{sc}) foi definido o período de crepúsculo como o período entre o pôr-do-sol e o fim do crepúsculo astronómico, isto é, quando o Sol está 18° abaixo do horizonte. T_{sc} foi então calculada efetuando a média ponderada dos dados de temperatura do solo medidos com periodicidade horária durante o período do crepúsculo.

Resultados e discussão

A Fig. 2 mostra a série de dados de temperatura do solo, medidos com periodicidade horária, recolhida na estação meteorológica de Mirandela, e os dados imputados em lacunas inferiores a 500 valores consecutivos em falta. Podemos verificar que os valores imputados se enquadram perfeitamente na série.

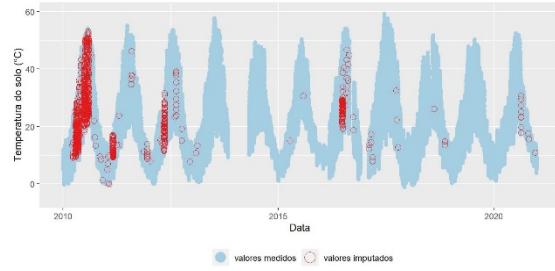


Fig. 2 – Série de dados de temperatura do solo, medidos com periodicidade horária (círculos azuis-claram), recolhida na estação meteorológica de Mirandela, e dados imputados em lacunas inferiores a 500 valores consecutivos em falta (circunferências vermelhas), usando a função `na_seadec` contida no pacote `imputeTS`.

A Fig. 3 mostra as séries de T_s e T_{sc} , calculadas para o período 2010-2020, permitindo verificar que T_{sc} é em geral superior a T_s . A Fig. 3 mostra também, a título de exemplo, o período de 22 de janeiro a 4 de fevereiro de 2011, ano durante o qual se realizou uma campanha de amostragem de artrópodes e solos, e os limites do intervalo de valores de temperatura dentro do qual o movimento da aranha ocorre. Podemos ver que em alguns dias, por exemplo no dia 24 de janeiro de 2011, T_{sc} está acima do limite inferior (t_{min}) e T_s está abaixo do mesmo, o que significa que se usássemos T_s em vez de T_{sc} para simular o movimento da aranha, estaríamos a impedir-lhe de mover-se, quando deveria estar a fazê-lo. Isto poderá também acontecer em redor do limite superior, mas de forma inversa – a aranha estar em movimento, quando já deveria estar em repouso. Ou seja, o uso de T_s , que exprime a temperatura média das 24h do dia, em vez de T_{sc} , que exprime especificamente a temperatura durante o período do dia em que a aranha se move, resultaria numa simulação incorreta do seu movimento. Desta forma, podemos ver como a utilização de dados climáticos temporais de alta resolução oferece a oportunidade de modular aspectos que, de outro modo, não seriam perceptíveis (Afrifa-Yamoah et al., 2020).

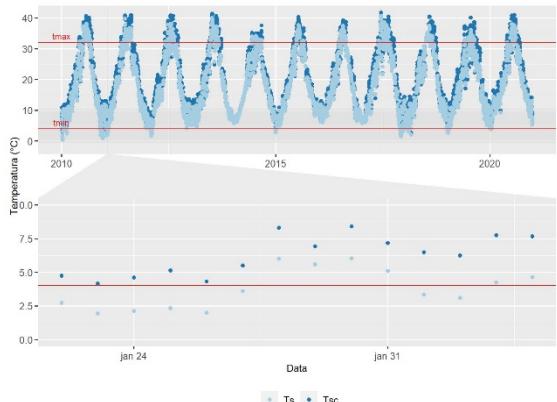


Fig. 3 – Séries de temperatura média diária do solo (T_s – $^{\circ}\text{C}$) e temperatura média diária do solo durante o crepúsculo (T_{sc} – $^{\circ}\text{C}$), para o período 2010-2020, calculadas a partir da série de dados de temperatura do solo medidos com periodicidade horária, recolhida na estação meteorológica de Mirandela. As linhas vermelhas representam as temperaturas mínima (t_{\min}) e máxima (t_{\max}) entre as quais é desencadeado o movimento da aranha.

Conclusões

A metodologia aplicada permitiu-nos (1) completar as lacunas existentes na série de dados de temperatura do solo, recolhidos com periodicidade horária, (2) convertê-la numa série com periodicidade diária, e ainda (3) criar uma variável adicional, a temperatura média diária do solo durante o crepúsculo vespertino. Este último passo possibilita que não haja uma perda de informação no que diz respeito àquele período específico do dia, reduzindo-se o erro associado à desaquatação da resolução temporal da variável climática média diária para exprimir um fenómeno que ocorre apenas durante um determinado número de horas do dia.

As séries criadas permitirão uma simulação mais correta das pragas e seus predadores, contribuindo para melhores definições de estratégias de gestão dos agro-ecossistemas.

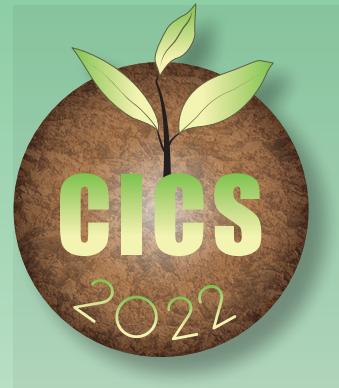
Agradecimentos

Este trabalho é financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) através do projeto PTDC/ASP-PLA/30003/2017 – OLIVESIM – Gestão dos serviços de ecossistema no olival utilizando modelos espaciais avançados. R.B. financiada pela FCT através do projeto UIDB/04561/2020.

As autoras agradecem ao IPMA a cedência dos dados de temperatura do solo.

Referências bibliográficas

- Afrifa-Yamoah, E., Mueller, U., Taylor, S. & Fisher, A. (2020). Missing data imputation of high-resolution temporal climate time series data. *Meteorological Applications*, 27, <https://doi.org/10.1002/met.1873>.
- Barreira, R., Paz, M.C., Amaro, L., Sousa, J.P., Benhadi-Marín, J., Rasko, M., Alves da Silva, A., Alves, J., Chuhutin, A., Topping, C.J., Santos, S.A.P. (2021.) Developing an Agent-Based Model for *Haplodrassus rufipes* (Araneae: Gnaphosidae), a Generalist Predator Species of Olive Tree Pests: Conceptual Model Outline. *Biology and Life Sciences Forum* 4(1), 45. <https://doi.org/10.3390/IECP2020-08745>
- Corral, J. & Calegari, D. (2011). Towards an Agent-Based Methodology for Developing Agro-Ecosystem Simulations. In G. Barthe, A. Pardo & G. Schneider (eds.) *SEFM 2011: Software Engineering and Formal Methods* (pp 431-446). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-24690-6_30
- Moritz, S. & Bartz-Beielstein, T. (2017) imputeTS: Time series missing value imputation in R. *The R Journal*, 9:1, 207–209. <https://doi.org/10.32614/RJ-2017-009>
- Paz, M.C., Santos S.A.P., Barreira, R., Rasko, Duan, X., Alves, J., Alves da Silva, A., Mina, R., Topping, C.J. & Sousa, J.P. (2021) Developing a subpopulation-based model for the olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae): conceptual model outline. *The 1st International Electronic Conference on Agronomy*. <https://doi.org/10.3390/IECAG2021-09680>
- R Core Team. (2020). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <https://www.R-project.org/>
- Topping, C.J., Hansen, T.S., Jensen, T.S., Jepsen, J.U., Nikolajsen, F. & Odderskær, P. (2003). ALMaSS, an agent-based model for animals in temperate European landscapes. *Ecological Modelling*, 167, 65–82. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(03\)00173-X](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(03)00173-X)
- Topping, C.J., Dalby, L. & Valdez, J.W. (2019). Landscape-scale simulations as a tool in multi-criteria decision making for agri-environment schemes. *Agricultural Systems*, 176, <https://doi.org/10.1016/j.agbsy.2019.102671>.
- Villa, M., Santos, S.A.P., Aguiar, C. & Pereira, J. (2021). Plants Biodiversity in Olive Orchards and Surrounding Landscapes from a Conservation Biological Control Approach. *Biology and Life Sciences Forum* 4(1), 66. <https://doi.org/10.3390/IECP2020-08604>
- Villa, M., Santos, S.A.P., Pascual, S. & Pereira, J. (2020). Do non-crop areas and landscape structure influence dispersal and population densities of male olive moth? *Bulletin of Entomological Research*, 111, 1–9. <https://doi.org/10.1017/S0007485320000310>.
- Ziółkowska, E., Topping, C.J., Bednarska, A.J. & Laskowski, R. (2021). Supporting non-target arthropods in agroecosystems: Modelling effects of insecticides and landscape structure on carabids in agricultural landscapes. *Science of the Total Environment*, 774, 145746. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145746>



Fertilidade

Comunicações orais

Efectos de la aplicación de fertilizantes orgánico-minerales en un cultivo de cebada del SO Bonaerense (Argentina).

The effects of organic-mineral fertilizer application of barley crop in SW Buenos Aires (Argentina).

Ferrari, Javier¹; Orden, Luciano^{2,3}; Dagna, Nicolás³; Andreu Rodríguez, Javier⁴; Moral, Raúl^{4*}

¹EEA INTA Bariloche. Modesta Victoria 4450, 8400, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina.

²EEA INTA Ascasubi. Ruta 3 Km 794, 8142, Hilario Ascasubi, Buenos Aires, Argentina.

³Dpto. Agronomía, UNS. San Andrés 800, 8000, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

⁴Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Universidad Miguel Hernández, Carretera de Beniel, km 3.2, Orihuela, 03312 Alicante, Spain

* raul.moral@umh.es

Resumen

La intensificación ganadera en la zona Pampeana genera grandes cantidades de residuos orgánicos que deben gestionarse adecuadamente para evitar impactos negativos en el ambiente. El compostaje se considera una forma de reciclar los estiércoles animales para valorar su capacidad como fertilizantes. La densificación del material pelletizado puede ser una alternativa para la aplicación de compost mejorando el transporte, el almacenamiento y la dosificación. El objetivo de este trabajo, consistió en evaluar el uso de fertilizantes orgánico-minerales en base a compost, pelletizados como fuente de N y P en el cultivo de cebada (*Hordeum vulgare L.*) y comparar su comportamiento respecto a fuentes de N y P inorgánicas. Se realizó un ensayo experimental a campo que incluyó 4 tratamientos y un testigo sin fertilización. Los fertilizantes P se aplicaron incorporados a la siembra y los fertilizantes N al macollaje en superficie. Se realizó el seguimiento de variables biofísicas no destructivas en estado vegetativo (Chl, LAI y fCOVER) y el rendimiento en grano (kg ha⁻¹) a cosecha. No se encontraron diferencias significativas de los tratamientos aplicados, lo que sugiere que podrían reemplazarse de forma parcial los fertilizantes minerales e incorporarse materia orgánica al suelo reciclando y valorizándose residuos ganaderos.

Palabras clave: residuos orgánicos, compost, pellet, biofertilizantes, cebada.

Abstract

Livestock intensification in the Pampas area generates large quantities of organic wastes that must be properly managed to avoid negative impacts on the environment. Composting is considered to recycle animal manures to value their capacity as fertilizers. The densification of pelletized material can be an alternative for compost application, improving transportation, storage and dosage. The objective of this work was to evaluate the use of organo-mineral fertilizers based on pelletized compost as a source of N and P in barley (*Hordeum vulgare L.*) and compare their performance with inorganic sources of N and P. An experimental field trial was carried to evaluate the use of pelletized compost-based organo-mineral fertilizers as a source of N and P in barley (*Hordeum vulgare L.*). An experimental field trial was carried out including 4 treatments and a control without fertilization. P fertilizers were applied incorporated at sowing and N fertilizers at surface-applied. Non-destructive biophysical variables were monitored at the vegetative stage (Chl, LAI and fCOVER) and grain yield (kg ha⁻¹) at harvest. No significant differences were found in the treatments applied, suggesting that mineral fertilizers could be partially replaced and organic matter could be incorporated into the soil by recycling and valorizing livestock residues.

Keywords: organic waste, compost, pellet, biofertilizer, barley.

Introducción

El cultivo de cebada cervecera (*Hordeum vulgare L.*) es el tercer cereal del mundo por volumen de producción, detrás de maíz, arroz y trigo. La Argentina está dentro de los 10 primeros productores, aportando el 3% a la producción mundial con 4.8 millones de tn (USDA, 2022). El núcleo productivo de la cebada se ubica en el sur bonaerense de la región Pampeana, comercializándose un 50% a través del Puerto de Bahía Blanca.

Los requerimientos de fósforo (P) son de 4 kg P tonelada de grano cosechado (Ciampitti & García, 2007), fertilizándose en línea al momento de la siembra. El cultivo de cebada en la región pampeana presenta respuestas significativas al agregado de nitrógeno (N) (Prystupa, et al., 2008), en general las aplicaciones de N se realizan al comienzo del periodo vegetativo o en el momento de la siembra.

Por otro lado, la intensificación ganadera en la zona Pampeana genera grandes cantidades de residuos orgánicos que deben gestionarse adecuadamente para evitar impactos negativos en el ambiente (Burton & Turner, 2003). El compostaje se considera una forma de reciclar los estiércoles animales para valorar su capacidad como fertilizantes (Bernal, et al., 2009). Los compost a diferencia de los fertilizantes de síntesis química convencionales, liberan su contenido nutricional de forma paulatina (Orden, et al., 2022).

El volumen de compost necesario para poder cubrir los requerimientos nutricionales de grandes superficies de cultivos extensivos no es agronómicamente viable. La densificación del material pelletizado y seco puede ser una alternativa para la aplicación de compost y abonos de origen animal, mejorando el transporte, el almacenamiento y la dosificación (Sarlaki, et al., 2021), además de poder aplicarse de forma mecanizada mediante sembradoras convencionales (Ferrari, et al., 2018) incorporados en línea al suelo o distribuidos de forma superficial. El objetivo de este trabajo, consistió en

evaluar el uso de fertilizantes órgano-minerales en base a compost, pelletizados como fuente de N y P en el cultivo de cebada y comparar su comportamiento respecto a fuentes de N y P inorgánicas.

Material y métodos

En la campaña 2021 se realizó un ensayo en condiciones de campo en las instalaciones de la Chacra Napostá Convenio UNS-MDA PBA ($38^{\circ}26'S$, $62^{\circ}17'W$), sobre un suelo Paleustol Petrocálcico. El suelo de textura franco se caracterizó por tener un contenido de materia orgánica de 31 g kg^{-1} , pH de 6.1, P-Bray de 23.8 mg kg^{-1} , y el nivel de N-nitrato disponible previo a la siembra (0-60 cm) de 139 kg N ha^{-1} .

Se empleó un diseño en bloques completos aleatorizados con cuatro repeticiones (tamaño de parcela $3.5\text{ m} \times 10\text{ m}$), donde se evaluaron cuatro tratamientos y un testigo sin fertilización (Tabla 1), i) T: testigo sin fertilización, ii) 30P(i)+46N(i): fertilizado inorgánico con 30 kg P ha^{-1} y 46 kg N ha^{-1} , iii) 15P(om)+46N(i): P órgano-mineral a igual dosis de fertilizante ($125\text{ kg fertilizante ha}^{-1}$) equivalente a 15 kg P ha^{-1} y N inorgánico (46 kg N ha^{-1}), iv) 30P(om)+46N(i): P órgano-mineral a igual dosis de nutriente ($250\text{ kg fertilizante ha}^{-1}$) equivalente a 30 kg P ha^{-1} y N inorgánico (46 kg N ha^{-1}), y v) 30P(om)+46N(om): fertilizado órgano-mineral con 30 kg P ha^{-1} y $200\text{ kg fertilizante ha}^{-1}$ equivalente a 46 kg N ha^{-1} . En todos los casos la fuente de P inorgánica fue fosfato monoamónico (MAP, 11-52-0) y de N inorgánica fue urea granulada (UREA, 46-0-0).

Tabla 1. Tratamientos de fertilización evaluados en el cultivo de trigo.

Tratamiento	Dosis de nutriente (kg ha^{-1})		Dosis de fertilizante (kg ha^{-1})	
	P	N	P	N
T	0	0	0	0
30P(i)+46N(i)	30	46	130	100
15P(om)+46N(i)	15	46	125	100
30P(om)+46N(i)	30	46	250	100
30P(om)+46N(om)	30	46	250	200

La temperatura histórica (1960-2020) media anual del sitio del ensayo es 15.6 °C y la precipitación media anual 550 mm. Se pueden observar en la Figura 1 la temperatura media mensual y las precipitaciones durante el ciclo del cultivo.

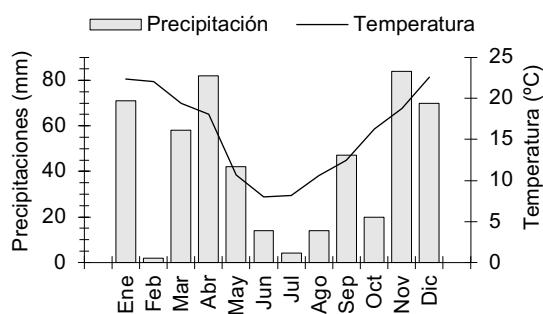


Figura 1. Diagrama ombrotérmico, ciclo de cultivo 2021 en el sitio de ensayo Chacra Napostá UNS-MDA, PBA.

El 16/06/2021 se sembró cebada (*Hordeum vulgare* L. var. Andreia de Maltería Pampa) con semilla de poder germinativo= 99%, peso de 1000 semillas= 47.44 g, pureza= 95%, a una densidad de 150 plantas m⁻², y a una distancia entre surcos de 17.5 cm (sembradora Juber®, modelo 3500). La fertilización P tanto inorgánica como órgano-mineral se realizó a la siembra de forma mecanizada, incorporando el fertilizante en la línea junto a la semilla, mientras que el N (ambas fuentes) se aplicó de forma manual en superficie en un estadio fenológico de dos macollos (Z23) el día 16/09/2021.

En dos momentos durante el ciclo del cultivo (16/09/2021 y 29/09/2021, Z32), se realizó el monitoreo de variables biofísicas en la vegetación de forma no destructiva. Se estimó el contenido de clorofila (Chl) mediante el uso de SPAD 502 Minolta® (Le Bail, et al., 2005). Adicionalmente, utilizando aplicaciones para smartphones se realizó la toma de medidas de índice de área foliar (LAI) mediante PocketLai® (Confalonieri, et al., 2013) y el porcentaje de cobertura del dosel (fCOVER) mediante Canopeo® (Patrignani & Ochsner, 2015).

El día 10/12/2021 se cosechó de forma manual 1 m² de cada unidad experimental (n=20) para evaluar el rendimiento en

grano corregiéndose por humedad constante (kg ha⁻¹).

Para todas las variables muestreadas se realizó la comparación de medias utilizando el test de Tukey (5%) entre tratamientos mediante software estadístico Infostat (Di Rienzo, et al. 2016).

Resultados y discusión

El total de las precipitaciones durante los meses del ensayo fueron escasas (183 mm), siendo las lluvias de principio de mes de noviembre las que posibilitaron la continuidad del cultivo hasta la cosecha. Esto se reflejó en el promedio de los rendimientos obtenidos que estuvo por debajo del promedio zonal.

En el primer muestreo de variables biofísicas no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. En el segundo muestreo (13 días después de la fertilización N) se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y el control para la variable Chl (p<0.01). Se pudo observar una tendencia positiva para fCOVER y LAI de todos los tratamientos en comparación al testigo.

Adicionalmente, para predecir el efecto de los tratamientos de las variables biofísicas estudiadas se realizó un análisis multivariante de componentes principales. El conjunto de índices que explican un 81.4 % de la variabilidad total corresponde al CP1 con los mayores aportes de relevancia siguiendo la tendencia Chl>LAI>fCOVER. La CP2 explica el 16.3% de variabilidad con los mayores aportes de fCOVER, sin correlación con los tratamientos.

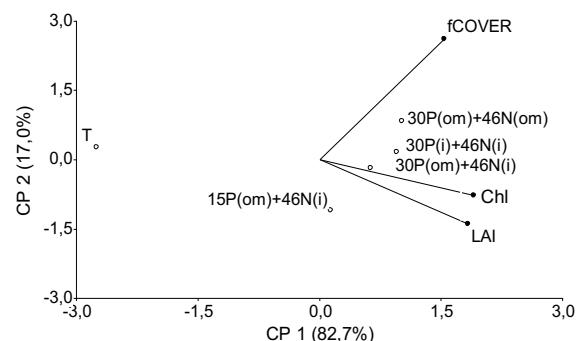


Figura 2. Análisis multivariado por componentes principales de variables biofísicas del cultivo de cebada.

La fertilización con N y P incrementó el rendimiento del cultivo de cebada (Figura 3) aunque no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Las condiciones climáticas desfavorables ocurridas durante el ciclo del cultivo, podrían haber enmascarado estos resultados.

Podemos observar que la reducción de la dosis de P de 30 a 15 kg ha⁻¹ manteniendo la dosis UREA [30P(i)+46N(i) vs 15P(om)+46N(i)] no afectó el rendimiento, mientras que tampoco se observó un efecto de la fuente de P, es decir, no hubo diferencias entre MAP y pellet orgánico-mineral P [30P(i)+46N(i) vs 30P(om)+46N(i)]. Así mismo el tratamiento de fertilización orgánico mineral P y N obtuvo un desempeño similar a la fertilización convencional.

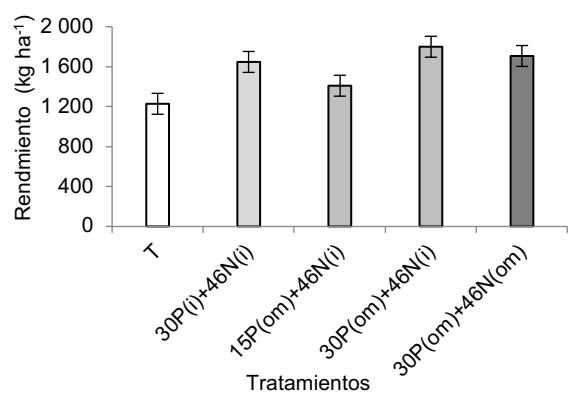


Figura 3. Rendimiento en grano del cultivo de cebada con distintos tratamientos de fertilización de N y P.

Conclusiones

Se logró establecer el cultivo extensivo de cebada con maquinaria convencional fertilizada a la siembra con fertilizante P orgánico-mineral.

Los indicadores biofísicos con sensores portátiles demostraron ser una herramienta factible para el ajuste de la fertilización orgánico-mineral en el cultivo de cebada.

El uso de fertilizantes orgánico-minerales con P y N incrementó 34% (400 kg ha⁻¹) el rendimiento respecto al testigo sin fertilizar.

Agradecimientos

Los autores agradecen al personal técnico de la Chacra Napostá UNS-MDA PBA. Ensayo realizado con fondos FVT N° 294 (INTA- DAASONS S.A.) INTA, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (Argentina).

Referencias bibliográficas

- Bernal, M.P., Alburquerque, J.A. & Moral, R. (2009) Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review, *BioresTech.*100, 22, 5444-5453.
- Burton, H. & Turner, C. (2003). Manure management (2nd ed.), Treatment Strategies for Sustainable Agriculture, Silsoe Research Institute, Lister and Durling Printers, Flitwick, Bedford, UK.
- Confalonieri, R. (2013). Development of an app for estimating leaf area index using a smartphone. Trueness and precision determination and comparison with other indirect methods. *Comput Electroc Agric.* 96, 67-74.
- Ciampitti, I.A. & García, F.O. (2007). Requerimientos nutricionales. Absorción y extracción de macronutrientes y nutrientes secundarios. I Cereales, oleaginosos e industriales. Archivo Agronómico N° 11 Informaciones Agronómicas N° 33 IPNI- Cono Sur.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión (2020). FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Ferrari, J.L., Dosanto, A.M., Tittonell, P.A., Reque, R. & Gazzotti, J.I. (2018). Aplicación defertilizantes orgánicos-pellets con sembradoras convencionales. *XXVI Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo*. Tucumán, Argentina.
- Le Bail, M., Jeuffroy, M.E., Bouchard, C. & Barbottin, A. (2005). Is it possible to forecast the grain quality and yield of different varieties of winter wheat from Minolta SPAD meter measurements? *Eur J Agron.* 23(4), 379-391.
- Orden, L.; Iocoli, G.A., Bustamante, M.A., Moral, R. & Rodríguez, R.A. (2022). Nutrient Release Dynamics in Argentinean Pampean Soils Amended with Composts under Laboratory Conditions. *Agronomy*, 12, 795.
- Patrignani, A. & Ochsner, T. (2015). Canopeo: A Powerful New Tool for Measuring Fractional Green Canopy Cover. *Agronomy J.* 107, 2312-2320.
- Prystupa, P.G., Ferraris, G., Bergh, R., Loewy, T., Ventimiglia, L. & Gutierrez Boem, F.H. (2008). Fertilización de Cebada Cervecera cv. Scarlett: IV. Modelo de respuesta del contenido proteico a la Fertilización Nitrogenada. En: XXI Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. San Luis.
- Sarlaki, E., Kermani, A.M., Kianmehr, M. H., Vakilian, K.A., Hosseinzadeh-Bandbafha, H., Ma, N.L., Aghbashlo, M., Tabatabaei, M. & Lam S.S. (2021). Improving sustainability and mitigating environmental impacts of agro-biowaste compost fertilizer by pelletizing-drying, *Enviro Poll.* 285, 117412.
- USDA, Foreign AgriculturalService. (2022). World Production, Markets, and Trade Report. USA. <https://www.fas.usda.gov/commodities/barley>

Aplicação de composto e rega por aspersão diminuem o risco de acumulação de As e Cd em arroz

Compost application and sprinkler irrigation lowers the risk of As and Cd accumulation in rice grain

Alvarenga, Paula¹; Fernández-Rodríguez, Damián²; Peña Abades, David³; Albarrán, Ángel²; Rato-Nunes, José Manuel⁴; López-Piñeiro, Antonio³

¹ LEAF - Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food Research Center, Associated Laboratory TERRA, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal; * Autor para correspondência: palvarenga@isa.ulisboa.pt

² Área de Producción Vegetal, Escuela de Ingenierías Agrarias – IACYS, Universidad de Extremadura, Badajoz, Spain

³ Área de Edafología y Química Agrícola, Facultad de Ciencias – IACYS, Universidad de Extremadura, Badajoz, Spain

⁴ Instituto Politécnico de Portalegre, Escola Superior Agrária de Elvas, Elvas, Portugal

Resumo

Foi instalado um ensaio de campo junto ao rio Gévora ("Las Vegas Bajas de Guadiana", Extremadura, Espanha), durante 3 anos, para avaliar a influência da aplicação de composto de resíduos da produção de azeite (bagaço de azeitona ou 'Alperujo'), e de diferentes sistemas de rega, na acumulação de As e Cd no arroz. A rega deficitária (aspersão) levou a uma diminuição na acumulação de As no grão, quando comparada com a rega por inundação, atingindo concentrações de As no grão nos tratamentos aeróbios mais de 5 vezes inferior à atingida nas condições de rega por inundação. A concentração de As no grão, nos tratamentos aeróbios, atingiu valores inferiores ao limite estabelecido pela Comissão Europeia (0.20 mg kg^{-1} no grão de arroz, peso fresco), e mesmo inferiores ao limite estabelecido para arroz branco polido para utilização em alimentos para bebés (0.10 mg kg^{-1}). Porém, um efeito contrário foi observado na acumulação de Cd no grão, que aumentou nos tratamentos aeróbios. A aplicação de composto (80 t ha^{-1} no primeiro ano), foi capaz de contrabalançar esse efeito negativo, levando a uma diminuição na acumulação de Cd no grão, em comparação com a produção obtida sem aplicação de composto (e.g., uma diminuição de 0,080 para $<0.010 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ no grão, em sementeira direta com rega por aspersão), sem aumentar a concentração de As no grão. Por isso, foi possível concluir que, o cultivo aeróbio de arroz, com a aplicação simultânea de um corretivo orgânico madurado e estável, constitui uma boa solução para, simultaneamente, diminuir o risco de acumulação de As e Cd nos grãos de arroz.

Palavras-chave: produção de arroz, acumulação de elementos potencialmente tóxicos, rega por inundação, rega deficitária, correção orgânica dos solos

Abstract

A field experiment was set-up near the Gévora River ("Las Vegas Bajas de Guadiana", Extremadura, Spain), for 3 years, to evaluate how the application of compost from olive mill waste, influences the accumulation of As and Cd in rice grain under different irrigation systems. The deficit irrigation (sprinkler irrigation) was able to lower the accumulation of As in the grain, when compared to the flooding irrigation systems, achieving As concentrations in the grain more than 5-times lower in the aerobic treatments than in the flooding irrigation conditions. The As concentrations in the aerobic treatments achieved values below the regulated limits established by the European Commission (0.20 mg kg^{-1} in the rice grain, fresh material), and even below the limit set for white polished rice intended to produce food for infants (0.10 mg kg^{-1}). However, a contrary effect was observed on Cd accumulation in the grain, which increased in the aerobic treatments. Compost application (80 t ha^{-1} in the first year), was able to counterbalance that negative effect, lowering Cd accumulation in the rice grain, relatively to the non-treated counterparts (e.g., a reduction from 0.080 to $<0.010 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ in the grain, in direct seeding with sprinkler irrigation), without increasing grain As concentrations. It was possible to conclude that, the aerobic cultivation of rice, with the simultaneous application of a mature and stable organic amendment, can be considered a good solution to, simultaneously, lower the risk of accumulation of As and Cd in the rice grain.

Keywords: rice production, potentially toxic elements accumulation, flooding irrigation, deficit irrigation, soil organic amendment

Introdução

Recentemente, têm sido avaliadas diferentes tecnologias de produção de arroz em condições aeróbicas (e.g., rega por aspersão, alternância de secura/alagamento), de modo a evitar os sistemas tradicionais de produção de arroz, em solos alagados (condições anaeróbicas), que dependem de grandes quantidades de água (Sengupta et al., 2021). Esta pode ser uma estratégia muito importante para a produção de arroz em regiões semi-áridas, como no Mediterrâneo, que terão que lidar com problemas crescentes de escassez de água (Sánchez-Llerena et al., 2016).

Porém, os sistemas anaeróbios ou aeróbicos de gestão da água podem influenciar a concentração de metais e metaloides no arroz em sentidos opostos, com impacto direto na qualidade alimentar. De facto, a rega por aspersão tem sido introduzida com sucesso na produção de arroz, permitindo uma diminuição no uso da água e na concentração de As no grão, porém, com efeitos contrários na disponibilidade e acumulação de Cd (Moreno-Jiménez et al., 2014). Esta é uma temática importante, não apenas pela dependência mundial deste alimento, mas, também, pelos problemas de toxicidade em humanos provocados pelo As (Sengupta et al., 2021). Por esse facto, os regulamentos são muito rigorosos: a concentração máxima permitida de As-inorgânico no arroz é de $0,20\text{ mg kg}^{-1}$ (matéria fresca), ou $0,10\text{ mg kg}^{-1}$ em arroz branco polido, quando se destina a produzir alimentos para crianças (Comissão Europeia, 2006; 2015). Na mesma regulamentação, a concentração máxima permitida para Cd é fixada em $0,20\text{ mg kg}^{-1}$.

Como tal, é importante avaliar outras estratégias que possam ser combinadas para, simultaneamente, evitar a acumulação de As e de metais no arroz. Uma possibilidade é aplicar corretivos orgânicos ao solo. Sengupta et al. (2021) destacaram a importância dessa estratégia, permitindo a imobilização de As. Eles explicaram essa possibilidade através da formação de quelatos organo-As, reduzindo sua absorção pelas plantas.

Pelo contrário, outros autores relataram uma maior mobilização de As, especialmente inorgânico, devido à aplicação de aditivos orgânicos nos solos (Hossain et al., 2021). É, por isso, muito importante avaliar o efeito do uso de corretivos orgânicos na cultura do arroz, com diferentes sistemas de rega, não apenas como estratégia para aumentar o sequestro de C orgânico do solo, mas, também, para imobilizar metais e metaloides. Preferencialmente, esses corretivos orgânicos devem permitir a valorização de resíduos, de fontes locais, de modo a aumentar a sustentabilidade económica e ambiental desta prática. A produção de azeite é uma agroindústria relevante em todo o sul do Mediterrâneo, produzindo elevadas quantidades de um resíduo sólido no processo de centrifugação de duas fases que pode ser estabilizado por compostagem com outros agro-resíduos (e.g., resíduos vegetais da limpeza do olival).

Neste contexto, o objetivo do estudo foi: avaliar os efeitos diretos e residuais da aplicação de composto de resíduos de produção de azeite na acumulação de As e Cd no arroz, produzido em diferentes regimes de rega e práticas agrícolas, num ensaio de campo de 3 anos.

Materiais e Métodos

Uma experiência de campo foi instalada em “Las Vegas Bajas de Guadiana”, na região semiárida da Extremadura, Espanha ($38^{\circ}55'58,14''\text{ N}$; $6^{\circ}57'13,42''\text{ W}$), num Antrossolo Hidrárgico (FAO, 2006), argiloso (20,8% argila, 28,9% limo e 50,3% areia), com reação ácida ($\text{pH}=4,42\pm0,07$), e teor médio de matéria orgânica (MO: $21,6\pm0,5\text{ g kg}^{-1}$) (Fernández-Rodríguez, 2020). Foram avaliados seis tratamentos diferentes, três sem composto (1-sementeira direta e rega por aspersão (DA); 2-sementeira tradicional e rega por aspersão (TA); e 3-sementeira tradicional e rega por inundação (TI)), e os mesmos três tratamentos, mas com uma aplicação inicial de composto (C, 80 t ha^{-1} , abril de 2015, espalhado manualmente e incorporado a uma profundidade de 15-20 cm usando uma grade de discos). As

parcelas foram estabelecidas em triplicado, 18 m x 10 m por parcela. Na rega por inundação, a água tinha uma entrada contínua, mantendo um nível de água de 10 cm acima do solo. A rega por aspersão utilizou entre 57 a 67% da água utilizada na rega por inundação durante os 3 anos do estudo. A variedade de arroz e densidade de sementeira (*Oryza sativa* L. var. Gladio, 180 kg ha⁻¹), bem como outras práticas agrícolas, foram semelhantes entre os tratamentos, e repetidas durante os 3 anos do ensaio. Os efeitos das diferentes práticas agrícolas, e da aplicação de composto, na acumulação de As e Cd no solo e no arroz, foram avaliados em três anos agrícolas sucessivos (Alvarenga et al., 2022). Os fatores de bioacumulação (FB) foram calculados como a razão entre a concentração do elemento no arroz e a concentração total do mesmo elemento no solo. Sempre que as concentrações resultaram abaixo do limite de quantificação para esse elemento, no cálculo do FB foi assumida uma concentração igual ao limite de quantificação da técnica.

Resultados e discussão

As concentrações totais de As no solo durante os 3 anos do estudo variaram entre 0,94 e 2,92 mg kg⁻¹ (Tabela 1). Estes valores de concentração podem ser considerados baixos, quando comparados com o teor médio para As-total, considerando diferentes tipos de solos, que é de 6,83 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias, 2011), e não se verificou uma tendência óbvia na sua variação durante os 3 anos do estudo.

A concentração de As no arroz produzido nos sistemas de rega por aspersão foi menor, quando comparado com o valor obtido no arroz produzido nos sistemas de rega tradicionais, por inundação (Tabela 1), corroborando os resultados obtidos por outros autores (Moreno-Jiménez et al., 2014). Muito importante, essa redução foi mantida durante os três anos do estudo, atingindo concentrações de As mais de 5 vezes menores nos tratamentos aeróbios do que nas condições de rega por inundação, e

sempre abaixo dos limites regulamentados.

No caso do As, os FB foram significativamente superiores nos sistemas de rega por inundação, quando comparados com os obtidos nos sistemas de rega por aspersão (Tabela 1). Porém, a aplicação de composto permitiu a diminuição desses valores de FB durante os 3 anos do estudo, de 0,43 para 0,19, permitindo uma diminuição do risco de acumulação de As no arroz, mesmo nos sistemas anaeróbios, embora sem diferenças significativas.

Tabela 1 – Concentração de As no solo e no arroz, e respetivos fatores de bioacumulação (adaptado de Alvarenga et al. (2022)) (valores médios, n=3). Resultados marcados com a mesma letra não apresentam diferenças significativas (teste de Tukey, p > 0,05): letras minúsculas comparam diferentes tratamentos no mesmo ano, e letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento em anos diferentes. D: sementeira direta; T: sementeira tradicional; A: aspersão; I: inundação; C: composto.

Ano	Trat.	As _{solo} (mg kg ⁻¹)	As _{arroz} (mg kg ⁻¹)	As _{arroz} / As _{solo}
1	DA	1,05 dC	0,025 cA	0,02 aA
	DAC	1,80 cB	0,051 bcB	0,03 aA
	TA	1,44 bC	0,064 abcA	0,04 aA
	TAC	2,26 aB	0,055 bcB	0,02 aA
	TI	1,66 cB	0,403 abAB	0,24 aba
	TIC	1,00 dC	0,439 aAB	0,43 bA
2	DA	2,14 dB	0,169 bA	0,08 aA
	DAC	2,92 aA	0,202 bA	0,07 aA
	TA	2,88 abA	0,206 bA	0,07 aA
	TAC	2,57 cB	0,144 bA	0,06 aB
	TI	2,61 bcA	0,669 aA	0,26 bA
	TIC	2,04 dA	0,751 aA	0,37 bA
3	DA	2,63 aA	0,055 bA	0,02 aA
	DAC	1,69 cB	0,049 bB	0,03 aA
	TA	2,22 bB	0,052 bA	0,02 aA
	TAC	2,90 aA	0,049 bB	0,02 aA
	TI	0,94 dC	0,262 aB	0,28 bA
	TIC	1,42 cA	0,268 aB	0,19 bA

O intervalo típico de concentrações de Cd em solos argilosos não contaminados é de 0,2 a 0,8 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias, 2011), dentro do qual estão compreendidos os valores encontrados nesta experiência (Tabela 2). Assim, apesar do aumento observado nas concentrações totais de Cd, em todos os tratamentos, durante os 3 anos de estudo, os valores permaneceram baixos. Uma possível explicação para o aumento de Cd no solo foi a aplicação de fertilizantes fosfatados, herbicidas e fungicidas, que são importantes fontes antrópicas de Cd para os sistemas agrícolas.

A aplicação de composto permitiu uma diminuição na concentração de Cd no arroz, em todos os tratamentos onde as

concentrações foram quantificáveis, relativamente à concentração de Cd obtido nas mesmas práticas agrícolas, mas sem aplicação de composto (Tabela 2). Três anos após a aplicação do composto, o efeito residual na sementeira direta com rega por aspersão foi mesmo suficiente para baixar a concentração total de Cd no arroz para valores abaixo do limite de quantificação da técnica ($<0,010 \text{ mg kg}^{-1}$).

Apesar das diferenças encontradas não terem sido significativas entre tratamentos, em cada ano, ou para o mesmo tratamento em anos diferentes, essa tendência, a da diminuição na bioacumulação de Cd como consequência da aplicação de composto em tratamentos aeróbicos, foi evidente, sendo uma solução importante para lidar com o aumento verificado na concentração de Cd no arroz produzido em condições de rega por aspersão (Moreno-Jiménez et al., 2014).

Tabela 2 – Concentração de Cd no solo e no arroz, e respetivos fatores de bioacumulação (adaptado de Alvarenga et al. (2022)) (valores médios, n=3). Resultados marcados com a mesma letra não apresentam diferenças significativas (teste de Tukey, $p > 0.05$): letras minúsculas compararam diferentes tratamentos no mesmo ano, e letras maiúsculas compararam o mesmo tratamento em anos diferentes. D: sementeira direta; T: sementeira tradicional; A: aspersão; I: inundação; C: composto.

Ano	Trat.	Cd _{solo} (mg kg ⁻¹)	Cd _{arroz} (mg kg ⁻¹)	Cd _{arroz} / Cd _{solo}
1	DA	< 0,01	0,098 aA	3,50 aA
	DAC	< 0,01	0,020 aB	2,00 aA
	TA	< 0,01	0,063 aA	3,50 aA
	TAC	< 0,01	0,017 aA	1,67 aA
	TI	< 0,01	< 0,010	1,00 aC
	TIC	< 0,01	< 0,010	1,00 aC
2	DA	0,19 bB	0,197 aA	0,88 cA
	DAC	0,25 aA	0,091 bA	0,49 abA
	TA	0,24 aB	0,169 aA	0,65 bcA
	TAC	0,20 abB	0,043 bA	0,22 abA
	TI	0,23 abB	< 0,010	0,04 aB
	TIC	0,20 abB	< 0,010	0,05 aB
3	DA	0,34 aA	0,080 aA	0,20 bA
	DAC	0,25 bA	< 0,010	0,04 aA
	TA	0,34 aA	0,092 aA	0,27 bA
	TAC	0,36 aA	< 0,010	0,09 aA
	TI	0,30 abA	< 0,010	0,03 aA
	TIC	0,34 aA	< 0,010	0,03 aA

Os FB para Cd diminuíram do primeiro ao terceiro ano do estudo (Tabela 2). Mais importante, os FB para o Cd são menores nas parcelas tratadas com composto, nos sistemas de rega por aspersão, em relação às suas contrapartes não tratadas (DA e TA), enfatizando o efeito benéfico da aplicação de composto para diminuir a biodisponibilidade de Cd em sistemas aeróbios.

Conclusões

A rega por aspersão na produção de arroz, com a aplicação simultânea de composto de bagaço azeitona, pode ser considerada uma boa solução para diminuir, em simultâneo, o risco de acumulação de As e Cd no arroz.

Agradecimentos

O suporte para este estudo foi dado pelas Bolsas GR21038 e IB16075, financiadas pelo Governo Regional da Extremadura, pela Bolsa RTI2018-095461-B-I00, financiada pelo MCIN/AEI/10.13039/501100011033 e pela “ERDF A way of making Europe”. F. Fernández recebeu uma Bolsa de incentivo à contratação de jovens investigadores do ESF *Investing in your future* (TE-0042-18). P. Alvarenga agradece o suporte dado pelo LEAF, financiado pela FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P., projeto UID/AGR/04129/2020 (LEAF).

Referências

- Alvarenga, P., Fernández-Rodríguez, D., Abades, D. P., Rato-Nunes, J. M., Albarrán, Á., López-Piñeiro, A. (2022). Combined use of olive mill waste compost and sprinkler irrigation to decrease the risk of As and Cd accumulation in rice grain. *Sci. Total Environ.* 835, 155488. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155488>
- European Commission (2006). Commission Regulation (EC) 1881/2006, of 19 December 2006, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 20.12.2006, L 364/5.
- European Commission (2015). Amending Regulation (EC) 1881/2006, as regards maximum levels of inorganic arsenic in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 26.6.2015, L 161/14.
- Fernández-Rodríguez, D. (2020). Sistemas Aeróbicos y Anaeróbicos del Cultivo del Arroz con Aplicación de Enmienda Orgánica: Comportamiento Agronómico y Flujo de Gases de Efecto Invernadero. PhD Thesis (in Spanish). Universidad de Extremadura. Badajoz.
- Hossain, M., Mestrot, A., Norton, G.J., Deacon, C., Islam, M.R., & Meharg, A.A., (2021). Arsenic dynamics in paddy soil under traditional manuring practices in Bangladesh. *Environ. Pollut.* 268, 115821.
- Kabata-Pendias, A., (2011). Trace Elements in Soils and in Plants. fourth ed. CRC Press. Boca Raton (USA).
- Moreno-Jiménez, E., Meharg, A.A., Smolders, E., Manzano, R., Becerra, D., Sánchez-Llerena, J., Albarrán, Á., & López-Piñeiro, A. (2014). Sprinkler irrigation of rice fields reduces grain arsenic but enhances cadmium. *Sci. Total Environ.* 485–486, 468–473.
- Sánchez-Llerena, J., López-Piñeiro, A., Albarrán, A., Peña, D., Becerra, D., & Rato-Nunes, JM. (2016). Short and long-term effects of different irrigation and tillage systems on soil properties and rice productivity under Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 77, 101-110.
- Sengupta, S., Bhattacharyya, K., Mandal, J., Bhattacharya, P., Halder, S., & Pari, A. (2021). Deficit irrigation and organic amendments can reduce dietary arsenic risk from rice: Introducing machine learning-based prediction models from field data. *Agric. Ecosyst. Environ.* 319, 107516.

Soil Characteristics Under the Influence of Cashew Trees in East-Timor

Características do Solo Sob a Influência do Cajueiro em Timor-Leste

Lara Guterres^{1,2,3,4*}, **Jorge D. Nunes**⁵, **Nuno Cortez**⁵

¹ Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food (LEAF), Instituto Superior de Agronomia (ISA), Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal

² Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes (cE3c), Faculty of Sciences, University of Lisbon, 1349-017 Lisbon, Portugal

³ Nova School of Business and Economics, Universidade Nova de Lisboa, Campus de Carcavelos, Rua da Holanda, n.1, Carcavelos, 2775-405 Cascais, Portugal

⁴ Universidade Nacional Timor Lorosa'e (UNTL), Díli, East-Timor

⁵ Centro de Estudos Florestais (CEF), Instituto Superior de Agronomia (ISA), Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal

* contact address laramariaaquino_guterres@yahoo.com.br

Abstract

Cashew (*Anacardium occidentale* L.) is among the most important cash crops in tropical countries. In East-Timor, nowadays, cashew has been implemented as an alternative cash crop to coffee. The aim of this work was to analyse the soils cultivated with cashew and verify whether there has been any change in their characteristics as a result of this plantation. In four selected sites, soil samples were collected under the cashew canopy (UC) and outside the canopy influence (OP) to assess soil dynamics and evaluate physical and nutrient variability. Significant differences were found on the amount of organic C and extractable K at the surface horizon, with much higher amounts of those elements in the area of influence of the trees. The same pattern was found for extractable P, total N, Cation Exchange Capacity (CEC) and exchangeable Ca^{2+} , Mg^{2+} and K^+ , however without statistical significances. Those differences are only evident at the surface horizon (0-10 cm) and the understorey vegetation seems not to be influenced by trees.

Keywords: cashew trees, soil nutrients, soil organic carbon, canopy influence

Resumo

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) está entre as mais importantes culturas comerciais dos países tropicais. Actualmente, em Timor-Leste, a cultura do caju tem sido muito implementada como alternativa ao café. O objectivo deste trabalho foi analisar os solos cultivados com caju e verificar se houve alguma alteração nas suas características em resultado desta plantação. Em quatro locais seleccionados foram recolhidas amostras de solo sob a copa dos cajueiros (UC) e fora da influência da copa (OP) para avaliar a dinâmica do solo e avaliar a variabilidade das suas características. Foram encontradas diferenças significativas na quantidade de C orgânico e K extraível no horizonte superficial, com quantidades muito mais elevadas desses elementos na área de influência das árvores. O mesmo padrão foi encontrado para o P extraível, o N total, a capacidade de troca catiónica (CTC) e o Ca^{2+} , o Mg^{2+} e o K^+ permutáveis, contudo sem que as diferenças encontradas tivessem significado estatístico. Estas diferenças são apenas evidentes no horizonte superficial (0-10 cm) e a vegetação sob coberto parece não ser influenciada pelas árvores.

Palavras-chave: cajueiro, nutrientes no solo, carbono orgânico do solo, influência das copas,

Introduction

Cashew (*Anacardium occidentale* L.) is among the most important cash crops in tropical countries, where is a major revenue at both governmental and smallholder farmers levels. Native from Brazil, cashew has expanded into tropical countries from Africa and Asia, due to its high value agriculture product, the cashew nut, (Salam and Peter, 2010). In East-Timor, nowadays, cashew has been implemented as an alternative cash crop to coffee, by the rural community, (Timor-Leste Ministry of Agriculture and Fisheries, 2012). Cashew was introduced in East Timor by the Portuguese in 18th century and was planted in several district as ornamental plant for daily consumption (reported). Cashew has been growing in arid and semiarid regions with temperatures from 17°C to 23°C and good adaptation to the varied dry climate.

The aim of this work was to analyse the soils cultivated with cashew and verify whether there has been any change in their characteristics as a result of this plantation.

Material and methods

Extensive field surveys on cashew orchards were conducted in seven districts in East-Timor and in Kefamenanu – Indonesia (2018-2020) to perform a global characterization under this agroforestry system. Cashew orchards were selected at four sites to study their soils: Sanirin and Maumali in Maliana Municipality, and Cribas and Natarbora in Manatuto Municipality (Figure.1)

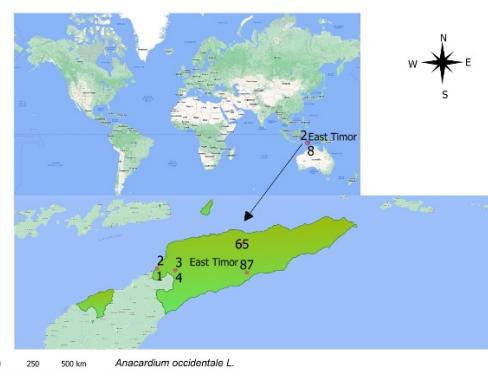


Fig. 1 – Cashew soil sites map location of Sanirin (1,2) Maumali (3,4), Cribas (5,6) and Natarbora (7,8), in East-Timor

According to East-Timor Soil Map (Garcia & Cardoso, 1978), the Sanirin site is located in one area characterized by soils of medium texture from the Soil Association A (sub-unit Am), composed mainly by Fluvisols (*Fluvissolos éutrinos*) and Kastanozems (*Castanozems fluviáplicos e fluvicálicos*), and also with Dystric Fluvisols and Cambisols as subdominant units, usually developed from modern alluvial deposits; at Maumali site, we have the Association of Soils Atc, composed of Fluvisols (*Fluvissolos calcários*) and Kastanozems (*Castanozems fluvicálicos*) developed from ancient alluvial deposits; at Cribas site the Association of soils was the At, with Eutric and Dystric Fluvisols, Kastanozems (*fluviáplicos* and *fluvicálicos*), and Cambisols (*Cambissolos fluvihúmicos*) developed also from ancient alluvial deposits. Finally, the soils at Natarbora site were from the complex TCMC, composed by the Soil Associations Atc (60%) and CMC (40%) being the last one mainly integrated by of Cambisols (*Cambissolos véticos calcários*), Regosols (*calcários*) and Rendzinas.

In each site, soil samples were collected under the cashew canopy (UC) and outside the canopy influence (OP) to assess soil dynamics and evaluate physical and nutrient variability.

The pH was measured by the electrometric method; organic C was determined by the wet digestion method (De Leenheer & Van Hove, 1958); the total N by the Kjeldahl method (Bremner & Mulvaney, 1982); cation exchange capacity (CEC) and exchangeable base cations (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ and Na^+) by atomic absorption spectrophotometry (AAS) after extraction with ammonium acetate at pH 7.0; and Egner-Riehm extractable P and K were measured by colorimetry (Watanabe & Olsen, 1965) and by AAS.

Results and discussion

Comparing the results of soil analysis of samples collected under the canopy (UC) and at open space (OP) from the four sites, we found a significant difference on the amount of organic C and extractable K at the surface horizon, with much higher amounts of those elements in the area of influence of

the trees. In fact, the average of organic C was 2.61% in the plots UC and 1.06% in the OP, while the average of extractable K was 623.32 mg kg⁻¹ UC and 89.05 mg kg⁻¹ in the OP (Table 1). This pattern is probably related with the effect of litterfall deposition, and of throughfall and stemflow waters coming from the trees, as have been already reported for other species in Portugal, (Cortez & Madeira, 1998, Cortez et al., 2004, Nunes, 2004).

Table 1 – Mean values ± standard error (n=4) of pH, organic C, total N and extractable P and K of the soils under canopy (UC) and at open space (OP) of *Anacardium occidentale* plantations at 0-10, 20-30, 40-50, and 60-70 cm deep.

	pH		Org. C	Total N	Extr. P	Extr. K
	H ₂ O	KCl	(%)	(g kg ⁻¹)		(mg kg ⁻¹)
0-10 cm						
UC	6.10	5.21	2.61	2.13	225.69	623.32
	±	±	±	±	±	±
OP	0.29	0.45	0.75	0.89	214.76	400.79
	*				*	
OP	6.31	4.65	1.06	0.85	20.52	89.05
	±	±	±	±	±	±
OP	0.37	0.19	0.20	0.14	9.30	22.93
	*				*	
20-30 cm						
UC	6.17	4.36	0.69	0.63	15.36	131.27
	±	±	±	±	±	±
OP	0.34	0.34	0.07	0.04	8.58	23.65
	*				*	
OP	6.35	4.63	0.65	0.66	11.80	80.46
	±	±	±	±	±	±
OP	0.43	0.26	0.08	0.08	6.77	20.60
	*				*	
40-50 cm						
UC	6.19	4.53	0.53	0.57	14.05	111.86
	±	±	±	±	±	±
OP	0.33	0.26	0.05	0.09	7.74	28.82
	*				*	
OP	6.36	4.56	0.45	0.59	12.77	72.63
	±	±	±	±	±	±
OP	0.43	0.23	0.09	0.10	7.24	9.83
	*				*	
60-70 cm						
UC	6.15	4.47	0.48	0.47	17.36	70.41
	±	±	±	±	±	±
OP	0.39	0.28	0.06	0.10	9.93	22.15
	*				*	
OP	6.38	4.70	0.52	0.47	17.39	61.66
	±	±	±	±	±	±
OP	0.39	0.30	0.10	0.10	10.30	20.95

* in the same column indicate significant differences (P < 0.05) estimated by the Mann-Whitney-Wilcoxon Test.

The same patterns were found for extractable P, total N, CEC and exchangeable Ca²⁺, Mg²⁺ and K⁺, however without statistical significance. The average values under canopy and in the open space were, respectively, 225.69 and 20.52 mg kg⁻¹ for extractable P, 2.13 and 0.85 g kg⁻¹ for total N (Table 1), 22.38 and 10.22 cmol_c kg⁻¹ for CEC, 16.09 and 12.50 cmol_c kg⁻¹ for exchangeable Ca²⁺, 3.46 and 3.09 cmol_c kg⁻¹ for exchangeable Mg²⁺, and 1.40 and 0.50 for exchangeable K⁺ (Table 2).

When we look further, for the second horizon of those soils, at 20 to 30 cm deep, those differences on soil characteristics almost disappear. We only find the same pattern of larger amounts under canopy than in open space for the extractable K (respectively 131.27 and 80.46 mg kg⁻¹), the extractable P (15.36 and 11.80 mg kg⁻¹), and also for the exchangeable K (1.40 and 0.50 cmol_c kg⁻¹), thus, the effect of the trees on the characteristics of the soils seems to be present only in the upper part of the soil profile (Tables 1 and 2).

Table 2 – Mean values ± standard error (n=4) of exchangeable Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ and K⁺, total cations (SB) and cation exchange capacity (CEC) of the soils under canopy (UC) and at open space (OP) of *Anacardium occidentale* plantations at 0-10, 20-30, 40-50, and 60-70 cm deep.

	Ca	Mg	Na	K	SB	CEC
	cmol _c kg ⁻¹					
0-10 cm						
UC	16.09	3.46	1.47	1.40	22.41	22.38
	±	±	±	±	±	±
OP	8.57	0.80	0.03	0.84	10.23	6.01
	±	±	±	±	±	±
OP	12.50	3.09	1.81	0.50	17.89	10.22
	±	±	±	±	±	±
OP	7.00	1.09	0.14	0.14	8.18	5.84
	*				*	
20-30 cm						
UC	8.66	2.71	1.52	0.38	13.26	11.70
	±	±	±	±	±	±
OP	4.55	0.95	0.09	0.09	5.37	2.61
	±	±	±	±	±	±
OP	9.73	2.77	1.43	0.15	14.07	13.89
	±	±	±	±	±	±
OP	5.37	1.04	0.04	0.09	6.42	2.88
	*				*	
40-50 cm						
UC	7.68	2.99	1.51	0.16	12.34	10.63
	±	±	±	±	±	±
OP	3.24	0.93	0.03	0.07	4.16	1.90
	±	±	±	±	±	±
OP	8.51	3.33	1.60	0.22	13.66	11.08
	±	±	±	±	±	±
OP	4.34	1.67	0.06	0.07	5.99	2.74
	*				*	
60-70 cm						
UC	6.70	3.29	1.76	0.38	12.13	10.46
	±	±	±	±	±	±
OP	2.65	1.45	0.13	0.11	4.33	2.51
	±	±	±	±	±	±
OP	7.07	2.96	1.62	0.33	11.97	9.18
	±	±	±	±	±	±
OP	2.94	1.07	0.13	0.11	4.22	2.62
	*				*	

* in the same column indicate significant differences (P < 0.05) estimated by the Mann-Whitney-Wilcoxon Test.

Furthermore, the accumulation of organic C, extractable K and P, total N, and exchangeable K⁺ is much more evident in Sanirin site, where those parameters reached values of 4.83% for the C, 1817.27 mg kg⁻¹ for extractable K, 869.85 mg kg⁻¹ for extractable P, 4.73 g kg⁻¹ for the total N and 3.91 cmol_c kg⁻¹ for the exchangeable K⁺, than in the other sites. In fact, it was reported before that the dynamics of nutrients and pH of the soil depend on the amount of elements coming from rainfall, stemflow and throughfall, leading to variations in soil with

distance from the tree trunk, as a result from the different amount of nutrients incorporated in the soil as well as the different annual deposition flows, (Cortez & Madeira, 1998, Cortez et. al. 2004, Nunes, 2004).

On the contrary, those differences between soils under canopy and in open space are much less evident in Maumali site, where we have more clayey soils, with amounts of organic C of 1.69% under canopy and 1.50% in open space, and exchangeable K⁺ of 0.63 cmol_c kg⁻¹ UC and 0.60 cmol_c kg⁻¹ in OP. But also in Cribas site, in a sandy loam soil, the total N was 1.13 g kg⁻¹ under canopy and 0.96 mg kg⁻¹ in open space, and the amount of extractable P was a little higher in open space than under canopy.

The understory vegetation does not seem to be influenced by the trees, as the same species can be found both under canopy and at open space, like, for example, some herbaceous varieties as *Eleusine indica*, *Sida acuta*, and *Elephantopus scaber*.

In addition, it was not possible to relate cashew productivity to soil characteristics in the different locations, as the quantities of cashew produced were heavily influenced by the existence of many pests and diseases, due to the lack of phytosanitary management.

Conclusions

Overall, our results show few differences inside and outside cashew canopy thus highlighting that cashew does not limit soil nutrients. More future studies to analyse the effect of canopy coverage on differences in soil properties under and outside canopies are needed to assess the effect of the cashew land-use and determine the beneficial effect of agroforestry of this cropping system

Acknowledgements

This research was supported by the Portuguese Science and Technology Foundation (FCT), through a PhD scholarship (SFRH/BD/135358/2017) for the TropiKMan PhD course in Tropical

Knowledge and Management of Nova School of Business & Economics.

Thanks to the coordinator and technicians of Instituto Superior de Agronomia soil laboratory (Prof. Erica Santos, Maria João Novo and Ana Maria Baptista) and also to Prof. Maria Manuel Romeiras for the coordination of the research project and to Prof. Filipa Monteiro.

Thanks also to the Government of Timor-Leste, particularly the Ministry of Agriculture, Fisheries and Forestry, for all the support given during the field research and all the members of the ministry, students (Honório, Boaventura, Jacob, João and Fátima), and friends José Freitas, Prof. Gabriela Guterres and Prof. Fernando Anuno, who collaborated in this research directly and indirectly.

References

- Bremner, J. M. & Mulvaney, C. S. (1982). nitrogen - total. In A. L. Page, R. H. Miller & D. R. Keeney (Eds.) *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*, Agronomy Monograph nº. 9 (2nd. Edition), pp. 595-624. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
- Cortez, N. & Madeira, M. (1998). The effect of Eucalyptus globulus plantations on soil nutrient status. In *Proceedings 16th World Congress of Soil Science*, Scientific reg. nº 1885 Symposium nº 33, Montpellier (CD-ROM edition).
- Cortez, N., Nunes, J. & Madeira (2004). Efeito do escorrimento ao longo dos troncos de *Eucalyptus globulus*, *Pinus pinaster* e *Quercus rotundifolia* no padrão de variação espacial de propriedades do solo. *Rev. Ciências Agrárias*, XXVII (1): 470-480.
- De Leenheer, L. & Van Hove, J. (1958). Determination de la teneur en carbone organique des sols. Étude critique des méthodes titrimétriques. *Pédologie*, 8: 39-77.
- Duarte, A., Santos, J., Diana, F., Gonçalves, J., Dias, A., & Inês, F. (2021). Exemplo de título de artigo em jornal. *Soil*, 25(2), 133-140. doi:10.1000/183
- Garcia, J. S. & Cardoso, J. C. (1978). *Os Solos de Timor*. Memórias da Junta de Investigações Científicas do Ultramar, nº 64 (segunda série), Lisboa.
- Nunes, J. (2004). Interacção solo-árvore isolada em montados de azinheira (*Quercus rotundifolia* Lam.): processos fundamentais. *Dissertação para a obtenção do grau de Doutor em Biologia*. Universidade de Évora, Évora.
- Salam and Peter. (2010). Salam, M. A., and Peter, K. V. *Cashew - A Monograph*. New Delhi: StudiumPress (India) Pvt. Ltd, p. 2.
- Timor-Leste Ministry of Agriculture and Fisheries. (2012). *Timor-Leste Ministry of Agriculture and Fisheries, Agriculture and Land-use*.
- Watanabe, F. S. & Olsen, S. R. (1965). Test of an ascorbic acid method for determining phosphorous in water and NaHCO₃ extracts from soil. *Soil Science Society of America Proceedings*, 29: 677-678.

Soil adequation with organo-mineral substrates designed from wastes for Blueberry

Adecuación del suelo con substrates organo-minerales diseñados a partir de residuos para el arándano

1González-Guzmán, Adrián* and 2,3Arán Ferreiro, Diego

¹ Agronomy Department, University of Córdoba (Unidad de Excelencia María de Maeztu 2020-2023). Edificio C4, Campus de Rabanales, Ctra. Madrid, km 396, 14071 Córdoba/Research Fellowship at School of Agriculture, University of Lisbon (ISA). Email: guzman_agg@hotmail.com/z52gogua@uco.es

²Iniproyen Consulting SL; A Coruña (Spain) and Lima (Perú). ³Linking Landscape Environment Agriculture and Food (LEAF), Instituto Superior de Agronomía. Tapada da Ajuda 1349-017 Lisboa, Portugal. Email: diegoaran@iniproyen.com

Abstract

Perú is the world greatest exporter of blueberry, crop that needs acid soil pH and high content of organic matter. The later is obtained from forest topsoil or peat (from north of Europe), unsustainable fact. This study shows a friendly environmental and sustainable alternative, organo-mineral substrates made by wastes ("Agrotec").

Four treatments [Control (C), Chicken manure (CM), Agrotec A (AA) and Agrotec B (AB)] were used for basal dressing, where 6 months age blueberry plants were planted. It was followed a completely randomize block experimental design monitoring either edaphic and plant physiology parameters for ~9 months.

Soil results showed how CM supply a high —but punctual— dose of nutrients and organic matter. Contrarily, designed substrates Agrotec A and B released nutrients gradually because were previously stabilized, which triggered a slow mineralization within soil. Thus, soil parameters under CM application showed an unstable behaviour respect to AA and AB. Physiological results showed a fruit yield increase with AA a AB (100 and 44%) compared to CM. Even though they are preliminary results in field conditions, it seems that designed substrates are efficient along the time and a sustainable alternative for blueberry soil adequation.

Keywords: Organo-mineral substrates, waste recovery, Peru's coast soils, organic matter, Agrotec

Resumen

Perú es el mayor exportador mundial de arándano, el cual necesita suelos con pH ácido y altos contenidos de materia orgánica. Esta última se obtiene del horizonte superficial de los suelos forestales o de turberas (procedente del norte de Europa), lo cual es una práctica insostenible. Este estudio muestra alternativas sostenibles, los substratos órgano-minerales elaborados a base de residuos ("Agrotec").

Cuatro tratamientos [Control (C), Gallinaza (CM), Agrotec A (AA) y Agrotec B (AB)] fueron usados como abonado de fondo, donde plantas de arándano de 6 meses de edad fueron transplantadas. Se realizó un diseño experimental de bloques al azar monitoreando tanto los parámetros edáficos como fisiológicos durante ~9 meses.

Los resultados del suelo mostraron como la gallinaza aportó una gran cantidad —pero puntual— de nutrientes y materia orgánica. Por el contrario, los substratos diseñados Agrotec A y B liberaron gradualmente los nutrientes debido a su previo proceso de estabilización, lo cual permite una mineralización más lenta en el suelo. Los resultados fisiológicos mostraron un incremento en el rendimiento con AA y AB (100 y 44%) comparado a la gallinaza. Aunque son resultados preliminares en campo, los substratos diseñados son eficientes a lo largo del tiempo y son una alternativas sostenibles para la adecuación del suelo para el arándano.

Palabras clave: Substratos órgano-minerales, valorización de residuos, suelos costeros de Perú, materia orgánica, Agrotec

Introduction

Agriculture plus food chain service accounts for 11.3% of gross domestic product (GDP) of Perú (BID, 2021). This sectors is growing fast, reaching 7500 million USD in exportation in 2020, becoming Perú the highest exporter of blueberry, overcoming 1000 million USD and ~15000 has of blueberry crop (AGN, 2020).

Perú's weather let to grow high productive varieties such as *Biloxi* (most extended in the country). However, majority of crop lands are at Peru's coast, where soil properties are no adequate for this crop. Blueberry plants required acid soils (pH between 4.5–6), and high content of organic matter (15–20 g kg⁻¹). In this sense, it is needed a soil correction management to adequate them to blueberry crop.

Nowadays, farmers are cropping in big pots filled with organic matter (mix of husk and bark), buying top-soil from the mountains, transport peat from north of Europe or use manure to fulfil the organic matter requirements of blueberry crop. For instance, chicken manure is the most demanded one due to the high fertilization properties but its price is more expensive.

Therefore, the objective of Inprojen was to develop organo-mineral substrates from different wastes to fulfil blueberry organic matter and other soil parameters requirements.

Material and methods

Experimental design

Study field occupied 975 m² disposed in four blocks with four treatments in each one. Each treatment contain seven plants of blueberry (*Vaccinium corymbosum* var. *Biloxi*).

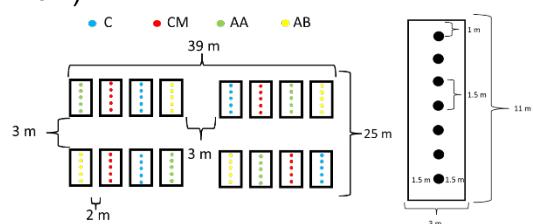


Figure 1: Randomized block experimental design. C:Control; CM: chicken manure; AA & AB:Agrotec A & B.

Waste identification and characterization

Samples from 19 companies were taken to be physically and chemically analyzed. These companies are located in three different Peru's departments (La Libertad, Lambayeque and Piura) surrounding the experimental area (Trujillo).

Design and implementation of substrats

It was made a theoretic design of different proportions of wastes to synthesize two different organo-mineral substrates for blueberry. Once formulas were done, the next steps of the process were waste storing, mix and homogenization and maduration. Thus, it was get the two organo-mineral substrates, Agrotec 1 (AA) and Agrotec 2 (AB), that together with the Chicken manure (bought) and Control (no application) comprise the four treatments. All were analyzed physically and chemically (Table 1) before applying them in a trench —9 × 0.5 × 0.35 m— as base dressing with a rate of 40 tons per ha.

Table 1. Physico-chemical properties of four treatments

ID	pH	EC	OM	N	P	K
Units		µS cm ⁻¹		mg kg ⁻¹		
C	8.8	146	1.3	404	981	852
CM	9.5	8090	284	8313	12900	15650
AA	7.2	5130	455	2100	3329	17060
AB	7.7	7973	435	3330	3963	15135

EC: electrical conductivity; OM: organic matter; N,P and K: Total nitrogen, phosphorus and potassium

Blueberry plants and irrigation

Blueberry plants were buying in a nursery and planting in each ridge, being watered with ~2.3 L/day/plant through the installed drip irrigation system.

Soil and plant monitoring

Soil parameters and plant physiology were analyzed during 9 months. It was done four soil samplings to analyze parameters such as pH, Electrical Conductivity (EC), Organic matter (OM), Cation Exchange Capacity (CEC), available micronutrients, among others. Plant physiology samplings were done in leaves and fruits, analysing either number, size (23 samplings), as well as elemental composition (two samplings).

Results

Soil evolution

Figure 2 shows pH evolution for four treatments. The decrease of pH was higher but irregular with CM treatment. The soil OM under different substrate treatments is very similar 188 days after planting (DAP) —Control excepted—, even though Chicken Manure treatment showed a big difference respect to others 53 DAP (Figure 3).

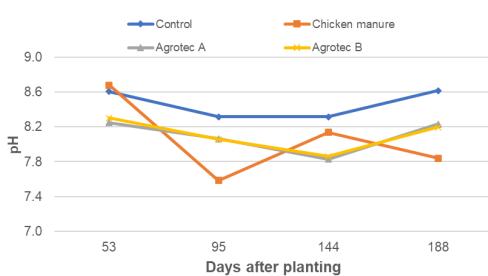


Figure 2: Evolution of soil pH throughout edaphic monitoring

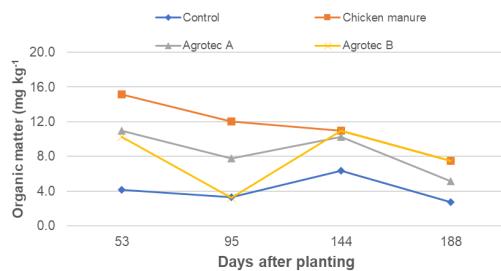


Figure 3: Evolution of organic matter in soil throughout edaphic monitoring

Total N in soil rapidly decreases in all treatments showing a rare increase 188 DAS discussed in next section.

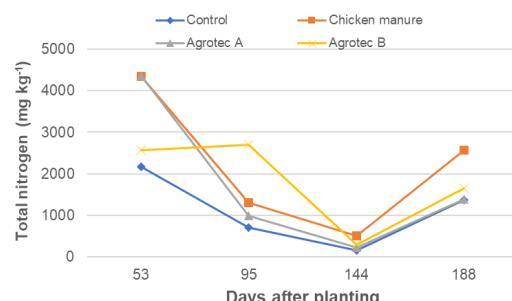


Figure 4: Evolution of total nitrogen in soil throughout edaphic monitoring

The available phosphorus in soil (P Olsen) was very high with all treatments, highlighting the high strong decrease suffered by Chicken Manure treatment from 53 to 95 DAP.

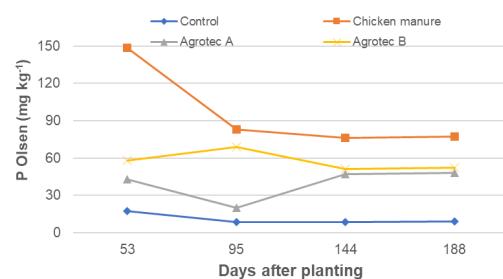


Figure 5: Evolution of availability of phosphorus in soil throughout edaphic monitoring

One of the parameters that should be taking into account when manure is applied is the EC because it used to be high and can cause crop yield losses. Soil under CM treatment showed values of $1500 \mu\text{S cm}^{-1}$ 54 DAP that decreased to $900 \mu\text{S cm}^{-1}$ 188 DAP; whilst Agrotec A and B went from 600 to $500 \mu\text{S cm}^{-1}$.

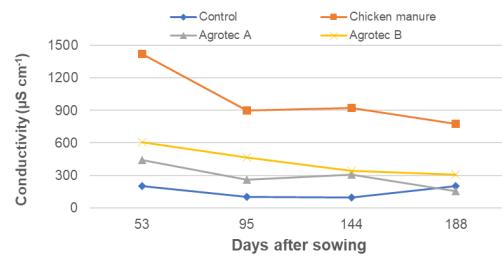


Figure 6: Evolution of soil electrical conductivity throughout edaphic monitoring.

Crop performance

Blueberry was producing fruits during more than two months. These berries showed the highest size with Agrotec B and the lowest with Chicken manure (Figure 7). Even though plants were very small and the production was low, there were notable differences between treatments relative to blueberry yield (Figure 8). Agrotec B showed the best yield followed by Agrotec A, being 100 and 44% higher than CM treatment. This differences are related with the number of fruits produced which followed same trend as yield (Figure 9).

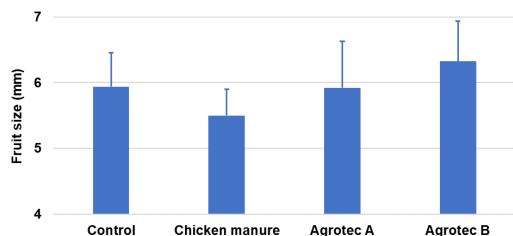


Figure 7: Size of blueberry fruits (mm) under different treatments

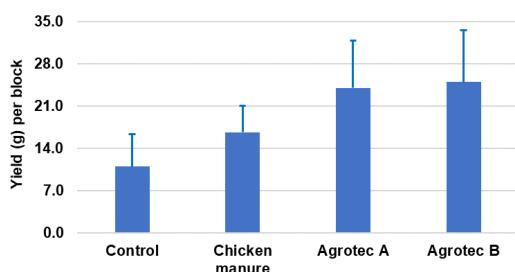


Figure 8: Total yield (g) per treatment and block (seven plants).

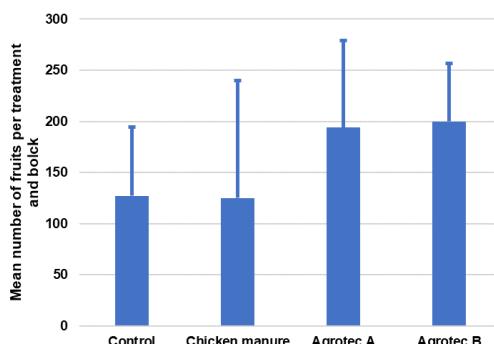


Figure 9: Number of fruits produced by blueberry plants under different treatments

Discussion

Soil properties are seemingly better when chicken manure is applied, but this results did not correspond with the plant performance. The main explanation is the lack of stabilization of the Chicken manure substrate and its organic matter, mainly. This substrate quickly increases the soil OM content, as well as the amount of other nutrients, which cannot be absorbed by the plant as quick as they are delivered. However, Agrotec A and B, although did not fulfil pH value as expected, they showed a

balanced behaviour along the experiment. This study can claim that “more is not always better” and a gradually nutrient delivery could be better for plant performance as it was shown here. Size of berries is one of the most valuable properties in blueberry crops. So, this parameter together with the increase in yield and number of fruits by Agrotec supports the need of a stabilization process of labil organic matter before applying into the field but also the use of more sustainable organic matter sources. Thus, waste recovery is a better alternative to adjust soil properties for blueberry crop due to decrease the waste produced, practice a circular economy and enhance soil properties and consequently the crop.

Conclusion

Create substrates from waste recovery for blueberry crop is possible. Besides, a correct design of Agrotec let fulfil the most important soil and plant requirements and as it was shown with CM treatment “More, is not always better”. Finally, it can be claimed that a stabilized substrate such as Agrotec A and B enhance the performance of blueberry crop, specially Agrotec B.

Bibliography

AGN, Agencia Agraria de noticias de Perú, 2020. <https://agraria.pe/noticias/en-peru-se-instalan-cada-ano-2-mil-hectareas-de-arandanos-22151#:~:text=Detall%C3%B3nque%20de%20las%2012,Arequipa%20y%20Tanca%2060%20ha>

BID, Banco Interamericano de Desarrollo, 2021. Los arándanos en el Perú. NOTA TÉCNICA N° IDB-TN-2324. Piero Ghezzi and Ernesto Stein.

Acknowledgments

This study was co-financed by PROInnovate Perú under agreement n° 597-INNOVATEPERU-PIEC1-2020, by the Ministry of Production (Perú).

Qualidade da matéria orgânica e perda de fitotoxicidade em estágios progressivos da compostagem de bagaço de azeitona

Organic matter quality and phytotoxicity loss in progressive composting stages of olive pomace

Zulimar Hernández^{1,2}, Daniel Figueiredo¹, Ana Caroline Royer^{3,4}, Felicia Fonseca³,

Gonzalo Almendros^{5,2}, Tomás de Figueiredo^{3,2*}

¹ MORE-Laboratorio Colaborativo, Edifício Brigantia Ecopark, Av. Cidade de Léon 506, 5300-358 Bragança, Portugal

² Grupo de Investigación RIESGOS, Dpto. Geografía, Universidad Autónoma de Madrid (UAM), C/ Francisco Tomás y Valiente 1, 28049 Madrid, Spain

³ CIMO-Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança (IPB), Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal; *tomasfig@ipb.pt

⁴ CICA-Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas, Universidad de A Coruña (UDC), Rúa As Carballeiras, 15071, A Coruña, Spain

⁵ MNCN, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), C/ Serrano 115 B, 28006 Madrid, Spain

Resumo

Foram avaliados quatro tratamentos de compostagem aeróbica com diferentes matérias primas (BA: bagaço de azeitona, ES: estrume, CA: casca de amendão) durante 176 d: pilha A com 44% BA, 25% ES, 25% CA e revolvimento; pilha B com 44% BA, 11% ES, 44% CA e revolvimento; pilha C com 25% BA, 50% ES, 25% CA e revolvimento; pilha D com 44% BA, 11% ES, 44% CA e sem revolvimento, de modo a testar os três fatores limitantes do BA: alta relação C/N, elevada humidade e teor de polifenóis. As variáveis analisadas nas pilhas, quinzenalmente, foram ($n=160$): densidade, humidade, fração grosseira, pH, condutividade elétrica (CE), matéria orgânica (MO), cinzas e cor; a análise elementar CHNO foi determinada por análise química elementar e a fitotoxicidade conforme o índice de Munoo-Liisa (MLV). Os resultados do diagrama de Van Krevelen (H/C vs O/C) mostram uma ligeira deshidrogenação nos primeiros 98 d, seguida por uma degradação seletiva de hidratos de carbono e um aumento da aromatização após 120 d. A análise de componentes principais (ACP) mostrou que a maior variabilidade é explicada pela qualidade da MO (83%), onde o teor de C (C/N alta) diminui conforme aumenta a disponibilidade de N e o pH. Por outro lado, verifica-se que a MLV é explicada (52%) pela alifaticidade dos constituintes orgânicos no composto (H/C alta).

Palavras-chave: MLV, análise elementar, diagrama de Van Krevelen, alifaticidade

Abstract

Four treatments of aerobic composting with different raw materials (BA: olive pomace, ES: manure, CA: almond husk) were evaluated during 176 days: pile A with 44%BA, 25%ES, 25%CA and turning; pile B with 44%BA, 11%ES, 44%CA and turning; C pile with 25%BA, 50% ES, 25%CA and turning; D pile with 44%BA, 11%ES, 44%CA and without turning over, in order to test the three limiting factors of BA: high C/N ratio, humidity and content of polyphenols. The routine variables analyzed bi-weekly were ($n=160$): density, humidity, coarse fraction, pH, electric conductivity (EC), organic matter (OM), ash and color; CHNO was determined by chemical elemental analysis and the phytotoxicity according to the Munoo-Liisa index (MLV). Van Krevelen diagram's results (H/C vs O/C) show a slight dehydrogenation in the first 98 d, followed by a selective degradation of carbohydrates and an increase in the aromatization of the compounds after 120d. The principal component analyses (PCA) showed that the greatest variability is explained by the OM quality axis (83%), where the C content (high C/N) decreases as the N availability and pH increases, on the other hand, the MLV was explained (52 %) by the aliphaticity of the organic constituents in the compost (high H/C).

Keywords: MLV, elemental analyses, Van Krevelen diagram, aliphaticity

Introdução

Portugal produz anualmente cerca de 100 Gg de azeite (5% da produção mundial), em cujo processo industrial de extração em contínuo (2 fases) se geram mais de 547 Gg por ano de BA.

A mudança no processo industrial ocorrida nos lagares nos últimos 20 anos, passando de um sistema de extração contínuo de 3 para 2 fases, resolveu o problema do elevado consumo de água e da produção das águas ruças associados ao primeiro caso: Todavia, passou a gerar-se um BA mais húmido (65–70% de humidade) (Albuquerque, et al., 2006). O problema ambiental transitou para as indústrias extratoras de óleo de bagaço onde, com graves impactos, cada ano se concentram toneladas de BA em lagoas ao ar livre.

Desde 2020, o BA não tem qualquer valor económico e os mais de 130 mil lagareiros têm de assumir os custos do transporte deste subproduto para as indústrias extratoras. Na falta de soluções tecnológicas, persiste o alto risco ambiental de que o BA seja despejado no solo sem tratamento prévio, causando fitotoxicidade, situação para a qual urge encontrar alternativas.

A natureza orgânica do BA, o qual contém um alto teor de lenhina e celulose, alguma gordura e ausência de metais pesados, converte-o numa matéria-prima interessante para compostagem aeróbica. A maioria dos estudos de compostagem à escala industrial não têm sido conclusivos (Tüzel et al., 2020), reconhecendo a dificuldade em compostar um material que é pastoso, saturado de água e contém um alto teor de polifenóis, o que o torna fitotóxico.

Alguns dos tratamentos industriais desenvolvidos até agora concluem que é necessário aumentar o tempo de compostagem (até 9 meses) e a frequência dos revolvimentos mecânicos, ou a aplicação de ar forçado, o que encarece o processo industrial (de 0,12€/t para 0,63€/t). Apesar disso, grande parte dos autores considera aceitável o grau de maturidade e estabilidade dos compostos obtidos, nos quais estão presentes os percursores orgânicos das substâncias húmidas (Droussi, et al.,

2009). Todavia, não são ainda bem conhecidos os mecanismos de degradação dos polifenóis e de outros compostos fitotóxicos.

Foi objetivo principal da investigação subjacente a este estudo avaliar, ao longo do processo de compostagem, a evolução de três características do BA que se reconhecem como fatores limitantes da atividade microbiana, a saber, elevada razão C/N, elevado teor de humidade e densidade e elevada fitotoxicidade.

Material e métodos

Delineamento e amostragens

Foram desenvolvidos 4 tratamentos de compostagem à escala industrial (pilhas de 27 m³) com diferentes doses de BA e outras matérias-primas como o ES e a CA como agente estruturante, cujas principais propriedades fisicoquímicas se apresentam no quadro 1. A temperatura dentro e fora da pilha foi registada diariamente e a do ar e evapotranspiração potencial foram obtidas duma estação meteorológica próxima (menos de 1 km). Os tratamentos A, B e C foram sujeitos a 6 revolvimentos ao longo da compostagem. O tratamento D, com composição igual à do A, não foi revolvido. As pilhas foram regadas quando necessário, de modo a garantir um teor de humidade próximo de 66%. Foram colhidas 3 a 5 amostras ao longo do eixo central das pilhas, aos 0, 15, 34, 58, 77, 98, 120, 148 e 176 dias de compostagem (160 amostras no total), para posterior análise laboratorial. Para além disso, foram colhidas amostras não perturbadas para determinação da densidade aparente (DapH) e teor de humidade.

Determinações analíticas

Com exceção destas últimas, as amostras secas a 65°C foram trituradas e crivadas (2 mm), quantificando-se a fração grosseira (Egr). Dados da cor (índices ah/Lh) foram processados com o software GIMP®. O pH em água 1:2.5 (p/v) e a condutividade elétrica (CE) 1:5 (p/v) foram medidos com um potenciômetro e medidor de condutividade Combi 5000, respetivamente. O carbono orgânico total (COT) e o azoto total

(N_{total}), assim como as relações elementares C/N, H/C e O/C, foram obtidas por análise química elementar (AQE) com um LECO CHNS-932, e foram calculadas as cinzas após combustão em mufla a 500°C. Para avaliação da fitotoxicidade da mistura em compostagem, foram determinados o MLV (índice inverso de Munoo-Liisa, %) e o índice de germinação (GI), com base em ensaios com sementes de agrião (*Lepidium sativum* L.), nos quais se mediou o comprimento da raiz (RI), usando o software *Image J*® (Zucconi et al., 1981). Por último, foi utilizado o Statgraphics Centurion V para tratamento estatístico da informação.

Quadro 1 – Proporções das matérias-primas e Razão C/N inicial da mistura dos 4 tratamentos (Pilhas).

Trata- mento	Revolvi- mento	Proporção (%)			C/N Mistura inicial
		BA	ES	CA	
A	Com	31	8	62	30
B	Com	44	11	44	30
C	Com	25	50	25	20
D	Sem	31	8	62	30

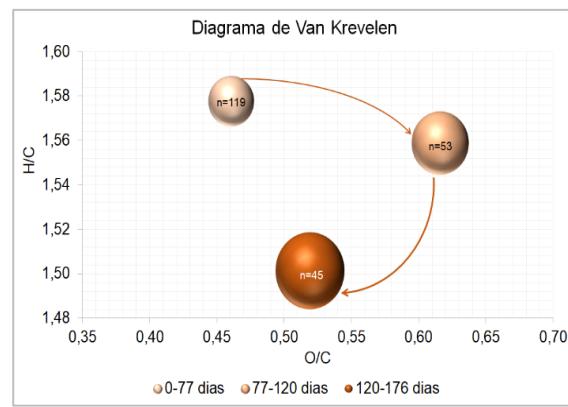
Resultados e discussão

Os resultados da análise elementar CHNO permitiram monitorizar o processo durante os 176 dias de compostagem, observando-se uma importante perda de peso no primeiro mês (20%), seguida de rápida mineralização de C e N orgânicos. Este processo foi mais rápido na pilha C (com menos BA), onde a perda de N é favorecida pelos altos valores de pH (>8). No entanto, nas pilhas A, B e D, que contêm mais BA, o processo de mineralização de N foi menos expressivo, registando-se perdas de N abaixo de 7% nos primeiros 6 meses de compostagem.

O Diagrama de Van Krevelen (H/C vs O/C), comunmente usado para estudar o progresso da humificação (Hernández et al., 2019), demonstra poucas alterações na natureza dos compostos orgânicos nos primeiros 4 meses, fase mesófila, na qual se produz ligeira deshidrogenação (baixa H/C) ou perda de grupos alifáticos ($-CH_2$), provavelmente associada à degradação de gorduras vegetais, como o ácido oleico, ainda presente no BA (~3%). Observa-se, também, degradação seletiva de hidratos de carbono a partir dos 120 dias (baixa

O/C), fase de maturação, o que conduz a um aumento da aromatização dos restos orgânicos compostados (Fig. 1).

Fig. 1 – Diagrama de Van Krevelen: valores médios em três estados de compostagem (fase termófila, mesófila e de maturação). Nota: Tamanho da bola indica dias desde o início



da compostagem (77, 120 e 176 d) e nº amostras.

O índice MLV diminuiu de forma geral durante o processo de compostagem (Fig 2). Pode observar-se que as pilhas A, B e D perderam fitotoxicidade em apenas 120 d (MLV~50-65%), a pilha B alcançando a maior taxa de germinação e índice de comprimento radicular aos 148 d (GI~0,8; RI~0,9). A pilha C manteve-se fitotóxica ainda aos 156 d de compostagem (MLV~20%; GI~0,6, RI~0,3).

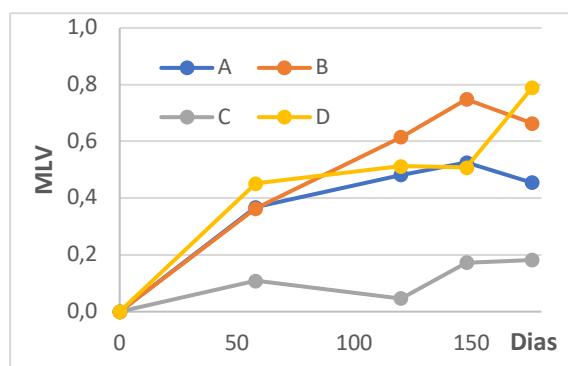


Fig. 2 – Valores médios de fitotoxicidade (MLV) durante a compostagem (0, 58, 120, 148 e 176 d).

De modo a identificar as variáveis que melhor explicam a fitotoxicidade durante a compostagem, aplicou-se uma ACP com as variáveis determinadas, que mostra que o primeiro eixo de variabilidade (Fig. 3) reúne elementos associados à qualidade da matéria orgânica nos diferentes estágios da compostagem (83%). De facto, maior teor de COT e menor de N_{total} (C/N alta),

significando matéria orgânica menos decomposta, correlacionam bem com a cor (ah), tornando-a um bom indicador do estágio de compostagem. A alta correlação do N_{total} com o pH e o teor de cinzas (inverso da perda de peso) indica que o processo de amonificação é favorecido para valores altos de pH. Se tal indica que a compostagem favorece a passagem do N orgânico a formas assimiláveis, sugere também que a regulação do pH durante a compostagem pode ser crucial para minimizar perdas de N-NH₃.

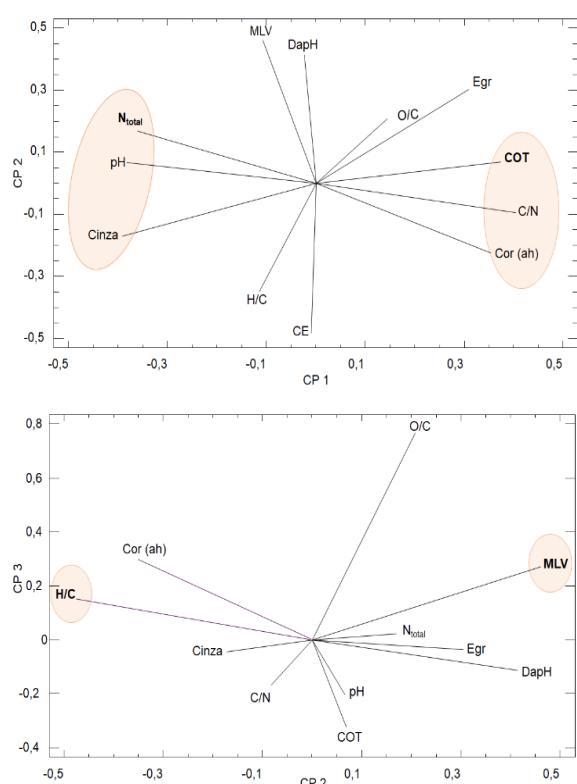


Fig. 3 – Valores próprios das variáveis analisadas representados nos eixos (componentes) identificados na ACP (83% CP1vs CP2).

Por outro lado, o segundo eixo de variabilidade (52%) é explicado pela fitotoxicidade do composto em formação. O MLV é inversamente correlacionado com H/C, isto é, quanto maior o teor de compostos alifáticos (alta H/C) maior a fitotoxicidade. Este efeito é mais expressivo na pilha C, com menos BA, a que manifestou fitotoxicidade em estágios avançados de compostagem (Fig. 4).

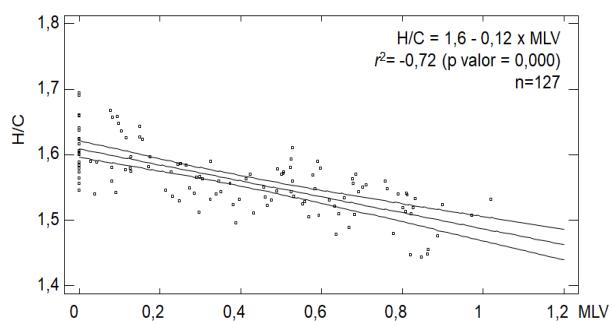


Fig. 4 – Regreção simple entre MLV e H/C (P valor 0,000, $r^2 = -0,72$)

Conclusões

A elevada fitotoxicidade do BA é significativamente reduzida após 120 dias de compostagem aeróbia nas pilhas A, B, D, sendo que são os compostos alifáticos (alta H/C) os principais responsáveis; observa-se também que a compostagem favorece a qualidade da MO devido à formação de constituintes orgânicos com uma natureza mais semelhante aos ácidos húmicos; então podemos dizer que a compostagem de BA é necessária como tratamento prévio para sua aplicação ao solo.

Agradecimentos

Os autores agradecem à empresa Acushla e à equipa ECO do MORE, e o suporte financeiro do projeto Mobilizador BI-OMA (POCI-01-0247-FEDER-046112).

Referências bibliográficas

- Alburquerque, J. A., González, J., García, D., & Cegarra, J. (2006). Measuring detoxification and maturity in compost made from “alperujo”, the solid by-product of extracting olive oil by the two-phase centrifugation system. Chemosphere, 64(3), 470–477.
- Droussi, Z., D’Orazio, V., Provenzano, M. R., Hafidi, M. & Ouatmane, A. (2009). Elemental and spectroscopic characterization of humic-acid-like compounds during composting of olive mill by-products. Journal of Hazardous Materials, 163, 1289–1297.
- Hernández, Z., Almendros, G., Alvarez, A., Figueiredo, T., Carral P., (2019). Soil carbon stabilization pathways as reflected by the pyrolytic signature of humic acid in agricultural volcanic soils, Journal of Analytical and Applied Pyrolysis (JAAP) 137, 14–18.

Comparação entre fertilização mineral e orgânica na cultura do milho forrageiro: impacto na produção, carbono total e nutrientes NPK do solo.

Comparison between mineral and organic fertilization on forage corn culture: impact on yield, total carbon and nutrients NPK of soil.

Pacheco, Carlos^{1*}; Oliveira, André²; Correia, Manuel³

¹ Lage Antiga, Lda, Rua do Olivalinho 3,A,2925-441 Azeitão – Portugal

² INOVA: Inst. Inov. Tecnol. dos Açores, Estrada de São Gonçalo, S/N, 9504-540 Ponta Delgada, Açores, Portugal

³ Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa – Portugal

*capacheco@isa.ulisboa.pt

Resumo

Compara-se a fertilização mineral versus substrato orgânico (SO), no rendimento do milho forrageiro e nos teores em carbono total (Ct) e NPK do solo.

A morfologia do perfil cultural resultante da mobilização do solo com charrua x fresagem, na distribuição dos resíduos orgânicos (RO) e do substrato orgânico (SO), caracteriza-se por o horizonte Ap2 apresentar unidades morfológicas de elevada acumulação de RO à mistura com terra (TERO), no tratamento A (TA), e acumulação de SO mais terra (TESO) no tratamento B (TB). A relação entre unidades constituídas por terra (TE) e TERO é de 70:30 no TA e de 50:50 entre TE e TESO no TB.

O conforto nutricional da cultura foi muito elevado e constante no TA, mas superior e crescente no TB.

O rendimento em matéria verde foi fraco no 1º ano, devido ao acentuado défice hídrico, e alto no 2º ano. As diferenças entre TB e TA foram de 4,7t/ha e de 9.8t/ha.

No período de 462 dias, registou-se no TA um decréscimo em Ct de -1,6g/kg e no TB um acréscimo de +4,7g/kg, demonstrativas da elevada resiliência do SO-MUSAMI, o qual potencia a produção.

Palavras-chave: fertilização, mineral, orgânica, milho, forrageiro.

Abstract

Mineral fertilization versus organic substrate (SO) is compared on forage corn yield, total carbon (Ct) and NPK contents.

The morphology of the cultural profile resulting from tillage with moldboard x rotovator, in the distribution of organic residues (RO) and organic substrate (SO), is characterized by soil horizon Ap2 presenting morphological units of high accumulation of RO mixed with soil (TERO) in treatment A (TA), and accumulation of SO plus soil (TESO) in treatment B (TB). The relation between soil units (TE) and TERO units is 70:30 in the TA and 50:50 between TE and TESO in the TB.

The nutritional comfort of the forage culture, confirmed by the analyses of the soil samples, was very high and constant in TA, but higher and increasing in TB.

Green biomass yield of forage corn was weak in the 1st year, explained by the severe water deficit, and high in the 2nd year. The differences between TB and TA in yield were 4.7t/ha and 9.8t/ha.

In the period of 462 days, there was a decrease in Ct of -1.6g/kg in TA and an increase of +4.7g/kg in TB, demonstrating the high resilience of SO-MUSAMI, which enhances production and soil sustainability.

Keywords: fertilisation, mineral, organic, corn, forage.

Introdução

A área da cultura do milho forrageiro, em São Miguel-Região Autónoma dos Açores (RAA), era em 2019 de 7.733 hectares. A fertilização tradicional consiste na aplicação de adubos NPK e de chorumes das explorações leiteiras e a preparação do solo na lavoura com charrua à profundidade de 30/35cm, seguida de destorroamento e uniformização do terreno com fresagem e sementeira com semeador de precisão. No segundo ano, a lavoura foi substituída pela subsolagem (Oliveira, 2020).

As alterações no perfil cultural do solo foram analisadas, bem como o padrão de distribuição das unidades morfológicas (UM), (ver Fig. 1), ricas em restolhos orgânicos (RO) e no substrato orgânico (SO). Ao longo de dois ciclos culturais, monitorizou-se o rendimento em matéria verde (MV) da cultura do milho e os teores em carbono total (Ct), nutrientes NPK e pH do solo, nos tratamentos A (TA) e B (TB), tendo o TA recebido fertilização mineral complementada com chorume e o TB substrato orgânico (SO).

Materiais e métodos

No Quadro 1, apresenta-se a variedade do milho forrageiro e os quantitativos de fertilizantes minerais e orgânicos aplicados. O SO é um produto de origem vegetal compostado.

O terreno de morfologia convexa, com declive longitudinal de 10 a 15%, foi dividido em dois blocos, cada um com quatro sub-parcelas, com 50m no sentido S-N e 15m no W-E.

A morfologia do perfil cultural foi caracterizada e identificadas as unidades morfológicas com significado nas alterações provocadas pelas alfaias agrícolas. Foram descritas as unidades: TE- material terroso sem vestígios de restolhos orgânicos; TERO - material terroso com concentração de RO; TESO - material terroso com concentração elevada de SO.

Pelo método da abertura do perfil, foram colhidas amostras de solo, com incidência

nos 10cm centrais de Ap1 (0-15/17cm) e Ap2 (15/17-30/35cm), ao longo de dois ciclos culturais e analisadas as variáveis químicas do solo (Quadro 1). Para quantificação da biomassa forrageira verde, foram aleatoriamente selecionados 8 pontos por tratamento.

Resultados e discussão

A qualidade do SO, analítica e biológica estudada por (Cruz, 2013), e em experimentação de campo por (Pacheco & Teixeira, 2016) é indiscutível, bem como a elevada afinidade e estimulação dos sistemas radiculares na presença de volumes de terra com muito elevada concentração. As incertezas residiam na resiliência e taxas de decomposição do SO no solo, e na satisfação das exigências em azoto, nos picos de maior procura da cultura do milho forrageiro.

A análise morfológica do perfil cultural (Fig. 1), revelou-nos que a distribuição do SO em Ap1 era fraca, mas regular e uniforme e no Ap2 o SO concentrava-se em unidades morfológicas distribuídas de modo sistemático em bandas inclinadas e bolsas maiores, na proporção de cerca 50:50 entre as unidades TESO e TE, no TB. No TA a proporção entre as TE e as TERO é cerca de 70:30. O contraste entre as unidades identificadas, nos teores das variáveis químicas do solo é muito forte. As diferenças, na profundidade 7-35cm, em Ct, entre a TERO e a TE do TA, é de 10g/kg e entre a TESO e a TE do TB de 54g/kg. O acréscimo em Ct influência positiva e significativamente os teores em NPK e o pH.

As datas de colheita e os teores totais em Ct e Nt e teores em P e K assimiláveis, são apresentados nos Quadros 2 e 3. Os valores do pH do solo não são apresentados.

Da análise dos teores em Ct ressalta que Ap2 apresenta teores significativamente mais elevados do que Ap1. A diferença entre TA e TB é de 4,75g/kg em Ap1, de 16,63g/kg no Ap2 e de 10,69g/kg na espessura média de 20cm. Os teores médios em Ct, no intervalo de 98 dias, apresentam um ligeiro abaixamento em

ambos os horizontes do TA e Ap1 do TB, enquanto o Ap2 do TB apresenta um acréscimo muito significativo. A diferença média entre TB e TA é de 16,14g/kg, o TA em média decresceu -1,58g/kg e o TB em média cresceu 3,38g/kg. Os valores de Ct registados 358 dias após a colheita anterior, cresceram no Ap1 e decresceram no Ap2 do TA, e o TB cresceu tanto em Ap1 como em Ap2, com um acréscimo médio de 4,15g/kg. No intervalo de 462 dias, verifica-se que o TA apresenta flutuações entre Ap1 e Ap2, mas em média a tendência é decrescente (-1,51g/kg), enquanto no TB a tendência é crescente em Ap1 e Ap2, com um acréscimo médio de 4,03g/kg. No TA as perdas de MO, por decomposição, são ligeiramente superiores aos ganhos, enquanto no TB os ganhos em MO são muito superiores às perdas, perpetuando a influência positiva do SO por muitos ciclos culturais, contrariando as expectativas iniciais.

Quanto ao Nt, os tratamentos TA e TB apresentam teores no início semelhantes, mas progressivamente o TB aumenta a diferença positiva relativamente a TA. Em síntese, a cultura do milho forrageiro, em ambos os ciclos, dispõe de níveis de Nt altos no TA e muito altos no TB.

Quanto ao P, os tratamentos TA e TB apresentam teores elevados no início, mas muito elevados no Ap2 do TB. Em média, o TB apresenta cerca do dobro do TA. No intervalo de 98 dias, os teores em P continuam elevados no TA e Ap1 do TB, mas em média o TB apresenta cerca do triplo comparativamente a TA. No intervalo

de 462 dias, os teores são muito elevados no TA, mas muito superiores no TB. Em média, a diferença entre TB e TA é de 227mg/kg e o acréscimo do TB, comparativamente à colheita anterior, é de 136,5 mg/kg. A cultura do milho dispõe de muito elevado conforto em P em ambos os tratamentos, sendo os teores no 2º ciclo cultural excessivos. Verifica-se ainda que no TB os acréscimos em P, à medida que o tempo progride, é muito significativo.

Quanto ao K, os teores são muito elevados em TA e TB ao longo dos dois ciclos culturais, mas cerca de 3,5 vezes mais no TB. Em média o TA não apresenta variação significativa entre datas, mas no TB os teores crescem 1,3 vezes mais em 98 dias, retrocedendo para o valor inicial ao fim de 462 dias. A cultura do milho forrageiro, em ambos os ciclos culturais, dispõe de muito elevado conforto em K no TA e conforto excessivo no TB. Quanto à variável pH do solo verifica-se que o SO proporcionou um acréscimo progressivo muito significativo tendendo o pH do solo para a neutralidade.

Analizando os dados biométricos da cultura do milho forrageiro (Quadro 4), verifica-se que o rendimento em MV foi muito baixo no 1º ciclo, sendo a diferença média entre TB e TA de 4,7t/ha, e alto no 2º ano, sendo a diferença entre TB e TA de 9,8t/ha, diferenças essas explicadas pela baixa precipitação total (117mm) ocorrida no 1º ano, contra 259,5mm no 2º ciclo.

Quadro 1 – Fertilização mineral e orgânica da cultura do milho forrageiro nos dois ciclos culturais.

Ano	2020: LimaGrainFAO400		2021: LimaGrainFAO500		
	Tratamento	A	B	A	B
Fertilização	Modalidade	NPK/ kg ha ⁻¹		NPK/ kg ha ⁻¹	NPK/ kg ha ⁻¹
	Fundo ⁽¹⁾	70:26:0		140:24:58	
Mineral	Cobertura ⁽²⁾	105:0:0			
	Localizada ⁽³⁾			35:27:35	35:27:35
Orgânica		63:7:54 ⁽¹⁾	400 t ≈220t seco ⁽²⁾		
Mineral + orgânica		238:33:54	93:16:98 ⁽³⁾	175:51:93	35:27:35

⁽¹⁾ Chorume exploração leiteira – NPK: 2,1:0,23:1,8 kg/m³;

⁽²⁾ Substrato orgânico (SO-MUSAMI) - NPK: 11,8:2,1:12,4 kg/t;

⁽³⁾ Considerando uma taxa de decomposição de 3,59 % em 4 meses.



Fig. 1 – Perfil cultural dos tratamentos TA e TB, milho forrageiro no início da floração.

Quadro 2 – Teores totais em carbono e azoto.

Horizonte	Tratamento	N	Ct (g/kg)			Nt (g/kg)		
			30 jun/20	7 out/20	1 out/21	30 jun/20	7 out/20	1 out/21
Ap1 (5-15 cm)	A	8	27,0 ± 3,6	25,4 ± 3,6	29,3 ± 2,6	2,5 ± 0,4	2,0 ± 0,4	2,5±0,8
	B	8	31,8 ± 3,6	30,5 ± 5,0	43,9 ± 9,9	2,3 ± 0,5	2,2 ± 0,3	3,3±1,2
Ap2 (20-30 cm)	A	8	32,0 ± 4,9	30,6 ± 5,0	26,9 ± 2,9	2,4 ± 0,2	1,9 ± 0,1	2,1±0,3
	B	8	48,6 ± 4,9	57,6 ± 12,7	52,7 ± 7,5	2,5 ± 0,3	2,4 ± 0,4	3,8±1,0
Média (E=20 cm)	A	8	29,6 ± 4,7	278,0 ± 4,9	28,1 ± 3,0	2,4 ± 0,3	1,9 ± 0,3	2,3 ± 0,6
	B	8	40,3 ± 9,5	44,1 ± 16,3	48,3 ± 9,8	2,4 ± 0,4	2,3 ± 0,3	3,5 ± 1,1

Quadro 3 – Teores em P e K assimiláveis.

Horizonte	Tratamento	N	P (mg/kg)			K (mg/kg)		
			30 jun/20	7 out/20	1 out/21	30 jun/20	7 out/20	1 out/21
Ap1 (5-15 cm)	A	8	68± 15	70 ± 24	172 ± 55	210 ± 75	305 ± 166	295± 51
	B	8	85± 48	89± 51	297 ± 144	388 ± 170	634± 376	738± 232
Ap2 (20-30 cm)	A	8	96 ± 37	81± 13	115 ± 49	32 ± 11	195 ± 84	160± 38
	B	8	248 ± 59	380 ± 214	445 ± 150	1280 ± 467	1496± 730	890± 242
Média (E=20 cm)	A	8	82± 30	76 ± 19	144 ± 60	265 ± 105	250± 135	227± 81
	B	8	167± 96	234 ± 206	371 ± 165	834 ± 554	1066± 694	814± 249

Quadro 4 – Dados biométricos da cultura do milho forrageiro.

Tratamento	Ano	2020			2021		
		Nº plantas/ha	Peso médio (g/planta)	Produtividade (MV) t/ha	Nº plantas/ha	Peso médio (g/planta)	Produtividade (MV) t/ha
A	49920,9	537,05	26,81	80977,2	736,38	59,63	
B	52070,4	604,95	31,50	78317,6	885,88	69,38	

Conclusões

Conclui-se que a mobilização do solo com charrua de aiveca distribui os RO e o SO, localizados sobre a superfície do terreno, segundo um padrão determinístico e sistemático, na forma de bandas inclinadas e bolsas. O contraste entre as unidades morfológicas de elevada concentração em RO e SO e as formadas só por terra (TE), nos teores em carbono e nutrientes, é muito forte, bem como na distribuição radicular do milho forrageiro. O conforto nutricional da cultura, em ambos os ciclos, foi elevado no TA e muito elevado no TB. O rendimento em matéria verde foi significativamente mais

elevado no TB, mais alto no 2º ano do que no 1º, este fortemente afetado pelo muito elevado défice hídrico.

Agradecimentos

À MUSAMI-Operações Municipais do Ambiente, EIM, SA, agradecemos o apoio dado a este estudo, fornecendo o SO e custeando as análises do solo.

Referências bibliográficas

- Oliveira, A. (2020). *Aplicação substrato orgânico SO-MUSAMI na cultura do milho forrageiro: balanço em carbono, nutrientes e produtividade*. Diss. obtenção grau mestre em eng. Agronómica. ISA/ULisboa.
- Cruz, C. (2013). *Caracterização do SO - MUSAMI*. Rel. técnico.
- Pacheco, C. A. ., & Teixeira, F. M. (2016). *Avaliação do potencial produtivo do composto orgânico FO-MUSAMI nas fileiras da horticultura, fruticultura, floricultura e agricultura*. Rel. Técnico.

Compostagem de resíduos provenientes da cultura de kiwi

Composting waste from the kiwi crop

Pinto, Rui^{1,2}; Brito, L. Miguel^{1,3*}; Mourão, Isabel^{1,3}; Valin, Isabel^{1,2}; Moura, Luisa^{1,2}

¹Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Escola Superior Agrária, Refóios, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal.

²Centro de Investigação e Desenvolvimento em Sistemas Agroalimentares e Sustentabilidade (CISAS), Rua Escola Industrial e Comercial de Nun'Álvares, nº 34, 4900-347 Viana do Castelo, Portugal.

³Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal. miguelbrito@esa.ipv.pt

Resumo

A reutilização dos resíduos provenientes da atividade agrícola através da compostagem apresenta vantagens ambientais e agronómicas. A estilha da poda da cultura de kiwi possui uma elevada razão C/N e poderá ser um bom material estruturante para adicionar com outro material mais facilmente biodegradável de modo a obter uma compostagem efetiva. Com este objetivo, avaliou-se o processo de compostagem de estilha da poda com refugo de frutos de kiwi, misturados nas proporções de 2:1, 1:1 e 1:2 (estilha:kiwi, p:p).

A temperatura mais elevada registou-se na pilha com mais frutos de kiwi (57 °C), que possuía uma menor razão C/N. A redução da razão C/N de valores iniciais entre 49 e 59 para valores finais entre 18 e 21, e o aumento do teor de N total de valores entre 9 e 11 g kg⁻¹ para valores entre 22 e 27 g kg⁻¹ durante a compostagem, poderá contribuir para aumentar a disponibilidade de nutrientes para as culturas. O grau de maturação e a ausência de fitotoxicidade avaliada pelo índice de germinação, a diminuição da razão C/N, e as características químicas avaliadas, são indicativos da qualidade dos compostados destes resíduos provenientes da cultura de kiwi.

Palavras-chave: compostagem, estilha da poda, kiwi, razão C/N, temperatura

Abstract

The reuse of waste from the agricultural activity through composting has environmental and agronomic advantages. Kiwi pruning chips have a high C/N ratio and may be a good structuring feedstock material to add with another more easily biodegradable material in order to achieve effective composting. With this objective, the process of composting pruning chips with kiwi fruit waste, mixed in proportions of 2:1, 1:1 and 1:2 (chips:kiwi, w:w) was evaluated.

The highest temperature was recorded in the pile with the highest content of kiwi fruits (57 °C), which had a lower C/N ratio. Reducing the C/N ratio from initial values between 49 and 59 to final values between 18 and 21, and increasing the total N content from values between 9 and 11 g kg⁻¹ to values between 22 and 27 g kg⁻¹ during composting, may contribute to increase the availability of nutrients for crops. The degree of maturation and the absence of phytotoxicity evaluated by the germination index, the decrease in the C/N ratio, and the chemical characteristics, are indicative of the quality of the composts from these kiwi crop residues.

Keywords: C/N ratio, composting process, kiwi, pruning chips, temperature

Introdução

A cultura de kiwi é responsável pela produção de subprodutos como o refugo de frutos de kiwi resultante do processo de calibração e a lenha da poda. As varas resultantes da poda do kiwi são normalmente trituradas e usadas como cobertura de solo. Contudo, a lenha da poda pode contribuir para propagar pragas e doenças. A compostagem dos materiais provenientes de plantas infetadas pode ser uma forma de evitar a propagação dos microrganismos patogénicos (Koski & Jacobi, 2004). A razão C/N da estilha da poda é muito elevada (C/N >60), por isso, decompõe-se muito lentamente e aumenta o tempo necessário para a compostagem. Assim, é necessária uma fonte de N adicional de modo a obter uma compostagem efetiva (Brito, 2017). O objetivo deste trabalho consistiu no estudo do processo de compostagem de lenha da poda do kiwi triturada com refugo de frutos desta cultura, de modo a obter um compostado com qualidade para aplicação nos pomares de kiwis promovendo a economia circular.

Materiais e métodos

Os materiais utilizados nas pilhas de compostagem incluíram: (i) estilha da poda de kiwi obtida com o auxílio de uma máquina trituradora de recolha de podas acoplada ao trator e (ii) refugo de kiwi resultante do processo de calibragem (quadro 1).

Construíram-se três pilhas de compostagem com estilha da poda e refugo de kiwi misturados em peso fresco na proporção de 2:1, 1:1 e 1:2 (estilha:kiwi), designadas por pilhas 1, 2 e 3, respetivamente. Os dois materiais foram misturados com o auxílio de uma escavadeira hidráulica com braço oscilante e cobertas com o material TenCate Toptex ® (GEOSIN) de modo a permitir as trocas gasosas e evitar a infiltração da água da chuva no interior das pilhas. O processo de compostagem teve a duração de 260 dias, sendo realizados durante este período revolvimentos nos dias 14, 50, 92 e 144 para arejar e homogeneizar as pilhas. As temperaturas das pilhas foram registadas

hora a hora num Data Logger DL2 (Delta Devices). O teor de matéria seca (MS), pH e condutividade elétrica (CE) foram determinados de acordo com as normas europeias (CEN, 1999). O teor de MO foi determinado por incineração de acordo com a norma EN 13039-2011 e o teor de N total pelo método Kjeldahl. O teor de P foi determinado com um espectrofotómetro de UV após digestão com ácido sulfúrico e o teor de K com um espectrofotómetro de absorção atómica após digestão nitro-perclórica. O N mineral foi extraído de amostras frescas com uma solução de 1 M KCl 1:5 e determinado por absorção molecular.

Quadro 1 - Densidade (ρ), teor de humidade (H) e características químicas (média ± desvio padrão) da estilha da poda e do refugo de kiwi

		estilha da poda	refugo de kiwi
ρ		0,25±0,01	0,63±0,02
H	(%)	69±2	85±1
pH		6,7±0,1	3,8±0,1
CE	dS m ⁻¹	0,14±0,01	0,74±0,04
MO	(g kg ⁻¹)	969±7	866±18
C/N		69±13	38±2
N	(g kg ⁻¹)	8,0±1,5	12,8±0,1
P	(g kg ⁻¹)	0,7±0,1	1,3±0,1
K	(g kg ⁻¹)	6,4±0,9	25,3±4,5

Os teores de MO e nutrientes NPK são referentes à MS.

Resultados e discussão

Evolução da compostagem

Todas as pilhas atingiram temperaturas termófilas após 2 dias de compostagem, alcançando-se a máxima temperatura na pilha 1 (50 °C) e na pilha 2 (55 °C) neste dia (figura 1). A temperatura mais elevada registou-se na pilha 3 (57 °C) aos 24 dias de compostagem, mantendo-se mais elevada nesta pilha, em comparação com as pilhas 1 e 2, devido à maior quantidade de matéria orgânica facilmente biodegradável e menor razão C/N dos frutos em comparação com a estilha (Wang & Schuchardt, 2010). Os

requisitos de controlo sanitário, que exigem temperaturas superiores a 55 °C durante um período superior a 15 dias (CCQC; 2001) não foram totalmente alcançados. O que poderá ser explicada pela elevada razão C/N da mistura de materiais no início da compostagem e, principalmente, pelo elevado teor de lenhina e celulose, de lenta decomposição, existente na estilha (Brito, 2017). A redução da razão C/N de valores entre 49 e 59 para valores compreendidos entre 18 e 21 é indicadora de um elevado grau de estabilidade (Zucconi & Bertoldi; 1987). O teor de N total aumentou de valores iniciais entre 9 e 11 g kg⁻¹ para valores entre 22 e 27 g kg⁻¹ no fim da compostagem, o que representa uma vantagem do ponto de vista agronómico (figura 2).

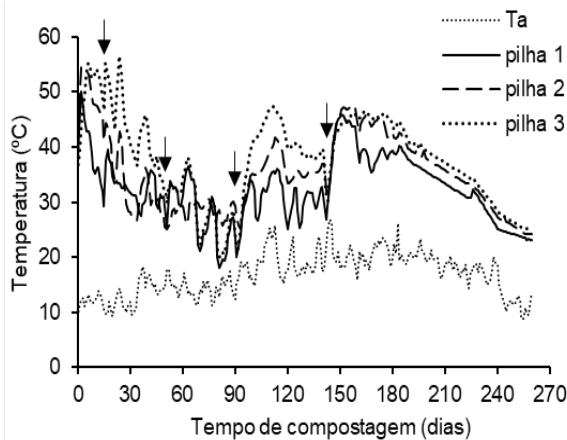


Fig 1 – Temperatura das pilhas durante a compostagem de estilha da poda com refugo de kiwi misturados nas proporções (p/p): pilha 1 (2:1), pilha 2 (1:1) e pilha 3 (1:2). As setas representam os revolvimentos. Ta: temperatura ambiente.

Qualidade dos compostados finais

A maturação é um dos principais fatores que determinam a qualidade dos compostados (Brito et al., 2017). A temperatura próxima da temperatura ambiente no fim deste período de compostagem nas 3 pilhas, assim como os valores de N-NH₄⁺ (entre 3,6 e 13,2 mg kg⁻¹) inferiores a 400 mg kg⁻¹ (Zucconi & Bertoldi, 1987) e a razão N-NH₄⁺/N-NO₃⁻ nos compostados das pilhas 2 (0,5) e 3 (0,2) inferiores a 1 (Larney & Hao, 2007) são indicadores de compostados bem maturados. O índice de germinação (entre 115% e 131%) superior a 110%

recomendado por Raj & Antil (2011) para compostados maturados é igualmente um indicador da maturação dos compostados (quadro 2).

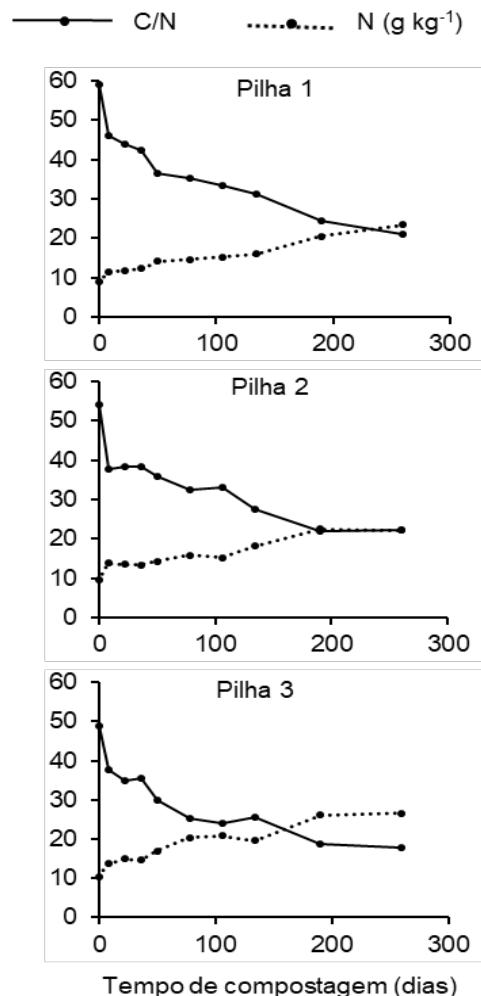


Fig. 2 – Teor de N e razão C/N durante a compostagem de estilha da poda com refugo de kiwi misturados nas proporções (p/p): pilha 1 (2:1), pilha 2 (1:1) e pilha 3 (1:2).

Os teores de N, P e K aumentaram na pilha 3 em comparação com as pilhas 1 e 2, devido ao maior teor destes nutrientes nos frutos de kiwi, em comparação com a estilha da poda (quadro 3). O elevado teor de MO (entre 853 e 891 g kg⁻¹), o valor de pH (entre 7,3 e 7,6) inferior ao valor limite para comercialização de compostados (Decreto-Lei 103/2015), o valor da condutividade elétrica (entre 0,52 e 0,84 dS m⁻¹) inferior ao valor limite de 3 dS m⁻¹ recomendado para aplicação ao solo (Soumaré et al., 2002),

associados ao elevado grau de maturação são indicadores da qualidade destes compostados.

Quadro 2 – Taxa relativa de germinação (TRG), crescimento relativo da raiz (CRR) e índice de germinação (IG) dos compostados

	RSG (%)	RRG (%)	IG (%)
Pilha 1	96 a	137 a	131 a
Pilha 2	102 a	120 a	122 a
Pilha 3	94 a	123 a	115 a

IG = TRG x CRR. Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não são significativamente diferentes.

Quadro 3 - Características químicas dos compostados finais de estilha da poda e refugo de kiwi

	1C	2C	3C
pH	7,4	7,6	7,3
CE (dS m ⁻¹)	0,52	0,5	0,84
MO (g kg ⁻¹)	891	891	853
N (g kg ⁻¹)	22,7	23,0	26,7
C/N	22	22	18
N-NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)	13,2	3,6	12,1
N-NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)	4,6	7,9	75,7
P (g kg ⁻¹)	2,2	2,5	2,8
K (g kg ⁻¹)	14,6	15,3	19,3

Os teores de MO, razão C/N e nutrientes NPK totais são referentes à MS. As restantes características incluindo o N mineral são referentes à MF.

Conclusões

As características químicas, o grau de maturação e a ausência de fitotoxicidade dos compostados produzidos com refugo de frutos e estilha de poda de kiwi são indicadores da sua qualidade. A redução da razão C/N e o aumento do teor de N devido ao aumento da proporção de kiwi em comparação com a estilha da poda podem aumentar a disponibilidade de N para as culturas. Recomenda-se uma proporção de frutos superior à da estilha para elevar a temperatura durante a compostagem e aumentar a capacidade do compostado como fertilizante para as culturas.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do Programa Operacional Regional Norte 2020, no âmbito do Projeto Tecnologia, Ambiente, Criatividade e Saúde (TECH), Norte-01-0145-FEDER-000043.

Referências bibliográficas

- Brito, L. (2017). Compostagem. Fertilização do solo e substratos. Publindústria, Edições Técnicas, (p. 167) Portugal
- CEN (1999). European Standards-Soil Improvers and Growing Media European Committee for Standardization Brussels (Belgium).
- CCQC (2001). Compost maturity index. Nevada City, California, Compost Quality Council.
- Diário da República (2015). Decreto-Lei 103/2015 de 15 de junho, que estabelece as regras a que deve obedecer a colocação no mercado de matérias fertilizantes. DR 1ª série nº 114.
- Koski, R. & Jacobi, W.R. (2004) Tree pathogen survival in chipped wood mulch. Journal Arboriculture. 30, 165-171.
- Larney, F.J. & Hao, X. (2007). A review of composting as a management alternative for beef cattle feedlot manure in southern Alberta, Canada. Bioresource Technology, 98, 3221-3227. doi:10.1016/j.biortech.2006.07.005.
- Mills, T., Boldingh, H., Blattmann, P., Green, S. & Meekings, J. (2009). Nitrogen application rate and the change in carbohydrate concentration in leaves, fruit, and canes of gold kiwifruit. Journal of Plant Nutrition 32, 2140-2157. doi.org/10.1080/01904160903351606.
- Moreira, J. F. & Coutinho, C. (2014). Circular no:17/2014. Avisos Agrícolas – Estação de avisos de Entre Douro e Minho, 1-6.
- Raj, D. & Antil, R.S. (2011). Evaluation of maturity and stability parameters of composts prepared from agro-industrial wastes. Bioresource Technology, 102, 2868-2873. doi: 10.1016/j.biortech.2010.10.077.
- Soumaré, M., Demeyer, A., Tack, F.M.G. & Verloo, M.G. (2002). Chemical characteristics of Malian and Belgian solid waste composts. Bioresource Technology, 81, 97–101. doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00125-0
- Wang, Y., Q., & Schuchardt F. (2010). Effect of C/N ratio on the composting of vineyard pruning residues. Agriculture and Forestry Research, 3, 131-138.
- Zucconi, F. & Bertoldi, M. (1987). Composts specifications for the production and characterization of composts from municipal waste. In: de Bertoldi, M., Ferranti, M.P., L'Hermite, P. & Zucconi, F., eds. Compost: Quality and use. (p.30-50). London, Elsevier Applied Science, 1987.

Caracterização das dinâmicas físico-químicas e da fertilidade de solos de mangal da Guiné-Bissau em diferentes condições agroecológicas subjacentes ao cultivo do arroz

Characterisation of physical-chemical and fertility dynamics of mangrove soils from Guinea-Bissau in different agroecological conditions underlying paddy rice cultivation

Matilda Merkohasanaj^{1,3*}, Nuno Cortez^{1,2}, Luís F. Goulão³, Anna Andreetta⁴

¹ "Centro de Estudos Florestais (CEF), Instituto Superior de Agronomia (ISA), Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal /

*mmerkoh@uma.es; mmerkohasanaj@ulisboa.pt

² Departamento de Recursos Naturais, Ambiente e Território, Instituto Superior de Agronomia (ISA), Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

³ Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food (LEAF) Research Centre, Instituto Superior de Agronomia (ISA), Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

⁴ Department of Earth Sciences, University of Florence, Piazzale delle Cascine 15, 50144 Firenze, Italy

Resumo

A produção de arroz de mangal é de vital importância na maioria dos países da África Ocidental, incluindo a Guiné-Bissau. Mesmo em áreas de reduzida dimensão, existem diferentes condições agroecológicas subjacentes ao cultivo de arroz, e são principalmente atribuídas à precipitação e temperatura que afetam a acidez do solo, salinidade e disponibilidade de nutrientes. O objetivo principal deste estudo foi conhecer as dinâmicas nas propriedades físicas, químicas e nutricionais dos solos de mangal, considerando a sua variabilidade e distribuição, a fim de evidenciar melhores práticas de gestão. Com base na monitorização de campo e em três campanhas de amostragem de solo antes e durante o ciclo de produção do arroz, em duas regiões costeiras distintas da Guiné-Bissau (Oio e Tombali), foi feita a caracterização das principais condições agroecológicas dos solos. Nos mangais influenciados pelas marés, Mangais de Maré (TM) os resultados mostraram que as condições de salinidade e acidez foram reduzidas a níveis não tóxicos nos momentos de início do viveiro ou do transplante. No entanto, as observações dos resultados mostraram que em campos de TM que possuem drenagem limitada, a intrusão de água salgada pode criar um risco iminente com concentração salina levando a condutividade eléctrica a valores de aproximadamente 6 mS cm^{-1} causando até perdas importantes de produção. Nos Mangais Associados (AM), os níveis de acidez e salinidade não põem um problema, mas níveis muito baixos de principais macronutrientes (até 2 vezes menores que TM), limitam a produção. Além disso, os resultados mostraram alta variabilidade nas propriedades físico-químicas dos solos das principais condições agroecológicas identificadas e um gradiente positivo a jusante na fertilidade do solo.

Palavras-chave: solos de mangais, produção de arroz, disponibilidade de nutrientes, acidez, salinidade.

Abstract

Mangrove swamp rice production is of vital importance in most West African countries including Guinea Bissau. Even in a small country, different agroecological conditions underlying rice cultivation exist, and are mostly attributed to precipitation and temperature which impact soil acidity, salinity, and nutrient availability. The purpose of this study was to understand the physical, chemical, and nutritional properties of mangrove soils considering their variability and distribution in order to highlight the most adequate management practices. Based on field monitoring and three soil sampling dates, before and during the rice production cycle, in two different coastal regions of Guinea Bissau (Oio and Tombali), the most representative soil agroecological conditions were characterised. In the Tidal Mangrove (TM) swamps, the results showed that salinity and acidity concentrations were reduced to non-toxic levels at the nursery or transplantation moments. However, results from field observation showed that in those TM fields with limited drainage, the saltwater intrusion may create an imminent threat, with higher salt concentration corresponding to an electrical conductivity of approximately 6 mS cm^{-1} risking total production losses. In the Associated Mangrove (AM) swamps, acid and salinity levels do not pose a problem, but very low macronutrient levels (up to 2 times lower than TM), limit productivity in these soil. Furthermore, results showed high variability in physical chemical properties in the soils from the main agroecological conditions identified and a positive down-stream gradient in soil fertility.

Keywords: mangrove paddy soils, rice production, nutrients availability, acidity, salinity.

Abbreviations: EC - electric conductivity, GB - Guinea Bissau, TM - Tidal Mangrove, AM - Associated Mangrove, AT - Associated Terrace, (N-P-K) - nitrogen, phosphorus and potassium

1. Introduction

Mangrove swamp rice cultivation is one of the most productive systems globally, but highly dependent on regular and abundant rainfall, unpredictable tidal height and intensive labour force; thus, it is a system greatly affected by climate change and significant socio-economic transformations (Temudo & Santos, 2017).

Within the framework of the Malmon project "Mangroves, mangrove rice and mangrove people - sustainably improving rice production, ecosystems and livelihoods", funded by the European Union (DeSIRA/FOOD/2019/412-700), this work ultimately aims at contributing to increasing the productivity and stabilising the inter-annual mangrove swamp rice production in Guinea-Bissau.

Sustainable alternatives, such as rice intercropping systems are not yet considered in these agroecological systems, due to the particular swamp conditions of the soils. To meet the plant's nutrient needs, the provision in N-P-K by fertilizer input is economically unsustainable for the farmers' but also risks the environmental sustainability of these very sensitive agroecological systems. The use of organic fertilizers can be environmentally sustainable and can lead to significant increases in organic matter levels and plant-available N-P-K in the soil, boosting production (Moe et al., 2019).

2. Material and Methods

2.1. Research Area Characterisation

This study uses a multi-site approach, located in 5 villages from two different coastal regions (Oio and Tombali) in Guinea Bissau. Oio is located between the basins of the two big rivers Mansoa and Geba. Tombali is located between Cumbija and Cacine river basins. Having a tropical humid climate, the average annual rainfall ranges from 1.500 mm in the north to 2.000 mm in the south. Figure 1 presents the total and average precipitation for three main villages in the study area during the 2021 hydrological season. Temperature projection scenarios systematically signal

an increased average up to + 1.4°C and modelled precipitation suggests a reduction up to 10% for period 2016-2045 (UN Convention on Biological Diversity, 2019).

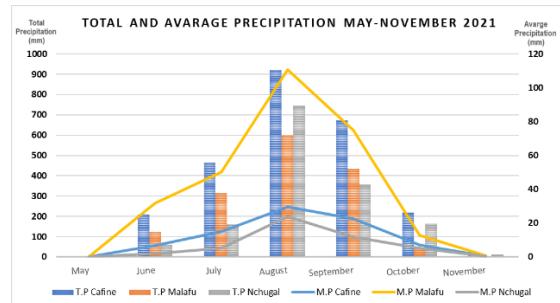


Fig.1 – Monthly total and average precipitation for Cafine (Tombali region), Nchugal and Malafu (Oio region); (T.P- Total Precipitation, M.P- Mean/Average Precipitation).

According to the topography, Guinea Bissau is predominantly flat, with average altitude that does not exceed 40 m above sea level. The main types of soils are hydromorphic, divided into marine and continental hydromorphic soils (known as the tropical paddy soils used for the rice cultivation) and the highland soils or ferralsitics and tropical ferruginous soils (suitable for annual crops) (Teixeira, 1962). According to the Soil Taxonomy, they are classified mainly as Oxisols, Ultisols and Inceptisols (Van Gent & Ukkerman, 1993).

2.2. Research Design and sample collection

A schematic cross section of the catena (Fig. 2a) shows four predominant agro-ecologies in both regions: a residual terrace (village), the intermediate terrace (mainly where the animals pasture), the rice field terrace area, and the mangrove terrace. The rice field terrace is sub-divided into three main agroecological conditions (Fig. 2b), as follows: AT – Associated Terrace; AM – Associated Mangrove; TM – Tidal Mangrove.

The design methodology for this study focused mainly on the **TM** and **AM** systems (respectively 20% and 80% of the total area), as the **AT** fields occupy just 10% of the total rice fields. Soil samples in the 20 cm of topsoil were taken in three key moments of the rice production cycle: T1 (dry season – 4 months before the planting), T2 (wet season – during the land

preparation, plantation) and T3 (in the moment of rice flowering and grain formation). General soil parameters including pH, EC, C and N content, C/N ratio, P, K and CEC were analyzed for about 141 topsoil samples.

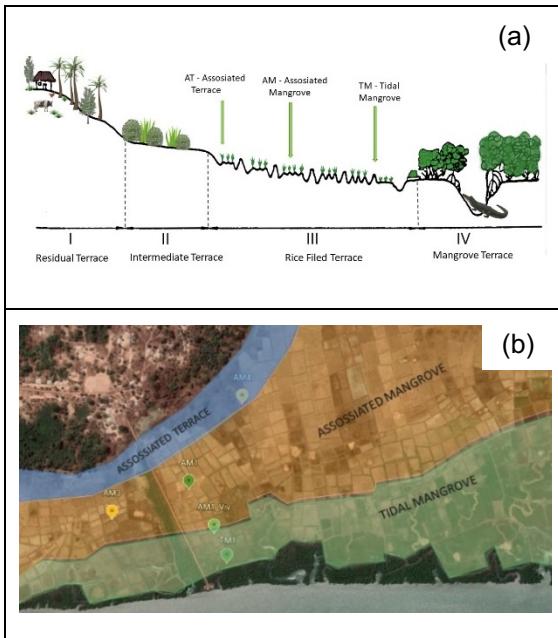


Fig. 2 – (a) Cross-section representation of the catena main agroecological conditions; (b) Overview of soil rice field distribution in the Oio and Tombali regions. Pins mark the location of the study trials (Source: (a) Adjusted from Van Gent & Ukkerman, 1993).

3. Results and Discussion

During the 2021 campaign, the observed rice production cycle indicated different schedules/timing for the beginning of the nursery preparation and consequently the transplanting, flowering and grain formation, according to each region. This is due to the dependence on the beginning of the rains and the consequent accumulated precipitation, influencing the entire growth cycle and soil nutritional levels, which clearly depend on the circulation of natural inputs for these ecological conditions.

For the Oio region (Table 1), the TM soils during the dry season showed a slightly topsoil acidity and a trend to neutralize during the production cycle (T2, T3). Conversely, topsoil showed high CEC and salinity values (mainly caused by Na^+ high concentrations) during the dry period, the latter gradually decreases during the

production cycle. Quantification of key macronutrients level, N-P-K, disclosed higher concentrations during T1, before leaching and, therefore, decreasing slightly during T2 and T3. Generally, our results confirm that these soils have high clay content (60-80%), being classified as clay or silty clay, and having a bulk density of 1.0 to 1.3 g/cm^3 , which is ideal for plant growth.

Regarding AM rice field, the quantified salinity was not high at T1, although low pH values were observed, and the soils showed to remain slightly acid in T2 and T3 ($\text{pH} \approx 6.1$). The measured N-P-K levels significantly differed from T1 to T2, T3. This observation may be related to nutrient leaching during the flooding period. In this group, soils showed to be mainly silty loamy to silty clay, with bulk density of 1.4 to 1.6 g/cm^3 , almost reaching the limit of growth restrictions.

Farmers of Oio make nurseries near their homes, where the topsoil is highly influenced by ferruginous limestone, dominated by coarse textures, and classified in its majority as sandy loam or loamy sand soils. These soils are generally lacking in nutrients and have high restrictions due to high bulk density ($> 1.8 \text{ g/cm}^3$). Levels of N-P-K are at low critical limits where the only income of organic matter is the scarce shrub and grass vegetation and few cattle manure during their grassing. It was observed pure seedlings quality in nurseries, and high effects of leaf bronzing caused by nutrient deficiency and high iron concentrations.

In the Tombali region, the TM topsoil did not present signs of acidification ($\text{pH} \approx 6.5$), while salinity levels, even being extremely high during the dry season ($\text{EC} = 11.54 \text{ mS cm}^{-1}$ at T1), drop to acceptable levels for normal plant growth due to sufficient precipitation and drainage. Likewise, the N-P-K availability tends to decrease from T1 to T2 and T3, probably due to nutrient leaching. Similarly to the Oio region, the clay or silty clay TM soils have optimal bulk densities for rice growth. The AM soils, in this region, showed acidification during T1, remaining slightly acid during T2 and T3. Salinity in these fields has fallen to much lower values ($\text{EC}_{\text{T1, T2}} = 0.58 \text{ mS cm}^{-1}$), while nutrient availability, namely P and K

was quantified as twice lower when compared to TM, except of N and C, that showed similar levels of those observed in TM.

Table 1 – Results of soil analysis for Oio and Tombali region. Values correspond to average for pH, EC, N%, C/N, P, K and CEC, calculated from 141 soil samples taken in T1 - dry season, T2 - planting/nursery, T3 - flowering/grain formation. TM - 58; AM - 64; Viv.1 – 19, nursery in the Residual Terrace.

	pH (H ₂ O)	EC mS/cm	N %	C %	C/N	P mg/g	K mg/g
OIO							
TM(T1)	6.22	3.37	0.95	1.10	11.6	56.9	826.4
TM(T2)	6.83	2.48	0.14	1.16	8.3	39.5	872.0
TM(T3)	6.82	1.10	0.14	1.32	9.6	36.8	628.0
AM(T1)	3.85	1.79	0.81	1.31	16.2	16.8	660.9
AM(T2)	6.09	0.67	0.15	1.47	10.0	0.9	398.8
AM(T3)	6.19	0.53	0.15	1.61	10.7	22.2	332.8
Viv.(T1)	4.99	0.06	0.70	0.80	11.6	1.8	57.2
Viv.(T2)	6.68	0.44	0.11	1.34	11.5	5.8	105.5
TOMBALI							
TM(T1)	6.24	11.5	1.04	1.58	15.2	57.6	1231.8
TM(T2)	6.79	1.43	0.16	1.44	9.2	55.9	747.3
TM(T3)	6.72	0.98	0.14	1.37	10.0	50.3	677.5
AM(T1)	4.77	2.59	1.13	1.54	13.6	5.7	677.5
AM(T2)	6.08	0.57	0.13	1.43	10.6	17.6	332.6
AM(T3)	6.01	0.59	0.15	1.56	10.2	18.3	306.7

After a comparison between TM of both regions, it clearly stands out that TM in Tombali has a better fertility status especially in P concentrations and organic matter (% of total C). Despite some salinity problems, even the TM soil at Tombali, although being more saline during T1 (reasonably explained by higher tides in this area), has these problems mitigated throughout the growing season by precipitation and salt leaching.

The same can be confirmed for the comparison of the AM. In Tombali these agroecological systems present a slightly better fertility status.

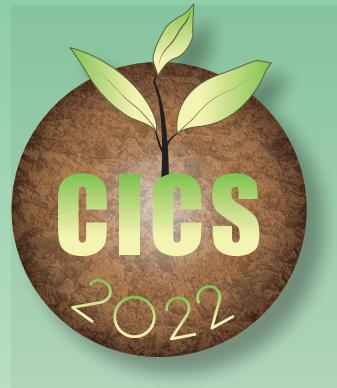
4. Conclusions

Collectively, our results suggest that: (a) There is an eminent need to improve soil conditions in the nurseries, as it is of key importance to have quality seedling for

transplantations influencing consequently throughout the growth stages and therefore yield performance (applying organic fertilisers may contribute to a solution); (b) During the dry season, farmers can allow the saline water to enter so they can work the soil. This procedure can improve/enrich the soil by flowing water with suspended matter and killing certain weeds, but this should not be longer than 2 months before the planting, so the accumulated salinity can be washed away by the first rains. As observed in the case of TM trials in Oio, EC of approximately 6 mS cm⁻¹ shows to cause total production losses. Other works also refer equivalent yield loss during the growing cycle under EC conditions of 3.5 mS cm⁻¹, reaching even to 50% of yield loss at EC levels of 9.5 mS cm⁻¹ (Asch, et al. 1999); (c) Inorganic fertilization is not an option for the small farmers, as the sustaining incomes from their production is extremely limited. However, proper management of the water use, as well as weed and straw incorporation can increase organic matter, consequently leading to increased nutrient availability and improved soil conditions.

References

- Asch, F., Dingkuhn, M., Wittstock, C., & Doerffling, K. (1999). Sodium and potassium uptake of rice panicles as affected by salinity and season in relation to yield and yield components. *Plant and Soil*, 207(2), 133–145.
<https://doi.org/10.1023/A:1026407913216>
- Moe, K., Htwe, A. Z., Thu, T. T. P., Kajihara, Y., & Yamakawa, T. (2019). Effects on NPK status, growth, dry matter and yield of rice (*Oryza sativa*) by organic fertilizers applied in field condition. *Agriculture (Switzerland)*, 9(5).
<https://doi.org/10.3390/agriculture9050109>
- Teixeira, A. J. da Silva (1962). *Os solos da Guiné Portuguesa. Carta Geral, Características, Formação e Utilização*. Junta de Investigações do Ultramar, Estudos, Ensaios e Documentos, nº 100, Lisboa.
- Temudo, M. P., & Santos, P. (2017). Shifting environments in Eastern Guinea-Bissau, West Africa: The length of fallows in question. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 80, 57–64.
<https://doi.org/10.1016/j.njas.2016.12.001>
- UN Convention on Biological Diversity. (2019). *Guinea Bissau First Biennial Update Report to the United Nations Framework Convention on Climate Change*.
- Van Gent P., & Ukkerman, R. (1993). *The Balanta rice farming system in Guinea-Bissau. 1250 mm, 103–122*. In D.L dent and M.E.F. van Mensvoort (eds). Selected paper of Ho Chi Minh City symposium on acid sulfate soils. ILRI Pub.53. International Institute for Land Reclamation and Improvement, Wageningen, the Netherlands.



Fertilidade

Posters

Development of a liquid N fertilizer from an agro-industrial effluent

Riaño, B.¹, Horta, C.^{2,3*}, García-González, M.C.¹

¹Agricultural Technological Institute of Castilla y León, Ctra. Burgos, km 119, 47071 Valladolid, Spain.

²Polytechnic Institute of Castelo Branco, School of Agriculture, Quinta da Sra. De Mércules, 6001-909 Castelo Branco, Portugal,

³CERNAS-IPCB Research Centre for Natural Resources, Environment and Society, Polytechnic Institute of Castelo Branco, 6001-909 Castelo Branco, Portugal. *carmoh@ipcb.pt

Resumen

La codigestión anaerobia del purín y otros residuos agroindustriales es uno de los tratamientos de residuos más utilizados en Europa, aunque su implantación en España y Portugal es muy escasa. El mayor beneficio de este tratamiento es la producción de metano y digestado, que se utiliza como fertilizante debido a su contenido en nitrógeno, fósforo y potasio. El objetivo de este trabajo ha sido utilizar la tecnología de membranas permeables a los gases para capturar el N del digestado de purín codigerido con residuos de piel de naranja, obteniendo una solución líquida de sulfato de amonio que se ha testado como fertilizante en ensayos en micromacetas. Los datos obtenidos muestran una recuperación del 62% del N del digestado, y una tasa de recuperación de N de 43.0 ± 6.6 g N por m² de membrana y por día. Los resultados del ensayo en micromacetas muestran que solución líquida de sulfato de amonio tuvo un efecto fertilizante similar al de la fertilización con nitrógeno mineral.

Palabras clave: digestado, membranas permeables a gases, recuperación de N, fertirrigación, cultivo en micromacetas

Abstract

Anaerobic digestion (AD) has been largely studied and it is widely applied for manure treatment in Europe, although its implementation is scarce in Spain and Portugal. The major benefit of AD is the production of renewable energy in the form of methane and digestate that is used as fertilizer, as it contains N, P and K. The aim of this work was to use gas-permeable membrane technology to capture N from slurry co-digested with orange peel residue, obtaining a liquid solution of ammonium sulfate that has been tested as a fertilizer in micropot trials. The data obtained show a recovery of 62% of the N from the digestate, and a recovery rate of N of 43.0 ± 6.6 g N per m² of membrane and per day. The results of the micropot test showed that the liquid ammonium sulfate solution had a fertilizing effect similar to that of the mineral N fertilization.

Keywords: digestate, gas-permeable membranes, N recovery, fertirrigation, micropot trials

Introduction

Nitrogen fertilizers are a key component in the production of field crops. In late 2021, fertilizer prices began to raise going from 216 €/t to 355.5 €/t in the case of ammonium sulfate 21%, according to data from the Spanish Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAPA, 2022). In this scenario, recovery of nutrients, such as N are of special relevance, even more from N rich livestock waste as manure or treated manure as digestate.

Recently, the gas-permeable membrane technology has been identified as one of the most energy and cost-effective technology for recovering N from waste (Beckinghausen et al., 2020).

The aim of this work was to use gas-permeable membrane technology to capture ammonia from digested slurry co-digested with orange peel residue, obtaining a liquid solution of ammonium sulfate that has been tested as a fertilizer in micropot trials, since it has been scarcely studied.

Materials and methods

Nitrogen recovery

A batch experiment was conducted in 2 L plastic jars (1.5 L digestate). The acid tank consisted of 500 mL Erlenmeyer flasks containing 100 mL of 0.5M H₂SO₄ (Panreac). A peristaltic pump (Pumpdrive 5001, Heidolph, Schwabach, Germany) was used to continuously recirculate the acidic solution through tubular membranes inside the digestate jars and back into the acid tank using a constant flow rate of 12 L d⁻¹. The acid pH was adjusted to keep it below 2. Gas-permeable tubular membrane (48 cm long, 5.2 mm outer diameter) made of expanded polytetrafluoroethylene (e-PTFE) (Zeus Industrial Products Inc., Orangeburg, SC, USA) was used for NH₃ capture. The membrane was submerged in the digestate. Low-rate aeration was used to increase digestate pH according to García-González et al. (2015). The airflow rate was 0.24 L_{air} L⁻¹ digestate⁻¹ min⁻¹ in the first two days and 0.13 L_{air} L⁻¹ digestate⁻¹ min⁻¹ to the end of the experiment and it was controlled

using an airflow meter (Aalborg, Orangeburg, NY, USA). Ammonia was measured as total ammoniacal nitrogen (TAN).

Micropot trials

A micropot experiment with two plants of triticale (*× Triticosecale* Wittmack) in each pot as crop test was performed in a growth chamber, during 34 days. The soil used was a dystric Cambisol. The fertilization was done with a half-strength Hoagland solution with or without N, the last with the addition of the N recovered solution (Hoag and N-rec treatments respectively). These solutions were applied in every pots, according to the treatments, during the experiment (totaling 100 mg of N for each pot). A treatment without any fertilization was also done (W treatment). The N sources for the triticale were the mineral N from the Hoagland solution (Hoag) or the N recovered from the digestate (N-rec). After the end of the experiment, the plants of each treatment and repetition (four repetitions/treatment) were cut and weight (fresh matter) and then were dry at 65 °C and weight for dry matter. The total N was quantified in the triticale by the Kjeldahl procedure and the crop N uptake of each treatment was evaluated.

One-way ANOVA analyses were conducted to identify the effect of the treatments on the triticale biomass production and N uptake. Tukey's test was used to compare means at 0.05 probability level.

Results and discussion

The aeration increased the pH of the digestate from 8.48 to up 9.48. The total ammoniacal nitrogen concentration in the digestate decreased from 2462 ± 24 to 1019 ± 12 mg N L⁻¹ in four days of the experiment (Fig. 1). Simultaneously, TAN concentration in the acid solution increased up to 14889 ± 2324 mg N L⁻¹, that was more than six-fold higher than in raw digestate. Sixty-two percent of TAN removed from digestate was recovered in the acid solution. This value was the same than this obtained by García-González et al. (2016) when recovering ammonia from

anaerobically digestate manure using gas-permeable membranes in a 32-day experiment. A percentage of the TAN removed (37.7%) was volatilized to the atmosphere as a consequence of the high pH achieved during the treatment.

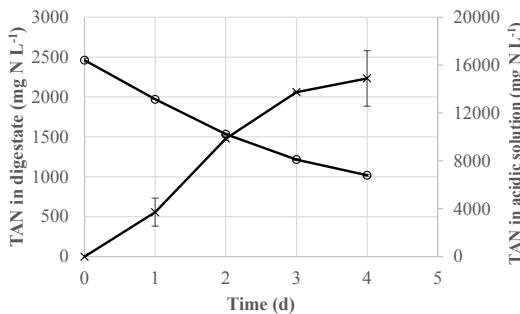


Fig. 1 - Evolution of TAN concentration in digestate (o) and in the acid solution (x).

The TAN recovery was not linear and followed a 2nd-order curve, as shown in Fig. 2, meaning that the TAN capture rate was higher during the first days, and decreased with time. The TAN recovery rate was 43.0 ± 6.6 g N per m² of membrane and per day. This value is higher than the values obtained in previous batch studies with similar treatment time found in literature. For example, Vanotti et al. (2017) treated anaerobically digested swine wastewater containing 2350 mg N L⁻¹ using submerged membranes plus low-rate aeration to recover ammonia and reported a TAN recovery rate of 25.1 g TAN m⁻² d⁻¹. Dube et al. (2016) tested the use of gas-permeable membranes for recovery ammonia from anaerobically digested swine manure and obtained TAN recovery efficiencies between 22.7 and 30.7 g N m⁻² d⁻¹.

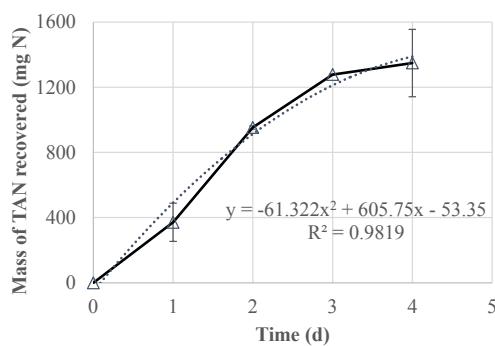


Fig. 2 - Mass of TAN recovered by the acid trapping solution.

The data obtained showed a N recovery of 62% from the digestate in four days, and a N recovery rate of 43.0 ± 6.6 g N per m² of membrane and per day.

The results of the micropots trials testing the ammonium sulfate solution, showed that irrespective to the N source the fertilization with nitrogen increased significantly ($p < 0.01$) compared with no N fertilization, being the N-rec the treatment with the highest biomass production (Fresh matter, Fig. 3). However the tritical's dry matter showed no significant differences between the two N fertilized treatments (Hoag and N-rec). Similar results were obtained by Sigurnjak et al. (2019) in a comparison of the fertilizing value of recovered ammonium sulphate and ammonium nitrate compared with mineral fertilization of lettuce and maize.

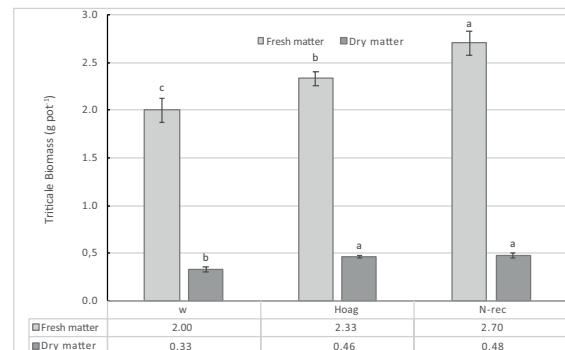


Fig. 3 – Biomass production of the triticale in the different treatments. Different letters above de columns indicate estatistical differences ($p < 0.05$) between the treatments by the Tukey test (capital letters between fresh matter, lower cases letters between dry matter).

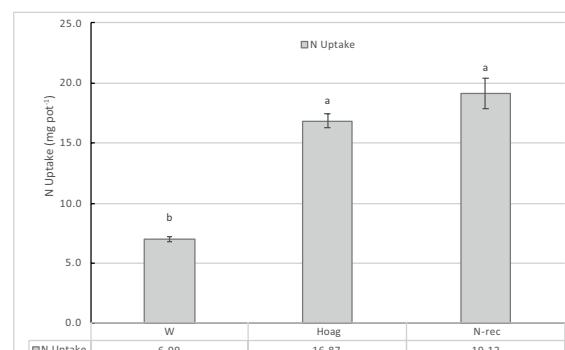


Fig. 4 – N uptake by the triticale in the different treatments. Different letters above de columns indicate estatistical differences ($p < 0.05$) between the treatments by the Tukey test.

Regarding the N uptake (Fig. 4), the N-rec treatment showed the highest value although without significant difference from the Hoag. Despite the experiment was conducted during a short period of time, the results pointed that at least the ammonium sulphate solution had a fertilizing effect similar to the mineral N fertilization.

Conclusions

The biomass production together with the N uptake of the triticale fertilized with N recovered from the digestate, was similar to the treatment fertilized with the Hoagland solution. So, the gas-permeable membrane technology showed to be a promising technology to recover N from the effluents into a solution with crop fertilizing value.

Acknowledgements

This work has been funded by the Spanish Ministry of Science and Innovation, and the Spanish Research Agency (AEI) project PID2019-106148RR-C41, and for the EU Program INTERREG V-A Spain – Portugal (POCTEP) 2014–2020 (Project 0745_SYMBIOSIS_II_3_E), and by CERNAS-IPCB [UIDB/00681/2020] supported by the Portuguese Foundation for the Science and Technology (FCT).

References

- Beckinghausen, A., Odlare, M., Thorin, E., Schwede, S. 2020. From removal to recovery: an evaluation of nitrogen recovery techniques from wastewater, *Appl. Energy*, 263, 114616.
- Dube, P.J., Vanotti, M.B., Szogi, A.A., Garcia-González, M.C. 2016. Enhancing recovery of ammonia from swine manure anaerobic digester effluent using gas-permeable membrane technology. *Waste Manag.*, 49, 372–377
- García-González, M.C., Vanotti, M.B., Szogi, A.A. 2015. Recovery of ammonia from swine manure using gas-permeable membranes: Effect of aeration. *J. Environ. Manag.*, 152, 19–26.
- García-González, M.C., Vanotti, M.B., Szogi, A.A. 2016. Recovery of ammonia from anaerobically digested manure using gas-permeable membranes. *Sci. Agric.*, 73, 434–438.
- MAPA. 2022. Last access on 16/03/2022 <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/economia/precios-percibidos-pagados-salarios/precios-pagados-por-los-agricultores-y-ganaderos/default.aspx>

Vanotti, M.B., Dube, P.J., Szogi, A.A., García-González, M.C. 2017. Recovery of ammonia and phosphate minerals from swine wastewater using gas-permeable membranes. *Water Res.*, 112, 137–146.

Sigurnjak I., Brienza, C., Snauwaert, E., DE Dobbelaere, A., De Mey, J., Vaneeckhaute, C., Michels, E., Schoumans, O., Adani, F., Meers, E. 2019. Production and Performance of bio-based mineral fertilizers from agricultural waste using ammonia (stripping-)scrubbing technology. *Waste Manage.*, 89, 265–274.

Efecto de distintas formas de materia orgánica en plántulas de tomate en invernadero

Effect of different forms of organic matter on tomato seedlings in the greenhouse

Paneque, Patricia¹; Gómez, Isidoro¹; del Toro, Marina¹; Parrado, Juan²; Tejada, Manuel^{1*}

¹Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola, ETSIA, Universidad de Sevilla, Crta. de Utrera km. 1, 41013

²Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, C/ Prof. García González 2, 41012

*Email: mtmoral@us.es

Resumen

El objetivo de este trabajo fue comparar los efectos de dos fuentes de materia orgánica (compost de desmotadora de algodón y gallinaza) con un sustrato comercial a base de turba sobre la germinación, crecimiento y contenido en N, P y K plántulas de tomate (*Lycopersicum esculentum* cv. Momotaro) bajo condiciones de invernadero. Los resultados mostraron que con el sustrato a base de gallinaza se obtuvieron los valores más altos de altura de plántula de tomate, diámetro de tallo, número de hojas por plántula así como contenidos de N, P y K, seguido del sustrato a base de compost de algodón y de turba. Estos resultados sugirieron que la composición química de la materia orgánica influyó de forma diferente en la emergencia de la semilla, el crecimiento y contenidos de N, P y K en las plántulas de tomate. Estos parámetros fueron mayores cuando se aplicó una fuente de materia orgánica fácilmente degradable con un mayor contenido en ácido fulvico y mayor contenido de proteínas de bajo peso molecular. Por otro lado, estos resultados respaldan estudios previos que muestran que los compost se pueden usar con muy buenos resultados como medios de crecimiento alternativos a los sustratos a base de turba.

Palabras clave: tomate, residuos orgánicos, germinación de semilla, crecimiento de tomate, contenidos minerales en tomate

Abstract

The objective of this work was to compare the effects of two sources of organic matter (cotton gin compost and poultry manure) with a commercial peat-based substrate on germination, growth and N, P and K content of tomato (*Lycopersicum esculentum* cv. Momotaro) under greenhouse conditions. The results showed that the poultry manure-based substrate had the highest values of tomato seedling height, stem diameter, number of leaves per seedling as well as N, P and K contents, followed by the cotton gin compost and peat. These results suggested that the chemical composition of organic matter influenced differently seed emergence, growth and N, P and K contents in tomato plants. These parameters were higher when a source of organic matter easily degradable with a higher content of fulvic acid and a higher content of low molecular weight proteins, was applied. On the other hand, these results support previous studies showing that composts can be used with very good results as alternative growth media to peat-based substrates.

Keywords: tomato, organic wastes, seed germination, tomato growth, mineral contents in tomato

Introducción

Durante mucho tiempo, la turba ha sido un componente irremplazable de los sustratos de cultivo (Herrera et al., 2008). Sin embargo, en los últimos años existe una importante preocupación medioambiental por el uso de dicha turba porque su continuo uso está destruyendo ecosistemas de humedales en peligro de extinción en todo el mundo, lo cual puede conllevar a una progresiva desaparición de las turberas (Tejada & Benítez, 2015).

Como consecuencia de ello y coincidiendo también con el concepto de economía circular propuesto por la UE para convertir los residuos orgánicos en nuevas fuentes de energía se viene sustituyendo dicha turba por otras fuentes de materia orgánica, representando esta opción una solución sostenible al problema de la desaparición de las turberas naturales y la eliminación de residuos orgánicos (Tejada & Benítez, 2015; Comisión Europea, 2016).

Varios estudios han estudiado el efecto de diferentes enmiendas orgánicas en sustratos para macetas sobre la emergencia de las plántulas y sobre el crecimiento de una amplia gama de frutas comercializables cultivadas en invernaderos (Tejada & Benítez, 2015). Sin embargo, la influencia de estos residuos orgánicos en la germinación, crecimiento y rendimiento de los cultivos de invernadero depende tanto de la cantidad como de la composición química de dichos materiales orgánicos agregados.

Como consecuencia de todo ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto dos residuos orgánicos de diferente composición química en comparación con un sustrato comercial a base de turba sobre el crecimiento de plántulas de tomate en condiciones de invernadero.

Material y Métodos

Los materiales orgánicos usados en el experimento fueron un sustrato comercial a base de turba (S), un compost de desmotadora de algodón (A) y una gallinaza (G), cuyas propiedades se muestran en la Tabla 1. El proceso de

compostaje llevado a cabo tanto para los restos de desmotadora de algodón como con la gallinaza se hicieron siguiendo los criterios descritos en Tejada et al. (2001). Todos los parámetros químicos se determinaron de acuerdo con la metodología descrita en Tejada & Benítez (2011; 2020).

Tabla 1 – Características principales de los materiales orgánicos (media ± error estándar, n=3)

	S	A	G
Materia orgánica (g kg^{-1})	309 ± 15	368 ± 21	488 ± 29
C-ácidos húmicos (g kg^{-1})	45,6 ± 6,3	75,1 ± 16	22,6 ± 2,7
C-ácidos fulvicos (g kg^{-1})	6,7 ± 2,1	16,3 ± 1,8	49,9 ± 3,3
N total (g kg^{-1})	8,9 ± 1,5	12,9 ± 2,1	29,5 ± 1,8
P total (g kg^{-1})	5,6 ± 1,7	7,6 ± 1,3	11,9 ± 1,4
K total (g kg^{-1})	4,3 ± 1,1	47,1 ± 8,6	27,8 ± 2,9
Distribución del peso molecular de proteínas (Da)			
> 10000	45,7 ± 6,7	40,7 ± 8,0	38,8 ± 7,2
10000 - 5000	27,9 ± 5,5	28,4 ± 6,2	26,9 ± 5,7
5000 - 1000	20,7 ± 4,3	20,7 ± 5,2	19,0 ± 2,4
1000 - 300	3,8 ± 1,1	6,0 ± 1,7	8,4 ± 1,6
< 300	1,9 ± 0,4	4,2 ± 1,3	6,9 ± 1,0

El experimento se llevó a cabo en invernadero bajo condiciones controladas utilizando plántulas de tomate (*Lycopersicum esculentum* cv. Momotaro). Dichas condiciones de temperatura y humedad se describen en Tejada & Benítez (2015).

Se utilizaron tres tratamientos (tres repeticiones por tratamiento). Dichos tratamientos fueron: (1) TS (perlita 5% + S 95%); (2) TA (perlita 20,2% + A 79,80%); y (3) TG (perlita 39,8% + G 60,1 %).

Los tratamientos consistieron en diferentes porcentajes del sustrato orgánico correspondiente con el fin de proporcionar el mismo contenido final de materia orgánica.

Para cada mezcla de sustrato, se incluyeron 30 semillas de tomate en bandejas de celdas o cavidades llenas con los sustratos particulares y se dispusieron en un diseño aleatorio. De acuerdo con Tejada & Benítez (2015), las

bandejas se sembraron manualmente; se colocó una semilla en cada clda o cavidad y se cubrió con vermiculita. Las bandejas se regaron manualmente todos los días con el objeto de mantener los sustratos a capacidad de campo.

De acuerdo con Tejada & Benítez (2015), se consideró que las semillas habían emergido cuando los cotiledones atravesaban la superficie del sustrato para macetas, generalmente después de tres días. Las emergencias de plántulas se contaron 30 días después de la siembra. Las tasas de emergencia se calcularon utilizando una modificación del índice de velocidad de germinación de Timson $\Sigma \frac{G}{t}$ de Timson, donde G es el número de semillas emergidas en intervalos de 5 días y t es el tiempo total de emergencia.

A los 50 días de haber sembrado las semillas en el semillero, se seleccionaron diez plántulas y se evaluaron los contenidos de N, P y K de las hojas. De acuerdo con los criterios de Madejón et al. (2014), el material vegetal (hojas) se lavó con una solución de HCl 0,1 N durante 15 s y luego con agua destilada durante 10 s. Una vez secadas, el material vegetal seco se trituró y se pasó a través de un tamiz de acero inoxidable de 500 µm. Las muestras de plantas secas se digirieron mediante oxidación húmeda con HNO₃ concentrado bajo presión en un horno microondas. La determinación de P y K se realizó en los extractos se realizó mediante ICP-OES. Kjeldahl-N se determinó mediante el método MAPA (1986) para materia fresca.

También se midió la altura de las plántulas, medida desde el cepellón; diámetro del tallo, medido por debajo del nódulo del cotiledón y el número de hojas por plántula, excluyendo los cotiledones.

Con el objeto de observar posibles diferencias significativas entre los tratamientos, se realizaron análisis de varianza, utilizando el paquete estadístico Statgraphics Plus 2.1.

Resultados y Discusión

La emergencia comenzó al décimo día después de la siembra en todos los

tratamientos experimentales, aumentando de forma gradual a lo largo de los 30 días (Figura 1). A los 30 días después de la siembra, la emergencia acumulada fue menor para el tratamiento TS, mientras que la emergencia en TA y TG aumentó en un 15,1% y 24,3%, respectivamente, con respecto al tratamiento TS.

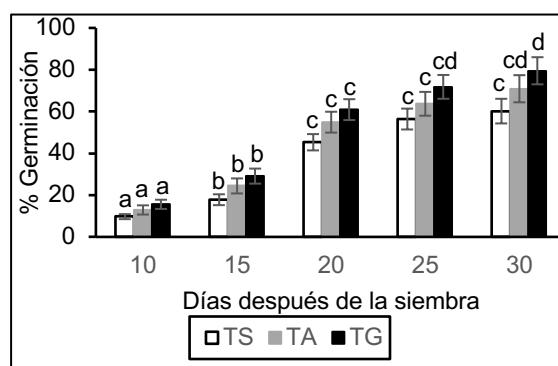


Fig. 1 – Emergencia acumulada (media ± error estándar) para todos los tratamientos experimentales. Columnas con la misma letra(s) no presentan diferencias significativas ($p>0,05$)

De acuerdo con Tejada & Benítez (2015), posiblemente durante este corto periodo de tiempo la emergencia de las plantas dependa de la composición mineral de los residuos orgánicos utilizados, ya que 30 días es un tiempo muy corto para que exista una adecuada mineralización de la materia orgánica aplicada en cada tratamiento que comience a originar suficientes elementos nutritivos inorgánicos para las plántulas.

La Tabla 2 muestra el crecimiento de las plántulas de tomate para cada tratamiento fertilizante. El tratamiento TG presentó los valores más altos de crecimiento de plántulas de tomate, seguido de los tratamientos TA y TS, respectivamente. En comparación con el tratamiento TG, los tratamientos TG y TS aumentaron la altura de las plántulas en un 22,7% y 16,5 %, respectivamente, el diámetro del tallo en un 36,8% y 20 %, respectivamente, y el número de hojas por plántula en un 26 % y 15,9%, respectivamente. Los análisis estadísticos mostraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 2 – Crecimiento de las plántulas de tomate para cada tratamiento experimental (media ± error estándar). Filas con la misma letra(s) no presentan diferencias significativas ($p>0,05$)

	TS	TA	TG
Altura plántula (mm)	157a ± 13	188ab ± 17	203b ± 15
Diámetro tallo (mm)	2,4a ± 0,4	3,0ab ± 0,4	3,8b ± 0,3
Nº hojas/planta	3,7a ± 0,2	4,4ab ± 0,3	5,0b ± 0,2

Los contenidos foliares de N, P y K, los resultados indican que nuevamente los mayores de dichos macronutrientes fueron mayores en el tratamiento TG, seguido de los tratamientos TA y TS (Tabla 3). En comparación con el tratamiento TS, los tratamientos TG y TA aumentaron el contenido de N de las plántulas en un 23,5% y 17,3%; el contenido de P de las plántulas en un 15,6% y 10%; y el contenido de K de las plántulas en un 30,6% y 25,1%, respectivamente. Los análisis estadísticos mostraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 3 – Contenido de N, P y K en plántulas de tomate para cada tratamiento experimental (media ± error estándar). Filas seguidas de la(s) misma(s) letra(s) no son significativamente diferentes ($p<0,05$)

	TS	TA	TG
N (g kg^{-1})	6,2a ± 1,0	7,5b ± 1,4	8,1b ± 1,3
P (g kg^{-1})	8,1a ± 1,6	9,0ab ± 1,2	9,6b ± 1,5
K (g kg^{-1})	17,9a ± 2,2	23,9b ± 3,7	25,8b ± 3,0

Como se ha comentado la composición inorgánico es esencial para el crecimiento de la planta en los primeros estadios vegetativos. No obstante Tejada & Benítez (2020) también destacan que las plantas tienen la capacidad de absorción de péptidos de bajo peso molecular. Puesto que el mayor contenido de estos péptidos de bajo peso molecular se encuentran en la gallinaza, es muy normal que las plantas desarrolladas en este residuo orgánico muestren mejores valores de crecimiento así como de contenidos N, P y K.

También es necesario destacar que la gallinaza presenta un mayor contenido de ácidos fulvicos que húmicos. Tejada & Benítez (2020) también destaca que dichos

ácidos fulvicos al ser moléculas menos complejas que los ácidos húmicos se degradan más rápidamente, y en consecuencia también podría ser responsable de este mayor crecimiento y contenido de N, P y K en las plántulas.

Conclusiones

Nuestros resultados mostraron que tanto el compost de algodón como la gallinaza pueden ser una alternativa útil y sostenible a la turba para ser utilizados en bandejas de vivero para así mejorar la germinación de las semillas, el crecimiento y la nutrición mineral de las plántulas de tomate. Este efecto beneficioso es tanto mayor cuanto mayor es el contenido de ácidos fulvicos y proteínas de bajo peso molecular presente en los residuos orgánicos, ya que pueden degradarse más fácilmente y por tanto, proporcionar nutrientes para la planta de forma más rápida.

Referencias bibliográficas

- Comisión Europea (2016). Circular economy package-proposal for a regulation of the european parliament and of the council. In: 2016/0084. Brussels: European Comission.
- Herrera, F., Castillo, J.E., Chica, A.F. & López Bellido, L. (2008). Use of municipal solid waste compost (MSWC) as a growing medium in the nursery production of tomato plants. *Bioresour. Technol.* 99, 287-296. doi: 10.1016/j.biortech.2006.12.042
- Madejón, P., Xiong, J., Cabrera, F. & Madejón, E. (2016). Quality of trace element contaminated soils amended with compost under fast growing tree Paulownia fortune plantation. *J. Environ. Manag.* 144, 176-185. doi: 10.1016/j.jenvman.2014.05.020.
- MAPA. (1986). Métodos oficiales de análisis. Secretaría Gral. Téc. del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación 1, 221–285.
- Tejada, M., & Benítez, C. (2011). Organic amendment based on vermicompost and compost: differences on soil properties and maize yield. *Waste Manag. Res.* 29, 1185-1196. https://doi.org/10.1177/0734242X10383622.
- Tejada, M., & Benítez, C. (2015). Application of vermicomposts and composts on tomato growth in greenhouses. *Compost Sci. Util.* 23, 94-103. doi:10.1080/1065657X.2014.975867.
- Tejada, M., & Benítez, C. (2020). Effects of different organic wastes on soil biochemical properties and yield in an olive grove. *Appl. Soil Ecol.* 146, 103371. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103371.
- Tejada, M., Dobao, M.M., Benítez, C. & González, J.L. (2001). Study of composting of cotton residues. *Bioresour. Technol.* 79, 199-202. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00059-1.

Evaluación de nuevos biofertilizantes pelletizados en trigo: ensayo en macetas.

Assessment of new pelletized biofertilizers in wheat: a pot experiment.

Ferrari, Javier¹; Orden, Luciano^{2,3}; Carciochi, Walter^{4,5}; Galantini, Juan⁶; Moral, Raúl^{7*}

¹ EEA INTA Bariloche. Modesta Victoria 4450, 8400, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina.

² EEA INTA Ascasubi. Ruta 3 Km 794, 8142, Hilario Ascasubi, Buenos Aires, Argentina.

³ Dpto. Agronomía, Univ. Nacional del Sur. San Andrés 800, 8000, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

⁴ EEA INTA Balcarce-Fac. Ciencias Agrarias (UNMdP), Ruta 226 km 73.5, 7620, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

⁵ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina.

⁶ CIC -CERZOS, Dpto. Agronomía, Univ. Nacional del Sur. San Andrés 800, 8000, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

⁷ Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Universidad Miguel Hernández, Carretera de Beniel, km 3.2, Orihuela, 03312 Alicante, Spain.

* raul.moral@umh.es

Resumen

La expansión de la agricultura y el aumento de la demanda de carne han incrementado las actividades ganaderas intensivas. Los residuos generados son problema ambiental, pero también son una fuente de nutrientes. La pelletización podría ser una alternativa para el uso masivo de estos materiales. El objetivo de este trabajo fue evaluar la aplicación de biofertilizantes pelletizados y en mezcla con fertilizantes químicos, en cultivos extensivos. Se prepararon macetas con suelo de textura franca y bajo nivel de fertilidad, para sembrar trigo (*Triticum aestivum* L.) en invernadero. El diseño experimental (n=102) incluyó 16 tratamientos y un testigo sin fertilización. Los fertilizantes se aplicaron en dos momentos diferentes: pre-siembra y siembra. Se cosechó la producción vegetativa, se contabilizaron el numero de macollos por planta y se secó el material en estufa para determinar materia seca. No se encontraron diferencias significativas entre fechas de aplicación de fertilizantes. Se encontraron diferencias significativas ($p<0.0001$) entre los tratamientos para ambas variables estudiadas. Los rendimientos fueron similares entre los tratamientos minerales y los orgánicos-minerales, esto sugiere que podrían economizarse fertilizantes químicos y reciclar grandes cantidades de N y P presentes en los residuos orgánicos, además de incorporar materia orgánica al suelo.

Palabras clave: residuos orgánicos, compost, pellet, biofertilizantes, cereales

Abstract

The expansion of agriculture and increased demand for meat have increased intensive livestock farming activities. The waste generated is an environmental problem, but it is also a source of nutrients. Pelletization could be an alternative for the massive use of these materials. The objective of this work was to evaluate the application of pelletized biofertilizers and in mixture with chemical fertilizers in extensive crops. Pots were prepared with loam-textured soil and low fertility level, to plant wheat (*Triticum aestivum* L.) in greenhouses. The experimental design (n=102) included 16 treatments and a control without fertilization. Fertilizers were applied at two different times: pre-sowing and sowing. Vegetative production was harvested, the number of tillers per plant was counted and the material was dried in an oven to determine dry matter. No significant differences were found between fertilizer application dates. Significant differences ($p<0.0001$) were found between treatments for both variables studied. Yields were similar between mineral and organic-mineral treatments, suggesting that chemical fertilizers could be economized and large amounts of N and P present in the organic residues could be recycled, in addition to incorporating organic matter to the soil.

Keywords: organic waste, compost, pellet, biofertilizer, grain crops

Introducción

En Argentina, la expansión de la agricultura y el aumento de la demanda de carne han incrementado las actividades ganaderas intensivas. Los residuos generados resultan en un problema ambiental, pero también son una valiosa fuente de nutrientes para los cultivos (Eghball & Power, 1994). La producción ganadera intensiva frecuentemente lleva a una aplicación excesiva de abonos, siendo más bien una eliminación de desechos que una fertilización beneficiosa (Cooperband & Good, 2002). Un factor que influye en este problema es que comúnmente los abonos se aplican en suelos cercanos a la zona de acumulación de los estiércoles. Debido a esto, se deberían generar estrategias de gestión para facilitar el movimiento de los abonos, siendo que es poco común que se muevan a distancias superiores de 16 km desde donde son producidos (Walen & Chang, 2001; Sharpley, 2003). La pelletización podría ser una de las mencionadas estrategias al reducir marcadamente la humedad y aumentar la densidad aparente de los abonos (Ferrari, et al., 2016).

Por otro lado, la dosificación de abonos se realiza comúnmente en volumen ($m^3 ha^{-1}$), mientras que los pellets pueden dosificarse en peso ($kg ha^{-1}$) tal como los fertilizantes químicos convencionales, permitiendo mejorar el ajuste de las cantidades aplicadas (Ferrari, et al., 2018). En la actualidad la aplicación de pellets orgánicos no es una práctica común en cultivos extensivos y solo se utilizan en cultivos intensivos frutihortícolas. En Argentina se siembra actualmente cerca de 20 millones de ha de soja, 4 millones de ha de trigo, 6 millones de ha de maíz (Bolsa de Comercio de Rosario, 2020) y 4 millones de ha de pasturas de alfalfa, sobre suelos normalmente deficientes en los principales nutrientes: nitrógeno (N) y fósforo (P). Estos cultivos son comúnmente fertilizados con fosfato di amónico (PDA 18-46-0) y urea granulada (46-0-0), los cuales representa un costo importante dentro de los insumos utilizados y suelen

aplicarse dosis inferiores a las necesarias desde un punto de vista técnico (Echeverria & Ferrari 1993; García, 2001).

La materia orgánica (MO) del suelo es un componente crítico que afecta los procesos biológicos, químicos y físicos del suelo cumpliendo una amplia gama de funciones (Craswell & Lefroy, 2001). En la Argentina, la agricultura ha disminuido los contenidos de MO en muchas zonas y esto se ha atribuido a una combinación de erosión y balances negativos de carbono (Álvarez, 2001). El aporte de MO a través de los fertilizantes orgánicos podría mitigar la caída de MO, como ocurre por ejemplo en lotes bajo monocultivo de soja.

En este trabajo se plantea la necesidad del reciclado de nutrientes de los residuos sólidos orgánicos de distintos orígenes y el aumento de eficiencia de los fertilizantes minerales. El objetivo de los ensayos fue evaluar la factibilidad del uso de biofertilizantes pelletizados y en mezcla con fertilizantes de síntesis químicas, en el cultivo de trigo mediante un ensayo en condiciones controladas en macetas.

Materiales y métodos

Ensayo en macetas

La experiencia se desarrolló en el invernadero de la EEA INTA Bariloche. Se prepararon macetas (14 cm de diámetro y 14 cm de profundidad) con suelo 0-10 cm estepario de textura franco arenosa de la localidad de San Carlos de Bariloche (41°8' S, 71°10' O). El suelo presentó un contenido bajo de MO 20 g kg⁻¹, P-Olsen 3.0 mg kg⁻¹ y K extractable 91 mg kg⁻¹, pH de 7.3 y conductividad eléctrica de 0.10 ds m⁻¹.

Se empleó un diseño completamente aleatorizado (n=102) con tres repeticiones, donde se evaluaron 16 tratamientos y un testigo sin fertilización (Tabla 1) en dos momentos de aplicación: previo a la siembra (T1: 12/03/2021) y durante la siembra (T2: 07/04/2021). La dosis de aplicación fue de 1 g de fertilizante por maceta para todos los tratamientos. En los tratamientos aplicados en T1 se cubrieron los fertilizantes superficialmente con suelo y en la aplicación en T2 se colocó muy

cerca de las semillas, de forma tal de replicar las condiciones de campo realizadas con maquinaria convencional.

Tabla 1. Tratamientos de fertilización evaluados en el cultivo de trigo en maceta.

Tratamiento	Procedencia
1- CCZ	Compost de estiércol de cabras, Zapala
2- COB	Compost de estiércol de ovejas, San Carlos de Bariloche
3- CAB	Compost residuos sólidos urbanos, San Carlos de Bariloche
4- AOEB	Abono de oveja, El Bolsón
5- CTEB	Compost estiércol de tambo, El Bolsón
6- AGC	Abono de gallina, Corralito
7- COBB	Compost cáscara de girasol (subproducto producción de gírgolas)-estiércol de oveja, Bahía Blanca
8- CFA	Compost residuos cebolla-estiércol bovino, Hilario Ascasubi
9- CMTA	Compost lodos (maltería)-rastrojo de cebada, Tres Arroyos
10- CGBB	Compost cáscara de girasol-estiércol de gallina-rastrojo de avena, Bahía Blanca
11- LCC	Lombricompost estiércol equino- rastrojo de avena, Cañuelas
12- C+MAP	Compost guano de gallina, Bahía Blanca + MAP (1:1, p/p)
13- C+UREA	Compost guano de gallina, Bahía Blanca + UREA (1:1, p/p)
14- MAP	Fosfato monamónico (18-46-00)
15- UREA	Urea granulada (46-00-00)
16- YESO	Yeso agrícola
17- T	Testigo

Las características físico-químicas de los tratamientos de la Tabla 1 se describen en Ferrari, et al. (2020).

El día 7/4/2021 se sembraron a 1 cm de profundidad 8 semillas de trigo (*Triticum aestivum* L. var. ACA603) por maceta, y el 20/4/2001 se raleó a 5 plantas por maceta. El riego del cultivo se realizó de forma automatizada con microaspersores aéreos, manteniendo el suelo a capacidad de campo, controlando de forma semanal el peso de las macetas de forma gravimétrica para ajustar la lámina de agua perdida por evapotranspiración.

El día 1/6/2021 se cosechó la totalidad del material aéreo vegetal y se contabilizaron el N° de macollos planta⁻¹. Se secaron las muestras en estufa con aire forzado a 60°C para la obtención del rendimiento de materia seca (g MS maceta⁻¹). Para todas las variables muestreadas se realizó la comparación de medias utilizando el test de Tukey (5 %) entre fechas de fertilización y tratamientos

mediante software estadístico Infostat (Di Rienzo, et al. 2016).

Resultados y discusión

No se encontraron diferencias significativas entre fechas de aplicación de los fertilizantes (Tabla 2), lo cual sugiere que al estar el suelo con humedad constante a capacidad de campo no hubo diferencias en la disponibilidad de nutrientes por la disolución de los mismos.

Tabla 2. ANOVA para el efecto de tratamiento y momento de aplicación sobre biomasa aérea y N° de macollos.

Factor de variación	Nº de macollos	Biomasa (g MS)
Tratamiento (T)	p<0.0001	p<0.0001
Momento (M)	ns	ns
T x M	ns	ns

ns= no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Se contabilizó un mayor número de macollos para los tratamientos minerales (MAP y UREA) y orgánico-minerales (C+MAP y C+UREA) siendo de 1 a 5 macollos por planta. Para todos los demás tratamientos no se observaron macollos.

Se encontraron diferencias significativas en la biomasa (g MS maceta⁻¹) entre los tratamientos minerales, orgánico-minerales y los orgánicos (Figura 1). Así, los tratamientos minerales y orgánico-minerales produjeron 3 veces más biomasa que el testigo, yeso, y pellets orgánicos.

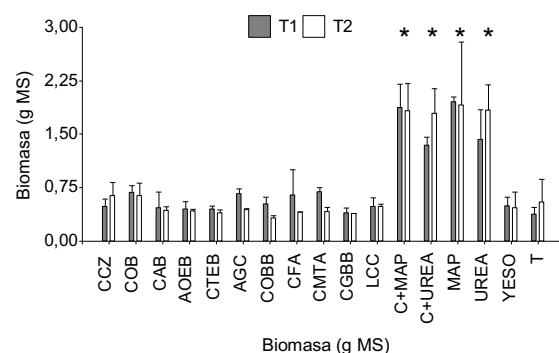


Figura 1. Materia seca aérea de plantas de trigo para los distintos fertilizantes aplicados pre-siembra (T1) y a la siembra (T2). * Diferencias significativas (p>0,05). Las líneas sobre las barras indican desvió estándar.

Considerando que 1 g maceta⁻¹ de fertilizante orgánico pelletizado representa aproximadamente 650 kg ha⁻¹ (dosis elevadas en relación a las utilizadas en la agricultura extensiva a campo) y no se encontraron diferencias significativas con el testigo, no sería económicamente viable

aplicar este tipo de fertilizantes para sostener altos rendimientos de cultivos en suelos con bajo nivel de fertilidad.

Los rendimientos de biomasa similares obtenidos entre MAP y UREA, y de C+MAP y C+UREA sugieren que podría economizarse importantes cantidades de fertilizantes de síntesis química. Utilizándose la combinación orgánico-mineral se reciclan grandes cantidades de N y P presentes en baja concentración en los residuos orgánicos, además de todos los beneficios de incorporar MO al suelo.

Ralentizar el uso de fertilizantes de síntesis química y reutilizar el P y N de estiércoles puede contribuir al saneamiento ambiental. De todas maneras debe realizarse un seguimiento de los balances de nutrientes para reponer las cantidades extraídas y el monitoreo de los tenores en suelo para evitar la pérdida de fertilidad como así también los excesos de P (McDowell & Sharpley 2004).

Estos resultados obtenidos en macetas son coincidentes con los observados en ensayos realizados a campo en trigo y en cebada cervecera (datos no publicados). En estos casos también se observaron rendimientos similares con las dosis de fertilizantes (pero con un contenido sustancialmente menor de N y P en los pellet C+MAP y C+UREA).

La menor densidad aparente de los pellets orgánico-minerales (0.6 g cm^{-3}) en comparación al MAP (1 g cm^{-3}) podría generar una mayor solubilidad del P. También podrían ocurrir interacciones entre la MO y el P que mejoren la disponibilidad del nutriente. Estos tópicos podrían estudiarse detalladamente en ensayos en condiciones controladas de incubación con suelos.

Conclusiones

Los fertilizantes orgánicos pelletizados proporcionan cantidades insuficientes de N y P para obtener altos rendimientos en cultivo de trigo sobre suelos de baja fertilidad.

Los compost en combinación con fertilizantes inorgánicos podrían ser una

alternativa de nutrición orgánico-mineral que posibilitaría el aumento de la eficiencia en el uso de los fertilizantes de síntesis química y agregando MO al suelo. Además, al mismo tiempo se reciclan y valoran los nutrientes de los residuos sólidos orgánicos.

Agradecimientos

Ensayos financiados por proyectos PD.I518 y FVT N° 294 (INTA- DAASONS S.A.) del INTA, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (Argentina).

Referencias bibliográficas

- Alvarez, R. (2001). Estimation of carbon losses by cultivation from soils of the Argentine Pampa using the Century model. *Soil Use Management*. 17, 62-66.
- Bolsa de Comercio de Rosario (2020). Anuario Estadístico. *Dirección de Informaciones y Estudios Económicos de la Bolsa de Comercio de Rosario*. Rosario, Santa Fé, Argentina.
- Cooperband, L.R., Good, L.W. (2002). Biogenic phosphate minerals in manure: implications phosphorus loss to surface waters. *Environ Sci & Tech*. 36, 5075-5082.
- Craswell, E. & Lefroy, R. (2001). The role and function of organic matter in tropical soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 61, 7-18.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M., & Robledo, C.W. (2016). *InfoStat Software*. Universidad Nacional de Córdoba: Córdoba, Argentina.
- Echeverría, H.E. & Ferrari, J.L. (1993). Relevamientos de algunas características de los suelos agrícolas del sudeste bonaerense. *Boletín técnico EEA Balcarce INTA*. N° 112.
- Eghball, B. & Power, J.F. (1994). Beef cattle feedlot manure management. *J Soil Water Conserv*. 49, 113-122.
- Ferrari, J.L.; Tittonell, P. y Dosanto A.M. (2016). Peletización de abonos y aporte de micronutrientes en fertilizantes inorgánicos y orgánicos. *XXV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo*. Río Cuarto, Argentina.
- Ferrari, J.L., Dosanto, A.M., Tittonell, P.A., Reque, R. & Gazzotti, J.I. (2018). Aplicación defertilizantes orgánicos-pellets con sembradoras convencionales. *XXVI Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo*. Tucumán, Argentina.
- Ferrari, J.L., Orden, L., Ocariz, P. & Galantini, J. (2020). *XXVII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo*. Corrientes, Argentina.
- García, F. (2001). Balance de fósforo en los suelos de la región pampeana. *Informaciones Agronómicas INPOFOS Cono Sur*. 9, 1-3.
- McDowell, R.W. & A.N. Sharpley. 2004. Variation of phosphorus leached from Pennsylvanian soils amended with manures, composts or inorganic fertilizer. *Agric Ecosyst Environ*. 102, 17-27.
- Sharpley, A.N., Daniel, T., Sims, T., Lemunyon, J., Stevens, R., & Parry, R. (2003). *Agricultural Phosphorus and Eutrophication*. 2nd Edition. Washington: USDA-ARS. U.S.Gov. Print. Office.
- Whalen, J.K. & Chang, C. (2001). Phosphorus accumulation in cultivated soils from long-term annual applications of cattle feedlot manure. *J. Environ. Qual.* 30, 229-237.

Obtención de un bioestimulante agronómico/ambiental mediante hidrólisis enzimática de okara

Obtaining an agronomic/environmental biostimulant by enzymatic hydrolysis of okara

A. Orts^{*1}, A. Garcia-Quintanilla¹, P. Caballero¹, J.M. Orts¹, M. Tejada², L. Martin-Presas¹,
J.Parrado¹

¹ Dept. Biochemistry and Molecular Biology, University of Seville, C/ Profesor García González 2, 41012 Seville, Spain.

² Department Crystallography, Mineralogy and Agricultural Chemistry, E.T.S.I.A., University of Seville, Crta. de Utrera km. 1, 41013 Seville, Spain

*josortgom2@alum.us.es

Resumen*

En el presente trabajo se ha desarrollado un proceso enzimático destinado a la valorización de la okara, mediante su conversión en un producto bioestimulante agronómico/ambiental altamente biodisponible y con alto contenido en C, N, P, K.. La okara es un subproducto insoluble resultante en el proceso de obtención de la leche de soja y tofu. Aunque tiene un alto valor nutricional (proteínas, fibra y lípidos) destaca su composición en compuestos bioactivos, como isoflavonas, vitaminas y oligoelementos, presenta problemas de utilización, por su alto contenido en agua que lo convierte en un producto muy perecedero y fácilmente fermentable. Todo ello lo convierte en un sustrato idóneo para la obtención de compuestos agronómico/ambientales. El proceso se basa en el uso de diferentes enzimas hidrolíticas, que conducen a la solubilización e hidrólisis de las moléculas orgánicas (proteínas y azúcares) e inorgánicas (P y K). El proceso enzimático diseñado consiste en una hidrólisis multienzimática secuencial donde actúan proteasas, fitasas y carbohidrolasas. El extracto enzimático ha sido caracterizado químicamente, destacando su alto contenido en péptidos y aminoácidos libres (contenido orgánico soluble compuesto en un 64% por moléculas de <1 KDa, solubilización de un 61% del total de proteínas), así como en fosfato de origen orgánico (solubilización de un 79,1% del total de P), K (solubilización de un 86,6% del total de K) y glucosa libre.

Bioestimulante, enzimas, péptidos, Okara, NPK.

Abstract **

In the present work, an enzymatic process has been developed for the valorization of okara, through its conversion into an agronomic/environmental biostimulant product with high bioavailability and high content in C, N, P and K. Okara is an insoluble by-product resulting from the process of obtaining soy milk and tofu. Although it has a high nutritional value (proteins, fiber and lipids), where its composition of bioactive compounds such as isoflavones, vitamins and trace elements stands out, it presents problems of utilization due to its high water content, which makes it a very perishable and easily fermented product. All this makes it an ideal substrate for obtaining agronomic/environmental compounds. The process is based on the use of different hydrolytic enzymes, which lead to the solubilization and hydrolysis of organic (proteins and sugars) and inorganic (P and K) molecules. The enzymatic process designed consists of a sequential multi-enzymatic hydrolysis involving proteases, phytases and carbohydrolases. The enzymatic extract has been chemically characterized, highlighting its high content in peptides and free amino acids (soluble organic content composed of 64% of molecules <1 KDa, solubilization of 61% of total proteins), as well as in organic phosphate (solubilization of 79.1% of total P), K (solubilization of 86.6% of total K) and free glucose.

Biostimulant, enzymes, peptides, Okara, NPK.

Introducción

Okara es un subproducto obtenido durante el proceso de fabricación de leche de soja, presenta un alto valor nutricional debido a su riqueza en proteínas, grasas, carbohidratos y contenido en compuestos bioactivos (isoflavonas, vitaminas y oligoelementos) (O'Toole, 1999). Destaca su alto contenido proteico 31,1%, de lípidos 24,6 y de carbohidratos, fundamentalmente fibra insoluble (celulosas y hemicelulosas) de un 38,9%. Respecto a los microelementos, presenta un alto contenido en fósforo (5,3 g/kg) y potasio (11,5 g/kg). En cuanto al componente inorgánico, el contenido de cenizas es 4.1%. (Tabla 1 y 2)

OKARA	%
Humedad (%)	0
Materia Seca (%)	100
C (%)	50.1
N (%)	5.1
C/N	9.8
Proteinas (N x 6.25)	31.9
Microelementos (g/Kg)	
K	11.5
P	5.3

Tabla 1 – Composición química de Okara.
Los resultados son expresados en porcentaje (p/p) en relación con material seco

Okara	(%)
Grasas (%)	24.6 ± 1.7
Proteinas (% N*6.25)	31.9 ± 1.2
Cenizas (%)	4.1 ± 0.2
Carbohidratos (%)	38.9 ± 2.4
Fibra Soluble	2.9 ± 0.8
Fibra Insoluble	36 ± 0.9
Almidón	0.42 ± 0.05

Table 2 - Composición química básica del Okara. (Análisis Aenor. Julio de 2016) Los resultados expresados como% (p / p) son tres valores promedio de análisis. Datos referidos a materia seca material.

Debido a su alta humedad la okara es un producto muy perecedero el cual, debe procesarse muy rápidamente y, aunque existen formas de preservarlo, no son rentables debido a su alto coste energético (Mateos-Aparicio, 2011, 2016).

Actualmente se usa principalmente en países occidentales como alimento para animales o abono de lenta absorción (Rinaldi *et al.*, 2000). Actualmente existe una tendencia en alza de valorización de productos orgánicos industriales (Parrado *et al.*, 2015), con la finalidad de transformarlos en bioestimulantes o fertilizantes orgánicos (Xu and Geelen 2018).

Okara puede ser valorizado en un bioestimulante rico en nutrientes de rápida absorción y con alto contenido en compuestos bioactivos (Bastida, 2008). Así pues, el presente trabajo tiene como objetivo desarrollar un proceso enzimático destinado a la valorización de la okara mediante su conversión en un producto bioestimulante agronómico/ambiental altamente biodisponible y con alto contenido en C, N, P, K.

Materiales y Métodos

2.1. Características del proceso de hidrólisis enzimática y okara

OK fue suministrado por la empresa española Soria Natural S.A. Las características químicas de este subproducto se muestran en la Tabla 1 y la Tabla 2. El proceso de hidrólisis se realizó en un biorreactor siguiendo la metodología pH-stat (Adler-Nissen, 1977), utilizando una endoproteasa (Protamex, Novozymes), fitasa (Biocon) y Bioglucanasa ME (Biocon). Para el proceso de hidrólisis previamente se autoclavó okara a 130° 20min y 1atm. Seguidamente se eligió la incubación con 0.3% de enzimas (v/v) durante 8 horas cada enzima a 55°C con agitación.

2.2 Análisis de peso molecular de las proteínas solubles

El contenido de proteína de la fracción soluble de okara se estudió mediante cromatografía de exclusión por tamaño usando un sistema FPLC AKTA-purificator (GE Healthcare), cromatografía de filtración y una columna Superdex Peptide 10 / 300GL, con un rango de exclusión

entre 700 y 10.000 Da que discrimina péptidos y aminoácidos libres.

2.3 Análisis de las proteínas totales

Para analizar el contenido total de proteína se utilizó el método Lowry, el cual determina el nivel total de proteína en una solución.

2.4 Análisis de glucosa libre

El contenido de glucosa libre existente en el extracto con agua y el extracto enzimático, fue determinado mediante el KIT D-Glucose (GOPOD Format) K-gluc de Megazyme.

2.5 Análisis de fosfato soluble

El contenido de ortofosfato soluble se midió utilizando el ensayo de molibdato amónico (Nassiri, 2015)

2.6 Caracterización química extractos solubles

La caracterización química de los extractos solubles se determinó por ICP Spectro Blue, en los servicios de microanálisis de la Universidad de Sevilla. 10 / 300GL, con un rango de exclusión entre 700 y 10.000 Da que discrimina péptidos y aminoácidos libres

Resultados y discusión

Para la hidrólisis proteica se eligió la enzima Protamex de Novozymes debido a su mejor rendimiento por el pH natural de la okara (Tabla 1). Respecto a la solubilización de fosfato orgánico, se comparó la extracción con diferentes enzimas (Proteasas, lipasas, glucanasas y fitasas), obteniendo los mejores resultados con la enzima Fitasa de Biocon consiguiéndose extraer hasta un 92% del total de fósforo existente en okara

y, su vez transformando todo el contenido de fitatos (macromolécula de alto contenido en fósforo no biodisponible) en fósforo orgánico libre (Tabla 2). Finalmente para la solubilización de los carbohidratos se eligió la enzima Glucanasa ME de Biocon, la cual es un complejo de múltiples carbohidrolasas. Tras la hidrólisis enzimática con éstas tres enzimas aplicadas secuencialmente, se obtuvo una solubilización de la okara del 60%. (Tabla 3).

	% Solubilizado
Control	36,21
Papaína	41,08
Protamex	45,50
Subtilisina	41,86

Tabla 1: Solubilización de okara con diferentes proteasas

Las proteínas representan la mayor fracción y en forma de proteínas hidrolizadas (Tabla 4), mayoritariamente péptidos con un tamaño molecular inferior a 1000da (64%) en cambio la pequeña fracción de proteínas solubles de OK son de alto peso molecular superior a 1000da (72%).

Respecto a la extracción total de proteínas y glucosa libre en el extracto enzimático, se alcanzó una extracción del 40,9% del total de proteínas existente en la okara, frente al 22,02% en el extracto acuoso, y una extracción de 117,9 mg/kg de glucosa libre en el extracto enzimático, frente a 18,61 mg/kg que se obtienen en el extracto acuoso. Respecto a la composición química del extracto enzimático de la okara, se consigue extraer hasta un 76% del contenido total de nitrógeno, el 79,1% del total de fósforo y el 86,6% del total de potasio (Tabla 5).

%	Fosfato	Fitato	Insoluble/organico
Control	34,69	29,92	35,38
Papain	45,31	34,01	20,68
Protamex	65,23	18,11	16,66
Subtilisin	55,88	27,48	16,64
Phytase	92,70	0,00	7,30
β -Glucanase	60,88	23,50	15,62
Lipase	68,38	16,93	14,69

Tabla 2: Extracción del total de fósforo existente en okara mediante hidrólisis a 24h con diferentes enzimas

Solubilización %	
Control	35,50
Secuencial	59,63

Tabla 3: Solubilización de okara tras la hidrólisis multienzimática secuencial

Peso Molecular (Da)	Okara sin hidrolizar (%)	Extracto enzimático (%)
10,000-1,000	72,34	35,60
<1,000	27,65	64,40

Tabla 4 – Distribución del contenido de proteínas solubles de Okara y el Extracto enzimático referidos a materia seca. Columna Superdex Peptide 10/300GL column

Conclusiones

Tras el proceso de hidrólisis multienzimática secuencial de la okara con proteasa, fitasa y carbohidrolasas, se consigue obtener un nuevo producto soluble con un contenido mayoritario en moléculas de bajo peso molecular muy biodisponible. Mediante ésta técnica se consiguen extraer grandes proporciones de los contenidos nutricionales de la okara, siendo así el extracto enzimático soluble un buen candidato como bioestimulante agronómico/ambiental de rápida absorción.

	Okara Seco	Soluble Sin Tratamiento	Soluble Hidrolizado
pH	5,5	5,5	5,5
Materia Seca%	100%	100%	100%
C%	49,55%	41,80%	38,35%
N%	5,1%	0,82%	3,12%
P	5,3 g/kg	2,1 g/kg	4,19 g/kg
K	11,5 g/kg	4,5 g/kg	9,96 g/kg

Tabla 5: Solubilización de okara tras la hidrólisis multienzimática secuencial

Bibliographic References

- [1] Perez-López E., Mateos-Aparicio I., Rupérez P. 2016. Okara treated with high hydrostatic pressure assisted by Ultraflo L. Innovated food science & emerging technologies. 33: 32-37.
- [2] O'Toole. Characteristics and use of okara, the soybean residue from soy milk production--a review. 1999 Feb;47(2):363-71
- [3] Rodríguez-Morgado, B., Gómez, I., Parrado, J., García-Martínez, A.M., Aragón, C., Tejada, M. 2015c. Obtaining edaphic biostimulants/biofertilizers from different sewage sludges. Effects on soil biological properties. Environ. Technol. 36, 2217-2226.
- [4] Mateos-Aparicio, I. (2011). Beans by-products, potential sources for functional ingredients. In E. Popescu, & I. Golubev (Eds.), *Beans: Nutrition, Consumption and Health* (pp. 233-248). New York: Nova Publishers Inc.
- [5] Nassiri M, Ariannejad H. Comparative Analysis of Peripheral Alkaline Phytase Protein Structures Expressed in *E. coli*. Reports of biochemistry & molecular biology vol. 4,1 (2015): 10-8..
- [6] Xu L., Geelen D. Developing biostimulants from agro-food and industrial by-products. *Frontiers*, 2018.
- [7] Bastida F, Kandeler E, Moreno JL, et al. Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Appl Soil Ecol*. 2008;40:318–329.

Ryegrass forage production and apparent N and P recovery in a soil amended with olive mill waste compost and mycorrhizal fungi

Produção de forragem de azevém e recuperação aparente de N e P com aplicação ao solo de compostado de bagaço de azeitona e fungos micorrízicos

Carneiro, João Paulo^{1,2,3}; Horta, Carmo^{1,2}; Veloso, Abel^{1,2*}; Almeida, Celestino^{1,2,3}

¹ Polytechnic Institute of Castelo Branco - School of Agriculture, Qt^a. Sra de Mércoles, Ap. 119, 6001-909 Castelo Branco, Portugal,

² CERNAS - Research Centre for Natural Resources, Environment and Society, Polytechnic Institute of Castelo Branco, Av. Pedro Álvares Cabral, nº 12, 600-084 Castelo Branco, Portugal

³ QRural – Quality of Life in the Rural World – Research Unit, Polytechnic Institute of Castelo Branco, Qt^a. Sra de Mércoles, Av. Pedro Álvares Cabral, nº 12, 600-084 Castelo Branco, Portugal

*abel.veloso@gmail.com

Abstract

In the 2021/22 crop year, Portugal had the largest production of olive oil ever and it was difficult to find an adequate final destination for the bagasse generated. Although solid olive mill waste has phytotoxic properties, its compost can be used as a fertilizer. Mycorrhizal fungi can, potentially, increase crop productivity due to its relation with higher water and nutrients absorption by the roots. This work intended to evaluate the feasibility of the soil application of olive mill waste compost and mycorrhizal fungi, attending to the biomass production of ryegrass and apparent N and P recovery. A pot trial was carried out and the results showed that the olive mill waste compost could be used as an alternative source of fertiliser for ryegrass, but there must be a simultaneous application of inorganic nitrogen and phosphorus fertilizer. In this fertilization system, the application of mycorrhizal fungi demonstrated to be able to improve ryegrass forage yield.

Keywords: apparent recovery of N and P, *Lolium multiflorum* L, mycorrhizal fungi, sustainable fertilization

Resumo

No ano agrícola 2021/22, Portugal teve a maior produção de azeite de todos os tempos e foi difícil encontrar um destino final adequado para o bagaço gerado. Embora o resíduo sólido de lagar de azeite tenha propriedades fitotóxicas, a sua compostagem pode permitir a utilização como fertilizante. Os fungos micorrízicos podem, potencialmente, aumentar a produtividade das culturas, ao promoverem uma maior absorção de água e nutrientes pelas raízes. Este trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade da aplicação no solo de compostado de bagaço de azeitona e fungos micorrízicos, atendendo à produção de biomassa de azevém e recuperação aparente de N e P. Foi realizado um ensaio em vasos e os resultados mostraram que o compostado pode ser utilizado como fonte alternativa de fertilizantes na cultura de azevém, desde que haja uma aplicação simultânea de formas inorgânicas de azoto e fósforo. Neste sistema de fertilização, a aplicação de fungos micorrízicos demonstrou ser capaz de melhorar a produtividade da forragem de azevém.

Palavras-chave: fertilização sustentável, fungos micorrízicos, *Lolium multiflorum* L, recuperação aparente de N e P

Introduction

In Portugal, olive groves for the production of olive oil occupy an area close to 373 thousand hectares. In the 2021/22 crop year, the country recorded the highest production of olive oil ever, close to 2.25 million hectolitres (INE, 2022). According to several sources, there was a depletion of the installed capacity to process the bagasse generated. From a circular economy perspective, and completely to an increasing of the capacity of national extractors of olive oil bagasse, other destinations and forms of valorization have been considered for bagasse. Among these, its use in crop fertilization stands out. However, the presence of polyphenols in the composition of this by-product, has been shown to be a limitation to its direct application to the soil, due to its toxicity and phytotoxicity effects. Once composted, this organic by-product can be safely used as a fertilizer for soil application (Chowdhury et al., 2013).

For environmental and economic reasons, the amount of nutrients removed by crops in relation to the amount applied to the soil, is one of the aspects that must be considered when analysing effects from a given fertilization system. This efficiency in the use of nutrients depends on several factors, among them the growth of the plant's root system. When plants are colonized with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), they have access to a larger resource area, which may promote an increase of the nutrients use efficiency. This study aims to evaluate the effectiveness of a fertilization system with soil application of olive mill waste compost and/or mineral fertilizers, with the use of mycorrhizal fungi, on the production of ryegrass forage and nitrogen and phosphorus use efficiency.

Material and methods

A pot trial was carried out at the School of Agriculture of Polytechnic Institute of Castelo Branco, Portugal. The soil used was taken from the layer 0-0.20 m of a dystric Regosol derived from granitic rock. The soil was acidic ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} = 5.2$), of sandy loam texture, with medium level of OM (27

g kg^{-1}), low level of Olsen P (8 mg kg^{-1}) and high level of available K (127 mg kg^{-1}). The soil was air dried and sieved in a $<5 \text{ mm}$ -mesh sieve. The experiment was conducted in a completely randomized design and the fourteen treatments tested, with four replications, consisted of: the application of two levels of N ($1 - 85 \text{ kg ha}^{-1}$ and $2 - 170 \text{ kg ha}^{-1}$) applied through olive mill waste compost (Norg) and/or mineral forms (N), three levels of mineral phosphorus ($0\text{P} - 0 \text{ kg ha}^{-1}$, $1\text{P} - 40 \text{ kg ha}^{-1}$ and $2\text{P} - 80 \text{ kg ha}^{-1}$) and application, or not, of mycorrhizal fungi. It was also considered the non-application of any fertilizer or mycorrhizal fungi (Control) and the practice of a conventional mineral fertilization (170N+80P). The pots, with 6 kg of capacity, were filled with the sieved soil. The fertilisers were added to soil according to the treatments and the tetraploid annual ryegrass (*Lolium multiflorum* L.; cv. Winter Star II) was sown using a seed density equivalent to 40 kg ha^{-1} . The olive mill waste compost was applied at a rate corresponding to the application of 170 N kg ha^{-1} , only at sowing (2Norg), and at a rate of 85 kg N ha^{-1} (1Norg) at sowing, with $42.5 \text{ kg N ha}^{-1}$ through the application of a mineral fertiliser at the first cut and the same amount at the second cut (total 85 N). In the N1 treatments half of mineral nitrogen was applied at the first cut and the same amount at the second cut. In the N2 treatments half of mineral nitrogen was applied at sowing and the other half divided by the second and third cuts. Mineral phosphorus fertilizer was applied at sowing. The mycorrhizal fungi (*Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*) were applied to the soil (1 kg ha^{-1} ; $500 \text{ spores g}^{-1}$ of each species) at the first watering, after sowing. Three cuts were made and the plants were dry at 65°C during 48h and weighted for dry matter production. After this operation, dried plant samples of each pot were analysed for N (Kjeldahl method) and P (determined in the hydrochloric solution of the ash and quantified by molecular absorption spectrophotometry). During the experiment the soil was maintained at 60%-70% of field capacity.

Apparent N or P recovery efficiency (ANR or APR) were calculated by the difference in nutrient uptake in above-

ground parts of the plants between the fertilized and unfertilized crop relative to the quantity of nutrient applied. Statistical analysis of the data was carried out with IBM SPSS statistics 26 software. A factorial ANOVA was performed to identify the treatments effects. Tukey's test was used to compare means at 0.05 probability level.

Results and discussion

The olive mill waste compost (OMWC) presented a DM value >75% (76%) and more than 50% (57%) of OM, important requirements for a by-product that is intended to be used as an organic fertilizer. The C:N ratio of 22 suggests a reasonable stabilization of the compost. It is an alkaline product, with a pH_{H2O} value of 8.0. Total N, P, K, Ca and Mg determined in the compost were, respectively: 1.5%, 0.06%, 2.21%, 1.12% and 0.24%. The content of heavy metals is in low concentration.

Attending to the cumulative forage production in the different treatments (Figure 1), can be observed that the use of OMWC as the only fertilizer in ryegrass, may imply a decrease in forage production of around 60%. With the replacement of half of the mineral N fertilization using compost, this decrease was much less important (of 12%), namely when AMF were used. I.e, the results showed that the use of OMWC in the crop fertilization could be economically advisable and the soil addition of AMF might be interesting, when the compost is used simultaneously with N and P mineral fertilizers.

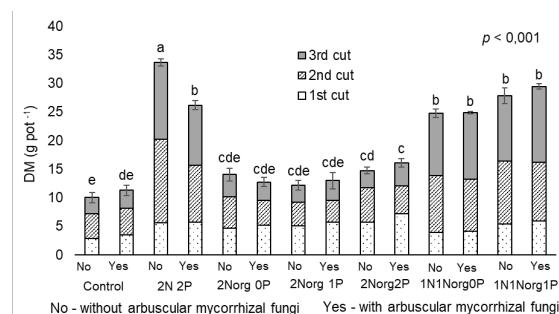


Fig. 1 – Cumulative ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) forage dry matter production (g pot⁻¹). Treatments with different letters show significant differences. The vertical bars represent \pm SEM, n=4

N uptake by the crop (Table 1) was higher with the application to the soil of

mineral fertilizer only (2N 2P) and with soil incorporation of olive mill compost simultaneously with N in absorbable forms (1N 1Norg 0P and 1N 1Norg 1P). The lower N uptake values, as happened with the P uptake ones, were measured in Control.

Table 1 – Mean values of N and P uptake by ryegrass. Treatments with different letters show significant differences.

Treatment	Addition of arbuscular mycorrhizal fungi	N uptake	P uptake
Control	Yes	41.8 e	6.4 fg
	No	36.9 e	5.3 g
2N 2P	Yes	71.6 b	10.8 abcd
	No	103.0 a	12.5 ab
2Norg 0P	Yes	46.6 de	8.6 def
	No	52.4 cde	7.7 efg
2Norg 1P	Yes	44.8 e	10.0 bcde
	No	42.8 e	7.8 efg
2Norg 2P	Yes	52.8 cde	12.1 abc
	No	54.1 cde	9.2 cdef
1N1Norg 0P	Yes	63.2 bcd	9.9 bcde
	No	67.2 bc	9.1 cdef
1N1Norg 1P	Yes	71.6 b	13.4 a
	No	74.5 b	10.4 abcde

As could be expected, the addition of P in mineral forms gave rise, in general terms, to a greater P uptake values. The presence of AMF also had a significant influence ($p = 0.003$). Considering the results of all treatments, it was observed that the addition of microorganisms to the soil tended to favour the removal of P by the plants, except when only mineral fertilizers (2N 2P) were used in the crop fertilization. The soil incorporation of compost had no evident effect on these results.

The higher ANR (39%) was measured when N was applied only in mineral forms (2N 2P), without AMF addition (Figure 2). In this treatment, the AMF application promoted a reduction in ANR of about 50%. Although with less percentage, in the others treatments there was also a decrease in ANR values with AMF addition. The low value of ANR observed with N mineral fertilizer, can be explained by the high dose of N applied (170 kg Nha⁻¹). However, the

lowest values of ARN were verified when the N was applied only through the compost. In these treatments, the highest value of ANR was 10% (in 2Norg 2P).

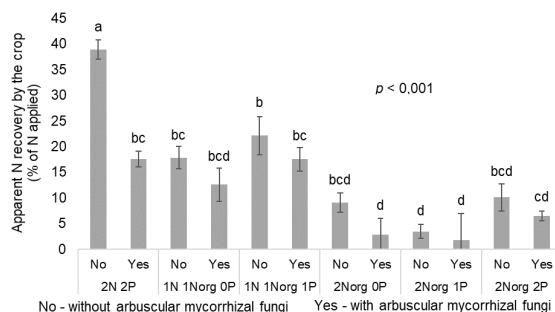


Fig. 2 – Mean values of apparent nitrogen recovery from fertilizers by ryegrass. Treatments with different letters show significant differences. The vertical bars represent \pm SEM, n=4

Considering the results of APR (Figure 3), it can be seen that with the application of the highest dose of compost (equivalent to 14 t ha^{-1} ; 2Norg treatments), the value did not exceed 7%, a result that will be similar to those registered in others experiments with different fertilizers (Johnston & Poulton, 2019).

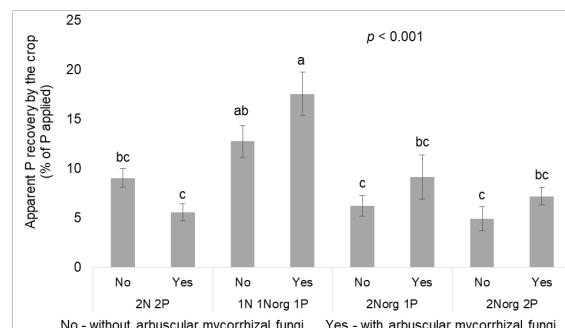


Fig. 3 – Mean values of apparent phosphorus recovery from fertilizers by ryegrass. Treatments with different letters show significant differences. The vertical bars represent \pm SEM, n=4

The compost had a low level of P (0.06%). Nevertheless, the highest APR (13% and 18%, without and with AMF addition, respectively) was measured with simultaneous incorporation to the soil of N and P mineral fertilizers and compost. This result showed that combined application of both mineral fertilizers and compost, could lead to a faster P availability by the organic material. However, the higher amount of P applied to 2N 2P than to 1N 1Norg 1P, may also justify the lower AMF

observed in 2N 2P (9% and 6%, without and with AMF addition, respectively).

Soil application of compost or mycorrhizal fungi had no significant effects ($p=0.270$ and $p=0.128$, respectively) on APR results. Even so, with the AMF soil addition there was a tendency for an increase of the P recovered by plants, but only when compost was used in its fertilization. With the application of mineral fertilizers only, an opposite effect seems to happen.

Conclusions

The olive mill waste compost could be used in ryegrass fertilization, but with simultaneous application of mineral N and P (at least in soils with low P level). The addition of compost only, promoted important reductions in forage production. Besides, the use of mycorrhizal fungi showed to be able to improve ryegrass forage yield, if the compost and N and P mineral fertilizers are used simultaneously. Also in environmental terms, this practice appeared to be adequate. The apparent recovery of N and P from fertilisers, increased when mineral fertilisers and the compost were applied to the soil all together, instead of compost only (in the case of nitrogen) or mineral fertilizers only (in the case of phosphorus).

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge funding from INTERREG V-A ESPAÑA-PORTRUGAL 2014-2020: Project 0049-INNOACE_4_E.1

References

- Chowdhury, A.K., Akratos, C.S., Vayenas, D.V. & Pavlou, S. (2013) - Olive mill waste composting: a review. International Biodeterioration & Biodegradation, 85, 108-119. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.06.019>.
- INE (2022). Produção record de azeite na campanha de 2021 contrasta com cenário de seca e de aumento do preço dos meios de produção na agricultura. Previsões Agrícolas - janeiro 2022.
- Johnston, A.E. & Poulton, P.R. (2019) – Phosphorus in agriculture: A Review of results from 175 years of Research at Rothamsted, UK. *Journal of Environmental Quality*, 48, 1133-1144. <https://doi.org/10.2134/jeq2019.02.0078>

BioComp_2.0 - Produção de compostos orgânicos biológicos para o controlo do jacinto de água e para a valorização de subprodutos agropecuários, florestais e agroindustriais

BioComp_2.0 - Production of biological organic composts for the control of water hyacinth and valorization of by-products resulting from agricultural, forestry and agro-industrial activities

Verónica Oliveira^{1,2,3}, Rosinda Pato^{3,4}, Filomena Miguens^{3,4}, Daniela Santos^{3,4*}

¹ Colina Generosa, Rua Eça de Queirós, nº 5, 3000-147, Coimbra, Portugal

² New Organic Planet, Rua dos Murças, nº 71 – 3º andar, 9000-058 Funchal, Madeira

³ Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade (CERNAS), Escola Superior Agrária de Coimbra, Bencanta, 3045-601 Coimbra, Portugal

⁴ Instituto Politécnico de Coimbra, Escola Superior Agrária, Bencanta, 3045-601 Coimbra, Portugal

*dsantos@esac.pt

Resumo

O mercado da Agricultura Biológica encontra-se em franco crescimento em todo o Mundo e particularmente na União Europeia que definiu a ambiciosa meta de 25% da área agrícola em modo de produção biológico até 2030. A Agricultura Biológica apresenta-se como sendo um modo de produção sustentável, consistindo num sistema global de gestão das explorações agrícolas e de produção de géneros alimentícios que combina as melhores práticas ambientais, um elevado nível de biodiversidade, a preservação dos recursos naturais, a aplicação de normas exigentes em matéria de bem-estar dos animais e método de produção em sintonia com a preferência de certos consumidores por produtos resultantes de processos naturais, isentos de moléculas sintéticas e amigos do ambiente.

Prevendo-se igualmente o aumento da necessidade por matérias fertilizantes compatíveis com o modo de produção biológico, o projeto BioComp_2.0 (projeto de I&DT em copromoção) surge como uma proposta de desenvolvimento de compostos orgânicos biológicos produzidos a partir da planta invasora jacinto de água e de subprodutos agropecuários, florestais e agroindustriais, ainda pouco valorizados. O grande objetivo final é conseguir-se, deste modo, um controlo mais eficaz e economicamente viável do jacinto de água, espécie comum em Portugal e Espanha, ao mesmo tempo que se reforça e diversifica a oferta de fertilizantes (corretivos, substratos e adubos) para responder às crescentes necessidades do setor da Agricultura Biológica, numa ótica de pleno respeito pela Economia Circular. O projeto contempla diversas atividades de I&D complementadas com a validação do ciclo de vida e estudo da viabilidade económica da solução desenvolvida.

Palavras-chave: Compostagem, valorização de resíduos, espécie invasora, Agricultura Biológica, sustentabilidade.

Abstract

The organic farming market is rapidly growing all over the world and particularly in the European Union, which has defined the ambitious target of 25% of the agricultural area in organic production by 2030. The organic production system presents itself as a sustainable production method, consisting of a global system for the management of agricultural holdings and food production that combines the best environmental practices, a high level of biodiversity, the preservation of natural resources, the application of strict animal welfare standards and production method in line with the preference of certain consumers for products resulting from natural processes, free from synthetic molecules and environmentally friendly.

Also foreseeing an increase in the need for fertilizing materials compatible with the organic production method, the BioComp_2.0 project (R&DT project in co-promotion) emerges as a proposal for the development of biological organic composts produced from the invasive water hyacinth plant and agricultural, forestry and agro-industrial by-products, which are still undervalued. The ultimate goal is to achieve, in this way, a more effective and economically viable control of water hyacinth, a common species in Portugal and Spain, while strengthening and diversifying the supply of fertilizers (amendments, substrates and fertilizers) to respond to the growing needs of the organic farming sector, with full respect for the Circular Economy. The project includes several R&D activities complemented with the validation of the life cycle and study of the economic viability of the developed solution.

Keywords: Composting, waste valorization, invasive species, organic farming, sustainability.

Enquadramento do projeto

Uso sustentável dos recursos naturais para a produção de alimento

As atuais tendências de crescimento populacional, e consequente aumento da procura e pressão nos recursos naturais disponíveis, tem vindo a enfatizar a necessidade das sociedades modernas avançarem para um paradigma mais sustentável, quer em termos económicos, quer em termos sociais, apostando na implementação de tecnologias mais “verdes” que contribuam para uma diminuição das emissões de gases com efeitos de estufa.

Uma das abordagens atuais que promove um desenvolvimento e exploração sustentável dos recursos naturais disponíveis, assim como práticas sustentáveis e de impacto positivo no ecossistema agrícola, é a Agricultura Biológica. Este modo de produção agrícola tem por base o solo e a sua fertilidade, o ecossistema envolvente e a respetiva biodiversidade, num compromisso entre o ecologicamente possível e o economicamente viável. A manutenção da fertilidade do solo é crucial a longo prazo para que haja sustentabilidade no setor agrícola.

Os principais objetivos da Agricultura Biológica passam essencialmente por aumentar a fertilidade dos solos. Assume-se que o solo é um elemento vivo e quanto maior e mais diversificada for a componente biológica nele existente, mais fértil e funcional será. Para além de não se usar adubos de síntese, que a longo prazo provocam desequilíbrios químicos, acumulação de sais, desagregação do solo com consequências sobre a vida do solo, devem-se usar outras técnicas alternativas como a adubação verde, consociações, rotação de culturas, plantas auxiliares e a utilização de corretivos orgânicos como o composto (Brito, 2006).

Assim, para responder à crescente procura de matérias fertilizantes naturais orgânicas necessárias para aumentar a fertilidade dos solos, suportando o crescimento da Agricultura Biológica nacional, o projeto BioComp_2.0 (projeto

de I&DT em copromoção) pretende conciliar a produção de composto de qualidade ao controlo da invasora jacinto-de-água (*Eichhornia crassipes*, Figura 1). Para tal, propõe-se soluções que promovam a Economia Circular, uma vez que as técnicas perspetivadas irão recorrer a recursos naturais já existentes, através da redução, reutilização, recuperação e reciclagem de materiais e energia. Ao mesmo tempo promove-se uma nova forma de controlo da invasora jacinto-de-água, com a expectativa de redução de custos no seu controlo e de impactes ambientais.



Fig. 1 – Curso de água invadido por jacinto-de-água.

O jacinto-de-água e as metodologias utilizadas para o seu controlo

O jacinto-de-água é uma planta invasora exótica que apresenta uma elevada capacidade de desenvolvimento vegetativo, o que lhe permite colonizar áreas muito amplas e recuperar rapidamente após a extração mecânica. Desde a sua entrada no território português e após adquirida uma boa adaptação e formas muito eficazes de proliferação, vem causando vários problemas aos ecossistemas e à produção agrícola, traduzindo-se em elevados prejuízos ambientais e económicos.

O jacinto-de-água forma tapetes que podem cobrir totalmente a superfície da água (Figura 1) levando a alterações no ambiente aquático diminuindo, assim, a qualidade da água, a biodiversidade da

fauna e flora aquáticas, reduzindo a luz disponível e o fluxo de água e aumentando a eutrofização. A nível económico apresenta também vários impactes como o impedimento da navegação, uma vez que entope os canais, acabando por diminuir o aproveitamento recreativo, piscícola ou outros. Também acarreta custos elevados associados à aplicação de medidas de controlo e manutenção das infraestruturas dos perímetros de rega invadidos por esta espécie, além dos constrangimentos de mal funcionamento dos mesmos na derivação da água de rega até às parcelas agrícolas (Elserafy et al., 1980).

O controlo de uma espécie invasora exige uma gestão bem planeada, que inclua a determinação da área invadida, identificação das causas da invasão, avaliação dos impactes, definição das prioridades de intervenção, seleção das metodologias de controlo adequadas e a sua aplicação. Posteriormente, será fundamental a monitorização da eficácia das metodologias e da recuperação da área intervencionada, de forma a realizar, sempre que necessário, o controlo de seguimento.

As metodologias de controlo convencionalmente usadas para o jacinto-de-água incluem: i) controlo físico - remoção manual/mecânica; ii) controlo químico - pulverização foliar de herbicida; iii) controlo biológico - através da libertação de artrópodes e fungos.

Porém, o controlo do jacinto-de-água é difícil e, quando alcançável, há custos inerentes que são elevados, fazendo com que a manutenção não seja a mais adequada ou eficaz, e a proliferação deste tipo de plantas volte com regularidade a níveis problemáticos. Para além dos custos há, na opção pelo meio de controlo biológico e químico, alguns constrangimentos que contribuem para a diminuição do sucesso das práticas de controlo, tais como i) condicionalismos apertados à introdução de animais em sistemas ambientais, restringindo o meio de luta biológico; ii) necessidades de pedidos de autorização legal e oficial para a aplicação de substâncias ativas com

propriedades de herbicidas em meios aquáticos, estando mesmo prevista a proibição total e sem exceção no espaço europeu.

Deste modo, o controlo físico é o que tem maior viabilidade técnica em qualquer geografia. No entanto, apesar dos vários estudos que comprovam esse fato, de acordo com as referências existentes, ainda não está comprovada a viabilidade económica e o aumento da sustentabilidade ambiental proporcionados pelo controlo físico. Não há estudos dessa natureza realizados em Portugal.

Valorização do jacinto-de-água por compostagem

A compostagem é uma excelente solução para a valorização de resíduos orgânicos, produzindo compostos que são corretivos do solo, uma vez que pelo seu elevado teor em matéria orgânica estabilizada, são aplicados para corrigir ou melhorar as características físicas, químicas e biológicas do solo, aumentando a sua fertilidade e resistência aos processos de degradação, tais como a erosão hídrica e contaminação por poluentes.

O objetivo da compostagem é converter o material orgânico, que não está em condições de ser incorporado diretamente no solo, num fertilizante orgânico (adubo e condicionador), isento de sementes viáveis de infestantes e/ou microrganismos patogénicos, e desejavelmente isento de metais pesados livres que possam ser absorvidos pelas plantas e/ou de moléculas orgânicas poluentes.

O projeto BioComp_2.0 pretende assim dar resposta à problemática da espécie invasora jacinto-de-água, através de uma solução que irá contribuir para o seu controlo, retirando-a do meio aquático e promovendo o seu tratamento e processamento através da compostagem. Deste modo, espera-se reduzir os custos de controlo desta invasora através da valorização comercial do seu resíduo transformado em composto, necessário a uma Agricultura Biológica em crescimento,

reduzindo-se os impactes e melhorando a funcionalidade dos solos com ganhos económicos e ambientais numa lógica de Economia Circular.

Objetivos do projeto BioComp_2.0

Os objetivos principais do projeto são:

- avaliar a viabilidade técnica e científica para o controlo físico eficaz do jacinto-de-água,
- desenvolver soluções alternativas de valorização do jacinto-de-água que a nível regional poderá ser combinado com outros subprodutos orgânicos para a produção de composto de qualidade para a Agricultura Biológica,
- avaliar a viabilidade ambiental e económica da valorização do jacinto-de-água e dos subprodutos das unidades produtivas,
- aumentar a sustentabilidade ambiental com a proteção dos ecossistemas aquáticos,
- promover os princípios da Economia Circular na região Centro.

Duração e plano de atividades do projeto BioComp_2.0

Para a concretização dos objetivos descritos acima, os copromotores do projeto – a Colina Generosa (entidade líder), a Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra e a Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, definiram um plano de atividades (Figura 2) com duração de 24 meses. O projeto teve início a 1 de abril de 2021 e tem como data final o dia 31 de março de 2023.

Resultados esperados do projeto

Os resultados esperados com a concretização do projeto são os seguintes:

- Desenvolvimento de metodologias

e soluções técnicas para o controlo eficaz e ambientalmente seguro da espécie invasora jacinto-de-água,

- Desenvolvimento e processamento de produtos compostados valorizando o elevado potencial fertilizante e corretivo da invasora, de modo que possam ser utilizados em Agricultura Biológica,
- Compatibilização de misturas e criação de valor a partir de matérias-primas mal aproveitadas,
- Comprovar a eficácia e qualidade agronómica dos produtos fertilizantes desenvolvidos,
- Desenvolvimento de um modelo integrado que promova a Economia Circular na região.

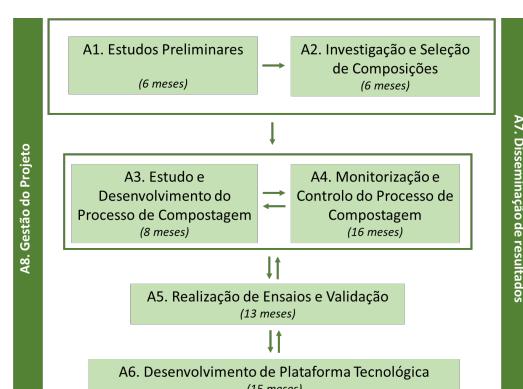


Fig. 2 – Plano de atividades do projeto BioComp_2.0

Agradecimentos

Os autores agradecem ao programa Compete 2020, Portugal 2020 e União Europeia, através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional, (POCI-01-0247-FEDER-070123), pelo suporte financeiro.

Referências bibliográficas

- Brito, L.M. (2006). Compostagem para a Agricultura Biológica. Manual de Agricultura Biológica – Terras do Bouro, Projecto-Piloto para a Conversão da Agricultura Tradicional em Modo de Produção Biológico, Escola Superior Agrária do IPVC. Mourão, I., Araújo, J.P. e Brito, M. (eds.)
- Elseryaf, Z.M., Sonbol, H.A., & Eltantawy, I.M. (1980). The problem of water hyacinth in rivers and canals. *Soil Science and Plant Nutrition*, 26(1), 135-138.

Determinação da matéria orgânica do solo com dois métodos distintos em pomares de pessegueiros da região da Beira Interior, Portugal

Soil organic matter evaluation using two different methods in peach orchards from the Beira Interior - Portuguese centre region

Gonçalves, Rodrigo^{1*}, Veloso, Abel^{1,2,3} Simões, Maria Paula^{1,2}, Horta, Carmo^{1,2}

¹Polytechnic Institute of Castelo Branco, School of Agriculture, Quinta da Sra. De Mércules, 6001-909 Castelo Branco, Portugal,

²CERNAS-IPCB Research Centre for Natural Resources, Environment and Society, Polytechnic Institute of Castelo Branco, 6001-909 Castelo Branco, Portugal.

³Soil Physics and Land Management, Wageningen University & Research, PO. Box 47, 6700 AA, Wageningen, The Netherlands

rg97515@gmail.com

Resumo / Resumen

A quantificação do teor de matéria orgânica (MO) do solo é de elevada importância para a avaliação da sua fertilidade e da sua capacidade em armazenar carbono. De entre os métodos disponíveis, o de Walkley-Black (WB) e as perdas por incineração (PPI) são dois dos mais comuns. O método de WB tem sido utilizado para quantificar a MO mais facilmente oxidável. Este trabalho teve como principal objetivo avaliar a adequabilidade destes dois métodos na quantificação da MO em solos de pomares de pessegueiro da zona interior centro de Portugal. Para isso foram utilizadas um total de 49 amostras colhidas à profundidade de 0-30 cm. No caso do método PPI, as amostras foram incineradas a 450°C durante 16 h e posteriormente a 800°C durante 4 h. Observaram-se perdas de massa reduzidas após a incineração a 800°C durante 4 h das amostras resultantes do método PPI. Apesar do método PPI apresentar valores superiores ao WB verificou-se uma boa correlação entre ambos ($R^2 = 0,636$, $P < 0,001$). A diferença observada entre os dois métodos permitirá quantificar o teor de MO mais estável nestes pomares.

Palavras-chave: matéria orgânica, armazenamento de carbono, Walkley-Black, perdas de massa por incineração.

Abstract

Soil organic matter (OM) quantification is of great importance to evaluate soil fertility and its capacity for carbon storage. Walkley-Black (WB) and loss on ignition (LOI) are two of the most common methods for OM quantification. WB method has been used to quantify the readily oxidizable OM. The main objective of this study was to evaluate the adequacy of these two methods for OM quantification in soils from the Portuguese inland centre region. A total of 49 soil samples (0-30 cm) were used. In LOI method, the samples were incinerated at 450°C for 16 h and then at 800°C for 4 h. Low weight losses were found when the samples obtained from the LOI method were incinerated at 800°C for 4 h. Despite the higher values obtained from the LOI method, a good correlation was found between that method and the WB method ($R^2=0,636$, $P<0,001$). The difference between the values obtained from the two methods indicates the more stable fraction of OM in soil which contributes to the long-term C storage.

Keywords: organic matter, carbon storage, Walkley-Black, loss of weight on ignition.

Introdução

A quantificação do teor em matéria orgânica (MO) do solo permite não só uma avaliação da fertilidade desse solo como também da sua capacidade em armazenar carbono. Em solos não calcários, e derivados fundamentalmente de rochas eruptivas e com pH ligeiramente ácido, o C (carbono) do solo estará fundamentalmente em formas orgânicas de distinta estabilidade. O método de Walkley-Black (WB) é um dos métodos analíticos mais utilizados para avaliação do C facilmente oxidável do solo. A avaliação da MO do solo por incineração tem sido frequentemente associada à possibilidade de quantificar também formas de C mais estáveis. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a adequação destes dois métodos na quantificação do teor em C de solos de pomares de pessegueiros na região da beira interior, centro de Portugal.

Material e Métodos

As amostras de solos analisadas foram recolhidas em pomares de pessegueiro localizados na região da Beira Interior, Portugal. Após a colheita, realizada à profundidade de 0-30 cm, as amostras, todas provenientes de solos não calcários foram secas a 40° C, crivadas (2 mm) e armazenadas para as análises posteriores. O teor de água das amostras foi determinado após aquecimento a 105±2°C durante 24 h.

Foram utilizados dois métodos para a determinação do teor de MO, a saber, o método de Walkley-Black e o método da perda de massa por incineração (PPI). O método de WB foi adaptado a partir da metodologia descrita em FAO (2019). Em resumo, a uma amostra de aproximadamente 1 g de solo foram adicionados 10 cm³ de K₂Cr₂O₇ 0,167 M e 20 cm³ de H₂SO₄ concentrado. Após 30 minutos, o excesso de K₂Cr₂O₇ foi titulado com Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ 0,5 M. O método das PPI foi determinado numa mufla por incineração das amostras de solo (aproximadamente 10 g) a 450°C durante 16 h. As amostras resultantes foram

pesadas, posteriormente aquecidas a 800°C durante 4 h e pesadas de novo.

A análise estatística foi realizada com o programa IBM SPSS (versão 21).

Resultados e discussão

O modelo linear testado entre os resultados provenientes do método das PPI e do método de WB é altamente significativo ($P < 0,001$) e apresentou um bom ajuste tendo-se obtido um valor de R² de 0,636 (Quadro 1, Figura 1). De forma semelhante, Sleuter et al. (2007) também salientam a boa equivalência entre o método de Walkley e Black e os métodos de incineração.

A diferença entre os valores obtidos através dos dois métodos é provavelmente devida à presença de matéria orgânica mais estável e que, por isso, não é oxidada pelo método de WB. Ainda que seja difícil obter informação consistente sobre as práticas agrícolas realizadas nestes pomares, a observação por nós realizada sugere que a incorporação da lenha de poda é a origem mais provável dessa MO mais estável. Deste modo, esta incorporação contribuirá para um armazenamento mais prolongado do C no solo como também foi observado por Arevalo et al. (2002) num trabalho realizado com diferentes sistemas de uso da terra.

Verificou-se um bom ajuste do modelo linear testado entre as perdas de massa logo após a incineração a 450°C e as perdas de massa após a incineração a 800°C (Quadro 1, Figura 2). Neste caso, a relação entre as duas perdas de massa foi muito próxima da linha 1:1, o que reflete uma perda de massa reduzida após a incineração a 450°C até aos 800°C. Este facto indica, consequentemente, que a incineração a 450°C é um método adequado para a determinação da MO mais estável do solo, que poderá ser quantificada pela diferença entre a MO obtida pelo método de WB e o PPI.

Quadro 1 – Parâmetros da reta de regressão da MO obtida a partir do método das perdas por incineração (MO_{PPI}) e a partir do método de Walkley-Black (MO_{WB}) e da reta de regressão entre a massa da amostra obtida após o método das perdas por incineração (450°C, 16 h) antes ($m_{inicial}$) e após (m_{final}) a incineração a 800°C durante 4 h.

	Declive	Ordenada na origem	R^2	Valor P
MO_{PPI} vs. MO_{WB}	1,032	1,865	0,636	<0,001
m_{final} vs. $m_{inicial}$	1,056	-0,682	0,922	<0,001

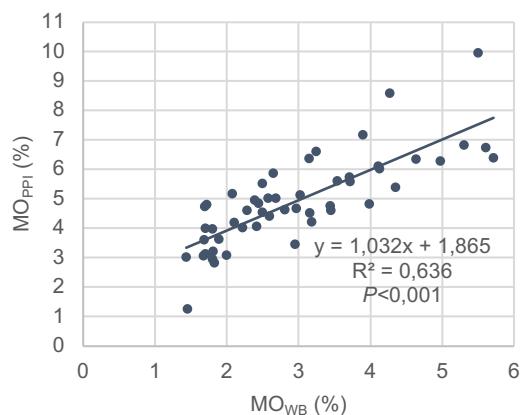


Fig. 1 – Regressão linear entre o teor de matéria orgânica determinado através do método das perdas por incineração (MO_{PPI}) e do método de Walkley-Black (MO_{WB}).

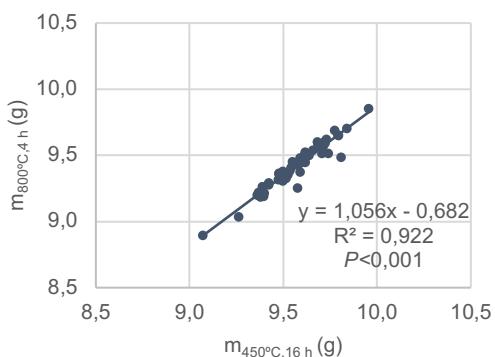


Fig. 2 – Regressão linear entre a massa da amostra de solo (obtida após incineração a 450°C durante 16 h) antes ($m_{inicial}$) e após (m_{final}) a re-incineração a 800°C durante 4 h.

quantificação da fração de MO mais facilmente oxidável. A diferença entre os valores obtidos entre esse método e o método das PPI a 450°C traduzem a fração mais estável da MO que, por isso, contribui para um armazenamento de C no solo a longo prazo.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo CERNAS-IPCB [UIDB/00681/2020] através da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT).

Referências bibliográficas

- Arevalo, L.A., Alegre, J. C. Vilcahuaman, L. J. M. (2002). Metodologia para estimar o estoque de carbono em diferentes sistemas de uso da terra. Documentos 73. Empraba florestas. ISSN 1517-536X.
- FAO. (2019). Standard operation procedure for soil organic carbon. Walkley-Black method, Titration and colorimetric method. Rome: FAO.
- Sleutel, S., De Neve, S., Singier, B., & Hofman, G. (2007). Quantification of organic matter in soils: a comparison of methodologies and assessment of the carbon content of organic matter. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 38, 2647-2657.
doi:10.1080/00103620701662877

Conclusões

Os resultados obtidos indicam a adequabilidade do método de WB para a

Perda de carbono em resíduos de origem vegetal: efeito das características (bio)químicas iniciais

Carbon loss in plants residues: effect of initial (bio)chemical characteristics

Sousa, João Ricardo¹; Coutinho, João²

¹ Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), UTAD, Vila Real, Portugal.

² Centro de Química (CQ), UTAD, Vila Real, Portugal

*e-mail: jricardo@utad.pt

Resumo

A gestão da matéria orgânica do solo, através da aplicação dos resíduos das culturas, pressupõe o conhecimento do respetivo processo de decomposição e mineralização, de modo a fornecer informações importantes, quer ao nível da libertação de nutrientes para as culturas, quer no rendimento de humus, para a manutenção do fertilidade e qualidade do solo. O objetivo do presente trabalho é avaliar os processos de decomposição de diferentes resíduos vegetais, através da respetiva estimativa da dimensão e dinâmica, com base no ajustamento do modelo exponencial negativo de um reservatório. Os resultados revelaram diferenças significativas para os parâmetros C_0 e k_c , com os valores a variarem entre os 270 a 661 g/kg e 0,008 a 0,027 dia⁻¹, respetivamente, de acordo com a ordem decrescente: Trem; Pt; Rm; e Fvid=Fcast=Fmac. Foram observadas correlações significativas entre a qualidade (bio)química inicial dos materiais e os C_0 e k_c , com os indicadores de C_{sol} (r^2 0,977***) e Len (r^2 0,969 ****) dos resíduos vegetais a revelarem-se como os mais robustos nas estimativas da dimensão e dinâmica dos respetivos processos de perda de C. Estes resultados revelam a necessidade de integração de indicadores mais eficientes na avaliação dos processos de decomposição/humificação, de modo a tornar a aplicação de resíduos orgânicos mais ecocompatível.

Palavras-chave: Carbono, decomposição, humificação, resíduos, solo.

Abstract

The management of soil organic matter, through the application of crop residues, implies the knowledge of the respective decomposition and mineralization process, in order to provide important information, in terms of the release of nutrients to the crops and in the humus yield, for the maintenance soil fertility and quality. The objective of the present work is to evaluate the processes of decomposition of different plant residues, through the respective estimation of the dimension and dynamics, based on the adjustment of the negative exponential model of one pool. The results revealed significant differences for the parameters C_0 and k_c , with the values varying between 270 to 661 g/kg and 0.008 to 0.027 day⁻¹, respectively, following the decreasing order: Trem, Pt, Rm and Fvid= Fcast= Fmac. Significant correlations were observed between the initial (bio)chemical quality of the materials and the C_0 and k_c , with the indicators of C_{sol} (r^2 0.977***) and Len (r^2 0.969 ****) of the vegetal residues revealing the more robust results in estimation of the dimension and dynamics of C loss processes. These results reveal the need to integrate more efficient indicators in the evaluation of decomposition/humification processes, in order to make the application of organic residues more eco-frendly.

Keywords: Carbon, decomposition, humification, residues, soil.

Introdução

O teor de húmus, a fração mais estável da matéria orgânica do solo, é resultado de um equilíbrio entre os processos de decomposição biológica e os ganhos decorrentes da restituição de resíduos das culturas, como folhas, palhas, raízes, e aplicação de corretivos orgânicos ao solo (Zech et al., 1997). Este equilíbrio sensível, dependente do balanço de entradas e saídas de matéria orgânica do solo, é fortemente influenciado pelas condições edafo-ambientais e qualidade (bio)química dos respetivos materiais orgânicos que, por sua vez, influenciam a respetiva dinâmica, fazendo variar o teor de húmus no solo.

O estudo dos processos de decomposição dos resíduos orgânicos torna-se, assim, uma ferramenta importante na avaliação dos processos decomposição/humificação. A estimativa das frações potencialmente mineralizáveis do carbono (C_0) e respetivas dinâmicas (k_C), bem como a sua dependência de fatores de qualidade dos resíduos orgânicos, ajudam a melhor entender os processos de humificação e sequestro de C associado à aplicação de resíduos orgânicos no solo.

Deste modo, o objetivo do presente trabalho centra-se na avaliação do efeito da qualidade (bio)química inicial de resíduos vegetais nos respetivos processos de mineralização de C, durante um período de 392 dias de incubação, em condições de campo.

Material e métodos

Na realização do trabalho foram considerados seis resíduos vegetais de origem e características (bio)químicas variadas: (i) folhada de castanheiro (Fcast); (ii) folhada de macieira (Fmac); (iii) folhada videira (Fvid); (iv) palha de trigo (Pt); (v) restolho de milho (Rm) e (vi) tremocilha (Trem) (figura 1). Uma massa de material, equivalente a 10 toneladas por hectare, foi individualmente colocada a incubar num saco de decomposição (12 cm*7 cm e malha 1 mm), enterrado a 10 cm de profundidade, num Regossolo eutrófico (pH 6,8; matéria orgânica 15,2 g/kg; N total 0,6 g/kg, argila 10,6 g/kg e classe de textura

arenofranco). Para cada resíduo foram consideradas quatro repetições e seis datas de amostragem (28, 56, 85, 112, 224 e 392 dias), num total de 144 sacos de decomposição, colocados em simultâneo a incubar *in-situ*, em condições de clima Mediterrâneo, durante um período de 392 dias (Sousa et al., 2016).

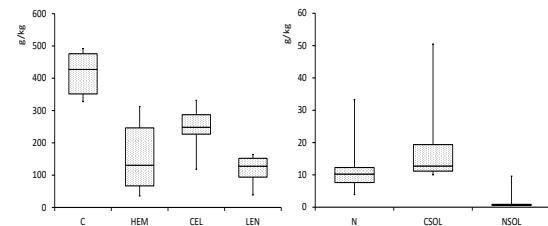


Fig. 1 – Diagramas de extremos e quartis para os parâmetros de carbono (C), azoto (N) totais, carbono (CSOL) e azoto (NSOL) orgânico solúvel, hemicelulose (HEM), celulose (CEL) e lenhina (LEN), determinados para avaliação (bio)química inicial dos resíduos vegetais.

Em cada data de amostragem foram recolhidos quatro sacos de decomposição por material e, após limpeza para eliminação de resíduos e partículas de solo, foram colocados em estufa a 60 °C para determinação da matéria seca (MS). Uma toma de MS (\pm 50 mg) de cada material foi usada para determinação dos teores de C remanescente na MS, por via seca, através de NIRD, após combustão a 1100 °C, em autoanalizador SKALAR®. Posteriormente, os valores foram corrigidos através da determinação do teor de cinzas.

Os dados obtidos para cada material foram ajustados a um modelo de um único reservatório [$C_{MSR} = C_0 * (\exp(-k_C * t)) + (1000 - C_0)$] (Olson, 1963), para estimativa das respetivas constantes de C potencialmente mineralizável (C_0) (mg/kg MS) e a respetiva cinética associada (k_C) (dia $^{-1}$), através do método *NonLin*, com base no software Systat®. Com base nos dados estimados foram determinados os respetivos tempos de semi-vida ($t_{50\%}$) ($0,693/k_C$), para cada material. Por sua vez, os valores obtidos foram sujeitos a uma análise de normalidade e homogeneidade, pelos testes de Kolmogorov e Barlett, respetivamente, seguida da realização de uma ANOVA a um fator, acompanhada do

teste de Tukey para um grau de probabilidade de $p \leq 0,05$. Por sua vez, os valores de C_0 e k_c foram correlacionados com os parâmetros (bio)químicos iniciais e determinadas as respetivas relações, através de modelos de regressão linear simples.

Resultados e discussão

Os resultados da qualidade de ajustamento dos dados ao modelo de um único reservatório e respetivas constantes associadas a cada resíduo vegetal estudado são apresentados no quadro 1.

Quadro 1 – Valores das constantes estimadas pela aplicação do modelo de um único reservatório, C_0 e k_c , tempo de semi-vida ($t_{50\%}$) e respetiva qualidade de ajustamento ($r^2_{ajust.}$).

Material	C_0 (g/kg)	k_c (dia $^{-1}$)	$r^2_{ajust.}$	$t_{50\%}$ (dia)
Fcast	320 ab	0,008 a	0,971 ***	93 d
Fmac	270 a	0,009 a	0,958 ***	67 d
Fvid	318 ab	0,011 a	0,972 ***	72 d
Pt	404 c	0,018 c	0,976 ***	32 b
Rm	361 bc	0,016 b	0,966 ***	58 c
Trem	661 d	0,027 d	0,992 ***	26 a

Para cada coluna, relativa a cada parâmetro, linhas seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, para 5% de probabilidade; *** significativo para um grau de probabilidade de 0,1%.

O modelo testado revelou uma elevada exatidão, explicando mais de 95% da variação do C mineralizável em todos os resíduos vegetais, com as respetivas constantes a registar diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre si, com os valores a variarem entre os 270 a 661 g/kg, para o C_0 , e 0,007 a 0,027 dia $^{-1}$ para a k_c (quadro 1).

A Trem foi o material que apresentou maior fração de C mineralizável (661 g/kg), associado a uma elevada dinâmica de decomposição (0,027 dia $^{-1}$), que se traduziu por um $t_{50\%}$ de 26 dias. Os maiores teores de C_{sol} e N_{sol} , associados a reduzidos teores de elementos estruturantes, como a Len, conferem a este resíduo uma elevada e acelerada decomposição no solo, comportamento consistente com os resultados observados por Abiven et al. (2005).

Seguiram-se os resíduos Pt e Rm que apresentaram um comportamento similar, com valores de C_0 equiparados (quadro 1).

A menor disponibilidade de N total ou em formas solúveis (N_{sol}) nestes materiais, parece limitar os fenómenos de decomposição (Reinertsen et al., 1984), os quais apresentaram valores de C_0 entre os 361 e 404 g/kg MS. Em termos cinéticos, as diferenças observadas poderão estar relacionadas com os maiores teores de Len e Rm, em que a maior resistência desta fração aos processos biológicos (Talbot et al., 2012), quase duplica o $t_{50\%}$ deste material comparativamente à Pt (quadro 1).

Com um comportamento diferenciado dos restantes materiais, as folhadas de castanheiro (Fcast), macieira (Fmac) e videira (Fvid) apresentaram valores de C_0 e k_c similares, entre 270 a 320 g/kg MS e 0,008 a 0,011 dia $^{-1}$, respetivamente. Estes valores são resultado dos maiores teores de Len e, nestes materiais em particular, dos maiores teores de polifenóis, que limitam fortemente a mineralização de C (Fox et al., 1990) aumentando de forma significativa o $t_{50\%}$, comparativamente aos restantes materiais (quadro 1).

Sendo a qualidade química inicial dos materiais um dos vetores mais importantes do processo de decomposição da matéria orgânica no solo, foram estabelecidas correlações entre os parâmetros (bio)químicos iniciais dos materiais e os valores das constantes estimadas (C_0 e k_c), sendo os resultados apresentados no quadro 2.

Quadro 2 – Correlação entre o C mineralizável (C_0) e respetiva constante cinética (k_c) e os parâmetros (bio)químicos iniciais dos resíduos vegetais estudados.

Parâmetro (g/kg)	Coeficiente de correlação de Pearson	
	C_0	k_c
C_{total}	- 0,695 ns	- 0,719 ns
N_{total}	0,818 *	0,663 ns
C_{sol}	0,989 ***	0,918 *
N_{sol}	0,939 **	0,812 *
HEM	0,151 ns	0,344 ns
CEL	- 0,756 ns	- 0,551 ns
LEN	- 0,943 **	- 0,984 ***

ns – não significativo; * , ** , *** significativo para um nível de probabilidade de 5%, 1% e 0,1%, respetivamente.

Os resultados indicam correlações positivas significativas entre os indicadores das frações solúveis (C_{sol} e N_{sol}) ou o teor total de N, elemento normalmente limitante nos processos de decomposição deste tipo de resíduos, que promovem um maior C_0 e

k_c , sempre que os respetivos teores de N nos resíduos aumentam. Por sua vez, pelo contrário, os indicadores de frações mais resistentes ou recalcitrantes, como o caso da Len, apresentaram correlações negativas, contribuindo para uma maior resistência dos processos de decomposição e, consequentemente, uma diminuição dos valores de C_0 e k_c dos resíduos, potenciando o aumento do sequestro de C no solo, em resultado da aplicação deste tipo de resíduos. Esta tendência é corroborada por Jensen et al. (2005), em estudos que incluem um conjunto mais alargado de resíduos de origem vegetal.

Considerando os resultados obtidos no quadro 2, o C_{sol} é o parâmetro que explica uma maior variabilidade dos valores estimados para o C_0 nos resíduos vegetais estudados ($r^2 = 0,9773$).

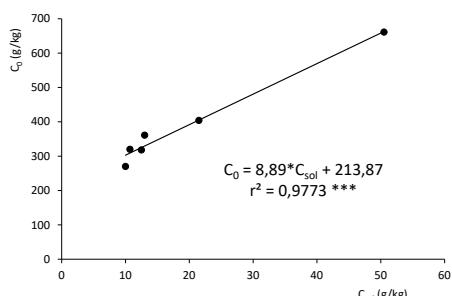


Fig. 2 – Regressão linear simples entre os valores de C_0 (g/kg) e C_{sol} (g/kg) nos resíduos vegetais estudados.

Estes resultados estão de acordo com os pressupostos referidos por Smreczak & Ukalska-Jaruga (2021), os quais sugerem o C_{sol} como um dos indicadores mais sensível das alterações associadas à transformação da matéria orgânica aplicada ao solo.

Por sua vez, no caso da constante cinética, apesar dos resultados significativos observados com o C_{sol} (quadro 2), a Len apresenta valores mais consistentes explicando, neste caso, cerca de aproximadamente 97% da variação dos valores estimados para o k_c nos resíduos vegetais estudados (figura 3).

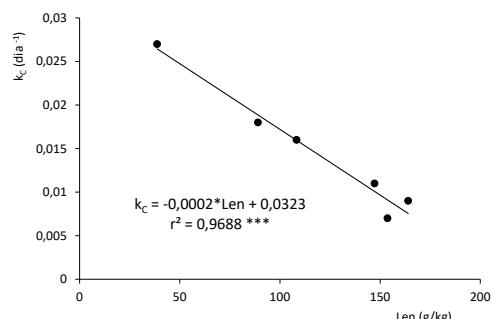


Fig. 3 – Regressão linear simples entre os valores de k_c (dia⁻¹) e C_{sol} (g/kg) nos resíduos vegetais estudados.

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que a qualidade química inicial dos resíduos vegetais estudados é um importante fator modelador dos processos de decomposição associados, podendo ser usado para estimar quer a intensidade como dinâmica dos processos associados à fração de C potencialmente mineralizável. As frações solúveis, como o C_{sol} , e recalcitrantes, como o teor de Len, foram, entre os parâmetros estudados, os que se revelam mais capazes e sensíveis nas respetivas estimativas.

Financiamento: Este trabalho foi financiado no âmbito do projeto SoilRec4+Health - Soil recover for a healthy food and quality of life (NORTE-01-0145-FEDER000083).

Agradecimento: João Ricardo Sousa, agradece a colaboração do CITAB/UTAD, no âmbito do projeto SoilRec4+Health - Soil recover for a healthy food and quality of life.

Referências bibliográficas

- Abiven, S., Recous, S., Reyes, V., & Olive, R. 2005. Mineralisation of C and N from root, stem and leaf residues in soil and role of their biochemical quality. *Biol. Fertil. Soils*, 42: 119-128.
- Fox, R.H., Myers, R.J.K., & Vallis, I. 19990. The nitrogen mineralization rate of legume in soil as influenced by their polyphenol, lignin and nitrogen contents. *Plant Soil*, 129: 251-259.
- Jensen, L.S., Salo, T., Palmason, F., Breland, T.A., Henriksen, T.M., Stenberg, B., Pedersen, A., Lundstrom, C., & Esala, M. 2005. Influence of biochemical quality on C and N mineralisation from a broad variety of plant materials in soil. *Plant Soil*, 273: 307-326.
- Reinertsen, S.A., Elliott, L.F., Cochran, V.L., & Campbell, G.S. 1984. Role of available carbon and nitrogen in determining the rate of wheat straw decomposition. *Soil Biology Biochemistry*, 16: 459-464.
- Smreczak, B., & Ukalska-Jaruga, A. 2021. Dissolved organic matter in agriculture soils. *Soil Science Annual*, 72: 1-10.
- Sousa J.R., Cabral, F., & Coutinho, J. Assessment of N mineralization and N leaching in soil using a new in-situ incubation method. *Communications Soil Science Plant Analysis*, 47: 2157-2167.
- Talbot, J.M., Yelle, D.J., Nowick, J., & Treseder, K.K. 2012. Litter decay rates are determined by lignin chemistry. *Biogeochemistry*, 108: 279-295.
- Zech, W., Senesi, N., Guggenberger, G., Kaiser, K., Lehmann, J., Miano, T.M., Miltner, A., Schröth, G. 1997. Factor controlling humification and mineralization of soil organic matter in tropics. *Geoderma*, 79: 117-161.

Fertilidade do solo e nutrição mineral da “Batata-doce de Aljezur” Soil fertility and mineral nutrition of “Aljezur Sweetpotato”

Veloso, Anabela*, Mano, Raquel e Ferreira, Maria Elvira

INIAV, I.P./UEIS-SAFSV/Avenida da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, anabela.veloso@iniav.pt

Resumo

Para avaliar a fertilidade do solo, o estado nutricional das plantas e determinar a composição mineral das raízes de reserva, selecionaram-se 29 parcelas de “Batata-doce de Aljezur”, tendo-se procedido à colheita e análise de amostras de solo, folhas e raízes de reserva. Os resultados revelaram que os solos são de textura arenosa, com teores baixos de matéria orgânica, pouco ácidos, teores altos de fósforo extraível e teores muito baixos de boro extraível e de Ca^{++} ; Mg^{++} e K^+ de troca. As médias dos teores foliares de nutrientes na matéria seca foram as seguintes: $37,8 \text{ g kg}^{-1}$ de N, $2,6 \text{ g kg}^{-1}$ de P, $24,1 \text{ g kg}^{-1}$ de K, $9,4 \text{ g kg}^{-1}$ de Ca, $6,4 \text{ g kg}^{-1}$ de Mg, 125 mg kg^{-1} de Fe, 255 mg kg^{-1} de Mn, 21 mg kg^{-1} de Zn, 11 mg kg^{-1} de Cu e 47 mg kg^{-1} de B. Nas raízes de reserva ($>50 \text{ g}$), os teores médios de K ($3,65 \text{ g kg}^{-1}$) e de Mn ($4,49 \text{ mg kg}^{-1}$), expressos em peso fresco, foram o macro e o micronutriente mais exportados.

Palavras-chave: *Ipomoea batatas* (L.) Lam., análise de solo, análise de folhas, composição mineral

Abstract

To assess soil fertility, plant nutritional status and to determine the mineral composition of storage roots, 29 plots of "Batata-doce de Aljezur" were selected and soil, leaf and storage root samples were taken and analysed. The results showed that the soils are sandy, with low levels of organic matter, moderately acidic, with high levels of extractable phosphorus and very low levels of extractable boron and exchange Ca^{++} ; Mg^{++} and K^+ . The mean leaf nutrient contents in the dry matter were as follows: 37.8 g kg^{-1} N, 2.6 g kg^{-1} P, 24.1 g kg^{-1} K, 9.4 g kg^{-1} Ca, 6.4 g kg^{-1} Mg, 125 mg kg^{-1} Fe, 255 mg kg^{-1} Mn, 21 mg kg^{-1} Zn, 11 mg kg^{-1} Cu and 47 mg kg^{-1} B. In the storage roots ($>50 \text{ g}$), K and Mg were the most exported macro and micronutrient, with average contents of 3.65 g kg^{-1} K and 4.49 mg kg^{-1} Mg (wet weight).

Keywords: *Ipomoea batatas* (L.) Lam., soil test, leaf analysis, mineral composition

Introdução

A batata-doce cultivar Lira, produzida no concelho de Aljezur e em parte do concelho de Odemira, encontra-se registada desde 2009 como “Batata-doce de Aljezur” com Indicação Geográfica Protegida (IGP). Apresenta um paladar muito apreciado pelo consumidor, mas baixa produtividade. Entre os fatores que intervêm na produção, a fertilização e a nutrição das plantas são dos mais importantes. A extração média de uma cultura de batata-doce ‘Lira’, com uma população de 40 000 plantas por hectare e uma produção de 20 t ha⁻¹, é de 130 kg ha⁻¹ de K, 109 kg ha⁻¹ de N, 54 kg ha⁻¹ de Ca, 27 kg ha⁻¹ de Mg, 13 kg ha⁻¹ de P e 155 g ha⁻¹ de B (Veloso & Mano, 2021). A batata-doce pode apresentar produções adequadas em solos com baixa fertilidade e considerados demasiado pobres para outras culturas. Por vezes, um aumento considerável de produção é obtido com a aplicação de uma pequena quantidade de nutriente (O’Sullivan et al., 1997). A análise de terra e de plantas são instrumentos fundamentais na avaliação da fertilidade do solo, do estado nutricional das plantas e um contributo importante na racionalização da fertilização. Contudo, muitos produtores de batata-doce ‘Lira’ não realizam regularmente análises de terra e/ou de plantas e aplicam empiricamente os fertilizantes, comprometendo a produção e contribuindo, por vezes, para a poluição dos recursos naturais e para o aumento dos custos de produção.

O objetivo deste estudo foi avaliar a fertilidade do solo e o estado nutricional das plantas de parcelas comerciais de batata-doce ‘Lira’, de modo a detetar situações de desequilíbrio potencialmente limitantes da obtenção de boas produções.

Material e métodos

Na região da “Batata-doce de Aljezur”, em 29 parcelas, foram colhidas amostras de solo numa camada com a profundidade de 0 a 20 cm, tendo-se usado os seguintes

métodos analíticos: análise granulométrica – densímetro de Bouyoucos; matéria orgânica – digestão com dicromato de sódio e determinação por espetrofotometria de absorção molecular (EAM); pH (H₂O) – suspensão solo:água 1:2,5 (v/v) e potenciometria; fósforo e potássio extraíveis – extraídos com lactato de amónio a pH 3,65 e determinados por espetrofotometria de emissão de plasma com detetor ótico (P-AL e K-AL); boro extraível – água fervente EAM UV/VIS; catiões de troca – acetato de amónio 1M (pH=7) e EAA com chama (Ca⁺⁺ e Mg⁺⁺) e EEC (K⁺ e Na⁺); capacidade de troca cationica potencial (CTCp) e grau de saturação (Ca, Mg, K, Na) – cálculo.

A metodologia de amostragem das folhas foi adaptada de Bryson et al. (2014). A meio do ciclo cultural, colheu-se a folha mais nova completamente desenvolvida, uma por planta, em trinta plantas de cada parcela.

Na época de colheita das raízes marcaram-se, em oito parcelas, seis unidades de amostragem por parcela, correspondendo cada uma a duas linhas contíguas com um metro de comprimento. As raízes de reserva de cada uma das unidades de amostragem foram lavadas com água destilada e calibradas por peso. Na amostragem das raízes de reserva para análise mineral foi seguida a metodologia proposta por Porras et al. (2014). As amostras de folhas e das raízes de reserva foram secas em estufa a (65±5°C) e em seguida moídas. O N foi determinado pelo método de Kjeldahl; o P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu e B foram determinados numa solução clorídrica das cinzas, obtidas após incineração em mufla a (500±25°C), utilizando um espectrofotómetro de emissão de plasma (THERMO SCIENTIFIC ICAP 7400 ICP-OES). Para a análise estatística dos resultados recorreu-se ao software STATISTICA 12 para Windows.

Resultados e discussão

Os resultados das características físico-químicas dos solos das parcelas monitorizadas (Quadro 1) foram

classificados de acordo com INIAV (2022) e revelaram, em média, solos de textura arenosa, com teores baixos de matéria orgânica e pouco ácidos. Embora com intervalos de variação acentuados, predominam teores altos de fósforo e baixos de potássio extraível, refletindo, provavelmente, as fertilizações efetuadas. O teor de boro extraível é muito baixo na maioria das amostras. O teor em catiões de troca Ca^{++} , Mg^{++} e K^{+} é muito baixo, assim como a CTCp. O grau de saturação em Ca, Mg, K e Na é médio.

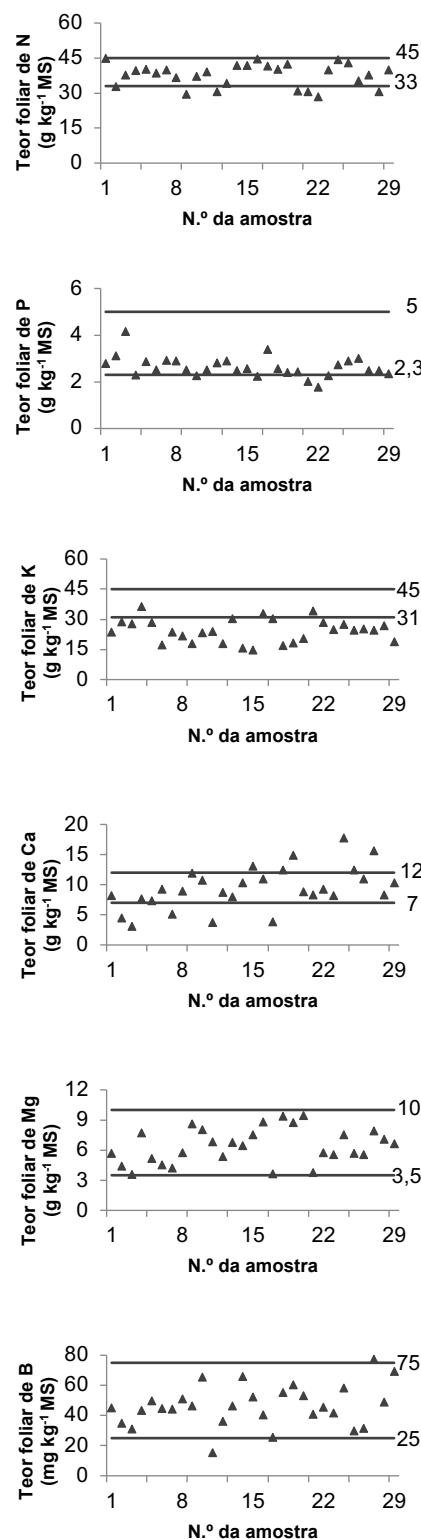
Os solos arenosos permitem a produção de raízes de reserva mais alongadas e perfeitas, mas apresentam baixa capacidade para reter nutrientes. Nos solos com estas características, a utilização de fertirriga ou o fracionamento da aplicação dos nutrientes, em particular do nitrogénio, são fundamentais para evitar a lixiviação dos nutrientes.

Quadro 1 - Características físicas e químicas dos solos das parcelas de batata-doce 'Lira' (0-20 cm)

Parâmetros	Média ± sm	Intervalo de variação
Areia (%)	91,6 ± 0,81	82,4-97,2
Limo (%)	3,4 ± 0,42	0,86-10,0
Argila (%)	4,9 ± 0,44	0,91-9,56
Matéria Orgânica (%)	0,74 ± 0,06	<0,25-1,60
pH (H_2O)	5,9 ± 0,09	5,1-6,8
P extraível (P_2O_5) (mg kg^{-1})	107 ± 14	8-284
K extraível (K_2O) (mg kg^{-1})	40 ± 6	9-177
Boro extraível (mg kg^{-1})	0,13 ± 0,02	<0,20-0,30
Ca de troca [$\text{cmol} (+) \text{kg}^{-1}$]	0,66 ± 0,07	0,25-1,79
Mg de troca [$\text{cmol} (+) \text{kg}^{-1}$]	0,25 ± 0,03	0,05-0,57
K de troca [$\text{cmol} (+) \text{kg}^{-1}$]	0,07 ± 0,01	0,02-0,36
Na de troca [$\text{cmol} (+) \text{kg}^{-1}$]	0,08 ± 0,01	0,01-0,24
CTCp (7,0) [$\text{cmol} (+) \text{kg}^{-1}$]	1,90 ± 0,14	0,8-3,5
GS (Ca, Mg, K, Na) (%)	55,6 ± 3,29	16,3-100

N.º observações - 29; sm - desvio padrão da média

Na figura 1 apresentam-se os teores foliares obtidos em relação ao intervalo proposto por Bryson et al. (2014). Na maior parte das amostras os teores de N, P, Ca, Mg e B encontram-se no intervalo de suficiência, embora os valores de P se encontrem, sobretudo, situados junto ao limite inferior e os de Ca apresentem uma elevada dispersão. Apenas 3 das 29 amostras têm um teor de K no intervalo de suficiência, mas junto ao limite inferior, apresentando as restantes teores abaixo do limite mínimo.



Legenda: ▲ valores obtidos; — limites do intervalo de suficiência (Bryson et al., 2014)

Fig. 1 - Teores foliares da batata-doce 'Lira' e intervalos de suficiência.

De acordo com Byju & George (2005) o K é o nutriente mais importante para a

produção de batata-doce. No caso da batata-doce ‘Lira’, os teores foliares obtidos parecem refletir um desequilíbrio nutricional ao nível da planta, que poderá limitar a produção. Os teores foliares médios (média±sm) de N ($37,8\pm0,91$ g kg $^{-1}$), P ($2,6\pm0,08$ g kg $^{-1}$), Ca ($9,4\pm0,65$ g kg $^{-1}$), Mg ($6,4\pm0,32$ g kg $^{-1}$), Zn ($21\pm0,7$ mg kg $^{-1}$) e B ($47\pm2,5$ mg kg $^{-1}$) inserem-se no intervalo de suficiência proposto por Bryson et al. (2014). Os teores médios de Fe ($125\pm8,2$ mg kg $^{-1}$), Mn ($255\pm25,0$ mg kg $^{-1}$) e Cu ($11\pm0,7$ mg kg $^{-1}$) situam-se acima e o teor de K ($24,1\pm1,07$ g kg $^{-1}$) encontra-se abaixo daquele intervalo.

No quadro 2 apresenta-se a composição mineral média das raízes de reserva com peso >50 g.

Quadro 2 – Teores médios de nutrientes, expressos em peso fresco, nas raízes de reserva (>50 g) da batata-doce ‘Lira’

Nutrientes	Média ± sm	Intervalo de variação
N (g kg $^{-1}$ PF)	2,66 ± 0,071	1,25-3,95
P (g kg $^{-1}$ PF)	0,39 ± 0,008	0,23-0,60
K (g kg $^{-1}$ PF)	3,65 ± 0,060	1,84-4,96
Ca (g kg $^{-1}$ PF)	0,21 ± 0,009	0,06-0,55
Mg (g kg $^{-1}$ PF)	0,22 ± 0,005	0,13-0,37
Fe (mg kg $^{-1}$ PF)	3,83 ± 0,213	0,38-10,58
Mn (mg kg $^{-1}$ PF)	4,49 ± 0,350	0,09-14,37
Zn (mg kg $^{-1}$ PF)	2,54 ± 0,146	0,20-5,77
Cu (mg kg $^{-1}$ PF)	0,92 ± 0,059	0,07-2,19
B (mg kg $^{-1}$ PF)	1,31 ± 0,064	0,15-2,22

N.º observações - 106; sm - desvio padrão da média

O K e o Mn foram, respetivamente, o macro e o microutriente em que a concentração obtida foi mais elevada.

A ‘Beauregard’ encontra-se muito difundida a nível mundial, sendo também cultivada em Portugal. Ao compararmos a composição mineral das raízes com peso >50 g da ‘Lira’ com a composição mineral da polpa da ‘Beauregard’ apresentada por Laurie et al. (2012), a ‘Lira’ apresenta um teor bastante mais elevado de K, mais elevado de P, aproximadamente igual de Mg e mais baixo de Ca, Fe e Zn. Sendo os teores foliares de K baixos, praticamente na totalidade das amostras, o teor mais elevado na raiz poderá estar relacionado com o facto de a amostra analisada incluir a epiderme ou por a ‘Lira’ ter maior capacidade para acumular K.

Conclusões

A fertilidade do solo da “Batata-doce de Aljezur” deverá ser melhorada através da incorporação dos fertilizantes adequados e na quantidade recomendada.

O potássio foi o nutriente mais exportado pelas raízes de reserva e, provavelmente, será necessário reajustar a quantidade e/ou o modo de aplicação deste nutriente, de modo a melhorar as produções obtidas.

Agradecimentos

A todos os que participaram na colheita, preparação e análises das amostras. Grupo Operacional ‘+BDMIRA – Batata-doce competitiva e sustentável no Perímetro de Rega do Mira: técnicas culturais inovadoras e dinâmica organizacional’ (PDR2020-101-031907) (<https://projects.iniav.pt/BDMIRA/>).

Cofinanciado por:



Bibliografia

- Bryson, G. M., Mills, H. A., Sasseville, D. N., Jones, J. B., & Barker, A. V. (2014). *Plant analysis handbook IV. A guide to sampling preparation, analysis and interpretation for agronomic and horticultural crops*. Athens, Georgia, USA: [Edição eletrónica]: Micro-Macro Publishing, Inc.
- Byju, G. & George, J. (2005). Potassium nutrition of sweet potato. *Advances in Horticultural Science*, 19(4), 221-239. <http://www.jstor.org/stable/42883410>
- INIAV (2022). *Manual de Fertilização das culturas*. INIAV, Oeiras (em impressão): F. Calouro (Coord.). Oeiras: Instituto Nacional de Investigação Agrária, INIAV (em impressão).
- Laurie, S. M., van Jaarsveld, P. J., Faber, M., Philpott, M. F., & Labuschagne, M. T. (2012). Trans-β-caroteno, selected mineral content and potential nutritional contribution of 12 sweetpotato varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 27(2), 151-159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2012.05.005>
- O’Sullivan, J. N., Asher, C. J., & Blamey, F. P. (1997). *Nutrient disorders of sweetpotato*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research. ACIAR Monograph, 48.
- Porras, E., Burgos, G., Sosa, P., & Felde, T. zum (2014). *Procedures for sampling and sample preparation of sweetpotato roots and potato tubers for mineral analysis*. Lima, Peru: International Potato Center (CIP), Global Program Genetics and Crop Improvement. <https://doi.org/10.4160/9789290604457>
- Veloso, A., & Mano, R. (2021). Nutrição e fertilização. In *Batata-doce. Manual de Boas práticas Agrícolas* (pp. 61-81), Ferreira, M. E. (Coord.), Oeiras: Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

Efectos bioquímicos y microbiológicos en el suelo de un bioestimulante a base de lodos fermentados de *Bacillus licheniformis*

Biochemical and microbiological soil effects of a biostimulant based on Bacillus licheniformis-fermented sludge

Caballero, P.^{1*}, Castaño, A.¹, Macías, S.¹, Martín, L.¹, Tejada, M.², Parrado, J.^{1*}

¹ Dept. Biochemistry and Molecular Biology, University of Seville, C/ Profesor García González 2, 41012 Seville, Spain.

² Department Crystallography, Mineralogy and Agricultural Chemistry, E.T.S.I.A., University of Seville, Crta. de Utrera km. 1, 41013 Seville, Spain

*pcaballero2@us.es

Resumen*

Se ha aplicado un proceso fermentativo para llevar a cabo la conversión de lodos procedentes de la depuración de aguas residuales de matadero en un complejo bioestimulante. Los componentes bioestimulantes son: a) la biomasa de *Bacillus licheniformis*, que es una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal (PGPR), y organismo encargado del proceso fermentativo, b) la secreción enzimática de dicho microorganismo, principalmente peptidases y amidasas (50%), implicadas en el metabolismo del N, y las glucanases (33,3%), implicadas en el metabolismo de los hidratos de carbono, y c) la materia orgánica del lodo hidrolizado, compuesta en gran parte por péptidos y aminoácidos libres.

El bioestimulante ha sido evaluado en suelo a nivel bioquímico y microbiológico. Indujo una fuerte estimulación microbiana del suelo y produjo la estimulación específica de las bacterias del suelo PGPR, que fue estudiada a través de un metabarcoding. Además, principalmente al aplicar la fracción soluble del complejo bioestimulante, se encontró que el inóculo de *Bacillus licheniformis* permanece activo en el ambiente al final del experimento.

Hidrolizado protéico, metabarcoding, PRPR, enzimas, biodiversidad

Abstract **

A fermentative process has been applied to carry out the conversion of sludge from slaughterhouse wastewater treatment into a biostimulant complex. The three biostimulant components are: a) The ***Bacillus licheniformis* biomass**, which is a plant growth promoter rhizobacteria (PGPR), and the organism in charge of the fermentative process, b) the **enzymatic secretion** of said microorganism, mainly peptidases and amidases (50%), involved in N metabolism, and glucanases (33.3%), involved in carbohydrate metabolism, and c) the **hydrolyzed sludge organic matter**, largely composed of peptides and free aminoacids.

The biostimulant has been evaluated in soil at the biochemical and microbiological level. It induced a strong microbial stimulation of the soil, and produced the specific stimulation of PGPR soil bacteria, which was studied through a metabarcoding. Moreover, mainly when applying the soluble fraction of the biostimulant complex, it was found that the *Bacillus licheniformis* inoculum remains active in the environment at the end of the experiment.

Protein hydrolysate, metabarcoding, PGPR, enzymes, biodiversity

Introduction

Biostimulants are applied to plants or to the rhizosphere in order to enhance the natural process, improving the absorption of nutrients and the efficiency, quality and tolerance of crops to abiotic stresses (du Jardin, 2015). In soil they have shown a positive effect over the soil biological fraction, having a direct implication over the soil fertility (Caballero et al., 2020). Changes produced by biostimulants can be monitored studying the nutrient-recycling enzymes expressed by the soil microbiota, that act as indicators of the quality and state of fertility of soil, and at microbiological level, thanks to metabarcoding techniques using 16S rRNA sequencing (Parlapani et al., 2018).

Sewage sludge, the organic by-product resulted from the treatment of wastewater, supposes a serious environmental issue. Scientific community is constantly searching for new alternatives uses. Considering sludge as raw material for the formulation of biostimulants is gaining interest as long as it does not exceed limit values for organic pollutants, nor heavy metals and it is sanitized in order to eliminate its pathogenic microorganisms.

Biostimulants, obtained by enzymatic or fermentative technology from different substrates, and composed by low molecular weight peptides and free amino acids, microbial metabolites, such as phytohormone analogues, polysaccharides, humic substances, beneficial microorganisms, etc., have shown positive effects on soil biostimulation and bioremediation of soil contaminants (Tejada et al., 2013, 2014).

Recent results in our group revealed that exogenous application of subtilisine from *Bacillus*, a naturally-produced-in-soil enzyme, produced stimulation of soil enzymes and changes in microbial biodiversity, favouring specific PGPR species (Caballero et al., 2020). Thus, a *Bacillus*-fermented sludge, composed by such enzyme and by a broad spectrum of other enzymes, would lead to interesting changes.

Our purpose is to evaluate the soil biostimulating capacity, both at biochemical and microbiological level, of a *Bacillus*-fermented sludge obtained by fermentative technology.

Material and methods

1. Biostimulant obtention and experimental design :

Biostimulant products were obtained through a physical-fermentative process as described by Rodriguez-Morgado (Rodríguez-Morgado et al., 2019) (figure 1).

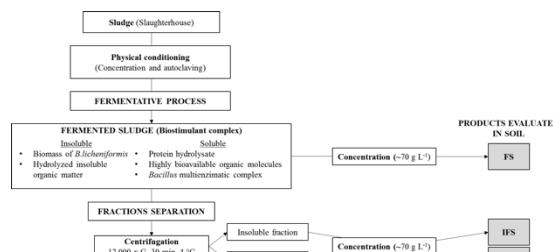


Fig. 1 – Diagram of the process for obtaining experimental products.

FS product contains a total dry matter of $63.1 \pm 0.17 \text{ g L}^{-1}$, being 14.6% soluble matter. Bacterial concentration (*B. licheniformis*) in FS is $2.01 \times 10^8 \pm 1.11 \times 10^8 \text{ CFU g}^{-1}$. IFS (insoluble fraction) is composed by the *Bacillus* biomass and by the hydrolyzed insoluble organic matter; SFS (soluble fraction) is composed by the enzymatic secretion of *Bacillus* and by highly bioavailable soluble hydrolyzed organic matter, mainly composed by peptides and free aminoacids.

Experimental design was established according to previous studies (Caballero et al., 2020). Thus, microcosms of 250 g of soil were preincubated at 30–40 % at water holding capacity for 7 days. After this phase each product were added (0.1 and 0.5 % w/w) to soil under the following experimental conditions:

- C: Control
- SFS: Addition of FS
- SIFS: Addition of IFS
- SSFS: Addition of SFS

2. Analytical techniques

Proteomic study: Sample preparation and LC-MS analysis were carried out

following the procedure described by Parrado et al. (Parrado et al., 2014).

Metabarcoding analysis: Soil DNA extraction, Illumina MiSeq sequencing and the analysis of the microbial community composition was performed as described in a previous work (Macias-Benitez et al., 2020).

Determination of soil enzymatic activities

Dehydrogenase activity was measured as described by García et al. (Garcia et al., 1997); phosphatase activity was determined as described by Tabatabai and Bremner (Tabatabai and Bremner, 1969).

Statistical analysis

Soil enzymatic activities were compared using a one-way analysis of variance (ANOVA), followed by a Tukey test. Level of significance was established at $p < 0.05$.

Results and discussion

1. Enzymatic characterization of the biostimulant:

LC-MS analysis reported that the enzymatic component present in the soluble fraction of the biostimulant is comprised by proteins with hydrolitic and transport functions (Information not shown). Secreted hydrolases were 50% peptidases and amidases, related to N metabolism, and 33.3% glucanases, related to carbohydrate metabolism.

2. Evaluation of the biostimulant capacity in soil

2.1 Changes at biochemical level

It was observed that the soluble fraction of fermented sludge (SFS), and to a lesser extent the complete product (FS), produced the greatest stimulation on the soil biological activity (dehydrogenase activity SFS 0.5 % w/w: 2.89 ± 0.10 mmol INTF g⁻¹ h⁻¹; FS 0.5 % w/w: 1.66 ± 0.23 mmol INTF g⁻¹ h⁻¹, figure 2).

In all cases, maximum peaks of stimulation were reached on day 5. The main reason to such stimulation is the molecular size profile of the soluble

organic component of fermented sludge, constituted $65.95 \pm 0.09\%$ by organic molecules of molecular size under 1 KDa, mainly peptides, free amino acids and other highly bioavailable organic molecules, easily assimilated by the soil microbiota (Estrada et al., 2013).

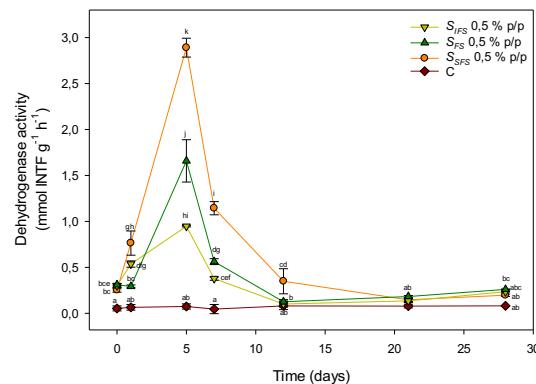


Fig. 2 – Dehydrogenase activity in controls and soils treated with biostimulants. Points (mean \pm SD) with the same letter(s) are not significantly different from each other ($p>0.05$).

Also notable was the stimulation produced by SFS on phosphatase activity coinciding with the peak of dehydrogenase activity (SFS 0.5 % w/w: 0.46 ± 0.02 mmol PNF g⁻¹ h⁻¹, figure 3), explained by the depletion of phosphorus as a consequence of the stimulation of the soil microbiota, by synthesizing microbial phosphatases to make it more bioavailable.

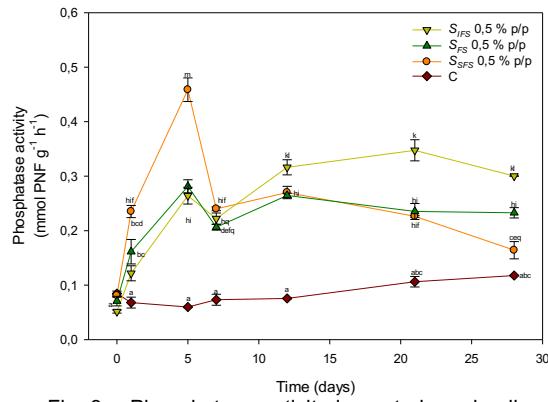


Fig. 3 – Phosphatase activity in controls and soils treated with the biostimulants. Points (mean \pm SD) with the same letter(s) are not significantly different from each other ($p>0.05$).

2.2 Changes at microbiological level

Biostimulants produced changes within the soil microbial structure compared to the control, causing the stimulation of some bacterial genera bibliographically classified as beneficial microbes.

Showing a low presence in control samples, the relative abundance (RA) of Oxalobacteriaceae family, which encompasses several endophytic bacteria classified as plant growth promoters (PGPB) (Lambrecht et al., 2000), was induced at 5 days by the three treatments (increase in RA of 10.1%, 7.9% and 8.9% for TFS, SFS and IFS respectively). Within this family, the endophytic genus *Herbaspirillum*, includes nitrogen-fixing species, producers of phytohormones, such as gibberellin and auxin and siderophores, and have the ability to solubilize inorganic phosphorus among other PGPB capabilities (Rosconi et al., 2013).

Comamonadaceae family also was clearly induced (increase in RA of more than 50 %) by TFS and SFS treatments.

Maybe the most drastic change was found by SFS in the Moraxellaceae family coming to suppose 18.3% of total RA at five days. This change is entirely due to the increase of genus *Acinetobacter* that includes certain PGPB involved on the production of hormones, solubilization of phosphate, and production of siderophores. In addition, other strains of *Acinetobacter* exhibit indirect PGPR activity via the growth suppression of phytopathogenic fungi, and potential biocontrol properties against pathogenic bacteria (Xue et al., 2009).

Regarding to Bacillaceae family, it is represented by the genus *Bacillus* known to exert PGPR activity, protecting plants from phytopathogen and simultaneously increase the yield in different crops (Elanchezhiyan et al., 2018). As expected, it shows the highest RA at the beginning in TFS and IFS treated soils, decreasing along the time, while oppositely, in SFS treatment, it increases reaching similar values to TFS and IFS soils at five days (10.84% of total relative abundance).

References

- Caballero, P., Macías-Benítez, S., Revilla, E., Tejada, M., Parrado, J., and Castaño, A. (2020). Effect of subtilisin, a protease from *Bacillus* sp., on soil biochemical parameters and microbial biodiversity. *Eur. J. Soil Biol.* 101.
doi:10.1016/j.ejsobi.2020.103244.
- du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic.* (Amsterdam). 196, 3–14.
doi:10.1016/J.SCIENTA.2015.09.021.
- Elanchezhiyan, K., Keerthana, U., Nagendran, K., Prabhukarthikeyan, S. R., Prabakar, K., Raguchander, T., et al. (2018). Multifaceted benefits of *Bacillus amyloliquefaciens* strain FBZ24 in the management of wilt disease in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 103, 92–101.
doi:10.1016/J.PMPP.2018.05.008.
- Estrada, G. A., Baldani, V. L. D., de Oliveira, D. M., Urquiaga, S., and Baldani, J. I. (2013). Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia* strains and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. *Plant Soil* 369, 115–129. doi:10.1007/s11104-012-1550-7.
- Lambrecht, M., Okon, Y., Vande Broek, A., and Vanderleyden, J. (2000). Indole-3-acetic acid: A reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. *Trends Microbiol.* 8, 298–300.
doi:10.1016/S0966-842X(00)01732-7.
- Macias-Benitez, S., Garcia-Martinez, A. M., Caballero Jimenez, P., Gonzalez, J. M., Tejada Moral, M., and Parrado Rubio, J. (2020). Rhizospheric Organic Acids as Biostimulants: Monitoring Feedbacks on Soil Microorganisms and Biochemical Properties. *Front. Plant Sci.* 11, 633.
doi:10.3389/fpls.2020.00633.
- Parlapani, F. F., Michailidou, S., Pasentsis, K., Argirou, A., Krey, G., and Boziaris, I. S. (2018). A meta-barcoding approach to assess and compare the storage temperature-dependent bacterial diversity of gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) originating from fish farms from two geographically distinct areas of Greece. *Int. J. Food Microbiol.* 278, 36–43.
doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.027.
- Parrado, J., Rodriguez-Morgado, B., Tejada, M., Hernandez, T., and Garcia, C. (2014). Proteomic analysis of enzyme production by *Bacillus licheniformis* using different feather wastes as the sole fermentation media. *Enzyme Microb. Technol.* 57, 1–7. doi:10.1016/j.enzmictec.2014.01.001.
- Rodriguez-Morgado, B., Caballero, P., Paneque, P., Gomez, I., Parrado, J., and Tejada, M. (2019). Obtaining edaphic biostimulants/biofertilizers from sewage sludge using fermentative processes. Short-time effects on soil biochemical properties. *Environ. Technol. (United Kingdom)* 40.
doi:10.1080/09593330.2017.1393016.
- Rosconi, F., Davyt, D., Martinez, V., Martinez, M., Abin-Carriquiry, J. A., Zane, H., et al. (2013). Identification and structural characterization of serobactins, a suite of lipopeptide siderophores produced by the grass endophyte *Herbaspirillum seropediae*. *Environ. Microbiol.* 15, 916–927.
doi:10.1111/1462-2920.12075.
- Tejada, M., Garcia-Martinez, A. M., Rodriguez-Morgado, B., Carballo, M., Garcia-Antras, D., Aragón, C., et al. (2013). Obtaining biostimulant products for land application from the sewage sludge of small populations. *Ecol. Eng.* 50, 31–36.
doi:10.1016/J.ECOLENG.2012.07.006.
- Tejada, M., Rodriguez-Morgado, B., Gomez, I., and Parrado, J. (2014). Degradation of chlorpyrifos using different biostimulants/biofertilizers: Effects on soil biochemical properties and microbial community. *Appl. Soil Ecol.* 84, 158–165.
doi:10.1016/j.apsoil.2014.07.007.
- Xue, Q. Y., Chen, Y., Li, S. M., Chen, L. F., Ding, G. C., Guo, D. W., et al. (2009). Evaluation of the strains of *Acinetobacter* and *Enterobacter* as potential biocontrol agents against *Ralstonia* wilt of tomato. *Biol. Control* 48, 252–258.
doi:10.1016/J.BIOCONTROL.2008.11.004.

KOOLBIOCHAR – Novas formulações de Terra Preta de Síntese para aplicações agrícolas

KOOLBIOCHAR – New formulations of Synthetic Black Soil for agricultural applications

Verónica Oliveira^{1,2}, Rosinda Pato^{1,3}, Daniela Santos^{1,3}, Sara Almeida⁴, Filomena Miquens^{1,3*}

¹ Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade (CERNAS), Escola Superior Agrária de Coimbra, Bencanta, 3045-601 Coimbra, Portugal

² New Organic Planet, Centro Empresarial da Madeira, Estrada do aeroporto 140, 1º andar, Funchal, Madeira

³ Instituto Politécnico de Coimbra, Escola Superior Agrária, Bencanta, 3045-601 Coimbra, Portugal

⁴ Aleatory Concept, Lda, Estrela D'alva, São Paio de Mondego, 3360-230 Penacova, Portugal

*filomenam@esac.pt

Resumo

A sobre-exploração do solo e as alterações climáticas colocam em risco a produção agrícola mundial. Isto é também verdade em Portugal, onde o clima e os solos pobres limitam a produtividade na agricultura. A resposta a este desafio global requer uma gestão sustentável da retenção da água, dos nutrientes e da matéria orgânica, bem como dos contaminantes que estão presentes ou que são transportados para os solos. Neste contexto surgiu o projeto KOOLBIOCHAR que visa desenvolver e avaliar a sustentabilidade de uma nova solução para os solos, que possa ser implementada a uma escala global, para mitigar os impactos dos desafios identificados. A solução do projeto KOOLBIOCHAR consiste na produção de um aditivo que permita a melhoria da performance dos solos agrícolas, de uma forma sustentável, através de produtos customizados de terra preta de síntese (TPS) à base de uma mistura de biocarvão de acácia e de resíduos orgânicos compostados.

A ambição última do projeto é de contribuir para os desafios centrais das nossas sociedades, como os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) das Nações Unidas relacionados com a erradicação da fome (ODS2), com a ação climática (ODS13), com a sustentabilidade das cidades e das comunidades (ODS11), e com a proteção da vida terrestre (ODS15).

Palavras-chave: Biocarvão, valorização de resíduos, acácia, agricultura, sustentabilidade.

Abstract

Soil overexploitation and climate change put the world agricultural production at risk. This is also true in Portugal, where the climate and poor soils limit agricultural productivity. Responding to this global challenge requires a sustainable management of water retention, nutrients and organic matter, as well as contaminants that are present in or are transported to soils. In this context, the KOOLBIOCHAR project emerged, aiming to develop and assess the sustainability of a new solution for soils, which can be implemented on a global scale, to mitigate the impacts of the above identified challenges. The solution of the KOOLBIOCHAR project consists in the production of an additive that allows the improvement of the performance of agricultural soils, in a sustainable way, through the development of customized products of synthetic black soils (TPS) based on a mixture of acacia biochar and composted organic wastes.

The ultimate ambition of the project is to contribute to the central challenges of our societies, such as the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs) related to the eradication of hunger (SDG2), climate action (SDG13), the sustainability of cities and communities (SDG11), and with the protection of terrestrial life (SDG15).

Keywords: Biochar, waste valorization, invasive species, agriculture, sustainability.

Enquadramento do projeto

Perda de fertilidade do solo

Em muitas partes da Europa, incluindo Portugal, o aumento constante da procura de alimentos e matérias-primas de origem vegetal (fibras e combustível) está a provocar uma pressão sobre os sistemas agrícolas que leva à sobre-exploração e degradação dos solos, tendo como consequência grave a diminuição da saúde dos solos.

Um dos indicadores mais relevantes neste âmbito é o teor de matéria orgânica (MO) nos solos, que tem diminuído drasticamente, levando a uma perda de fertilidade e consequentemente à diminuição da produtividade e rendimento agrícolas. Neste contexto de sobre-exploração, a taxa de perda de solo é largamente superior à sua capacidade de regeneração, o que para esta análise torna o solo num recurso finito e não renovável à escala temporal humana.

Cerca de 45% dos solos Europeus têm um teor de MO inferior a 2%. A Sul da Europa, esta situação torna-se particularmente preocupante pois os solos com um teor de MO abaixo dos 2% atingem os 74% (European Commission et al., 2012). Em Portugal, os solos são genericamente pobres em MO, com teores que variam entre 0,5% a 1,5%, e são predominantemente ácidos. São ainda naturalmente pobres em nutrientes e delgados (de reduzida espessura, na maior parte dos casos inferior a 50 cm), o que faz com que sejam altamente suscetíveis a fenómenos como a erosão, com a perda da camada mais fértil do solo.

Com as alterações climáticas, o problema do empobrecimento dos solos em MO irá agudizar-se, e o aumento gradual das temperaturas provocará uma mineralização mais rápida da MO do solo. Aos climas mais secos irá ainda associar-se uma menor disponibilidade de água em geral e uma menor capacidade de retenção de água no solo. Os impactes devido às alterações climáticas no Sul da Europa levantam grandes preocupações com a disponibilidade de água para rega e com a capacidade dos solos manterem a

produtividade agrícola. Estas são as razões centrais pelas quais, num contexto de alterações climáticas e de sobre-exploração do solo, a sustentabilidade, o setor agrícola e mesmo a alimentação humana podem estar em risco.

A fertilidade da Terra Preta e a sua recriação

Uma das abordagens mais eficazes que têm sido seguidas para o melhoramento da saúde dos solos agrícolas consiste na adição de fertilizantes e corretivos orgânicos com origem em resíduos orgânicos, como por exemplo estrume maturado ou compostado e outros resíduos orgânicos de atividades agrícolas e resíduos florestais.

No entanto, uma das mais fascinantes descobertas na área da ciência dos solos foi a identificação na Amazónia, no final do século XIX, de um solo de cor escura e muito fértil, que viria a ser designado por *Terra Preta*. A *Terra Preta* é um solo antropogénico que resulta da ocupação humana pré-colombiana que ocorreu entre 6700 AEC e 1500 EC (Kogel-Knabner & Amelun, 2021). Embora tenham sido abandonados há centenas, ou mesmo há milhares de anos (Lehmann, 2009), os solos *Terra Preta* continuam, até ao presente, muito mais férteis que os solos adjacentes. Isto acontece porque na *Terra Preta* identificou-se a presença de teores elevados de um carvão vegetal, altamente persistente no solo (Kawa & Oyela-Caycedo, 2008). Sabe-se que este carvão vegetal resultou das práticas agrícolas pré-colombianas dos grupos indígenas, que promoviam a combustão lenta, a baixas temperaturas e na ausência de oxigénio (processo denominado de pirólise), de material vegetal no solo, e a adição de MO resultante das atividades humanas dos povoamentos (restos de comida, excrementos de animais e humanos, etc.).

Desde 2002 que se procura recriar *Terra Preta in loco*, por pequenos agricultores da Amazónia, num projeto que se denominou *Terra Preta Nova* (Sombroek et al., 2002). Neste projeto, constatou-se que as experiências de produção de *Terra Preta*

são difíceis de replicar noutros locais e, a *Terra Preta* da Amazónia dificilmente pode dar resposta às necessidades de um mundo em crescente procura de produtos de origem vegetal e em que a degradação e o empobrecimento do solo em nutrientes e MO é uma realidade. Por isso, de acordo com Lehmann (2009), o foco deve estar nas *tecnologias* para criar *Terra Preta Nova*, e não no processo tradicional de produção de *Terra Preta*, que é demasiado específico e pouco replicável.

A *Terra Preta de Síntese* (TPS) surgiu para fazer uma distinção clara entre esta *Terra Preta* sintetizada de forma artificial e a *Terra Preta Nova*, que replica o processo tradicional, conduzido no próprio local. Em 2007, Krieger (2014) submeteu uma patente onde descreve um método para produzir um húmus estável e substrato rico em nutrientes com propriedades semelhantes à *Terra Preta*. O processo consiste numa fermentação láctica de substratos orgânicos na presença de um inóculo de microrganismos e de carvão vegetal triturado e impregnado numa solução de ureia. Também Chia et al. (2010) referem a síntese de *Terra Preta* por torrefação (tratamento térmico da biomassa que ocorre na ausência parcial ou total de ar originando um material sólido – corresponde à fase inicial da pirólise) de resíduos orgânicos (estrume de galinha, biomassa de eucalipto, sangue e ossos) e de materiais inorgânicos (material cerâmico triturado e calcite). A ideia era testar a hipótese de que a torrefação de biomassa produz uma estrutura em carbono que reage com argilas e outros minerais para produzir um material semelhante à *Terra Preta*.

O papel do biocarvão e o controlo de espécies invasoras

Por volta dos primeiros anos do século XXI, a produção de hidrogénio a partir de biomassa estava a ser investigada pelo Departamento de Energia dos EUA. O processo originava um carvão vegetal que se veio a descobrir ser semelhante ao que existia na *Terra Preta*, tendo vindo a ser denominado *biocarvão*. Este biocarvão era obtido em reatores de pirólise de biomassa

em explorações agrícolas. A sustentabilidade deste processo está relacionada com o sequestro de carbono pelo biocarvão: quando a biomassa é convertida em biocarvão, parte do carbono que normalmente seria emitido para a atmosfera durante a combustão da biomassa fica retido no biocarvão. A aplicação do biocarvão no solo representa por isso uma redução do carbono atmosférico. Para além disso, o uso de biocarvão em solos agrícolas traz vantagens importantes, desde a correção do pH, no caso de solos ácidos, a maior disponibilidade de nutrientes necessários ao normal desenvolvimento das culturas, o aumento da capacidade de retenção de água e ainda a redução da emissão de gases de efeito de estufa (Nair et al. 2017).

A produção de biocarvão a partir de espécies invasoras é explorada pela empresa Aleatory Concept e foi neste enquadramento que surgiu o projeto KOOLBIOCHAR (projeto I&D Empresarial em Copromoção para Territórios do Interior). Ao longo dos últimos anos, na região Centro de Portugal, tem-se registado um aumento significativo de plantas invasoras nos espaços naturais, nomeadamente *Acacia* spp. Estas espécies têm impactos negativos significativos nos ecossistemas nativos, afetando a diversidade de outras espécies de plantas, animais e microrganismos e os serviços dos ecossistemas, tendo custos económicos elevados e causando problemas de saúde ao ser humano (por exemplo, alergias). As áreas com *Acacia* spp. praticamente duplicaram entre 1995 e 2010 (ICNF, 2019) e após os incêndios florestais de 2017, que assolararam a região Centro, a distribuição desta espécie aumentou ainda mais, devido à estimulação da germinação das sementes pelos incêndios. Todas as espécies de acácia estão oficialmente listadas como espécies invasoras (Decreto-Lei nº92/2019) e na zona Centro, incluindo Penacova - sede da empresa Aleatory Concept, promotora do KOOLBIOCHAR -, e nos municípios vizinhos, estão há já alguns anos a ser tomadas medidas que visam o controlo da sua expansão. Estas medidas passam pelo corte e abate

controlado dos indivíduos destas espécies. Existe assim uma necessidade de recolha e correto encaminhamento para valorização da biomassa de acácia após abate. Este problema foi colocado à empresa Aleatory Concept, que iniciou a produção de um carvão vegetal à base de madeira de acácia. O pó do carvão vegetal que resulta do processo de produção constitui ainda um resíduo que até ao momento não tem tido qualquer aproveitamento.

Inspirados pelas propriedades do pó de biocarvão que resulta do seu processo produtivo e pela elevada fertilidade associada às *Terras Pretas* da Amazónia, os copromotores do projeto KOOIBIOCHAR - Aleatory Concept e Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra - colocaram a hipótese de aproveitar este biocarvão como corretivo para solos agrícolas, especialmente se conjugado com resíduos orgânicos, produzindo um substrato customizado que, de alguma forma, se assemelhasse à *Terra Preta*.

Objetivo do projeto

O principal objetivo do projeto KOOIBIOCHAR é o desenvolvimento de produtos customizados de TPS à base de uma mistura de biocarvão de acácia e de resíduos orgânicos compostados, para aplicação agrícola, nomeadamente para o cultivo de hortícolas e de cereais e para a vinha.

Os produtos deverão ter características adequadas à comercialização como corretivo orgânico para aplicação agrícola. Estes produtos deverão permitir, em diferentes graus e conforme a cultura a que se destinam, aumentar o teor de MO no solo, corrigir o pH, fornecer nutrientes, aumentar a eficiência de fertilização e aumentar a capacidade de retenção de água.

Duração do projeto

Para atingir este objetivo foi definido um plano de implementação com uma duração de 27 meses, tendo o seu início a 1 de abril

de 2021 e término a 31 de junho de 2023.

Resultados Esperados

Com o projeto KOOIBIOCHAR, pretende-se alargar o portfolio da empresa Aleatory Concept, com um novo produto compreendido na sua estratégia de alargamento de portfolio de produtos, designadamente, novos biocarvão à base de novas formulações para aplicações agrícolas.

Agradecimentos

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do projeto KOOIBIOCHAR (CENTRO-01-0247-FEDER-113453), financiado pelo Centro 2020, Portugal 2020 e pela União Europeia através dos Fundos Europeus Estruturais e de Investimento.

Referências bibliográficas

- Chia, C. H., Munroe, P., Joseph, S. e Lin, Y. (2010). Microscopic characterisation of synthetic Terra Preta. *Australian Journal of Soil Research*, 48 (7), 593-605. <https://doi.org/10.1071/SR10012>.
- European Commission, Joint Research Centre, & Institute for Environment and Sustainability (2012). The State of Soil in Europe. Publications Office of the European Union: Luxembourg.
- ICNF (2019). 6º Inventário Florestal Nacional (IFN6) – relatório final.
- Kawa, N. C. e Oyuela-Caycedo, A. (2008). Amazonian Dark Earth: A Model of Sustainable Agriculture of the Past and Future? *The International Journal of Environmental, Cultural, Economic and Social Sustainability*, 4 (3). ISSN 1832-2077.
- Kogel-Knabner, I., & Amelun, W. (2021). Soil organic matter in major pedogenic soil groups. *Geoderma*, 384, 114785. DOI: 10.1016/j.geoderma.2020.114785.
- Krieger, A-F (2014). Method for the production of humus- and nutrient-rich and water-storing soils or soil substrates for sustainable land use and development systems. Patent N°EP2188230 B1.
- Lehmann J. (2009). Terra Preta Nova – Where to from Here? Em: Amazonian Dark Earths: Wim Sombroek's Vision. Woods W.I., Teixeira W.G., Lehmann J., Steiner C., WinklerPrins A., Rebellato L. (eds). Springer, Dordrecht. DOI: 10.1007/978-1-4020-9031-8_28.
- Nair, V. D., Nair, P. K. R., Dari, B., Freitas, A. M., Chatterjee, N. & Pinheiro, F. M. (2017). Biochar in the Agroecosystem-Climate-Change-Sustainability Nexus. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2051. DOI: 10.3389/fpls.2017.02051.
- Sombroek, W., Kern, D. C., Rodrigues, T., Cravo, M., Jarbas, T. C., Woods, W. I. & Glaser, B. (2002). Terra Preta and Terra Mulata: Pre-Columbian Amazon kitchen middens and agricultural fields, their sustainability and their replication. Symposium 18, 17th WCSS 14-21 Bangkok, Thailand, 14-21 August.

Dinámica estacional de la biomasa microbiana y actividades enzimáticas en suelos agrícolas mediterráneos: manejo convencional vs. ecológico

Durán-Román, G. Alejandro¹; Sacristán, Daniel²; Sastre-Conde, Isabel³; Vadell, Jaume⁴

¹ Servei de Millora Agrària i Pesquera (IRFAP-SEMINA) C/ Eusebi Estada, 145, E-07009, Palma, 971176666, a.duran@uib.cat

² Universitat de València C/ Doctor Moliner, 50, E-46100, Burjassot. daniel.sacristan@uv.es

³ Servei de Millora Agrària i Pesquera (SEMINA) C/ de Babieca, 2, E-07198, Palma. isabelsastre2003@gmail.com

⁴ Universitat de les Illes Balears Cra. Valldemossa, km7, 5, E-07122, Palma.

*jaume.vadell@uib.es

Resumen

Con el fin de reducir el impacto ambiental causado por los fertilizantes de origen mineral, el sector vitivinícola se dirige hacia un modelo sostenible. El uso de fertilizantes orgánicos es una práctica común en el avance hacia este modelo de gestión, aportando materia orgánica al suelo y repercutiendo en la mejora de las características físico-químicas y biológicas de éste. Además, también han de ser capaces de aportar el nitrógeno necesario para el correcto desarrollo del cultivo. Para comparar el efecto de un fertilizante mineral frente a un fertilizante orgánico en suelo, se realizó un seguimiento estacional de la cantidad de nitratos, y diferentes parámetros biológicos relacionados con el C y el N (carbono y nitrógeno de la biomasa microbiana, hidrólisis del diacetato de fluoresceína y las actividades β -glucosidasa y β -galactosidasa) en una parcela convencional y una ecológica en un viñedo comercial en Mallorca. Los resultados tras dos años de aplicación mostraron que el efecto de las aplicaciones (mineral y orgánica) provocaron tendencia a aumentar los valores de las variables biológicas gracias al aporte de nutrientes, siendo más notable el efecto del fertilizante mineral sobre su control.

Palabras clave: Fertilidad de suelo, Viticultura, Indicadores biológicos, Microbiología del suelo.

Abstract

To reduce the environmental impact caused by fertilizers of mineral origin, the wine sector is moving towards a sustainable model. The use of organic fertilizers is a common practice in the progress towards this management model, contributing to soil organic matter increase and impacting on the improvement of its physical-chemical and biological characteristics. Moreover, fertilizers must be capable of providing the necessary nitrogen for the correct crop growth. In order to compare the effect of a mineral fertilizer against an organic fertilizer in soil, a seasonal monitoring of the amount of nitrates and different biological parameters related to C and N (carbon and nitrogen of the soil microbial biomass, hydrolysis of diacetate of fluorescein and β -glucosidase and β -galactosidase activities) in a conventional plot and an organic plot in a commercial vineyard in Mallorca. The results after two years of application showed that the effect of the applications (mineral and organic) caused a tendency to increase the values of the biological variables thanks to the contribution of nutrients in soils, the effect of the mineral fertilizer on its control was greater.

Keywords: Soil fertility, Viticulture, Biological indicators, Soil microbiology.

Introducción

Mantener o mejorar el contenido de materia orgánica del suelo es clave en Agricultura Ecológica. Las aplicaciones de fertilizantes orgánicos constituyen uno de los procedimientos habituales para este fin. Elementos minerales como el nitrógeno están asociados a la dinámica de la materia orgánica en el suelo (Abbasi & Khizar, 2012).

Los microorganismos juegan un papel clave en los ciclos biogeoquímicos y el ciclado de nutrientes, controlando la mayor parte de procesos en el suelo. Además, son parámetros sensibles a los cambios que se producen en el suelo (Nannipieri, et al, 2002). La biomasa microbiana cuantifica la cantidad global de microorganismos presentes en el suelo. Las reacciones bioquímicas son necesarias para el ciclado de los nutrientes y están catalizadas por enzimas, pudiendo utilizarse las actividades enzimáticas como indicadores de la actividad biológica de un suelo.

Así, parece evidente la necesidad de analizar los efectos que las diferentes prácticas de gestión de suelos provocan sobre la actividad biológica y sobre la disponibilidad del nitrógeno en el suelo. De manera más concreta, el objetivo de este estudio fue comparar el efecto de la aplicación de un fertilizante mineral (convencional) frente a uno orgánico (ecológico) sobre el nitrógeno y la actividad biológica del suelo en un viñedo comercial, a través del seguimiento estacional durante un año sobre la disponibilidad de nitratos en suelo y de diferentes parámetros biológicos: carbono y nitrógeno de la biomasa microbiana (C BM y N BM), hidrólisis del diacetato de fluoresceína (FDA), la actividad β -glucosidasa (bGLU) y la β -galactosidasa (bGAL).

Material y métodos

El estudio se llevó a cabo en la isla de Mallorca, en la Bodega José L. Ferrer (DO Binissalem-Mallorca), entre enero y octubre de 2021. La temperatura media mensual osciló entre 10,0 °C (enero) y 26,2

°C (agosto). La precipitación acumulada fue de 140,2 mm. El diseño experimental fue en bloques con una disposición de los tratamientos dirigida en función de las prácticas generales de la parcela (convencional vs ecológico). Se establecieron dos tratamientos control (sin aporte externo) y dos tratamientos con fertilizante: mineral en una parcela de manejo convencional y orgánico en parcela ecológica. Se tomaron muestras compuestas de la capa arable (0-20 cm) en centro de las calles de cada tratamiento durante el año 2021. El mismo día de la recogida de muestras, se iniciaron los procedimientos para los análisis de nitratos y biomasa microbiana. Para las medidas de las actividades enzimáticas, las muestras fueron conservadas a 4 °C. Las características principales de los suelos estudiados se presentan en la Tabla 1. El experimento se adaptó al Reglamento (UE) 2018/848 que rige la Agricultura Ecológica.

La aplicación de los fertilizantes se realizó en dos ocasiones: enero de 2020 y febrero de 2021. Se usó un abono mineral ternario NPK (6-10-20), a razón de 400 kg/ha. El fertilizante orgánico, con 50% de materia orgánica total, contenía un 6% de nitrógeno total, del cual un 5,5% era nitrógeno orgánico. Se aplicaron 800 kg/ha.

Tabla 1. Principales características de los suelos estudiados.

	<u>Suelo CON</u>	<u>Suelo ECO</u>
Arcillas (%)	23,0	38,0
Limos (%)	36,4	32,9
Arenas (%)	40,6	29,1
CCE (%)	11,13	10,79
Corg (%)	0,75	1,38
NT (%)	0,12	0,19

CCE: carbonato cálcico equivalente; Corg: carbono orgánico; NT: nitrógeno total.

El contenido de nitrato en el suelo se determinó utilizando el protocolo descrito

por Miranda, *et al.* (2001). El carbono orgánico (Corg) fue analizado siguiendo el método descrito por Walkley & Black (1934). Para la determinación de la biomasa microbiana se siguió el método de fumigación-extracción de Vance, *et al.* (1987), realizando la cuantificación mediante un analizador de C y N total (TOC-L, Shimadzu). La hidrólisis del FDA se analizó siguiendo el protocolo de Adam & Duncan (2001). El análisis de las actividades de la bGLU y la bGAL, se realizaron de acuerdo a Eivasi & Tabatabai (1988).

Las medias de las variables de interés fueron comparadas mediante análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías con los factores de estación y tratamiento. Las diferencias entre tratamientos y estaciones se establecieron tras la aplicación del test post-hoc Tukey. Los tratamientos

estadísticos se llevaron a cabo mediante el programa IBM SPSS Statistics 26.

Resultados y discusión

Los valores de nitratos en suelo fueron significativamente superiores en el tratamiento con fertilizante de origen mineral (Tabla 2). La menor cantidad de nitratos en tierras agrícolas orgánicas respecto a convencionales ha sido observada en diferentes estudios (e.g. García-Ruiz *et al.*, 2008). A partir de la primavera, se produjo un rápido descenso en la cantidad de nitratos en la parcela fertilizada con NPK, hasta situarse en valores en el entorno del resto de tratamientos en verano y otoño (resultados no presentados).

Tabla 2. Resultados del análisis de la varianza de dos vías.

	NO ₃ ⁻ (mg N-NO ₃ Kg ⁻¹)	C BM (μg C Kg ⁻¹)	N BM (μg N Kg ⁻¹)	FDA (μg flu h ⁻¹ g ⁻¹)	bGLU (μmol PNP h ⁻¹ g ⁻¹)	bGAL (μmol PNP h ⁻¹ g ⁻¹)
Tratamiento						
Cmin	25,84a	23,93a	134,07b	29,33a	3,93b	0,58b
MIN	43,34b	36,58a	143,55b	37,56b	5,86c	0,82c
Corg	22,49a	35,96a	97,07a	28,69a	2,98ab	0,36a
ORG	20,32a	39,61a	105,04a	29,33a	2,02a	0,38a
Sig	<0,001	0,181	<0,001	0,001	<0,001	<0,001
Estación						
PRIMAVERA	39,01b	4,05a	116,63b	31,27b	3,36a	0,41a
VERANO	40,51b	55,21b	87,67a	24,17a	3,75a	0,58b
OTOÑO	4,74a	42,79b	155,50c	35,11b	3,93a	0,60b
Sig	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,59	<0,001
Sig TxE	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	0,001	0,020

Para cada tratamiento y estación, se incluyen los valores medios anuales. Los valores con letras diferentes en la misma columna se diferencian significativamente ($p<0,05$). Cmin: tratamiento control en parcela convencional; MIN: tratamiento con fertilizante mineral; Corg: tratamiento control en ecológico; ORG: tratamiento fertilizante orgánico. Sig: significación.

El C BM no mostró diferencias significativas entre los controles y sus respectivas aplicaciones, si se apreció un incremento en las dos aplicaciones. En cambio, el N BM presentó valores significativamente más elevados en los tratamientos convencionales (Tabla 2). Existen resultados contradictorios sobre los efectos de la fertilización química nitrogenada sobre la biomasa microbiana. Algunos autores reportan un aumento (e.g. Omay *et al.*, 1997), mientras que otros observan descenso (e.g. Ladd *et al.*, 1994). Los escasos incrementos en BM pueden ser indicadores de una dosis de aplicación reducida.

Entre las diferentes estaciones, el C BM fue significativamente menor durante la primavera mientras que el N BM fue menor en verano y mayor en otoño.

El tratamiento con fertilización mineral mostró valores de mayor actividad de la hidrólisis del FDA. Estos resultados parecen indicar que la mayor presencia de NO_3^- en el suelo influye sobre esta actividad enzimática relacionada con diferentes enzimas de tipo proteasa (Adam & Duncan, 2001). Las actividades bGlu y bGal también presentaron tasas superiores bajo fertilización mineral.

En los tratamientos de Agricultura Ecológica las actividades enzimáticas presentaron valores más bajos que en los tratamientos convencionales.

Al comparar globalmente, la evolución de las tasas de las actividades enzimáticas analizadas a lo largo del año no se aprecia un patrón común.

Conclusiones

En general, los valores obtenidos, cuando comparamos la aplicación con su control, se produce una tendencia de aumento en las variables microbiológicas estudiadas. Este aumento se observa notablemente bajo el uso de fertilizante mineral, que aporta una mayor cantidad de nitrógeno al suelo en parcelas que de partida presentaban valores relativamente bajos en este nutriente, promoviendo de manera

acusada el aumento de las poblaciones microbianas y su actividad.

Agradecimientos

A la Unidad de Edafología de la Universidad de Córdoba (UCO) por los análisis de NO_3^- , C BM y N BM.

Este trabajo se ha realizado gracias a los fondos del proyecto: INIA-2017-003 (Ministerio de Ciencia e Innovación).

Bibliografía

- Abbasi, M.K., & Khizar, A. (2012). Microbial biomass carbon and nitrogen transformations in a loam soil amended with organic–inorganic N sources and their effect on growth and N-uptake in maize. *Ecological Engineering*, 39, 123-132.
- Adam, G., & Duncan, H. (2001). Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(7-8), 943-951.
- Eivasi, F. & Tabatabai, M.A. (2001). Glucosidase and galactosidase in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 20, 601-606.
- García-Ruiz, R., Ochoa, V., Hinojosa, M.B., & Carreira, J.A. (2008). Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2137-2145.
- Ladd, J.N., Amato, M., Zhou, L.K., & Schultz, J.E. (1994). Differential effects of rotation, plant residue and nitrogen fertilizer on microbial biomass and organic matter in an Australian Alfisol. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(7), 821-831.
- Miranda, K. M., Esprey, M. G., & Wink, D. A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric oxide*, 5(1), 62-71.
- Nannipieri, P., Kandeler, E., & Ruggiero, P. (2002). Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. *Enzymes in the Environment*, 1-33.
- 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(6), 1672-1678.
- Vance, E.D., Brookes, P.C., & Jenkinson, D.S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(6), 703-707.
- Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science*, 37(1), 29-38.

Efeito de compostados de resíduos da cultura do kiwi no crescimento da alface

Effect of composts from kiwi crop waste on lettuce growth

Pinto, Rui^{1,2}; Brito, L. Miguel^{1,3*}; Mourão, Isabel^{1,3}; Peixoto, Virgílio¹; Valin, Isabel^{1,2}; Moura, Luisa^{1,2}

¹Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Escola Superior Agrária, Refóios, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal.

²Centro de Investigação e Desenvolvimento em Sistemas Agroalimentares e Sustentabilidade (CISAS), Rua Escola Industrial e Comercial de Nun'Álvares, nº 34, 4900-347 Viana do Castelo, Portugal.

³Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal. miguelbrito@esa.ipv.c.pt

Resumo

A compostagem realizada com estilha da poda e refugo de kiwi permite reciclar estes resíduos de modo a serem usados como corretivos orgânicos. No entanto, é necessário avaliar a resposta das culturas à aplicação destes compostados. Com este objetivo, foi realizado um ensaio de vasos com alface em blocos casualizados com a aplicação de compostados realizados com estilha da poda de kiwi e refugo de frutos de kiwi misturados nas proporções de 2:1, 1:1 e 1:2 (estilha:kiwi, p:p). Os tratamentos incluiram: (i) os compostados com 3 níveis de fertilização (10, 20 e 40 t ha⁻¹); (ii) um adubo azotado (20,5% N) na dose de 50 kg ha⁻¹ N; e (iii) um tratamento controle sem aplicação de fertilizante. O peso fresco da alface aumentou com a aplicação dos compostados em comparação com a aplicação de adubo azotado diminuindo os riscos de perdas de N. A produção de alface e a acumulação de N foram mais elevados com a aplicação de 40 t ha⁻¹ de compostado com a proporção de 1:2 (estilha:kiwi, p:p) devido à maior disponibilidade de N mineral neste compostado com menos estilha e à maior quantidade de N mineralizado durante a experiência.

Palavras-chave: alface, compostado, estilha da poda, kiwi

Abstract

The process of composting pruning chips and kiwi fruit waste enable these wastes to be recycled as soil organic amendments. However, it is necessary to assess the crop response to the application of these composts. With this aim, a randomized block design pot experiment was set up with the application of composts from pruning chips and kiwi fruit waste mixed in proportions of 2:1, 1:1 e 1:2 (chips:kiwi, w:w). The treatments included: (i) composts with three rates (10, 20 e 40 t ha⁻¹); (ii) mineral N fertilizer (20.5% N; at the dose of 50 kg ha⁻¹ N); and (iii) a control treatment without soil amendments. Lettuce fresh weight increased with compost in comparison to mineral N fertilizer application, decreasing the risk of N losses. Lettuce production and N accumulation were higher with soil application of 40 t ha⁻¹ of compost with 1:2 (chips:kiwi, w:w) due to the greater availability of mineral N in this compost with less chips and the greater amount of mineralized N during the experiment.

Keywords: compost, kiwi, lettuce, pruning chips

Introdução

A cultura de kiwi é responsável pela produção de subprodutos tais como o refugo de frutos de kiwi resultante do processo de calibração e a lenha da poda. A estilha da lenha da poda é um material estruturante que permite a entrada de ar na pilha de compostagem e o refugo de kiwi é uma fonte de N que contribui para equilibrar a elevada razão C/N da estilha da poda ($C/N > 60$). Estas características indicam a possibilidade de obter um compostado de qualidade com estes materiais. Assim, o objetivo deste trabalho consistiu na realização de um ensaio de vasos em estufa para avaliar o efeito dos compostados de estilha da poda de kiwi e refugo de kiwi no crescimento da alface.

Materiais e métodos

O ensaio de vasos foi realizado com alface (*Lactuca sativa L. var.*) sob coberto, no noroeste de Portugal, em Ponte de Lima ($41^{\circ} 47' 30''$ N e $8^{\circ} 32' 24''$ W e 50 m de altitude). Os compostados utilizados neste ensaio, 1C, 2C e 3C, foram obtidos de três pilhas de compostagem realizadas com estilha da poda de kiwi e refugo de frutos de kiwi, na proporção em peso fresco de 2:1, 1:1 e 1:2, respetivamente (quadro 1). Os compostados apresentavam um elevado grau de maturação pois o teor de $N-NH_4^+$ era muito inferior ao máximo recomendado (400 mg kg^{-1} ms) por Zucconi e Bertoldi (1987). O ensaio foi conduzido de acordo com um delineamento experimental com 4 repetições e 11 tratamentos. Os tratamentos incluíram: (i) os compostados 1C, 2C e 3C com 3 níveis de fertilização, 10, 20 e 40 t ha^{-1} (1C10, 1C20, 1C40, 2C10, 2C20, 2C40, 3C10, 3C20 e 3C40); (ii) um adubo azotado (nítrico-amoniacial, 20,5% N) aplicado na dose equivalente a 50 kg ha^{-1} N (AA); e (iii) um tratamento controle sem aplicação de fertilizantes (C). A transplantação ocorreu no dia 17 de setembro de 2021 em vasos com 8 kg de solo (quadro 2). Os vasos foram regados de modo a impedir que a falta de água fosse um fator limitante no crescimento das alfaces e a limpeza de infestantes foi realizada para evitar a competição com a alface. A colheita foi

realizada 50 dias após a transplantação. O N orgânico mineralizado dos compostados foi estimado pela diferença entre o N acumulado nas folhas da alface com e sem compostado, após subtração do N mineral do compostado.

Teor de matéria seca (MS), pH e condutividade elétrica (CE) dos compostados foram determinados de acordo com as normas europeias (CEN, 1999). O teor de MO foi determinado por incineração de acordo com a norma EN 13039-2011 e o teor de N total pelo método Kjeldahl. O teor de P foi determinado com um espectrofotómetro de UV após digestão com ácido sulfúrico e o teor de K com um espectrofotómetro de absorção atómica após digestão nitro-perclórica. O N mineral foi extraído de amostras frescas com uma solução de 1 M KCl 1:5 e determinado por absorção molecular.

Quadro 1 - Características químicas dos compostados 1C, 2C e 3C com 2:1, 1:1 e 1:2 (estilha:kiwi, p:p), respetivamente.

	1C	2C	3C
pH	7,4	7,6	7,3
CE (dS m ⁻¹)	0,52	0,5	0,84
MO (g kg ⁻¹)	891	891	853
N (g kg ⁻¹)	22,7	23,0	26,7
C/N	22	22	18
N-NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)	13,2	3,6	12,1
N-NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)	4,6	7,9	75,7
P (g kg ⁻¹)	2,2	2,5	2,8
K (g kg ⁻¹)	14,6	15,3	19,3

Quadro 2 – Características químicas do solo inicial.

Característica	(unidade)
pH	5,475
CE (dS m ⁻¹)	0,032
MO (g kg ⁻¹)	16,5
Fósforo disponível*	(mg P ₂ O ₅ kg ⁻¹)
Potássio disponível*	(mg K ₂ O Kg ⁻¹)
Cálcio disponível**	(mg Mg Kg ⁻¹)
Magnésio disponível**	(mg Ca Kg ⁻¹)

*Método Egner-Riehm; **Extração com acetato de amónio

Resultados e discussão

O peso fresco da alface aumentou com a aplicação dos compostados em

comparação com o tratamento controle (figura 1) o que está de acordo com os resultados obtidos por Porto et al. (2008) e Manojlovic et al. (2009). O peso fresco da alface aumentou no compostado C3 em comparação com o compostado C1 (figura 2). Este aumento foi devido à diminuição da razão C/N e ao aumento do teor de N no compostado com maior proporção de kiwi em comparação com a estilha (C3) que favoreceu uma maior disponibilidade de N (Morvan et al., 2006). O peso fresco e a acumulação de N da alface foram mais elevados com a aplicação de 40 t ha⁻¹ do compostado C3, devido à maior quantidade de N total disponível, principalmente N mineral (figura 3). Por outro lado, o peso fresco da alface aumentou nos tratamentos com compostado em comparação com o tratamento com adubo azotado (AA), apesar da alface neste tratamento (AA) possuir um teor de N mais elevado do que nos restantes tratamentos (quadro 3). Este facto pode ser devido às características físicas do compostado que permitiram um maior crescimento das raízes e o aumento da capacidade de retenção de água (Mamman et al., 2007). O valor de pH dos compostados (entre 7,3 e 7,6) poderá, também, ter contribuído para aumentar o valor de pH do solo (5,5), abaixo do limite recomendado para a cultura da alface (6,5), aumentando a solubilidade dos nutrientes (Wong et al., 1999).

Nos tratamentos com a aplicação dos compostados, o N mineral disponível foi inferior à diferença entre o N acumulado nas folhas da alface com e sem a aplicação de compostado, à exceção do tratamento 1C10 (quadro 3 e figura 3). Consequentemente, a planta absorveu o N mineral disponível no início da experiência e recorreu ao N mineralizado do compostado (figura 3). Pelo contrário, no tratamento com adubo azotado (AA), o N mineral disponível (500 mg) foi muito superior à diferença entre o N acumulado nas folhas da alface com e sem aplicação de adubo (48,6 mg), mas este aumento não se traduziu num aumento de produção de alface, e aumentaram os riscos de perdas de N (Huang et al., 2011). O teor de N nas alfaces com aplicação dos compostados

(entre 9,7 e 14,2 g kg⁻¹) foi semelhante aos valores referidos por Pinto et al. (2021) com aplicação de compostado maturado na cultura da alface (12,8 g kg⁻¹).

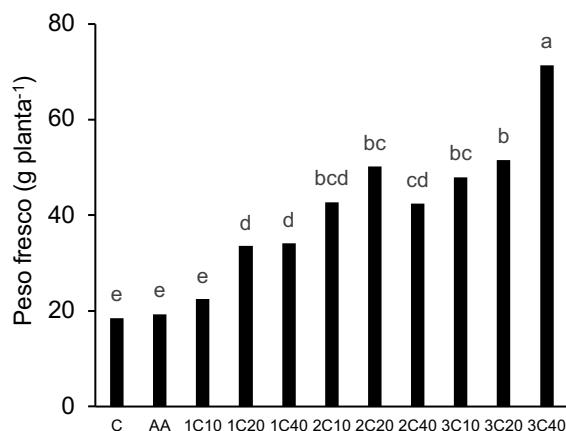


Fig. 1 – Peso fresco da alface sem aplicação de fertilizantes (C), com aplicação de adubo azotado (AA), e com aplicação de compostados produzidos com estilha e kiwis (p:p) nas proporções de 2:1 (1C), 1:1 (2 C) e 1:2 (3C) nas doses de 10, 20 e 40 t ha⁻¹.

Quadro 3 – Teor de matéria seca (MS), teor de N total e acumulação de N nas folhas da alface.

	Teor de MS	N total	Acumulação de N
	(%)	(g kg ⁻¹)	(g kg ⁻¹)
solo	12,4	10,7	24,5
AA	13,3	29,1	73,1
1C10	10,0	10,8	23,9
1C20	10,6	10,4	37,7
1C40	10,7	9,7	35,5
2C10	11,8	13,6	69,5
2C20	11,8	12,5	73,5
2C40	9,6	10,4	41,9
3C10	12,5	12,1	71,6
3C20	12,2	10,9	68,3
3C40	9,7	14,2	96,9
LSD	1,7	2,7	15,3

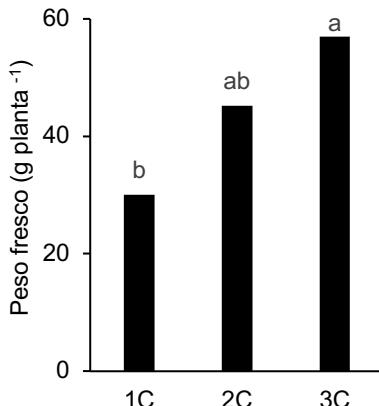


Fig. 2 – Peso fresco da alface com aplicação dos compostados (1C, 2C e 3C) para a média das doses de compostado.

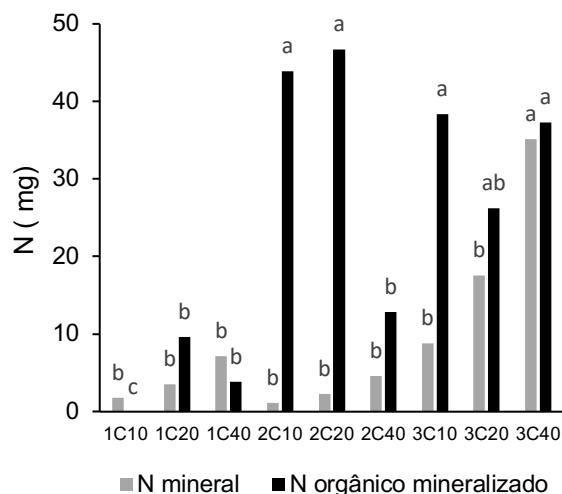


Fig. 3 – N mineral disponível e N orgânico mineralizado nos compostados 1C, 2C e 3C com 3 níveis de fertilização, 10, 20 e 40 t ha⁻¹ (1C10, 1C20, 1C40, 2C10, 2C20, 2C40, 3C10, 3C20 e 3C40). Para cada forma de N as colunas com letras diferentes entre os tratamentos são significativamente diferentes.

Conclusões

O compostado realizado com estilha de poda de kiwi e refugo de frutos de kiwi tem potencial para aumentar a absorção de N e a produção de alface. Este aumento foi devido à diminuição da razão C/N e ao aumento do teor de N no compostado com maior proporção de kiwi em comparação com a estilha da poda. A produção de alface e a acumulação de N foram superiores com a aplicação de 40 t ha⁻¹ de compostado na proporção de 1:2 (estilha:kiwi, p:p).

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do Programa

Operacional Regional Norte 2020, no âmbito do Projeto Tecnologia, Ambiente, Criatividade e Saúde (TECH), Norte-01-0145-FEDER-000043.

Referências bibliográficas

- CEN (1999). European Standards-Soil Improvers and Growing Media European Committee for Standardization Brussels (Belgium). Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478 (7369), 337–342. doi: org/10.1038/nature10452
- Huang, M., Liang, T., Ou-Yang, Z., Wang, L., Zhang, C., Zhou, C. (2011). Leaching losses of nitrate nitrogen and dissolved organic nitrogen from a yearly two crops system, wheat-maize, under monsoon situation. *Nutrient Cycling Agroecosystems*, 91, 77-89. doi: 10.1007/s10705-011-9447-z
- Mamman, E., Ohu, J.O., Crowther, T. (2007). Effects of soil compaction and organic matter on the early growth of maize (*Zea mays*) in a vertisol. *International Agrophysics*, 21, 367-375.
- Manojlovik, M., Cabilovski, R., Bavec, M. (2009). Organic materials: sources of nitrogen in the organic production of lettuce. *Turkish Journal of Agriculture and Forest*, 34, 163-172. doi: 10.3906/tar-0905-11
- Morvan, T., Nicolardot, B. (2009). Role of organic fractions on C decomposition and N mineralization of animal wastes in soil. *Biology and Fertility of Soils* 45, 477-486. doi: 10.1007/s00374-009-0355-1
- Pinto, R., Brito, L.M., Gonçalves, F., Mourão, I., Torres, L., Coutinho, J. (2021). Lettuce growth and nutrient uptake response to winery waste compost and biochar. *Acta Horticulturæ*, 1305, 233-240. doi: 10.17660/ActaHortic.2021.1305.32
- Porto, M.L., Alves, J.D., de Sousa, A.P., Araujo, R.D., de Arruda, J.A. (2008). Nitrate production and accumulation in lettuce as affected by mineral Nitrogen supply and organic fertilization. *Horticultura Brasileira*, 26, 227-230. doi: org/10.1590/S0102-05362008000200019
- Wong, J.W.C., Ma, K.K., Fang, K.M., Cheung, C. (1999). Utilization of a manure compost for organic farming in Hong Kong. *Bioresource Technology*, 67, 43-46. doi: org/10.1016/s0960-8524(99)00066-8
- Zucconi, F. & Bertoldi, M. (1987). Composts specifications for the production and characterization of composts from municipal solid waste. In: de Bertoldi, M., Ferranti, M.P., L'Hermite, P. & Zucconi, F., eds. *Compost: Quality and use*. (pp. 30-50) London, Elsevier Applied Science, 1987.

Effects of compost on lettuce (*Lactuca sativa*) yield and soil biochemical properties

Efectos de compost sobre el rendimiento de lechuga y propiedades bioquímicas del suelo

García-López, Ana M.^{1*}, Horta, Carmo^{2,3}

¹ Dpt. Agronomy, University of Seville, Ctra. Utrera km 1, Seville, Spain.

²Polytechnic Institute of Castelo Branco, School of Agriculture, Quinta da Sra. De Mécules, 6001-909 Castelo Branco, Portugal,

³CERNAS-IPCB Research Centre for Natural Resources, Environment and Society, Polytechnic Institute of Castelo Branco, 6001-909 Castelo Branco, Portugal.

*agarcia14@us.es

Abstract

Amended soils with compost produced from livestock effluents can increase soil fertility and crop productivity. The aim of this work was to assess the effect of the fertilization with a compost on the soil enzymatic activity and yield of a lettuce crop. An experiment was carried out under field conditions with the following treatments: control without fertilization; mineral N fertilization with 85 kg N ha⁻¹ (Ni85); fertilization with compost in pellets (CP170N) at N dose of 170 kg ha⁻¹; fertilization with CP at N dose of 85 kg ha⁻¹ together with mineral N at 42.5 kg ha⁻¹(CP85N+Ni42.5). The fertilization increased the lettuce biomass compared with the control treatment; the pelletized compost showed similar yields ($P > 0.05$) than those obtained with the mineral N fertilization. The acid phosphatase and the total microbial biomass increased significantly in the soils fertilized with CP170N treatment. However, the alkaline phosphatase and β -glucosidase were similar between the treatments. The acidic pH of the soil may have decreased the alkaline phosphatase activity. The application of the pelletized compost at a dose of 170 kg N ha⁻¹ showed the best agronomic behavior regarding the lettuce yield, the soil microbial biomass and the acid phosphatase activity.

Keywords: acid phosphatase; pelletized compost; soil enzymatic activities; vegetable crops.

Resumen

Suelos enmendados con compost producido a partir de efluentes de ganado pueden aumentar la fertilidad del suelo y la productividad de los cultivos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización con compost sobre la actividad enzimática del suelo y el rendimiento de un cultivo de lechuga. Se realizó un experimento en condiciones de campo con los siguientes tratamientos: testigo sin fertilización; fertilización mineral N con 85 kg N ha⁻¹ (Ni85); fertilización con compost en pellets (CP170N) a dosis de N de 170 kg ha⁻¹; fertilización con CP a una dosis de N de 85 kg ha⁻¹ junto con N mineral a 42.5 kg ha⁻¹ (CP85N+Ni42.5). La fertilización incrementó la biomasa de lechuga en comparación con el tratamiento testigo; el compost peletizado mostró rendimientos similares ($P > 0.05$) a los obtenidos con la fertilización con N mineral. La fosfatasa ácida y la biomasa microbiana total aumentaron significativamente en los suelos fertilizados con el tratamiento CP170N. Sin embargo, la fosfatasa alcalina y la β -glucosidasa fueron similares entre los tratamientos. El pH ácido del suelo puede haber disminuido la actividad de la fosfatasa alcalina. La aplicación de compost peletizado a la dosis de 170 kg N ha⁻¹ mostró el mejor comportamiento agronómico en cuanto al rendimiento de la lechuga, la biomasa microbiana del suelo y la actividad de la fosfatasa ácida.

Palabras claves: fosfatasa ácida, compost peletizado, actividades enzimáticas, hortalizas.

Introduction

Phosphorus (P) and nitrogen (N) are essential macronutrients for the correct development of plants. The deficiency of these elements in the soil is associated with a loss of yield and functionality of the plant. Under the current agricultural production system, nitrogen and phosphate fertilizers obtained from nonrenewable and finite resources such as fossil fuel energy and phosphate rock deposits. The manufacture of the phosphate fertilizers will reach a maximum in the coming decades, since they are essential to maintain and increase high crop yields (Dawson & Hiton, 2011). In addition, an inadequate use in the quantity and application time can lead to environmental problems such as contamination of waterbodies, and watertables as well as losses of N oxides to the atmosphere. In a scenario of world population growth, which entails an increase in food consumption, increasing crop yields in a context of climate change and reducing dependence on mineral fertilizers is essential. Composting organic residues is one method of recycling organic materials. Compost amendments have many beneficial effects on soil quality and function, improving soil structure stability (Yanardağ et al., 2017). Labile organic matter, which could improve nutrient availability, contributes to the growth of plants (Sánchez et al., 2017). Moreover, compost to soil provides abundant active microbes, further affecting the structure, activity, and metabolic function of the microbial community (Zhang et al., 2020). However, its powdery physical condition makes it expensive to transport and difficult to apply to the soil due to its large volume. An alternative is the pelletization of the composts. Besides, combining composts with inorganic fertilizers is therefore an appealing soil management practice. This strategy would make it possible to reduce the rate of inorganic fertilizers added to the soil, thus decreasing the risks of soil degradation and nutrient leaching, while also maintaining soil quality by the organic matter addition.

The aim of this work was to evaluate both the feasibility of using a pelletized

compost obtained from a pig slurry effluent, either alone or in combination with inorganic fertilizers, as an alternative to inorganic fertilizers in lettuce cultivation as well as the effect of these treatments on soil microbiological properties.

Material and methods

Completely randomized experiments were carried out under field conditions with lettuce (*Lactuca sativa*) were carried out in Castelo Branco (39.823655, -7.451606) with four treatments each one with four replicates. Each plot had (1.20 X 0.90 m) with 12 lettuces. The soil is a Cambisol (Soil Survey Staff, 2010) with the following main physicochemical properties: sandy loam texture, pH 6.0, electrical conductivity (EC) (1:5) 0.10 dS m⁻¹, total organic carbon 5.4%, C/N 8.3, available-P 149 mg kg⁻¹, Nk 2.62 g kg⁻¹. The four treatments were: a control without any fertilisation (Control); mineral N fertilisation with a N application rate of 35 kg N ha⁻¹ before seedling planting and with 25 kg N ha⁻¹ in each top dressing with a total application of 85 kg of inorganic N (Ni85), this is the reference N fertilisation; Application of an amount of compost in pellets (Table 1) corresponding to 170 kg ha⁻¹ of N from an organic source-No before seedling planting (CP170N); Application of an amount of compost in pellets corresponding to 85 kg ha⁻¹ of N from an organic source (CP85N) plus 22.5 kg ha⁻¹ of N from a mineral fertiliser (Ni22.5) before seedling planting and of 20 kg Ni ha⁻¹ at the first N top-dressing (CP85N+Ni42.5). After harvest, fresh biomass was measured and the soil samples were immediately sieved to <4 °C for biochemical analyses, while the other fraction was air-dried. P bioavailable by the method of Olsen et al. (1954). Nitrogen (Nk) by the Kjeldahl procedure and the β-glucosidase activity was determined according to Tabatabai and Bremmer (1969) Acid and alkaline phosphatase were determined according to Tabatabai & Bremner (1969). Soil microbial communities was determined by Ester Linked Fatty Acid (ELFAs) according Schutter & Dick (2000).

Table 1. Chemical composition of the pelletized compost (CP) used in the field experiment

DM (g kg^{-1})	797
OM (g kg^{-1})	542
pH	7.3
EC (dS m^{-2})	1.01
NK (g kg^{-1})	17.6
P (g kg^{-1})	6.1
K (g kg^{-1})	17.6
Ca (g kg^{-1})	99.4
Mg (g kg^{-1})	15.0
C:N	18

DM, dry matter; OM, organic matter

Results and discussion

The biomass production (fresh matter yield) of the lettuce crop showed significant differences between the treatments (Fig. 1). The biomass of the lettuce ranged from 2730 g m^{-2} in treatment control to 4280 g m^{-2} in CP170N. The changes in biomass production observed in *Lactuca* crops will be a consequence of the differences in N availability provided through different sources: mineral fertilization or compost application. This suggests that composts provide lettuce plants with all the nutrients they need, particularly N, and other nutrients (Grassi et al., 2015; Hernandez et al., 2016).

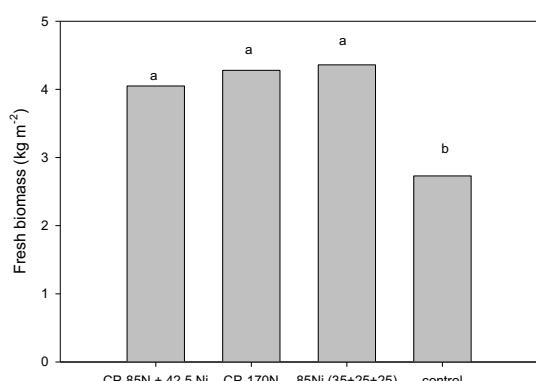


Fig. 1 – Fresh biomass of lettuce grown in soil amendment with compost. Values represent the mean ($\pm \text{SE}$) of four replicates. Different letters represent significant differences between treatments according to the Tukey test ($P < 0.05$).

Overall, compost and its management of fertilization integrated with inorganic fertilization altered the biogeochemical cycle of nutrients in the soil. The soil total N showed values similar to those of the mineral fertilizer with pelletized compost

treatments at the highest rate of fertilization (3.05 g kg^{-1}), showing a significantly lower value for the compost applied together with mineral N. Olsen P measured in soil after crop showed a significant increase in the tendency for soil amended with compost at the highest rate of application, with the higher value for CP170N with a value of 96.12 mg kg^{-1} (Fig. 3). Soils amended were more effective in increasing soil-available P than fertilized with mineral N fertilizer. These facts show that composts are a source of P and N available for the crop (Ciadamidaro et al., 2016; de Sosa et al., 2021).

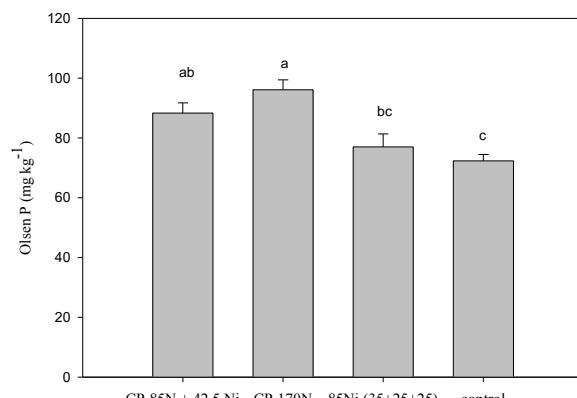
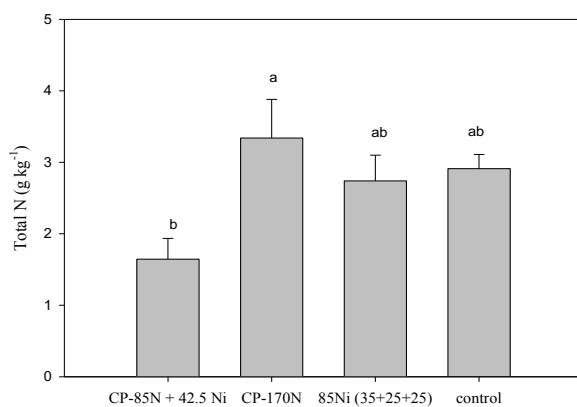


Fig. 2 – Total N (a) and Olsen P (b) after crop in soil amendment with compost. Values represent the mean ($\pm \text{SE}$) of four replicates. Different letters represent significant differences between treatments according to the Tukey test ($P < 0.05$).

The activity of β -glucosidase, acid and alkaline phosphatase and the total microbial biomass are shown in Figure 3. The soil amended with compost significantly modified the acid phosphatase activity for CP170N. This treatment showed

the highest value for acid phosphatase with an average value of $427 \text{ mg pnp kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ without showing significant differences compared with the mineral and control treatments. This fact could be attributed to an increase in energy expenditure to secrete enzymes by microorganisms and plants in soils with lower content of P available. Although several studies have shown an increase in soil microbial activity as β -glucosidase (Hernandez et al., 2016), this fact has occurred after several years of application of organic amendments, while our work only had a crop cycle of 3 months and with only one CP application. CP170N application to the soil induced significant changes in total microbial biomass measured by ELFAs although no significant changes were shown between the microbial communities.

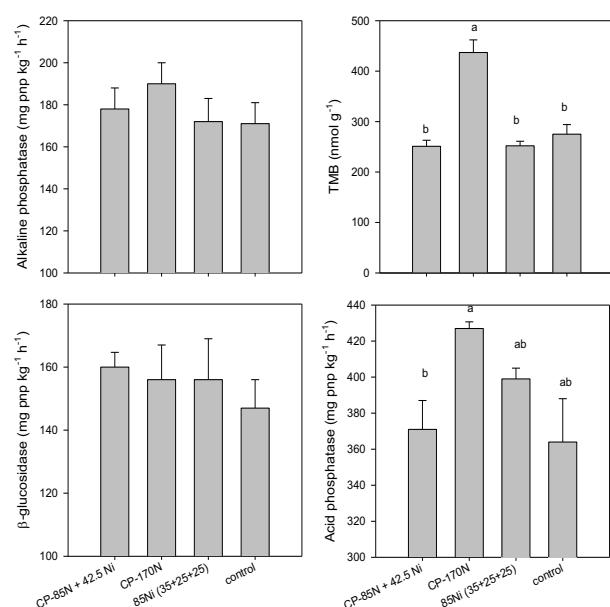


Fig. 3 – Changes in enzyme activities and total microbial biomass (TMB) Values represent the mean (\pm SE) of four replicates. Different letters represent significant differences between treatments according to the Tukey test ($P<0.05$).

Conclusions

The application of pelletized compost can help reduce the use of mineral fertilizers without affecting crop yield. In addition, it contributes to increasing the content of bioavailable P for the crop, also reduces the dependence on mineral fertilizers. Besides, enzymatic activities, and soil microbial communities were stimulated by organic matter and nutrients

supplied by the compost differently depending on the application rate.

Acknowledgements

This research was funded by the CERNAS-IPCB [UIDB/00681/2020] funding by Foundation for Science and Technology (FCT) pleasing the collaboration with (PID2020-118503RB-C21) Ministry of Science and Innovation.

References

- Ciadamidaro, L., Madejón, P., Camacho, F., Boy, E.F. & Madejón, E. (2016). Organic compost to improve contaminated soil quality and plant fertility. *Soil Sci.* 181
- Dawson, C.J., & Hilton J. (2011). Fertiliser availability in a resource-limited world: production and recycling of nitrogen and phosphorus. *Food Policy*, 36,14-22. doi.org/10.1016/j.foodpol.2010.11.012.
- Grassi, F., Mastorilli, M., Mininni, C., Parente, A., Santino, A., Scarcella, M. & Santamaria P. (2015). Posidonia residues can be used as organic mulch and soil amendment for lettuce and tomato production *Agron. Sustain. Dev.*, 35, 679-689. 10.1007/s13593-014-0268-8
- Hernandez T., Chocano C., Moreno J., & Garcia C. (2016). Use of compost as an alternative to conventional inorganic fertilizers in intensive lettuce (*Lactuca sativa* L.) crops- effects on soil and plant. *Soil Tillage Res*, 160, 14-22.
- L. de Sosa, L., Benítez, E., Girón, I. & Madejón, E. (2021) Agro-Industrial and Urban Compost as an Alternative of Inorganic Fertilizers in Traditional Rainfed Olive Grove under Mediterranean Conditions. *Agronomy* 11, 1223. https://doi.org/10.3390/agronomy11061223
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watandbe, F., Dean, L. (1954) Estimation of Available Phosphorus in Soil by Extraction with sodium Bicarbonate. *J. Chem. Inf. Model.* 53, 1689–1699
- Sánchez, J., Ospina, D.A. Montoya, S. (2017). Compost supplementation with nutrients and microorganisms in composting process. *Waste Manag.* 69, 136–153.
- Schutter, M.E. & Dick, R.P. (2000). Comparison of fatty acid methyl ester (FAME) methods for characterizing microbial communities. *Soil Sci Soc Am J.* 64, 1659–1668.
- Tabatabai, M.A. & Bremner J.M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.*, 1, 301-307
- Yanardağ, I.H., Zornoza, R., Bastida, F., Büyükkılıç, Y.A., García, C., Faz, A. & Mermut, A.R. (2017). Native soil organic matter conditions the response of microbial communities to organic inputs with different stability. *Geoderma*. 295, 1-9.
- Zhang, X., Zhao, Y., Meng, H., Li, L., Cui, H., Wei, Z. & Dang, Q. (2020). Revealing the inner dynamics of fulvic acid from different compost-amended soils through microbial and chemical analyses, *J. Agr. Food Chem.*, 68, 3722-3728

Efeitos da utilização de chorume de suíno bruto ou tratado na substituição da adubação fosfatada de fundo na cultura do milho

Effects of using raw or treated pig slurry as substitutes of the basal fertilization of maize with mineral phosphate

Alvarenga, Paula^{1*}; Araújo, Miguel¹; Prado, Joana¹; Ribeiro, Henrique¹; Fangueiro, David¹

¹ LEAF - Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food Research Center, Associated Laboratory TERRA, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal; * Corresponding author: palvarenga@isa.ulisboa.pt

Resumo

A valorização agrícola de efluentes pecuários é considerada prioritária nas estratégias preconizadas na legislação (Portaria nº 79/2022). Porém, é importante evidenciar os méritos dessa estratégia em termos agrícolas, i.e., que a fertilização com materiais orgânicos pode ser feita sem perdas de produtividade e sem riscos para o solo, mas, também, criando soluções para reduzir os impactos ambientais (perdas de nutrientes para as águas e emissão de amoníaco). Este estudo pretende evidenciar que é possível fazer a aplicação de todo o P em fundo por via orgânica (140 kg P₂O₅/ha), suplementando o N por via mineral, de modo a fornecer a mesma quantidade total de N e P em todos os tratamentos orgânicos, sem excesso de P. Foi utilizado chorume de suíno, bruto ou tratado por separação sólido líquido e por acidificação (pH 5,0), de modo a avaliar qual o benefício destes tratamentos na disponibilização de N e P para a cultura do milho (*Zea mays L.*), num ensaio em vaso. A aplicação dos fertilizantes orgânicos, mais ricos noutros nutrientes essenciais, permitiu atingir um rendimento em biomassa e um crescimento da planta (altura e número de folhas) significativamente superiores aos obtidos por aplicação de adubação mineral (395 kg N/ha, 62 kg P₂O₅/ha, 150 kg K₂O/ha), tendo os melhores resultados sido alcançados por aplicação do efluente bruto, do efluente acidificado, ou da fração líquida do efluente acidificado, evidenciando o benefício da acidificação na disponibilização de nutrientes para a cultura. É de realçar o facto de, apesar da concentração de P nas folhas e raízes da planta ter sido significativamente superior no controlo com adubação mineral, relativamente aos tratamentos orgânicos, a exportação total de P efetuado pelas plantas fertilizadas com efluentes pecuários foi, em termos absolutos, superior, ou idêntica, ao controlo com adubação mineral.

Palavras-chave: efluente suinícola, fertilização orgânica, acidificação, separação sólido-líquido, fósforo.

Abstract

The agricultural valorization of animal slurries and manures is considered a priority and recommended in the legislation (Portaria No. 79/2022). However, it is important to highlight the merits of this strategy in agricultural terms, i.e., that fertilization with organic materials can be carried out without a reduction in productivity and endangering soil quality, but also creating solutions to reduce the environmental impacts (loss of nutrients to water and ammonia emissions). This study intends to evidence that it is possible to apply all the P via organic materials, as basal fertilization (140 kg P₂O₅/ha), with a supplementer N mineral application, to level the total amount of N and P provided by the organic fertilizers, avoiding excess P application. The study used raw pig slurry, and the materials obtained by its solid-liquid separation and acidification (pH 5.0), to evaluate the benefit of these treatments in the availability of N and P to maize (*Zea mays L.*), in a pot assay. The application of the organic fertilizers, richer in other essential nutrients, allowed achieving a biomass yield and plant growth (height and number of leaves) significantly higher than those obtained by applying the mineral fertilizer (395 kg N/ha, 62 kg P₂O₅/ ha, 150 kg K₂O/ha), with the best results being achieved by applying the raw slurry, the acidified slurry, or the liquid fraction of the acidified slurry, evidencing the benefit of acidification in the availability of nutrients for the crop. It is worth noting the fact that, although the P concentration in the leaves and roots of the plant were significantly higher in the control with mineral fertilization, relatively to the organic treatments, the total P exported by the plants fertilized with the pig slurry derived fertilizers was, as an absolute value, higher, or identical, to the control with mineral fertilization.

Keywords: pig slurry, organic fertilization, acidification, solid-liquid separation, phosphorous.

Introdução

A valorização agrícola de efluentes pecuários, e a reciclagem dos nutrientes neles contidos, principalmente N e P, é de extrema importância, permitindo uma gestão mais sustentável de recursos. É nessa perspetiva, de economia circular, que a recentemente publicada Portaria nº 79/2022, sobre a gestão de efluentes pecuários, prioriza a sua valorização agrícola, pelo próprio ou por terceiros, relativamente a outro tipo de valorizações económica e ambientalmente interessantes, como a compostagem e produção de biogás.

É claro que, esta prática só é motivadora para o agricultor se não levar a quebras de produtividade, sendo, por isso, muitas vezes executada em complemento à adubação mineral tradicional, e não em sua substituição. Este tipo de utilização tem riscos consideráveis de contaminação de águas subterrâneas e de eutrofização de águas superficiais (Pedersen et al., 2020), devendo ser avaliadas estratégias alternativas que minimizem este risco. Uma das possibilidades, a aplicação dos efluentes pecuários com base nas necessidades de N da cultura, leva, normalmente, a uma aplicação excessiva de P a longo prazo, o que poderá ser evitado se a quantidade máxima a aplicar respeitar, em alternativa, as necessidades de P da planta. Ora, a quantidade de P disponibilizado para a cultura a partir do efluente é, *a priori*, uma incógnita, dependente de muitos fatores, muito inferior ao seu teor total, mas que se sabe poder aumentar procedendo à acidificação dos efluentes pecuários (Regueiro et al., 2020).

Neste enquadramento, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar a substituição total da fertilização de P em fundo, na cultura do milho, através da utilização de um efluente pecuário (neste caso um chorume de suíno), bruto ou tratado (acidificação e separação sólido-líquido), considerando os efeitos da sua utilização, por comparação com a adubação mineral convencional, utilizando diferentes parâmetros de produtividade, da qualidade

do solo e de exportações de nutrientes pela planta.

Material e métodos

Foi realizado um ensaio em vasos, com 5,25 kg de solo (Arenossolo Háplico), recolhido na zona de Alcochete. O solo possui reação ácida (pH 5,5), baixo teor em matéria orgânica (MO, Walkley-Black, 5,9 g/kg), baixo teor em K extraível (Egner-Rhiem 19 mg K₂O/kg), mas elevado teor em P extraível (Egner-Rhiem 111 mg P₂O₅/kg).

O efluente foi recolhido numa suinicultura localizada na região de Leiria (efetivo médio de 650 cabeças, com produção em ciclo fechado). O efluente bruto (PS) foi analisado (Quadro 1) e submetido a vários tratamentos, de modo a gerar diferentes materiais com interesse fertilizante: (i) separação sólido-líquido, gerando uma fração líquida (PS_L) e uma fração sólida (PS_S); (ii) acidificação, obtendo-se o efluente acidificado (aPS); e acidificação seguida de separação sólido-líquido, gerando as respetivas frações, líquida (aPS_L) e sólida (aPS_S), acidificadas. Na acidificação foi utilizado H₂SO₄ concentrado (98% m/m e d=1,98 g/cm³; 5,5 mL/kg de chorume bruto, para acidificar até pH c.a. 5,0). A separação da fração sólida e líquida foi feita por centrifugação da amostra (7 min, 4000 rpm). Os materiais foram posteriormente analisados (Quadro 1).

Quadro 1 – Propriedades do efluente bruto (PS) e dos produtos resultantes do seu tratamento; separação sólido-líquido (PS_L e PS_S), da sua acidificação (aPS), e da separação sólido-líquido do efluente acidificado (aPS_L e aPS_S) (média, n=3). Concentrações reportam à matéria seca. Resultados para o mesmo parâmetro marcados com a mesma letra não apresentam diferenças significativas (teste de Tukey HSD, p>0,05).

	pH	MO (g/kg)	N _{total} (g/kg)	NH ₄ ⁺ -N (g/kg)	P _{total} (g/kg)
PS	7,1c	695,6c	92,5c	68,1c	19,72b
PS_L	7,5b	594,0e	160,9a	138,5d	4,55e
PS_S	8,4a	762,1b	51,5e	26,2b	23,03a
aPS	5,4de	677,4d	85,6d	67,5e	16,87c
aPS_L	5,3e	548,6f	115,3b	106,7a	20,79b
aPS_S	5,4d	817,7a	51,6e	26,1f	8,14d

Foi calculada a quantidade de cada um

dos materiais orgânicos a aplicar em fundo de modo a veicular a mesma quantidade de P total, 140 kg P₂O₅/ha (20.8 mg P/kg solo), bem como a quantidade de N total aplicado por essa via. Pelos valores obtidos, o PS_L não foi utilizado posteriormente, por ser mais pobre em P_{total}, sendo necessária uma quantidade de efluente superior à capacidade de retenção de água do solo. Tomando a quantidade máxima de N aplicado pelo material orgânico com a maior razão N:P (aPS_S), 395 kg N/ha em fundo (132 mg N/kg solo), foram calculadas as quantidades de N mineral a aplicar em cobertura, de modo a igualar o N total aplicado em todos os tratamentos. Foi preparado um controlo de adubação mineral (NP, 395 kg N/ha, com sulfato de amónio, e 62 kg P₂O₅/ha, com superfosfato, uma dose menor que nos tratamentos orgânicos, considerando a maior disponibilização de P nos adubos minerais, e a classe de fertilidade alta do solo para P), e um controlo de solo não fertilizado (controlo), quatro réplicas por tratamento. Todos os vasos, à exceção do controlo, receberam uma aplicação basal de K (150 kg K₂O/ha, com cloreto de potássio, 41.5 mg K₂O kg/solo). Os vasos foram semeados com milho (*Zea mays L.* var. P0937 da Pioneer Sementes), 3 dias após a aplicação dos efluentes e mantidos a 65% da sua capacidade de retenção de água (1 planta por vaso). O N por via mineral foi aplicado 15 dias após a emergência, tendo o ensaio sido interrompido 60 dias após a sementeira (quando foram visíveis sintomas de carência de P no controlo mineral). As raízes, a parte aérea e o solo foram caracterizados, utilizando diferentes indicadores, que nos permitem avaliar a capacidade dos efluentes para se substituírem à adubação de N e P por via mineral.

Resultados e discussão

Considerando os parâmetros da cultura, altura da planta, biomassa seca das raízes e da parte aérea (Fig. 1A), os tratamentos orgânicos apresentaram valores significativamente superiores aos obtidos no controlo, onde o crescimento da planta

foi muito limitado, e aos obtidos na adubação mineral. Esta diferença, relativamente à adubação mineral, pode ser devida à aplicação de outros macro e micronutrientes que são veiculados pelos efluentes pecuários, o que permitiu um maior rendimento em biomassa e um maior crescimento (média de 14 folhas na fertilização orgânica versus média de 11 folhas na fertilização mineral).

Relativamente à leitura de SPAD (Fig. 1B), à exceção do tratamento onde foi aplicado aPS_S, não se verificaram diferenças significativas nos teores em clorofila entre as plantas com fertilização orgânica ou mineral. De facto, o aPS_S foi o único tratamento em que todo o N foi aplicado em fundo através do material orgânico, tendo apresentado resultados inferiores aos dos outros tratamentos em alguns dos parâmetros.

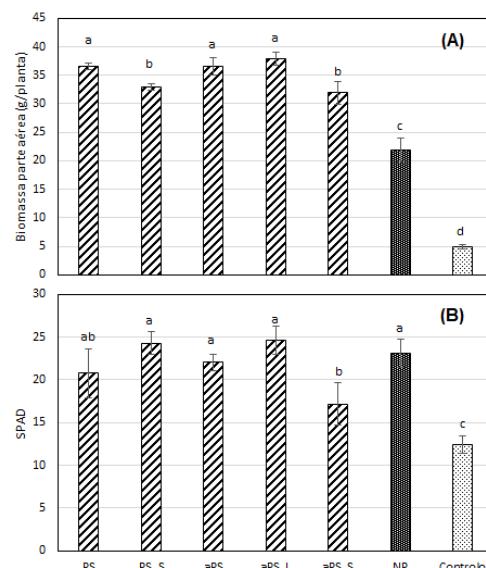


Fig. 1 – Biomassa da parte aérea (A) e leitura de SPAD (B). (média, n=3). Resultados marcados com a mesma letra não apresentam diferenças significativas (teste de Tukey HSD, p>0,05).

Relativamente às concentrações obtidas para N e P nas folhas e nas raízes das plantas, elas foram significativamente superiores para ambos os elementos no controlo mineral (e.g., Fig. 2A para o P na parte aérea). Porém, isso não se traduziu em maiores exportações absolutas desses elementos pela planta (e.g., Fig. 2B, para a exportação total de P), devido ao facto de se ter obtido um maior rendimento em biomassa em ambas as partes da planta nos tratamentos orgânicos. Aliás, no caso

da aplicação de PS_S e de aPS_L, a quantidade de P exportado pela planta foi significativamente superior ao tratamento mineral (Fig. 2B).

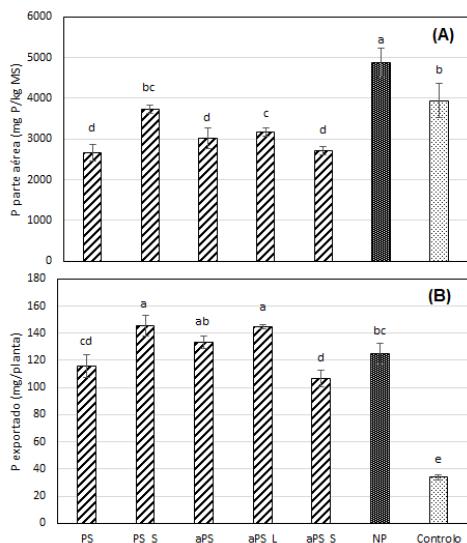


Fig. 2 – Concentração de P na parte aérea (A), e valor absoluto de P exportado pela planta (B) (média, n=3). Resultados marcados com a mesma letra não apresentam diferenças significativas (teste de Tukey HSD, p>0,05).

Relativamente ao pH do solo (Quadro 2), o seu valor sofreu um decréscimo significativo, relativamente ao controlo, apenas no tratamento com adubo mineral, o qual manteve um teor de MO baixo, mas significativamente superior ao de todos os tratamentos em que foram aplicados fertilizantes, orgânicos ou minerais. Esse facto pode ser indicativo de um estímulo à mineralização da MO nos ensaios em que houve um maior rendimento em biomassa.

Quadro 2 – Propriedades do solo no final do ensaio (média, n=3). Concentrações reportam à matéria seca. Resultados para o mesmo parâmetro marcados com a mesma letra não apresentam diferenças significativas (teste de Tukey HSD, p>0,05).

	pH	MO (g/kg)	P _{ext} (mg P ₂ O ₅ /kg)	K _{ext} (mg K ₂ O/kg)
PS	5.2 a	5.56 bc	117.1 a	15.3 a
PS_S	4.7 a	5.73 bc	105.8 a	13.8 a
aPS	4.8 a	5.04 c	105.2 a	14.7 a
aPS_L	4.7 ab	5.82 b	102.5 a	15.1 a
aPS_S	4.7 a	5.90 b	117.2 a	15.5 a
NP	4.1 b	5.56 bc	92.4 a	12.5 a
Controlo	5.2 a	8.40 a	113.8 a	29.9 a

De facto, quando se considera a eficiência de recuperação de P pela planta, relativamente ao aplicado pela fertilização (P_{aplicado}), subtraindo ao exportado pela

planta nos tratamentos (P_{exp}), o exportado no controlo (P_{exp^0}), $\text{ERP}(\%) = (P_{\text{exp}} - P_{\text{exp}^0}) / P_{\text{aplicado}}$ (Fig. 3), verifica-se que, no caso da fertilização mineral, o crescimento foi alcançado à custa de P existente no solo, o que levou a um decréscimo, embora não significativo, de P extraível no solo no final do ensaio (Quadro 2). Essa situação não foi tão notória no caso da fertilização orgânica, em que as necessidades de P foram supridas plenamente pelo efluente aplicado.

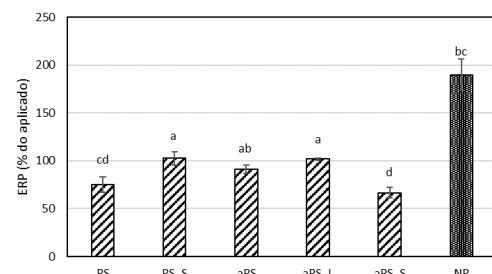


Fig. 3 – Eficiência de recuperação de P ($\text{ERP}(\%) = (P_{\text{exp}} - P_{\text{exp}^0}) / P_{\text{aplicado}}$) (média, n=3). Resultados marcados com a mesma letra não apresentam diferenças significativas (teste de Tukey HSD, p>0,05).

Conclusões

O efluente suinícola, bruto ou tratado, aplicado de modo a fornecer 140 kg P₂O₅/ha, permitiu a substituição total da adubação de P em fundo na cultura do milho (62 kg P₂O₅/ha), com ganhos de produtividade, pelo menos até um estágio de crescimento de c.a. 14 folhas (60 dias).

Agradecimentos

Projeto Nutri2Cycle “Transição para uma agricultura mais eficiente no uso do carbono e nutrientes na Europa”, financiado pela União Europeia, programa de investigação e desenvolvimento Horizonte 2020 (Contrato No 773682).

Referências bibliográficas

- Pedersen, I. F., Rubæk, G. H., Nyord, T., & Sørensen, P. (2020). Row-injected cattle slurry can replace mineral P starter fertiliser and reduce P surpluses without compromising final yields of silage maize. *Eur. J. Agron.*, 116, 126057.
- Portaria nº 79/2022, de 3 de fevereiro de 2022. Define o regime aplicável à gestão de efluentes pecuários. Diário da República, 1ª Série, N.º 24, pp. 30-58.
- Regueiro, I., Siebert, P., Liu, J., Müller-Stöver, D., & Jensen, L. S. (2020). Acidified animal manure products combined with a nitrification inhibitor can serve as a starter fertilizer for maize. *Agronomy*, 10(12).

Soil microbiome favors the performance of almond rootstock seedlings in co-cultivation with barrel medic

Cañellas-Cifre, Maria^{1*}, Romero-Munar, Antònia^{1,2}, Bosch, Rafael^{1,3}, Quetglas, Bàrbara Maria¹, Vadell, Jaume¹, Cabot, Catalina¹

¹ Biology Department, ³ IMEDEA (CSIC-UIB), University of the Balearic Islands, Palma, Spain.

² Group of Mycorrhizae (EEZ-CSIC), Granada, Spain.

*maria.canellas@uib.es

Abstract

Soil microbiome influences plant growth and development. Moreover, crop co-cultivation practices have positive impacts on soil microbiome and function. In this study, soil microbiome from an almond field was collected to evaluate its effect on the growth of almond rootstock seedlings planted in pots with or without co-cultivation with *Medicago truncatula*. Four treatments were established: without legume and without microbiome (A); with legume and without microbiome (B); without legume and with microbiome (C) and with legume and with microbiome (D). After six weeks, no significant differences in culturable bacteria density in bulk soil or rhizospheric soil were found among treatments. Evapotranspiration rate per pot and day and plant growth, measured as increase in plant height per day, showed a similar tendency, with higher values found in non-inoculated plants in the first week of treatment, while, inoculated plants showed the highest values at the end of the experiment. *M. truncatula* co-cultivation increased pot evapotranspiration only in non-inoculated plants. Taken together these results suggest that the soil microbiome had a specific beneficial effect on the almond rootstock which could have negatively influenced the performance of *M. truncatula*.

Keywords: *Medicago truncatula*, microbiome, micronutrients, soil.

Resumen

El microbioma del suelo influye en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Además, las prácticas de co-cultivo tienen impactos positivos en el microbioma del suelo y su función. En este trabajo, se recogió el microbioma del suelo de un campo de almendros para evaluar su efecto en el crecimiento del patrón de almendro GF-677 en macetas con o sin co-cultivo con *Medicago truncatula*. Se establecieron cuatro tratamientos: sin leguminosa y sin microbioma (A); con leguminosa y sin microbioma (B); sin leguminosa y con microbioma (C) y con leguminosa y con microbioma (D). Después de seis semanas, no se encontraron diferencias significativas en la densidad de bacterias cultivables en el suelo rizosférico y no rizosférico entre tratamientos. La tasa de evapotranspiración por maceta y día y el crecimiento de la planta fueron similares, con valores más altos inicialmente en plantas no inoculadas, mientras que, las inoculadas mostraron valores más altos al final del experimento. El co-cultivo con leguminosa aumentó la evapotranspiración en maceta sólo en plantas no inoculadas. En conjunto, los resultados sugieren que el microbioma tuvo un efecto beneficioso específico en el patrón de almendro. mientras que podría haber influido negativamente en el rendimiento de *M. truncatula*.

Palabras clave: *Medicago truncatula*, microbioma, micronutrientes, suelo.

Introduction

The use of cover crops is a sustainable strategy to increase yield and ameliorate soil conditions in perennial tree farming systems. The final outcomes in this co-cultivation practices greatly depend on the soil microbiome, that interacts with each crop plant modulating its physiology, growth and development. (Figueiro Santos & Lopes Olivares, 2021) In this work, a pot experiment was carried out to evaluate the effects of the soil microbiome on the performance of almond rootstock seedlings co-cultivated with barrel medic (*Medicago truncatula* cv. Jester). The almond rootstock used was the natural hybrid of peach and almond, INRA-GF-677.

Material and methods

Soil was collected in an almond orchard near growing trees (distance < 20 cm). Soil microbiome inoculum was prepared from a targeted enriched soil microbiome assessed by planting leeks.

In vitro generated rootstock seedlings were transplanted into 4 L pots filled with tyndalized soil to assess soil microbiome homogeneous conditions among treatments. Before planting, the soil was fertilized with modified Hoagland nutrient solution (50% macronutrients, 25% micronutrients, 100% Fe-EDDHA). (Epstein, 1972). Four treatments were set up in quadruplicate: rootstock growing alone (A), rootstock growing with two barrel medics (B) rootstock growing alone inoculated with microbiome (C) and rootstock co-cultivated with two *M. truncatula* (D). Plant height and pot evapotranspiration were recorded during six weeks. Culturable bacterial density (CBD) was measured at the beginning and at the end of the experiment.

Results and discussion

Soil tindalization greatly reduced CBD, with CBD highest values found in the rootstock rhizospheric soil (Fig. 1). Nonetheless, no

significant differences in bulk soil nor in rhizospheric soil CBDs were found among treatments (Fig. 2), at the end of the experiment.

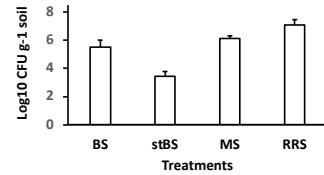


Figure 1. CBD isolated from bulk soil (BS); sterilized bulk soil (stBS); microbiome soil (MS) and rootstock rhizospheric soil (RRS) before transplanting.

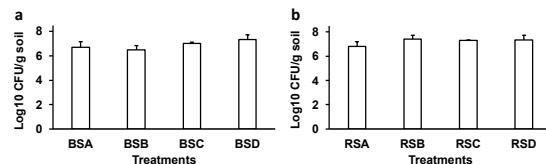


Figure 2. CBD isolated from the bulk soil (BS) (2A) and the rhizospheric soil (RS) (2B) in the four treatments: A, B, C and D at the end of the experiment.

Evapotranspiration rate (ETR) higher values per pot shifted from non-inoculated plants at the beginning of the experiment (Fig. 3a) to inoculated ones at the end (Fig. 3d).

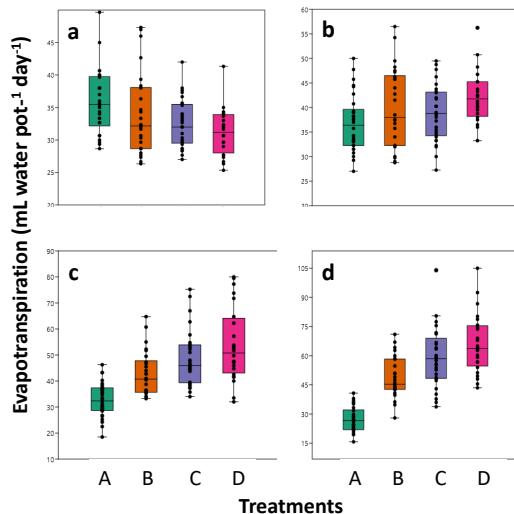


Figure 3. Evapotranspiration per pot and day during the 1st week after transplanting (a); 2nd week (b); 4th week (c); 6th week (d) in the four treatments: A, B, C and D.

In a like manner, the non-inoculated rootstocks showed higher values at the beginning of the treatments, especially A-treated plants (Fig. 4a). During the following weeks, plants from the B, C and D treatments increased their growth (Figs

4b,c) and, on the 6th week after treatment, the growth of the inoculated plants (C and D) was greater than that of the non-inoculated ones (A and B) which was substantially reduced (Fig. 4d)

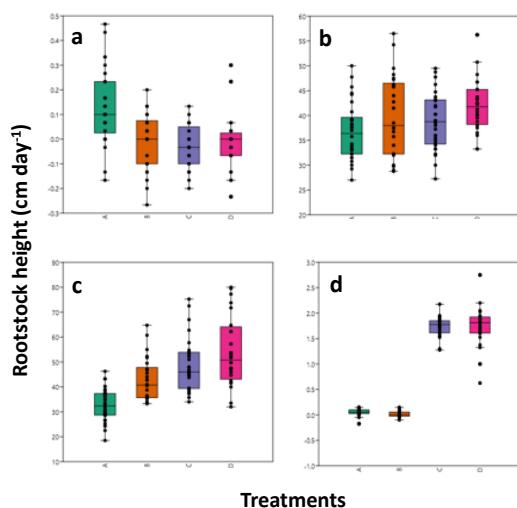


Figure 4. Rootstock height per day during the 1st week after transplanting (a); 2nd week (b); 4th week (c); 6th week (d) in the four treatments: A, B, C and D.

Conclusions

In spite of the lack of statistical significance, these results may suggest that the soil microbiome collected from an almond field selectively exerted a stimulated beneficial effect on the almond rootstock performance which could have competitively limited the growth of medic barrel.

Acknowledgements

This work has been partially sponsored by the Comunitat Autònoma de les Illes Balears through the Direcció General de Política Universitària i Recerca with funds from the Tourist Stay Tax Law (PRD2018/46 - ITS2017-006).

References

- Epstein, E. (1972). *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives* (p.). New York, London, Sydney, Toronto: John Wiley and Sons. (No. 581.13356 E6).
- Santos, L. F., & Olivares, F. L. (2021). Plant microbiome structure and benefits for sustainable agriculture. *Current Plant Biology*, 26, 100198. doi:10.1016/j.cpb.2021.100198

GO TECOLIVE – Efeitos de um composto orgânico na fertilidade do solo e no desenvolvimento de uma planta teste

GO TECOLIVE - Effects of an organic compost on soil fertility and test plant development

Sempiterno, Cristina^{1*}; Fernandes, Rui¹; Dias, António²; Pinheiro, Anacleto²; Falcão, José³; Albardeiro, Ana⁴

¹ INIAV,I.P. – Instituto Nacional de investigação Agrária e Veterinária - Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal, Tapada da Ajuda, Apartado 3228, 1301-903 Lisboa, Portugal,

² MED – Instituto Mediterrâneo para Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento & Departamento de Engenharia Rural, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Pólo da Mira, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal;

³Sociedade Agrícola Torre das Figueiras, Herdade Torre das Figueiras, 7450-999 Monforte

⁴ Associação dos Olivicultores da Região de Elvas (AORE), Sítio das Pias, Apartado 160, 7350-305 Elvas

*cristina.sempiterno@iniav.pt

Resumo

Neste estudo, realizado no âmbito do Grupo Operacional “Técnicas e tecnologia para valorização de subprodutos em olivicultura – TECOLIVE” - PDR 2020-101-031764, pretendeu-se testar a eficácia e segurança de um corretivo orgânico obtido por compostagem na própria exploração e utilizando os recursos existentes, com base em subprodutos do olival e efluentes de atividade pecuária, designadamente folhas e raminhos da limpeza da azeitona e estrume de ovelha.

Os ensaios foram realizados em vasos, com dois solos de diferentes características, considerando-se a dose recomendada de aplicação, a inexistência de efeitos fitotóxicos e a eficácia do produto diretamente sobre a fertilidade do solo e indiretamente sobre uma cultura teste, alface (*Latuca sativa L.*). Para o efeito, além da quantificação dos resultados da aplicação de doses crescentes da matéria fertilizante sobre a produção de biomassa vegetal, foram também contempladas a análise da qualidade da matéria fertilizante em estudo e a avaliação do efeito sobre diversos parâmetros da fertilidade dos solos receptores. A aplicação de quantidades crescentes do composto orgânico conduziu a aumentos significativos da produção de biomassa e do diâmetro das plantas. Observou-se também uma melhoria da fertilidade do solo designadamente um aumento do teor de MO, do pH e do teor de fósforo, zinco e cobre extraíveis.

Palavras-chave: compostagem, corretivo orgânico, ensaios em vaso, fertilidade do solo

Abstract

This study, conducted under the Operational Group "Techniques and technology for valorization of by-products in olive cultivation - TECOLIVE" - PDR 2020-101-031764, aimed to test the effectiveness and safety of an organic fertilizer obtained by composting at the farm and using existing resources, namely by-products of the olive grove and effluents from livestock activity, including leaves and twigs from olive cleaning and sheep manure.

The tests were carried out in pots, with two soils with different characteristics, considering the recommended dose of application, the inexistence of phytotoxic effects and the effectiveness of the product directly on soil fertility and indirectly on a test crop, lettuce (*Latuca sativa L.*). For this purpose, besides the quantification of the results of the application of increasing doses of the fertilizer on the production of vegetable biomass, the analysis of the quality of the fertilizer and the evaluation of the effect on several parameters of the fertility of the receiving soils were also contemplated. The application of increasing amounts of organic compost led to significant increases on the biomass and on the plants diameter, as well as an increase on soil parameters, MO, pH, and extractable phosphorus, zinc and copper.

Keywords: composting, organic amendment, pot experiments, soil fertility

Introdução

O aumento da área nacional de olival (377 mil hectares) e a crescente conversão do olival tradicional em olivais superintensivos, que já ocupam mais de 1/5 da superfície de olival para azeite, proporciona uma cada vez maior disponibilidade de subprodutos resultantes desta cultura (INE, 2021).

Através do processo de compostagem é possível realizar a transformação destes e outros subprodutos orgânicos em corretivos, ricos em matéria orgânica estabilizada, bem humificada, isentos de fitotoxicidade, higienizados, de armazenamento e manuseamento muito mais fácil. A utilização destes fertilizantes orgânicos apresenta inúmeros benefícios para o solo receptor destacando-se o aumento do sequestro de carbono e o aumento da sua fertilidade, aumentando a capacidade de armazenamento e retenção de água, bem como de catiões de troca e de nutrientes contribuindo, no seu conjunto, para o aumento da resiliência, em especial dos solos com menor poder tampão (Lal, 1997).

A reciclagem de resíduos biodegradáveis em agricultura através da compostagem é considerada como um meio de manter ou restaurar a qualidade dos solos através das propriedades exclusivas da MO humificada contida no material compostado, com especial relevância nas regiões do sul da Europa, onde é um valioso instrumento de luta contra a escassez de matéria orgânica que leva à desertificação e erosão do solo (Van-Camp, et al., 2004).

Com o presente estudo pretendeu-se avaliar, em condições controladas (ensaio em vasos instalados em estufa), os efeitos de um composto orgânico, produzido à base de subprodutos do olival e estrume de ovino, na fertilidade de dois solos distintos e no desenvolvimento de uma cultura teste, demonstrando que é viável realizar a produção de um bom fertilizante orgânico na própria exploração e utilizando os resíduos orgânicos e recursos existentes.

Material e métodos

Tendo em vista os objetivos do estudo, estabeleceram-se dois ensaios em vasos, utilizando macroamostras de terra provenientes da camada superficial (0-0,20m) de um *Luvissolo* (LV) e de um *Podzol* (PZ) (IUSS Working Group WRB, 2014) de características distintas no que diz respeito à textura (franco argiloso e arenoso, respetivamente), ao teor de matéria orgânica (22,0 e 8,0 g/kg) e de nutrientes. Utilizou-se como cultura teste a alface (*Latuca sativa* L.). O composto orgânico utilizado no estudo foi submetido a análise físico-química cujos resultados revelaram encontrar-se devidamente higienizado, com uma baixa razão C/N (11,8), evidenciando uma boa estabilidade, e sem fitotoxicidade devido a elementos metálicos.

Os ensaios foram delineados em blocos completos casualizados, com 3 repetições e quatro tratamentos experimentais, uma testemunha sem composto e os restantes com níveis crescentes (valores equivalentes a 25, 50, 75 e 100 t ha⁻¹). Não se aplicou qualquer fertilização mineral.

Os vasos, com 1,5 dm³ de capacidade, foram preenchidos com 2,0 kg de terra previamente misturada com as diferentes quantidades de composto correspondentes a cada tratamento experimental, sendo regados até 60% da capacidade de campo. No final do ensaio as plantas foram cortadas rés-terra, pesadas, lavadas, secas e preparadas para análise. Foram colhidas amostras de terra representativas de cada vaso que foram também analisadas.

Para a análise estatística dos resultados recorreu-se ao programa *Statistica* tendo sido utilizado o método de análise de variância e o teste de *Duncan* ($p=0,05$) para comparação a posteriori das médias correspondentes aos diferentes tratamentos experimentais. Recorreu-se também à análise de regressão para avaliar a relação entre os níveis de composto aplicado e a produção de biomassa e os efeitos sobre alguns parâmetros do solo.

Resultados e discussão

Produção de Biomassa

Observou-se um efeito altamente significativo ($p \leq 0,001$) dos tratamentos experimentais sobre o diâmetro das plantas e sobre a produção de biomassa (expressa em material seco a $62 \pm 3^\circ\text{C}$) (Quadro 1). A aplicação de quantidades crescentes do composto orgânico conduziu a aumentos da produção de biomassa, verificando-se que o modelo que melhor se ajusta aos resultados obtidos no ensaio com o solo LV é uma função quadrática, significativa ($p \leq 0,05$), com um coeficiente de determinação de 90% (Fig. 1) e, no caso do ensaio com o solo PZ, é uma função linear, altamente significativa ($p \leq 0,001$), com um coeficiente de determinação de 99% (Fig. 2). Não se observou qualquer efeito de fitotoxicidade sobre a cultura teste, mesmo quando se utilizaram as quantidades mais elevadas de composto.

Quadro 1 - Diâmetros (\varnothing) das plantas e produção de biomassa (MS)

Trat. Exp.	Ensaio c/ LV		Ensaio c/ PZ	
	\varnothing da planta (cm)	MS (g vaso $^{-1}$)	\varnothing da planta (cm)	MS (g vaso $^{-1}$)
0 t ha $^{-1}$	14,1 c	1,9 c	11,3 e	1,1 e
25 t ha $^{-1}$	15,1 bc	2,3 bc	14,5 d	2,1 d
50 t ha $^{-1}$	16,4 b	2,6 b	17,6 c	3,1 c
75 t ha $^{-1}$	18,3 a	3,2 a	19,9 b	3,9 b
100 t ha $^{-1}$	18,3 a	3,1 a	21,9 a	4,9 a
C.V. (%)	4,8	10,4	5,7	5,4
Sm (\pm)	0,451	0,156	0,556	0,095

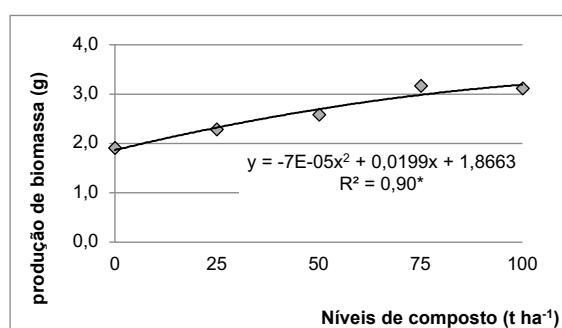


Fig.1 – Efeito do composto sobre a produção de biomassa – ensaio com o solo LV

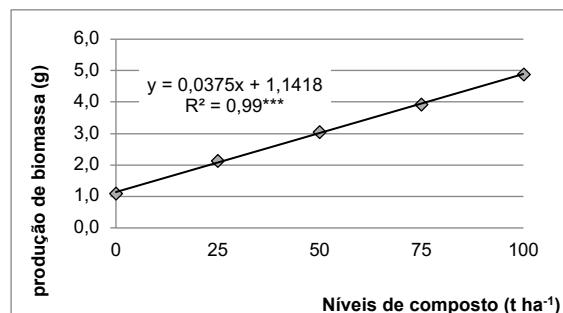


Fig.2 – Efeito do composto sobre a produção de biomassa – ensaio com o solo PZ

Fertilidade do solo

A aplicação do corretivo orgânico originou um aumento do teor de matéria orgânica que foi estatisticamente significativo ($p \leq 0,01$) no caso do ensaio com o *Luvissolo* (Fig. 3). Registou-se também, em ambos os solos, um aumento significativo do pH, provocando uma alteração da reação do solo mais intensa no caso do *Podzol*, passando de pouco ácida a neutra (Fig. 4). Os níveis de fósforo (ext. pelo método de Égner-Rhiem) sofreram acréscimos altamente significativos ($p \leq 0,001$) com a aplicação de quantidades crescentes de composto orgânico, tendo sido os tratamentos experimentais responsáveis por cerca de 97% da variação total observada em ambos os ensaios (Fig. 5). É principalmente relevante o aumento do fósforo no solo podzólico observando-se um acréscimo de cerca de 10 vezes para a dose mais elevada em relação à testemunha. Ocorreram ainda acréscimos significativos no grau de saturação de bases no *Podzol*, principalmente devido ao acréscimo no teor de cálcio de troca provocado pela adição das quantidades crescentes de composto rico neste nutriente (2,96%).

Os micronutrientes cobre e zinco foram os únicos a apresentar efeitos significativos à aplicação do composto, nos dois solos, refletindo a riqueza do mesmo nestes elementos (155 e 219 mg kg^{-1}) (Figs. 6 e 7).

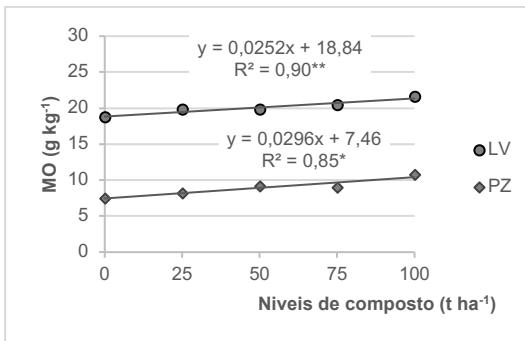


Fig. 3 – Efeito do composto sobre o teor de MO

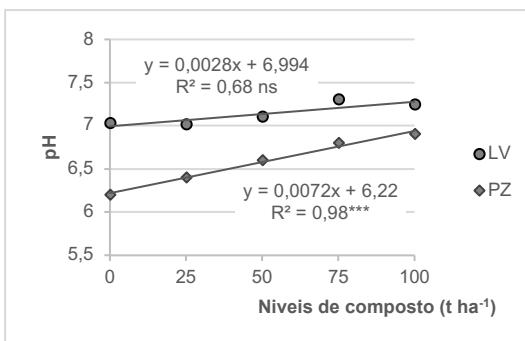


Fig. 4 – Efeito do composto sobre o pH

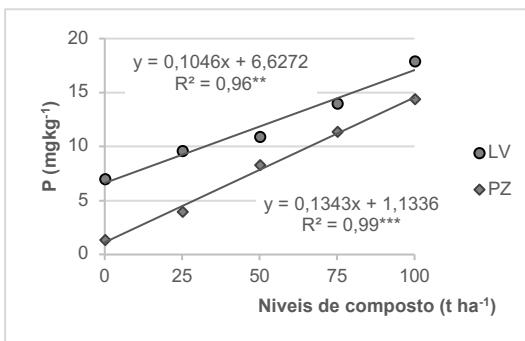


Fig. 5 – Efeito do composto sobre o teor de P extraível

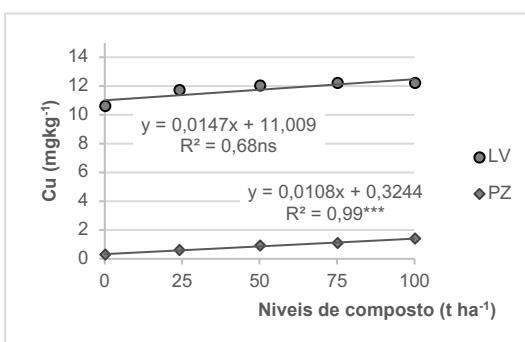


Fig. 6 – Efeito do composto sobre o teor de Cu extraível

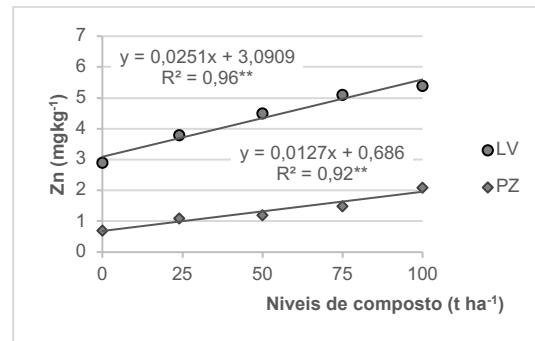


Fig. 7 – Efeito do composto sobre o teor de Zn extraível

Conclusões

Através da compostagem dos subprodutos do olival e estrume de ovino, realizada na própria exploração agropecuária, conseguiu-se obter um corretivo orgânico de qualidade, cuja utilização contribuiu para um aumento da produção da planta teste, não produzindo efeitos de fitotoxicidade, mesmo quando usado em quantidades muito elevadas.

A aplicação deste fertilizante orgânico originou uma melhoria da fertilidade dos solos testados, principalmente devido ao aumento nos teores de MO, P, Zn e Cu.

Os efeitos da aplicação do corretivo orgânico dependeram das características do solo recetor, sendo mais evidentes no solo com menor capacidade tampão (PZ).

Agradecimentos

A toda a equipa do GO TECOLIVE pelo empenho nas distintas atividades deste Grupo Operacional.

Referências bibliográficas

- INE (2021). *Recenseamento Agrícola. Análise dos principais resultados: 2019*. Lisboa.
- IUSS Working Group WRB. (2014). *World Reference Base for Soil Resources 2014. Inter. soil clas.syst. for naming soils and creating legends for soil maps*. World Soil Res. Reports No. 106. Rome: FAO.
- Van-Camp, L., Bujarrabal, B., Gentile, A-R., Jones, R.J.A., Montanarella, L., Olazabal, C. & Selvaradjou, S-K. (2004). Reports of the Technical Working Groups Established under the Thematic Strategy for Soil Protection. EUR 21319 EN/3, 872 pp. Off. for Off. Pub. of the European Com. Luxembourg.
- Lal, R. (1997). Degradation and resilience of soils. *Phil. Trans. of the R. Soc. B.Biological Sciences*, 352(1356), 997-1010. doi:10.1098/rstb.1997.0078.

Aplicación de un consorcio microbiano inmovilizado sobre biochar en la recuperación de un suelo contaminado con hidrocarburos

Application of a microbial consortium immobilized onto a biochar for the remediation of a polluted soil with hydrocarbons

Curiel Alegre, Sandra^{1,2}; Velasco-Arroyo, Blanca²; Martínez, Andrea^{1,2}; Rumbo, Carlos²; Tamayo-Ramos, Juan Antonio²; Khan, Aqib A.H.²; Rad, Carlos^{1,*}; Barros, Rocío²

¹ Grupo de Investigación en Compostaje (UBUCOMP). Facultad de Ciencias. Pl. Misael Bañuelos s/n. 09001 Burgos (Spain).
*crad@ubu.es

² Grupo de Investigación Medioambiente y Sostenibilidad (ICCRAM-Ma-Sos). Pl. Misael Bañuelos s/n. 09001 Burgos (Spain).

Resumen

La contaminación de suelos por hidrocarburos es un grave problema ambiental tanto por su persistencia como por su afección hasta las zonas más prístinas del planeta. Las técnicas de descontaminación de hidrocarburos suponen un elevado coste, implican en muchos de los casos su tratamiento ex situ y llevan también riesgos ambientales. En contraposición, el empleo de técnicas microbiológicas mediante la adición de consorcios microbianos con capacidad para degradar estos contaminantes, son alternativas de biorrecuperación de suelos, que mediante la construcción de biopiles o ecopiles están reuniendo un creciente interés. Sin embargo, para una eficaz aplicación de estas técnicas biotecnológicas, es necesario garantizar una efectividad en la acción de estos consorcios microbianos, cuya persistencia en el suelo es generalmente baja. En este trabajo se ha buscado la estabilización de un consorcio microbiano especializado en la degradación de hidrocarburos y aislado del propio suelo contaminado, mediante su inmovilización sobre dos tipos de biochars obtenidos a partir de huesos de albaricoque con temperaturas de pirólisis de 450° y 650°C, respectivamente, así como el incremento de su eficacia mediante la adición de rhamnolípidos. El consorcio microbiano introducido consiguió una tasa de degradación del 17% de los hidrocarburos de mayor peso molecular, eficiencia que se incrementó con la aplicación de biochar o rhamnolípidos hasta el 25% de su contenido inicial.

Palabras clave: hidrocarburos del petróleo, biocarbón, biorremediación, suelos contaminados, rhamnolípidos.

Abstract

The contamination of soils by hydrocarbons is a serious environmental problem both due to the persistence of this pollution and by its effects on even the most pristine areas of the planet. Hydrocarbon decontamination techniques entail a high cost, imply in many cases their off-site treatment, and entail environmental risks. In contrast, the use of microbiological techniques through the addition of microbial consortia with the capacity to degrade these contaminants, are alternatives for soil biorecovery that are gathering growing interest in the construction of biopiles or ecopiles. However, for an effective application of these biotechnological techniques, it is necessary to guarantee an effectiveness in the action of these microbial consortia, whose persistence in soil is generally low. In this work, the stabilization of a microbial consortium specialized in the degradation of hydrocarbons and isolated from the own soil, has been studied through its immobilization on two classes biochars obtained from apricot stones at pyrolysis temperatures of 450° and 650°C, respectively, as well as the increase of its efficiency rate through the addition of rhamnolipids. The introduced microbial consortium achieved a degradation of 17% of the highest molecular weight hydrocarbons, an efficiency that was increased with the application of biochar and rhamnolipids up to 25% of their initial content.

Keywords: total petroleum hydrocarbons, biochar, bioremediation, polluted soils, rhamnolipids.

Introduction

Hydrocarbon polluted soils are a widely extended contamination due to the intense use of petroleum derived products, petrochemical industries, and worldwide crude oil transportation, affecting even pristine areas of our planet. Thermal desorption and volatilization have been the most common treatments for heavily hydrocarbon polluted soils, but they are expensive and not exempt of environmental and health risks (Al Mutairi et al., 2008).

The application of bioremediation techniques for oil contaminated soils has been recognized as a cost-effective, very promising, and sustainable clean-up technologies (Wu et al., 2016). However, the drawback of these technologies is the short viability in soil of introduced microbial consortia, whose persistence in the soil is generally low. Microbial immobilization onto porous carriers could enhance their survival by means of biofilm formation in the inner spaces of the support. Biochar has been widely reported as a potential immobilization matrix, with the merits of high carbon content, cation exchange capacity (CEC), porosity, stability, and abundant surface functional group. In this way, biochars are used for water and soil remediation (Wu et al., 2022).

The aim of this work was to test the effectiveness of two biochar additions and the use of rhamnolipids to increase the degradation of recalcitrant hydrocarbons presents in an oil polluted soil.

Material and Methods

A soil polluted with heavy fractions of hydrocarbons and trace elements was collected from a machinery park. The soil has a sandy loam texture (11.8% clay, 29.8% silt, 58.3 sand), bulk density 1.51 kg L⁻¹, highest water retention capacity (HWRC) 25.33%, pH (1:5; w:V) 7.1, Electrical conductivity (1:5; w:V) 0.839 dS m⁻¹, Loss on Ignition 3.85 %, Organic Carbon 2.59%, Total N 0.02%, lime content 35.08%. Total trace elements concentrations (mg kg⁻¹) were: As 77.3; Cd 7.8; Cr 14.9; Cu 8.5; Ni 9.9; Pb 339.2; Zn 680.5. Total petroleum hydrocarbons

(TPHs) concentration is 4,272 mg kg⁻¹.

Two biochar, produced from apricot stones pyrolyzed at 450°C (BH1) and 650°C (BH2), were used as microbial carriers at a rate of 5% (v/v); commercial rhamnolipids (RML, Sigma Aldrich) at 1% (w/v) were also assayed to increase hydrocarbon mobility. A microbial consortium previously isolated from this soil was grown in a minimal medium using diesel (1% v/v) as a sole C source. A concentrated suspension of this consortium in modified Bushnell Haas Broth (mBHB) was immobilized onto both biochars or rhamnolipids and mixed with the soil to reach a final volume corresponding to 40% HWRC.

Eight incubation treatments were prepared in 200 g soil microcosms (Table 1) for a 90-days incubation at 22°C, with periodic control of aeration and humidity. A second consortia inoculation (day 43rd) was performed increasing soil humidity to 50% of HWRC by adding the calculated amount of mBHB solution with inoculum or Milli-Q water. The nutrient solution (mBHB) had the following composition (g kg⁻¹ dried soil): NH₄NO₃ 3.543; K₂HPO₄ 0.306; KH₂PO₄ 0.306; MgSO₄ 0.051; CaCl₂ 0.006; FeCl₃ 0.015 (added separately). Microcosms were destructively sampled at 2, 15, 30, 45, 60 and 90 days.

Analysis of extractable petroleum hydrocarbons (EPH), basal respirometry, and the chemical properties were performed according to standard analytical methods. One-way ANOVA and LSD *post-hoc* test were applied to seek for differences between treatments.

Table 1 – Incubation treatments.

Samples	Treatment
4CT	Soil + water
BH1	Soil + BH1 + water
BH2	Soil + BH2 + water
RML	Soil + rhamnolipids + water
BA4CT	Soil + consortium + mBHB
BABH1	Soil + immobilized consortium-BH1 + mBHB
BABH2	Soil + immobilized consortium-BH2 + mBHB
BARML	Soil + consortium + RML + mBHB

Results and discussion

Different mechanisms are involved in the remediation of hydrocarbon polluted soils: volatilization of the lighter molecular weight fractions, degradation by autochthonous microorganisms, or immobilization by humic substances or clays. This polluted soil was stored for a period higher than two years and the most volatile and degradable of EPHs had disappeared by natural attenuation before to start our bioremediation process. Initial characterization of EPHs showed that 82% of these compounds corresponded to long-chain hydrocarbons, with a molecular weight in the range C22-35, which supposes an important challenge for their biodegradation, due to their low mobility and availability.

Results obtained after 90-days of incubation under optimal conditions of humidity and temperature (Fig. 1), showed the high recalcitrancy of these EPHs to microbial degradation, in which only the introduction of biochar, mainly with BH2, slightly reduced (around 10%) the total content of EPHs. On the contrary, bioaugmentation treatments displayed a higher hydrocarbon degradation capacity by the action of the added microbial consortium alone (BA4CT, 23%) or after immobilization onto biochars (BABH1 and 2) or with the addition of rhamnolipids as biosurfactants (BARML), all of them with yields close to 30% of initial EPHs' concentration.

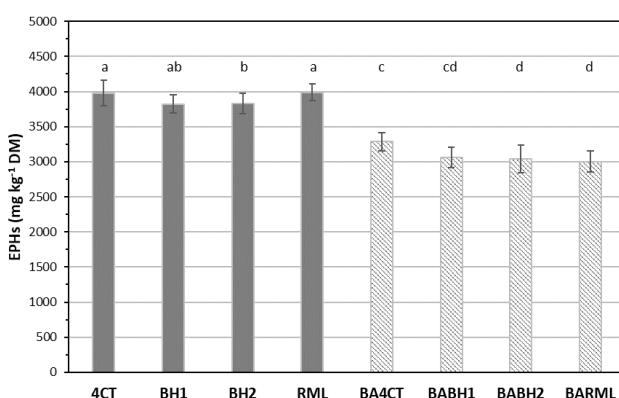


Fig. 1 – EPHs' values of the different treatments after 90 days of incubation.

The characteristics of the soil, with a scarce

presence of soluble or available nutrients such as N and P, supposed an important constrain to soil biological activity.

The addition of mBHB medium in the suspended consortium supposed an important increase in extractable nitrogen (Fig. 2a) or available P (Fig. 2b), exceeding the nutrient demand of the added consortium.

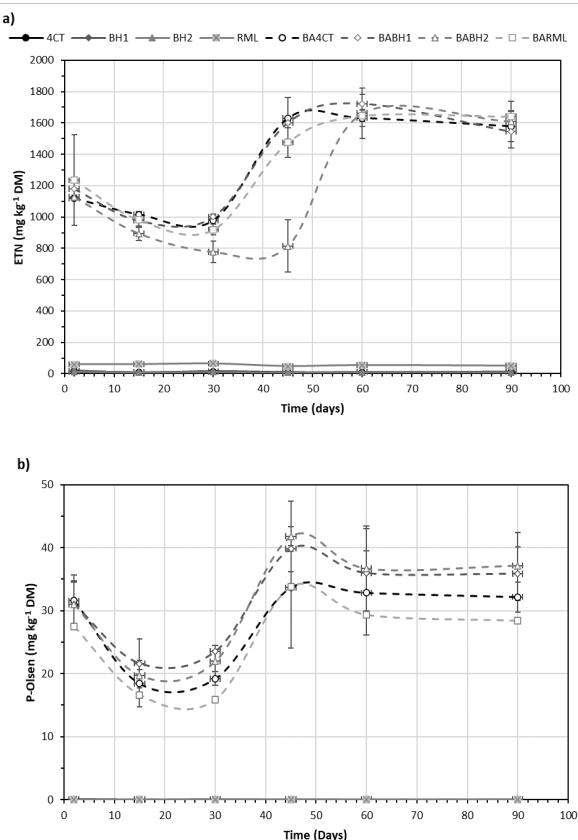


Fig. 2 – Evolution of extractable total N (a) and available P (b) concentrations in the the different treatments during 90 days of incubation.

Bioremediation of hydrocarbon polluted soils could be efficiently achieved through bioaugmentation, which involves the soil inoculation and enrichment with a specific consortium of microorganisms with high degradation capability (Yu et al., 2005).

In this work, the microbial consortium was previously isolated from this polluted soil and its microbiome was dominated by bacterial species of genus *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Cupriavidus*, *Comamonadaceae* and *Sphingomonadaceae*. Metagenomic data identified genes encoding enzymes implicated in the initial oxidation of alkanes:

Alkane 1-monooxygenase (AlkB), long-chain alkane monooxygenase (LadA), cytochrome P450 alkane hydrolase (CYP153 family) and a variety of hydroxylating and ring-cleavage dioxygenases, involved in aromatic and polycyclic aromatic hydrocarbon degradation that assured an efficient degradation of complex mixtures (Garrido-Sanz et al., 2019).

Our results clearly showed the viability of this consortium as demonstrated by the enhanced basal respiration of the soil mixture after microbial addition (Fig. 3). However, this increased microbial activity was not enough to degrade high molecular weight aliphatic and aromatic hydrocarbons. The reduced bioaccessibility of these compounds to the added microorganisms, is a key limiting factor in the bioremediation of an aged and polluted soil.

Under these conditions, the immobilization of the inoculum does not represent a clear advantage to increase the degradative pathways of hydrocarbons in this soil, such it occurs in liquid media amended with diesel. Also, a possible negative effect of biochar is perceptible in the form of inhibited respiration at the beginning of the incubation, mainly with the immobilization in BH1, the biochar obtained at lower temperature, that usually drives to more functional and reactive surfaces, instead of most carbonaceous matrix that characterizes the products obtained at high pyrolysis temperatures.

Conclusions

- The introduction of an immobilized microbial consortium increased the biological activity in the soil, but only a limited bioaccessibility improvement to the targeted contaminants was achieved.
- Current research must be focused on the use of chemicals such as oxidants or stronger surfactants, that improve the mobility of heavy fractions of hydrocarbons.

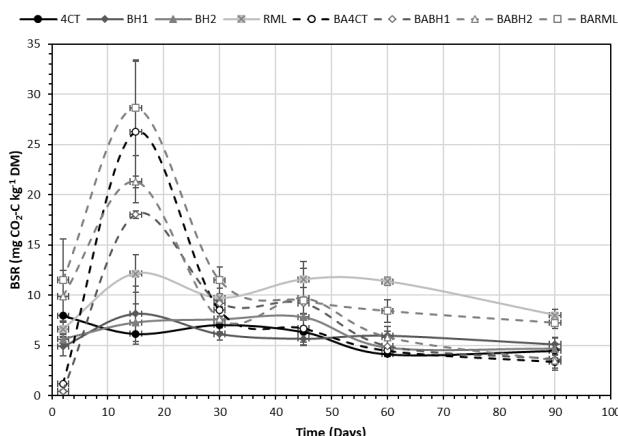


Fig. 3 – Evolution of basal soil respiration (BSR) in the different treatments during 90 days of incubation.

Acknowledgments

This work was financed by the European Project GREENER (Grant Agreement No. 826312). S. Curiel is granted by a pre-doctoral contract by Junta Castilla y León.

References

- Al-Mutairi, N., Bufarsan, A., Al-Rukaibi, F., 2008. Ecorisk evaluation and treatability potential of soils contaminated with petroleum hydrocarbon-based fuels. *Chemosphere* 74, 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.08.020>
- Garrido-Sanz, D., Redondo-Nieto, M., Guirado, M., Jiménez, O.P., Millán, R., Martín, M., Rivilla, R. (2019). Metagenomic Insights into the Bacterial Functions of a Diesel-Degrading Consortium for the Rhizoremediation of Diesel-Polluted Soil. *Genes* 10, 456. <https://doi.org/10.3390/GENES10060456>
- Wu, M., Dick, W.A., Li, W., Wang, X., Yang, Q., Wang, T., Xu, L., Zhang, M., Chen, L. (2016). Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 107, 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.11.019>
- Wu, C., Zhi, D., Yao, B. (2022). Immobilization of microbes on biochar for water and soil remediation: A review. *Environ. Res.* 113226. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113226>
- Yu, K.S.H., Wong, A.H.Y., Yau, K.W.Y., Wong, Y.S., Tam, N.F.Y. (2005). Natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mangrove sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 51, 1071–1077. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.006>

Importância das culturas de cobertura no aumento do grau de micorrização de tomateiro e milho

Importance of cover crops in increasing the degree of mycorrhization of tomato and maize

Pereira, Pablo^{1*}, Matos, Susete², Almeida, Maria de Lurdes³, Barradas, Ana⁴, Nunes, Ana Paula⁵

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, INIAV, I.P., Av. da República, Quinta do Marquês, 2780-159 Oeiras, Portugal.

² AgroMais, Entreposto Comercial Agrícola, CRL, Zona Industrial de Riachos – Apartado 24 - 2354-908 Riachos, Portugal

³ Torriba, Organização de Produtores de Hortofrutícolas, S.A., Estrada Municipal 589, Herdade Convento da Serra, 2080-401 Raposa, Portugal

⁴ Fertiprado – Sementes e Nutrientes Lda, Herdade Esquerdos, 7450-250 Vaiamonte, Portugal

⁵ COTHN - Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional – Centro de Competências, Estrada de Leiria, S/N, 2460-059 Alcobaça, Portugal.

* pablo.pereira@iniav.pt.

Resumo

Os microrganismos benéficos ocorrem naturalmente em ecossistemas pouco intervencionados, mas muitas práticas associadas à agricultura intensiva resultam em desequilíbrios de biodiversidade que os desfavorecem relativamente a outras espécies não-benéficas. Nestes sistemas intensivos, a ocupação do solo no período de outono-inverno com culturas de cobertura à base de leguminosas, gramíneas, ou misturas biodiversas de ambas, vai favorecer o enriquecimento do solo em microrganismos benéficos, que ficarão disponíveis para interagir com a cultura principal, com todos os benefícios que daí advêm. A adoção de práticas que favoreçam a micorrização podem ter um papel muito importante. É conhecido que determinadas espécies, como é o caso do azevém anual, micorrizam muito facilmente e o seu cultivo enriquece o solo em fungos endomicorrízicos autóctones, que poderão depois associar-se às culturas seguintes. Assim, neste estudo, foram utilizados métodos de microscopia ótica para a visualização de estruturas das endomicorrizas no interior do tecido redicular e determinou-se a percentagem de micorrização. Os resultados mostram um aumento da percentagem de micorrização, quer no milho, quer no tomateiro, induzidas pela introdução de culturas de cobertura do tipo mistura biodiversa e azevém.

Palavras-chave: endomicorrizas, culturas de cobertura, azevém, milho, tomate

Abstract

Beneficial microorganisms occur naturally in little-intervened ecosystems, but many practices associated with intensive agriculture result in biodiversity imbalances that disadvantage them relatively to other non-beneficial species. In these intensive systems, the occupation of the soil in the autumn-winter period with cover crops based on legumes, grasses, or biodiverse mixtures of both, will favor the enrichment of the soil in beneficial microorganisms, which will be available to interact with the main crop. The adoption of practices that favor mycorrhization can also play a very important role. It is known that certain species, such as annual ryegrass, mycorrhize very easily and their cultivation enriches the soil with autochthonous endomycorrhizal fungi, which can then be associated with subsequent crops. Thus, it was used microscopic methods in order to visualized endomycorrhizae structures and then, calculate the percentage of mycorrhization in the inner of radical tissue. with annual ryegrass and biodiverse mixtures, we found the increase of mycorrhization percentage both maize and tomatoe cultures.

Keywords: mycorrhize, cover crops, ryegrass, maize, tomato

Introdução

As endomicorras arbusculares (MA), constituem a simbiose entre plantas e fungos mais frequente na terra, é formada por fungos do solo pertencentes ao filo Glomeromycota e raízes da maioria das plantas terrestres. Mais de 80% das espécies das plantas conhecidas, incluindo as de interesse agrícola formam este tipo de micorrizas, podendo encontrar-se nos mais variados habitats, desde desertos às florestas tropicais, em altitudes e latitudes elevadas, para além de ecossistemas aquáticos. As MA constituem uma simbiose mutualista em que o fungo obtém o carbono necessário ao seu metabolismo a partir da planta colonizada, representando 10 a 20% dos produtos resultantes da sua atividade fotossintética (Graham, 2000).

O micélio extra-radical produzido pelo fungo constitui uma ligação entre as raízes da planta e o solo, transportando nutrientes minerais do solo à planta e proporcionado desta forma a troca bidirecional entre simbiontes. Esta capacidade assume particular importância para os nutrientes que são transportados no solo por processos de difusão lentos e/ou são facilmente imobilizados, como acontece com o fósforo (P). O micélio extra-radical desenvolvido faz com que o volume de solo disponível para a absorção de P vá para além da zona de depleção que rapidamente se estabelece em torno das raízes activas em termos de absorção (Clark & Zeto, 2000).

O Projeto MaisSolo avaliou a utilização de três culturas de cobertura (1- **mistura biodiversa** de leguminosas e gramíneas, 2- **Azevém** e 3- **Nabo forrageiro**) com o objetivo de aumentar a produção de culturas de milho e tomate. O presente trabalho refere apenas o aumento do grau de micorrização pelas culturas principais como resposta ao tipo de cultura de cobertura previamente utilizado.

Material e métodos

Foram utilizados dois campos experimentais um com cultura extensiva de **milho** (São João de Brito, Golegã) e outro com **tomate** (Manique, Vila Franca de Xira). O ensaio foi delineado em blocos

casualizados, com 3 repetições de campo. Entre 2018 e 2021, foram colhidas 3 plantas por talhão.

Foram testados três tipos de culturas de cobertura preliminares (cultura prévia a cultura principal): Cultura biodiversa com leguminosas e gramíneas (C), azevém (A) e nabo forrageiro (B). Manteve-se um dos talhões sem qualquer tipo de tratamento, testemunha (T).

As raízes foram isoladas, coradas com azul de tripano e a % de colonização micorrízica avaliada de acordo com (Giovannetti & Mosse, 1980) em 3 subamostras por talhão.

Os resultados foram analizados pelo método “one-way analysis of variance (ANOVA)” utilizando o programa STATISTICA 10 e recorrendo ao teste de significância de Tukey (HSD) a $P \leq 0.05$.

Resultados e discussão

Os resultados indicam que os tratamentos com culturas de cobertura com sementes biodiversas (C) e o azevém (A) aumentam a percentagem de tecido radicular colonizado por endomicorras em milho e tomate. O tratamento com nabo forrageiro (biofumigação) (B) não estimula a percentagem de micorrização no tomate e no milho parece até influenciar negativamente em relação à testemunha (Figs. 1 e 2).

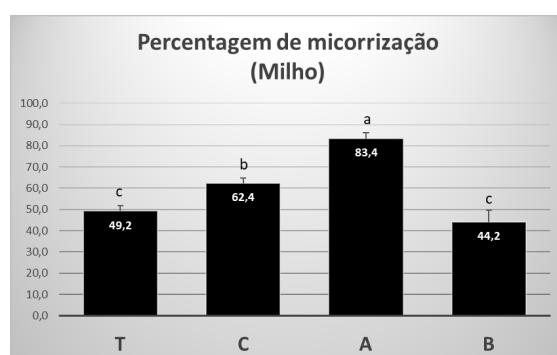


Fig. 1 Grau de micorrização de milho nos talhões do campo experimental de São João de Brito (Golegã). Letras diferentes por cima das colunas indicam diferentes graus de significância entre os tratamentos, segundo o teste de Tukey HSD a $P \leq 0.05$

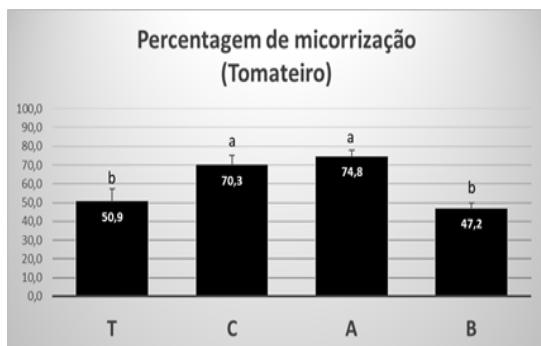


Fig. 2. Grau de micorrização de tomateiro nos talhões do campo experimental de Manique (Vila Franca de Xira). Letras diferentes por cima das colunas indicam diferentes graus de significância entre os tratamentos, segundo o teste de Tukey HSD a $P \leq 0.05$

Também os resultados indicam que o grau de micorrização no milho é cerca de 10% maior que no tomateiro no tratamento A. Isto deve-se ao facto de o próprio milho ser já por si, uma planta micotrófica comparada com o tomateiro. Regra geral as gramíneas são mais propensas a serem colonizadas por fungos endomicorrízios.

É conhecido que determinadas espécies, como é o caso do azevém anual, micorrizam muito facilmente e o seu cultivo enriquece o solo em fungos endomicorrízicos autóctones, que poderão depois associar-se às culturas seguintes. Assim, estas espécies, designadas como micotróficas (ou *developers*), atuam como promotores ou propagadores de endomicorrizas e a sua utilização nas culturas de cobertura irá favorecer a micorrização da cultura principal.

Conclusões

Os tratamentos (C) e (A) favorecem a percentagem da micorrização em plantas de milho e tomateiro levando ao aumento na produtividade destes importantes produtos agrícolas.

Existe uma maior apetência pelos agricultores na utilização de culturas de cobertura biodiversas inoculadas com bactérias específicas benéficas ao desenvolvimento da planta. É o caso das bactérias fixadoras de azoto que estabelecem simbiose com plantas leguminosas, genericamente designadas por rizóbios. Estas bactérias convertem o

azoto atmosférico em amónia, que fica disponível para as plantas permitindo-lhes alcançar a independência relativamente ao azoto de que necessitam para o crescimento.

As ditas misturas utilizadas neste trabalho tinham a desvantagem de serem culturas de Inverno de ciclo longo, facto este que leva ao atraso na sementeira da cultura principal seguinte. De modo a tentar resolver este problema irão ser utilizadas misturas biodiversas de ciclo curto em ensaios experimentais de campo no **Projeto Horticover**, projeto este já a decorrer.

Agradecimentos

Apoio financeiro por parte dos projectos PDR 2020 – 101 - 030821 (**MaisSolo**) e LISBOA -01 – 0247 – FEDER - 072223 (**HortiCover**).

Referências bibliográficas

- Clark, R.B. & Zeto, S.K. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition*, 23:867-902.
- Giovannetti, M. & Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84:489-500.
- Graham, J.H. (2000). Assessing costs of arbuscular mycorrhizal symbiosis agroecosystem fungi. In G.K. Podila & D.D. Douds Jr (eds) *Current Advances in Mycorrhizal Research*, pp 127-140. APS Press, St. Paul, Minnesota.

Analytical laboratories for soil fertility assessment, in Portugal

Laboratórios de avaliação da fertilidade do solo, em Portugal

Mano, Raquel* e Rebelo, Fernanda

INIAV, I.P./UEIS-SAFSV/Avenida da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, raquel.mano@iniav.pt

Abstract

The main objective of this work was to obtain updated data from soil fertility laboratories located in Portugal. A survey was sent to the Heads of 32 laboratories and a reply was received from 25 of them. 14 of these labs belong to the Ministry of Education, 7 are private and 4 to the Ministry of Agriculture. In addition to soil they also analyse plant material and, the majority, organic soil improver and irrigation water. In the minimum package of analyses they offer (Summary Analysis) pH, organic matter, extractable phosphorus and potassium are always included and 72 % of them also include field texture. But this package differs greatly between labs with regard to the inclusion of other parameters. 76 % of the labs issue fertilisation recommendations, but only 20 % do so automatically. There is a relative homogeneity of methods for the parameters of the summary analysis, except for organic matter. Only two laboratories have accredited tests. The existence of a national interlaboratory test is felt to be important for internal quality control and harmonisation of methodologies.

Keywords: fertiliser recommendations, nutrient management, plant nutrition, soil test, soil analysis

Resumo

O objetivo principal deste trabalho foi obter dados atualizados dos laboratórios que, em Portugal, analisam solo para avaliar a fertilidade do solo e apoiar a atividade agrícola no tocante à nutrição e fertilização das culturas. Enviou-se um inquérito aos responsáveis técnicos de 32 laboratórios, tendo recebido resposta de 25 deles. 14 destes lab. pertencem ao Ministério da Educação, 7 são privados e 4 do Ministério da Agricultura. Para além de solo analisam também material vegetal e, a maioria, corretivos orgânicos e águas de rega. No pacote mínimo de análises que oferecem (Análise sumária) todos analisam o pH, matéria orgânica, fósforo e potássio extraíveis e, em 72 % deles, também a textura de campo. Mas este pacote difere muito entre laboratórios no tocante à inclusão de outros parâmetros. 76 % dos laboratórios emitem recomendações de fertilização, mas apenas 20 % o fazem automaticamente. Existe relativa homogeneidade de métodos para os parâmetros da análise sumária, exceto no tocante à matéria orgânica. Apenas dois laboratórios têm ensaios acreditados. A existência de um teste Interlaboratorial nacional é sentida como importante para o controlo interno de qualidade e harmonização de metodologias.

Palavras-chave: análise do solo, análise de terra, gestão de nutrientes, recomendações de fertilização, nutrição das plantas

Introduction

Knowledge of the state of soil fertility, through soil analysis, is essential to enable the establishment of a rational fertilization plan, fundamental to ensure good crop production, in a context of increasing economic and environmental constraints.

The main objectives of this work were: (1) to survey the soil fertility labs operating in Portugal; (2) to know what other matrices were analysed, related to crop fertilisation and nutrition; (3) to know which analytical methodologies were predominantly used.

Material and methods

In March 2022 a survey was sent to the Heads of 32 soil analysis laboratories in Portugal. 25 labs responded to the survey. Of the 7 labs that did not respond: 3 informed that they did not perform soil fertility analysis; 2 (Eurofins Agrotesting and AGQ labs.) informed that they receive samples, but these are analysed in a lab based outside the country, choosing not to respond to the survey; 2 labs, despite confirming to analyse soil fertility, did not respond.

Location of the laboratories

Most of the laboratories belong to the Ministry of Education (14), 4 belong to the Ministry of Agriculture and 7 are private, spread over the mainland and islands (Figure 1). In 16 of them, most of the analyses performed in 2021 were for direct support to agricultural activity.



Figure 1 – Soil fertility laboratories in Portugal

Materials analysed within the framework of soil fertility, plant nutrition and crop fertilization

Nearly all labs analysing soil also analyse plant material. This is followed by organic soil improver (68 % of the labs) and irrigation water (64 %). To a lesser extent fertilizer (36 %) and liming material (32 %) (Table 1).

Table 1 – Materials analysed by the different labs

Location	Laboratory	S	PM	IW	F	LM	OSI
Almeirim	Agroeno	x	x	x	x		
A. Heroísmo	UAçores	x	x			x	
Beja	ESA Beja	x					
Beja	LAGRA	x	x	x	x	x	x
Bragança	ESA Bragança	x	x				x
Camacha	DRA Madeira	x	x				x
C. Branco	ESA C. Branco	x	x				x
Coimbra	ESA Coimbra	x	x	x			x
Elvas	ESA Elvas	x	x	x			x
Évora	AmbiTerra	x	x			x	
Faro	UAlg-LAQ	x	x	x	x	x	x
Guarda	LabMIA	x	x	x	x		
Guimarães	A2-Análises Quím.	x	x	x	x	x	x
Lisboa	INIAV-LQARS	x	x	x	x	x	x
Lisboa	ISA-Quím. Agric.	x	x	x			x
Lisboa	ISA-Pedologia	x	x		x	x	
Lisboa	SGS MultiLab	x	x	x	x		
Montijo	Agroleico	x	x	x	x	x	x
Oeiras	INIAV-Lab. Solos	x	x	x	x	x	x
Pte. Lima	ESA V. Castelo	x	x				x
Porto	EOR	x	x	x			
Porto Salvo	ISQ-Labqui	x	x	x	x	x	x
Santarém	ESA Santarém	x	x				
Tavira	NAPALGARVE	x	x	x			
Vila Real	UTAD	x	x	x			x

S – Soil; PM – Vegetal material; IW – Irrigation water; F – Fertilizer; LM – Liming material; OSI – Organic soil improver;

Parameters currently analysed for the purpose of fertilisation recommendations

The labs generally propose analytical programmes, simpler for annual crops, or more complete for the establishment of tree or shrub crops. The analytical package commonly called summary analysis (SA) generally includes the extractable content of the main nutrients, as well as the three parameters that most

influence both the availability of these nutrients to the plant and the capacity of the soil to retain water: pH, organic matter (OM) and texture (Table 2).

Table 2 – Parameters covered in the Summary analysis programme and issuing of fertilisation recommendations

Laboratory	pH	OM	P	K	FT	Mg	N	L R	O	FR
Agroeno	(1,2)	x	x	x	x		x		n	
UAçores	(1)	x	x	x	x	x	x		a	
ESA Beja	(1)	x	x	x	x				or	
LAGRA	(1)	x	x	x	x	x	x	x	x	or
ESA Bragança	(1,2)	x	x	x					a	
DRA Madeira	(1,2)	x	x	x					n	
ESA C. Branco	(1)	x	x	x	x				or	
ESA Coimbra	(1)	x	x	x	x		x		or	
ESA Elvas	(1,2)	x	x	x	x	x	x	x	or	
AmbiTerra	(1)	x	x	x	x		x		or	
UAlg-LAQ	(1)	x	x	x	x	x	x	x	or	
LabMIA	(1,2)	x	x	x	x				n	
A2-Anális. Quím.	(1,3)	x	x	x		x	x	x	x	a
INIAV-LQARS	(1)	x	x	x	x	x	x	x		a
ISA-Quím. Agríc.	(1)	x	x	x	x	x	x	x	or	
ISA-Pedologia	(1)	x	x	x			x	x	or	
SGS MultiLab	(1)	x		x	x	x	x			n
Agroleico	(1,2,3)	x	x	x		x	x	x		n
INIAV-Lab. Solos	(1)	x	x	x		x	x	x		n
ESA V. Castelo	(1)	x	x	x	x	x		x	or	
EOR	(1,2)	x	x	x	x	x	x	x	x	or
ISQ-Labqui	(1,2,3)	x	x	x		x	x	x	x	or
ESA Santarém	(1)	x	x	x	x		x		or	
NAPALGARVE	(1)	x	x	x	x	x	x	x	x	or
UTAD	(1,2)	x	x	x	x		x		a	

(1) pH-H₂O; (2) pH-KCl; (3) pH-CaCl₂; FT – Field texture; N – total nitrogen; LR – Lime requirement; O – Other parameters; FR – fertiliser recommendations; n – no; or – on request; a – always.

It was found that there is a great variability in the parameters proposed by the labs: pH, OM, extractable phosphorus (P) and potassium (K) are always included in the SA. The same is not true for the other parameters, field texture being included in 72 % of the cases, extractable magnesium (56 %), "lime" requirement (44 %) and total nitrogen (32 %).

The issue of fertiliser recommendations by the labs is a clear advantage for the

farmers, who thus have a good basis for rational fertilization of their crops. 19 of the 25 surveyed labs (76 %) issue fertiliser recommendations, but in only 5 labs are these done automatically. In the remaining 14, only on request (Table 2).

Analytical methodology followed in the Summary Analysis parameters

Harmonisation of methods is important at a world and national level, in order to improve the comparability of results. It is, however, difficult to achieve, especially in the case of plant-available nutrients, as it involves much more than laboratory analysis (history of studies, such as field trials, type of soils, etc.). In 2017 FAO launched the Global Soil Laboratory Network ([GLOSOLAN](#)), involving more than 740 laboratories worldwide. It aims to harmonise many of the operating procedures in this area, making them freely available.

pH: All labs include pH-H₂O in the SA. Seven of them also use pH-KCl and two include in addition pH-CaCl₂. The proportion soil: extractant is 1:2.5 (m/v) in 64 % of the labs, being 1:5 v/v (ISO 10390 standard) in 32 % of the labs (Figure 2).

Organic matter: Except in the case of loss on ignition, OM is always obtained by multiplying the soil organic carbon (SOC) content by 1.724. Dry combustion is the method which gives the total SOC content. It is the preferred one in international studies (FAO, 2020), being followed by 6 labs. However, most labs (15) use dichromate oxidation, either potassium dichromate (8) or sodium dichromate (7).

Due to the incomplete oxidation of SOC by dichromate (circa 77 %), a correction factor of 1.3 has been proposed (Walkley & Black, 1934; Kalra & Manyard, 1992; FAO, 2020). This factor was confirmed by Dias, et al. (2005) for Portuguese soils. However, only 5 of the 15 labs employing dichromate said they use a correction factor. Other 7 do not use it and 3 did not answer. The use of this correction factor should be very clear in the analysis report, to allow a proper comparison of results from different laboratories.

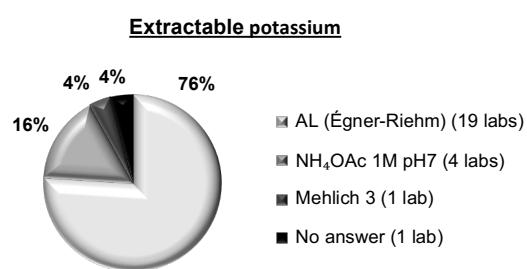
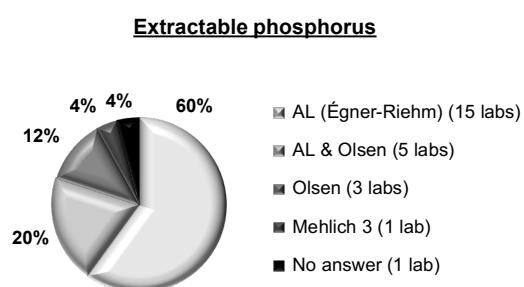
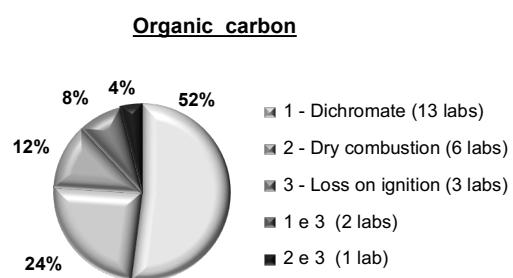
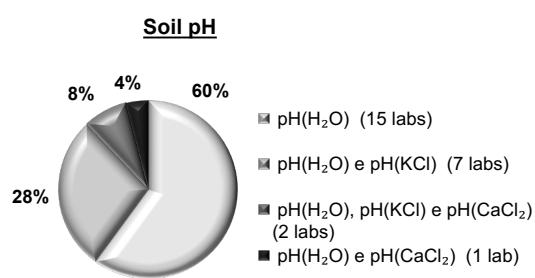


Figure 2 – Main methods of soil analysis for pH, organic carbon, extractable P and K, in Portugal.

P and K are extracted using the Ammonium lactate/acetic acid method (Égnér, et al., 1960) in about 80% of the laboratories, but ¼ of them also use the Olsen method for P, depending on the pH of the soil. For Mg, 1M ammonium acetate at pH7 predominates. The lime requirement is obtained by calculation in 15 of the 25 labs and dosed in 5 others.

Only two of the labs – ISQ and Lagra – have accredited tests. Several labs

indicated the need for a National soil testing programme, for proficiency testing and methodology harmonisation.

Conclusions

In Portugal, there is a large network of 25 soil fertility labs. pH, OM, extractable P and K are the parameters always analysed in the minimum analytical programme. There is a relative homogeneity of methods for these parameters, except for organic matter. 76 % of the labs issue fertiliser recommendations, but only 20 % do so automatically. Only two have accredited tests. There is a need for a national soil testing programme.

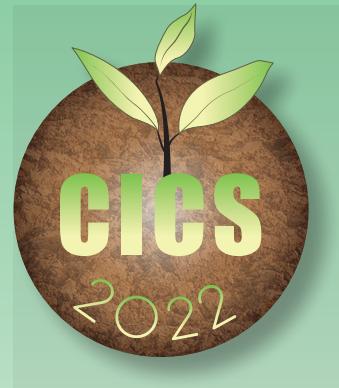
Acknowledgements

To all the heads of soil fertility laboratories, whose information was crucial for this survey.

This work is within the framework of the European EJP Soil programme "Towards climate-smart sustainable management of agricultural soils", funded by the European Union's H2020 research and innovation programme under agreement no. 862695.

References

- Dias R.M.S., Sempiterno C.M. & Simões, A.M. 2005. *Determinação do Carbono orgânico em solos. Estudo comparativo da Norma ISO 10694 e o método de oxidação por via húmida com doseamento colorimétrico*. Lisboa: Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas /Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva (INIAP/LQARS), 8p.
- Egnér, H., Riehm, H. and Domingo, W. 1960. Untersuchungen über die chemische bodenanalyse als grundlage für die beurteilung des nährstoffzustandes der böden: II. Chemische extraktionsmethoden zur phosphor und kaliumbestimmung. *Kungliga Lantbruks högskolans Annaler* 26, 199-215
- FAO. 2020. A protocol for measurement, monitoring, reporting and verification of soil organic carbon in agricultural landscapes – GSOC-MRV Protocol. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb0509en>.
- Kalra, Y.P. e Maynard, D.G. 1992. Méthodes d'analyse des sols forestiers et des tissus végétaux. Edmonton, Alberta, Canada: Forêts Canada, Région du Nord-Ouest, Centre Forestier du Nord. Rapp. inf. NOR-X-319F, 129p.
- Olsen, S.B.; Cole, C.V., Wanatabe, F.S. and Dean, L.A. 1954. - Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. - USDA: Circular 939. - p 1-19



Sistemas do uso da terra e gestão sustentável do solo

Comunicações orais

Characterization of soil phosphorus in different land use over calcareous soils by chemical extraction methods and ^{31}P -NMR spectroscopy

Caracterización del fósforo edáfico por espectroscopía de ^{31}P -RMN en suelos calcáreos bajo diferentes sistemas de uso

Martín-Sanz, Ruth C.^{1,2,3*}; Lafuente, Francisco^{2,3}; Turrión, M. Belén^{2,3}

¹ Dpto. Ecología y Genética Forestal, Centro de Investigación Forestal (CSIC, INIA). Carretera de la Coruña, km 7,5, 28040 Madrid, España.

² Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible (Universidad de Valladolid). Av. de Madrid, 57, 34004 Palencia, España.

³ Área de Edafología y Química Agrícola, Dpto. Ciencias Agroforestales, E.T.S. Ingenierías Agrarias Palencia (Universidad de Valladolid). Av. de Madrid, 57, 34004 Palencia, España.

*ruth.martin.sanz@gmail.com

Abstract

Many natural ecosystems around the world have been altered by human activities such as clearing for agriculture and pasture or timber harvesting. These land-use changes modify soil P status and dynamics. To evaluate the effects of land-use change on P chemical forms we used chemical fractionation and ^{31}P -NMR spectroscopy. Soil samples were collected in calcareous moors in Castilla y León region (Spain) at 4 different depths and in three different land-use systems: natural holm-oak forest, afforested pine forest, and agricultural land. Our results indicated that land-use change from holm-oak forest to cereal crops increased orthophosphate P concentrations and P availability due to phosphate fertilization. However, soil phosphorus distribution in pine forest was similar to that in native oak forest.

Keywords: Soil Phosphorus, P availability, Phosphorus pools, AEM-P, Land-use change

Resumen

Muchos ecosistemas naturales de todo el mundo han sido alterados por actividades humanas, como la tala para la agricultura y el pastoreo o la extracción de madera. Estos cambios en el uso del suelo modifican el estado y la dinámica del P del suelo. Para evaluar los efectos del cambio de uso del suelo en las formas químicas de P, utilizamos el fraccionamiento químico y la espectroscopía ^{31}P -NMR. Se recogieron muestras de suelo en páramos calcáreos de la región de Castilla y León (España) a 4 profundidades diferentes y en tres sistemas diferentes de uso del suelo: encinar natural, pinar de repoblación y suelo agrícola. Nuestros resultados indicaron que el cambio de uso del suelo del bosque de encina a cultivos de cereal aumentó las concentraciones de ortofosfato y la disponibilidad de P debido a la fertilización con fosfato. Sin embargo, la distribución de fósforo en el suelo en el bosque de pino fue similar a la del bosque nativo de encina.

Palabras clave: Fósforo edáfico, Disponibilidad de fósforo, Reservas de fósforo edáfico, AEM-P, Cambio de uso del suelo

Introduction

Phosphorus (P) is an essential element for all organisms and is usually a limiting nutrient for plant growth in many soils (McDowell & Stewart, 2006) because it can only be obtained by uptake from soil via plant roots as orthophosphate (Pierzynski et al., 2005).

Organic P (Po) can comprise 35–65% of soil P (Martín-sanz et al., 2021) and is an important P source for plants in both natural and managed environments (Turrión et al., 2007). Despite the importance of soil Po, its chemical nature and dynamics remain poorly understood, partly due to analytical limitations. These difficulties are posed mainly by the broad compound classes in which soil Po forms are grouped (Condron et al., 2005). Full chemical speciation to identify specific P forms requires either extraction for individual forms or advanced spectroscopic techniques such as ^{31}P nuclear magnetic resonance (^{31}P -NMR) spectroscopy.

Over the past century, many natural ecosystems around the world have been modified from their original status by anthropogenic disturbances, including degradation practices such as poor logging, forest fires, or clearing for agriculture and pasture. This land-use change can greatly modify biogeochemical P cycle and status. Studies of the effects of land use change on the soil P forms in calcareous soils are scarce. However, calcareous soils are of particular interest because the high calcium saturation tends to keep them with low organic matter content (von Wandruszka, 2006) and very low P disponibility (Taalab et al., 2019).

In this context, our objective was to improve our understanding of soil P chemistry and the putative effect of land-use changes in its dynamics and forms. Specifically, we aim to characterize soil P forms in calcareous moor soils under three different land-use systems: native forest (*Quercus ilex* subsp. *ballota*), forest plantation (*Pinus halepensis*) and agricultural land (cereal crops).

Material and Methods

Study area

This study was carried out at a high flat land (moor) of a calcareous geology in the Castilla y León region (Spain). Under semiarid climate, the native vegetation is holm-oak forest (*Quercus ilex* subsp *ballota*). However, during the nineteenth century most of these forests were converted into agricultural land, some of which remain until now. During the 1950s afforestation with *Pinus halepensis* was carried out on the less dense forest areas and in abandoned agricultural lands. Therefore, we selected these three types of land-use in these calcareous moors.

Soil sampling

Three plots were used. In each plot, three adjacent points of the three different land uses studied (agricultural, pine forest and natural oak forest) were selected. Four depth levels were considered (2–5 cm, 10–15 cm, 20–30 cm and 30–40 cm) and sampled at one sampling point randomly selected along the experimental area.

Soil analysis

Sieved soil samples (<2 mm) were analysed. Soil pH was measured in a 1:2.5 soil:water suspension using a glass electrode. Total organic C (TOC) and total N were determined using a LECO CHN 2000 Analyzer. Olsen P was also determined.

Phosphorus-31NMR was used to characterize the structural composition of alkali-soluble P (Turrión et al., 2010). Phosphorus was determined in all the extracts by the ammonium molybdate-ascorbic acid method (Murphy & Riley, 1962). The ^{31}P -NMR spectra were recorded with a Bruker DPX-300 spectrometer operating at 121.49 MHz using a 90-degree pulse length, an acquisition time of 0.96 s and a total accumulation time of 2 h and 3800 scans.

Statistical analysis

A two fixed-factor factorial experimental design was considered. The first factor was the land use effect on soil properties (agriculture, pine forest and holm oak forest), while the second factor was the soil depth effect, with four samplings along the profile: 2–5 cm, 5–10 cm, 20–30 cm and 30–40 cm, including also the interaction between factors. General linear mixed models were fit with PROC MIXED procedure in SAS software.

Results and discussion

Land use effect on soil properties

Significant effects of land use and depth were observed in all soil parameters considered, while land use by depth interaction was not significant for anyone (Table 1). Total organic carbon concentration (TOC) in soil decreased significantly with depth and was higher in the natural oak forest. Total nitrogen concentrations (N) were lower in the agricultural land and pine forest than in oak forest soils at all depths studied decreasing also with depth (data not shown). The pine forest soil showed significantly higher C/N ratio than soils from the other two land uses. Depth was also significant (Table 1), being this ratio lower on the surface than in deeper soil layers in all land uses.

Table 1 – ANOVA significance levels of the effects of land use, depth, and land use by depth interaction for the soil properties studied.

	pH	TOC	N	C/N
ANOVA				
Use	**	**	*	***
Depth	*	*	**	*
Use x depth	ns	ns	ns	ns

*** $p<0.001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$, ns: not significant.

Soil P in the studied land-uses

Total P concentrations in the NaOH-EDTA extract of the agricultural soil ranged from 16.8 to 101.1 mg·kg⁻¹, whereas they ranged from 22.9 to 37.6 mg·kg⁻¹ and from 9.42 to 34.03 mg·kg⁻¹ in oak and pine forest soils, respectively. In the agricultural soil, total inorganic P represented around 75% of total P

in the first layers of the profile, decreasing in the oak and pine forest soils to around 20%. However, total organic P mainly represented the total P of this alkaline extract in oak and pine forest soils, representing around 83% of total P in the first layers of those profiles, but just 30% of total P in the first layers of the agricultural soil.

Our results indicate that only a small amount of P remains in the soil after this sequential extraction, confirming previous works suggesting that most of the total P is recovered by EDTA–NaOH extraction for soils (Turner et al., 2005). Labile P forms concentrations (AEM-P and Olsen-P) were significantly higher in the agricultural soil (data not shown), with the greatest effects of land use in the surface soil layers (2–15 cm).

Inorganic orthophosphate represented around 62% (at 2–5 cm) of total P extracted by NaOH-EDTA in the agricultural land soil and around 20% (at 2–5 cm) in pine and oak forests soils. Phosphate monoesters was the main functional class of Po in soils from all land uses, representing 32%, 68%, and 64% of Po in the surface samples in the agricultural land, pine forest and oak forest, respectively. Moreover, monoesters concentrations decreased significantly with depth in all the land uses ($P<0.001$). Phosphate diesters include nucleic acids (DNA and RNA), phospholipids, and teichoic acids, and they represented between 5 to 12% of the total P extracted by NaOH-EDTA in the studied soils. Phosphate diesters usually constitute less than 10% of soil Po, but higher proportions have been detected in some forest soils (Cade-Menun et al., 2000). Diester P is more labile and accessible to microbial and enzymatic attack compared with monoester P (Zhu et al., 2013) and also, diester dominates Po inputs to soil from plants and microbes (Turner et al., 2005). Both reasons can explain the lower amount of diaester P observed in all the studied land use systems comparing to the monoester P forms. DNA-P concentrations were similar and low in all depths studied and in all the land uses. It is widely accepted that an increase or decrease in the proportion of diester P in soils is associated with corresponding changes in microbial P compounds (Cade-Menun et al., 2017). In contrast, easily mineralizable phosphate

diesters in soils can accumulate when conditions for microbial decomposition become limited by climate (Makarov et al. 2002), or by acid soil pH and high content of free Al (Turrión et al., 2000), but this is not the case of the studied soils. Pyrophosphate-P was also very similar among land uses (not significant), but significant differences were observed with depth ($P<0.05$).

Table 3 – Concentration of different P forms measured as ^{31}P -NMR in soil with three distinct land uses. Relative contribution (%) of total P present in each P form in brackets.

	Orthophos.- P	Monoesters- P	Phosphol- P	DNA	Pyrophos.- P
	(mg kg ⁻¹)				
Agriculture					
2-5 cm	62.74 (62)	32.04 (32)	2.61 (3)	1.91 (2)	1.81 (2)
10-15 cm	43.44 (47)	40.09 (44)	3.44 (4)	3.18 (4)	1.99 (2)
20-25 cm	21.80 (47)	20.63 (45)	1.62 (4)	1.83 (4)	0.42 (1)
30-40 cm	1.90 (11)	12.55 (75)	1.40 (8)	0.60 (4)	0.35 (2)
Pine forest					
2-5 cm	7.01 (21)	23.12 (68)	1.00 (3)	1.70 (5)	1.20 (3)
10-15 cm	3.61 (18)	14.87 (74)	0.65 (3)	0.68 (3)	0.40 (2)
20-25 cm	2.54 (16)	12.12 (76)	0.50 (3)	0.56 (4)	0.16 (1)
30-40 cm	1.04 (11)	7.55 (81)	0.29 (3)	0.51 (5)	0.03 (0)
Oak forest					
2-5 cm	7.60 (20)	24.11 (64)	1.52 (4)	1.28 (3)	3.06 (8)
10-15 cm	5.14 (20)	18.41 (70)	0.78 (3)	1.03 (4)	0.93 (3)
20-25 cm	1.81 (12)	11.93 (77)	0.65 (4)	0.47 (3)	0.60 (4)
30-40 cm	7.94 (35)	13.07 (57)	0.88 (4)	0.79 (3)	0.22 (1)

Conclusions

Land use change from holm oak forest to cereal crops in the calcareous moor studied affected soil P pools increasing orthophosphate P concentrations and P availability, as expected, due to the phosphate fertilization. However, afforestation with *Pinus halepensis* throughout the last 60 years has resulted to a phosphorus distribution like the existing under the native oak forest vegetation. The low concentration of diester P in all the studied land systems further reveals that in these calcareous soils the microbial activity is high.

References

- Abreu, M. M., & Magalhães, M. (2009). Título da secção de livro. In Exemplo de título de livro (pp. 297-344). New York: Nova Science Publishers.
- Adriano, D. (2001). Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risk of metals. New York: Springer-Verlag.
- Duarte, A., Santos, J., Diana, F., Gonçalves, J., Dias, A., & Inês, F. (2021). Exemplo de título de artigo em jornal. Soil, 25(2), 133-140. doi:10.1000/183 133-140. doi:10.1000/183
- Cade-Menun, B.J. (2017). Characterizing phosphorus forms in cropland soils with solution ^{31}P -NMR: past studies and future research needs. Chem Biol Technol Agric 4:19. doi: 10.1186/s40538-017-0098-4
- Condron LM, Turner BL, Cade-Menun BJ. Chemistry and dynamics of soil organic phosphorus. In: Sims JT, Sharpley AN, editors. Phosphorus, agriculture and the environment. Monograph no 46. Madison: Soil Science Society of America; 2005. p. 87–121.
- Makarov, M.I., Malysheva, T.I., Vladychenskii, A.S., Tseikh, V. (2002). Phosphorus Compounds in Primitive Soils on Mantle Loam under Various Phylogenoses. Eur. Soil Sci. 35 (9), 934–938.
- Martín-Sanz, R. C., Pando, V., Bueis, T., & Turrión, M. B. (2021). Influence of Soil Properties on P Pools and Its Effect on Forest Productivity in Mediterranean Calcareous Soils. Forests, 12(10), 1398.
- McDowell RW, Stewart I. The phosphorus composition of contrasting soils in pastoral, native and forest management in Otago, New Zealand: sequential extraction and ^{31}P NMR. Geoderma 2006;130:176–89.
- Murphy J, Riley JP. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural water. Anal Chem Acta 1962;27:31–6.
- Pierzynski GM, McDowell RW, Sims JT. Chemistry, cycling and potential movement of inorganic phosphorus in soils. In: Sims JT, Sharpley AN, editors. Phosphorus, agriculture and the environment. Monograph no 46. Madison: Soil Science Society of America; 2005. p. 53–86.
- Taalab, A. S., Ageeb, G. W., Siam, H. S., & Mahmoud, S. A. (2019). Some Characteristics of Calcareous soils. A review AS Taalab1, GW Ageeb2, Hanan S. Siam1 and Safaa A. Mahmoud1. Middle East J, 8(1), 96-105.
- Turner BL, Cade-Menun BJ, Condron LM, Newman S. Extraction of soil organic phosphorus. Talanta 2005;66:294–306.
- Turrión, M.B., Glaser, B., Solomon, D., Ni, A. & Zech, W. (2000). Effects of deforestation on phosphorus pools in mountain soils of the Alay range, Kyrgyzstan. Biol Fertil Soils, 31, 134-142.doi: 10.007/s003740050636
- Turrión, M.B. Lafuente, F., Aroca, M.J., López, O., Mulas, R., Ruipérez, C. (2010). Characterization of soil phosphorus in a fire-affected forest Cambisol by chemical extractions and ^{31}P -NMR spectroscopy analysis. Science of the total environment 408 (16), 3342-3348. Doi:10.1016/j.scitotenv.2010.03.035.
- Turrión, M. B., López, O., Lafuente, F., Mulas, R., Ruipérez, C., & Puyó, A. (2007). Soil phosphorus forms as quality indicators of soils under different vegetation covers. Science of the Total Environment, 378(1-2), 195-198.
- Zhu, R., Evans, T. W., Wörmer, L., Lin, Y.-S., Zhu, C., Hinrichs, K.-U. (2013): Improved sensitivity of sedimentary phospholipid analysis resulting from a novel extract cleanup strategy. Org. Geochem. 65, 46– 52.
- von Wandruszka, R. (2006) Phosphorus retention in calcareous soils and the effect of organic matter on its mobility. Geochemical Transactions, 7. Doi: 10.1186/1467-4866-7-6

Remoção de lântanio e neodímio a partir de solos empregando o processo eletrodialítico

Removal of lanthanum and neodymium from soils applying the electrokinetic process

Pires, Carolina^{1,*}, Ponte, Haroldo², Ribeiro, Alexandra¹, Ponte, Maria José³

¹ CENSE – Center for Environmental and Sustainability Research, Department of Environmental Sciences and Engineering, NOVA School of Science and Technology, NOVA University Lisbon, 2829-516, Caparica, Portugal.
cmg.pires@campus.fct.unl.pt

² Laboratory of Environmental Technology (LTA), Department of Chemical Engineering, Federal University of Paraná, Curitiba, 81530-000, Brazil

³ Laboratory of Environmental Technology (LTA), Department of Mechanical Engineering, Federal University of Paraná, Curitiba, 81530-000, Brazil

Resumo

Os elementos de terras raras são matérias-primas essenciais para o desenvolvimento da sociedade. A produção dessas espécies ocorre maioritariamente pelo processo hidrometalúrgico e por adsorção por argilas. Contudo, esses métodos de produção resultam em grandes impactos ambientais, além do elevado consumo energético. Neste sentido, a busca por tecnologias verdes para extração desses elementos torna-se imprescindível. A eletromineração é uma técnica que utiliza o processo eletrocinético, assistido por eletrólitos “verdes”, para remoção de espécies metálicas de solos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes eletrólitos na remoção de lantânia e neodímio de solos, utilizando o processo electrocinético. Para isso, foram realizadas duas experiências variando o eletrólito, a primeira com ácido cítrico e a segunda com ácido oxálico, ambos na concentração de 0.10 mol L^{-1} . As eletrominerações foram conduzidas com uma intensidade de campo elétrico de 1.0 V cm^{-1} durante 240 h, usando 300 g de solo. Os resultados indicaram que a maior remoção ocorreu quando o ácido cítrico foi usado como eletrólito, apresentando uma extração de 63,2% para o lantânia e de 34,7% para o neodímio, com consumo elétrico de 12,6 W h. Assim, a técnica de eletromineração mostrou-se viável para a remoção de elementos de terras raras do solo, com baixo consumo energético.

Palavras-chave: terras raras, eletromineração, ácidos orgânicos, remoção eco-friendly.

Abstract

Rare earth elements are critical raw materials, which are essential for the development of society. The production of these species mainly occurs via the hydrometallurgical process and ion adsorption clays. However, these processes result in high environmental impact and high energy consumption. In this sense, the search for green technologies to extract these elements becomes crucial. The electromining is a technique that applies electrokinetics using green electrolytes to assist in the removal of metallic species from soils. The aim of this work was to evaluate the effect of different electrolytes in the removal of lanthanum and neodymium from soils, applying the electromining technique. To that end, two experiments were conducted using different electrolytes, in one citric acid and in the other oxalic acid, both at a concentration of 0.10 mol L^{-1} . The electromining experiments were conducted applying an electric field strength of 1.0 V cm^{-1} for 240 h using 300 g of soil. The results showed that the higher removal occurred using citric acid, which extracted 63.2% of lanthanum and 34.7% of neodymium, with an electric consumption of 12.6 W h. In light of this view, electromining showed to be a feasible technique to remove rare earth elements from soils with low energy consumption.

Keywords: rare earth elements, electromining, organic acids, eco-friendly removal.

Introduction

Rare earth elements (REEs) are composed of 17 chemical species, which are comprised of the lanthanide series and the elements yttrium and scandium (Couto et al., 2020). These species present many important applications in green energy production and high technology areas (Balaram, 2019). In this sense, REEs are essential species for the development of a decarbonized society.

REEs reserves are available in different countries, such as China, Brazil, and Australia. However, China holds more than 90% of REEs world production, and this monopoly condition enables China to control the REEs exportation. This circumstance represents a sign of alert to the global consumers, as REEs are critical raw materials and their use is increasing (Cánovas et al., 2019; EC, 2020).

REEs extraction is mainly conducted via hydrometallurgical process or by ion adsorption clays. These techniques can achieve high levels of purity in REEs production. However, these extraction processes can result in higher energy consumption and several environmental damages (Jha et al., 2016).

Electromining is an eco-friendly electrokinetic process to remove metallic ionic species from soils (Pires et al., 2022). To that end, electrodes are arranged in a migrational cell, and due to an electric field action, cations migrate to the cathode, and anions towards the anode (Acar et al., 1995).

Considering the disadvantages of REEs production via conventional process, and also taking into account the risk of disruption of supply of these species, the use of eco-friendly techniques to remove REEs is crucial. In this sense, the aim of the present work was to evaluate the removal of lanthanum and neodymium from soils applying the electromining technique using green electrolytes in low concentrations.

Material and methods

The soil used in this work was collected from the north of Brazil. Table 1 gathers

some information about soil composition. X-ray fluorescence was performed to quantify species in higher concentrations. To quantify lanthanum (La^{3+}) and neodymium (Nd^{3+}) ions, a microwave assisted acid digestion was conducted, followed by Inductively coupled plasma (ICP-OES).

Table 1 – Soil composition

Soil composition (%)				
SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	TiO_2	Nb_2O_5
60.7	25.6	2.0	1.9	1.3
SnO_2	ZrO_2	Ta_2O_5	K_2O	MnO
1.3	0.3	0.1	0.1	0.1
REE (mg kg^{-1})				
La	Nd			
2.5	2.8			

To conduct the electromining experiments, around 300 g of soil was loaded into the migrational cell bed (Fig. 1). The titanium electrodes were located at the end of the migrational cell and were connected to the power supply (Agilent – E3645A). To monitor the anolyte and catholyte pH, pH meters (Hanna Instruments – HI1083) were inserted in the electrolyte chambers, as shown in Fig. 1. Aliquots of electrolyte solutions were collected to quantify (ICP-EOS) the extraction of La^{3+} and Nd^{3+} ions. The electric current was monitored each 24 h.

The experiments were conducted applying an electric field of 1.0 V cm^{-1} and using citric and oxalic acid as electrolytes at 0.10 mol L^{-1} (Pires et al., 2022). All solutions were prepared with ultrapure water (Direct Q – Merck Millipore).

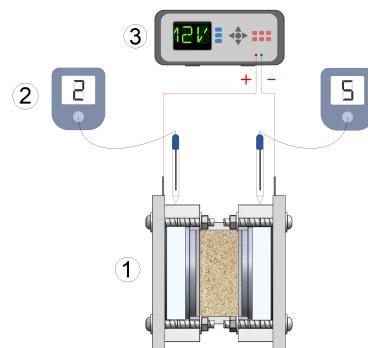


Fig. 1 – Experimental apparatus used in the electromining experiments: 1) migrational cell, 2) pH meter, 3) power supply

The energy consumption (ξ), in W h, of the electromining process was given by

$$\xi = \int_{t_0}^{t_f} E(t)i(t)dt \quad (1)$$

where E (V) represents the electric potential applied and i (A) is the electric current of the electromining process. Considering that the experiments were conducted using the potentiostatic method, $E(t)$ is constant during the experiments. The average electric current was obtained by fitting discrete current values, which were monitored every 24 h. In this sense, Eq.(1) can be rewritten as

$$\xi = E \int_{t_0}^{t_f} i(t)dt. \quad (2)$$

The electromining efficiency to the i -th species (η_i) was obtained according to

$$\eta_i = \frac{C_i V}{m_i} 100\% \quad (3)$$

where C_i (mg L⁻¹) is the concentration of the i -th species obtained at the end of experiments. V (L) is the volume of the electrolyte chambers, and m_i (mg) is the initial mass of i -th species in the soil.

Results and discussion

The electromining experiments were conducted for 240 h. Migrational flow towards the anodic chamber was not observed. Hence, all results were shown regarding catholyte. The experiment denoted by EM-01 was conducted using citric acid as electrolyte, and EM-02 was conducted with oxalic acid.

The profile of the electromining efficiency in the cathodic chamber of La³⁺ and Nd³⁺ for electromining experiments EM-01 and EM-02 are shown in Fig. 2 and Fig. 3, respectively.

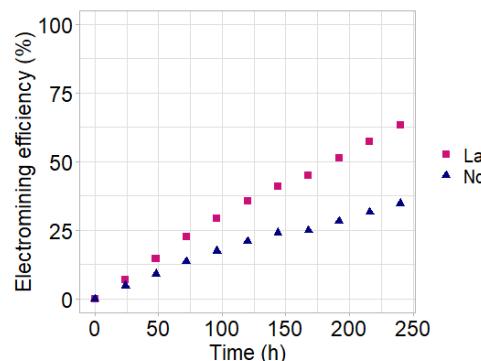


Fig. 2 – Electromining efficiency for La³⁺ and Nd³⁺ using citric acid as electrolyte (EM-01)

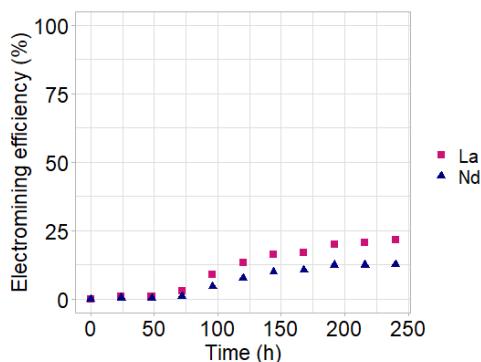


Fig. 3 – Electromining efficiency for La³⁺ and Nd³⁺ using oxalic acid as electrolyte (EM-02)

In each experiment, similar behavior of REE ions removal was observed. However, when comparing these experiments, the electrolyte effect on the electromining efficiency can be seen, as EM-01 presented removal values around 63% and EM-02 achieved values of 21% of extraction (Fig. 2 and Fig. 3), considering the 10 days of the experiments.

Table 2 – Values of electromining efficiency, energy consumption, and pH of catholyte

pKa ₁	3.15*	Citric acid	EM-01
	1.25*	Oxalic acid	EM-02
pH	1.91 ± 0.05	Anolyte	EM-01
	1.09 ± 0.06	Anolyte	EM-02
pH	2.31 ± 0.16	Catholyte	EM-01
	2.60 ± 0.89	Catholyte	EM-02
ξ (W h)	12.56		EM-01
	33.83		EM-02
η (%)	La ³⁺	Nd ³⁺	
	63.20	34.73	EM-01
	21.56	12.72	EM-02

*Pires et al., (2022)

As oxalic acid presents a higher dissociation capacity (pKa), this condition, associated with the low values of pH in the anodic chamber (Table 2), may have favored the desorption and leaching of other species from the soil. In this sense, a higher number of species immersed in the electric field can disfavor the individual migration of species (Pires et al., 2022). For this reason, citric acid presented the best electromining efficiency. Moreover, according to the removal tendency of La³⁺ and Nd³⁺ (Fig. 2), the extraction could achieve higher values if the experiment time was extended.

Concerning the energy consumption, EM-01 required 12.6 W h to remove the species (Table 2). On the other hand, EM-02 consumed almost three times more energy and presented lower removal. This behavior can be associated with the strength of the acid used (oxalic acid), which can release more species to the solution, increasing the electric current and, hence, the energy consumption.

Conclusions

This work presented an evaluation of the use of two different green electrolytes in electromining experiments. Citric acid presented the higher removal efficiencies, achieving 63.2% of La³⁺ and 34.7% of Nd³⁺ in 10 days of the experiment. Furthermore, according to its extraction tendency, the removal of REEs ions could be performed for more time, as the experiment was finished before the stabilization of REEs removal.

Acknowledgements

This study was partly financed by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001, and it has also received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No. 778045, and from FCT/MEC through grant UIDB/04085/2020 (Research unit CENSE "Center for Environmental and Sustainability Research").

References

- Acar, Y. B., Gale, R. J., Alshawabkeh, A. N., Marks, R. E., Puppala, S., Bricka, M., & Parker, R. (1995). Electrokinetic remediation: Basics and technology status. *Journal of Hazardous Materials*, 40(2), 117–137.
[https://doi.org/10.1016/0304-3894\(94\)00066-P](https://doi.org/10.1016/0304-3894(94)00066-P)
- Balaram, V. (2019). Rare earth elements: A review of applications, occurrence, exploration, analysis, recycling, and environmental impact. *Geoscience Frontiers*, 10(4), 1285–1303.
<https://doi.org/10.1016/j.gsf.2018.12.005>
- Cánovas, C. R., Chapron, S., Arrachart, G., & Pellet-Rostaing, S. (2019). Leaching of rare earth elements (REEs) and impurities from phosphogypsum: A preliminary insight for further recovery of critical raw materials. *Journal of Cleaner Production*, 219, 225–235.
<https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2019.02.104>
- Couto, N., Ferreira, A. R., Lopes, V., Peters, S., Mateus, E. P., Ribeiro, A. B., & Pamukcu, S. (2020). Electrodialytic recovery of rare earth elements from coal ashes. *Electrochimica Acta*, 359, 136934.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136934>
- EC (2020). Critical Raw Materials Resilience: Charting a Path towards greater Security and Sustainability. COM(2020) 474 final.
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52020DC0474&rom=EN>
- Jha, M. K., Kumari, A., Panda, R., Kumar, J. R., Yoo, K., & Lee, J. Y. (2016). Review on hydrometallurgical recovery of rare earth metals. *Hydrometallurgy*, 165, 2–26.
<https://doi.org/10.1016/J.HYDROMET.2016.01.035>
- Pires, C. M. G., Ribeiro, A. B., Mateus, E. P., Ponte, H. A., & Ponte, M. J. J. S. (2022). Extraction of rare earth elements via electric field assisted mining applying deep eutectic solvents. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 26, 100638.
<https://doi.org/10.1016/J.SCOP.2022.100638>

Impacto sobre el calentamiento global en la aplicación de compost de “alperujo” en los diferentes manejos del cultivo de arroz aeróbico

Impact on global warming in the application of compost "alperujo" in aerobic rice cultivation

Fernández-Rodríguez, Damián^{1*}; Peña, David²; Rato, Jose Manuel³; Martín, Carmen²; Sánchez, Jaime¹; Vicente, Luis¹; Albarrán, Ángel¹; Fangueiro, David⁴; López-Piñeiro, Antonio².

¹ Área de Producción Vegetal, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura, Ctra. de Cáceres, 06071 — Badajoz, Spain.

² Área de Edafología y Química Agrícola, Facultad de Ciencias, Universidad de Extremadura, Avda de Elvas s/n, 06071 — Badajoz, Spain.

³ Instituto Politécnico de Portalegre, Escola Superior Agrária de Elvas, Elvas, Portugal

⁴ LEAF - Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food Research Center, Associated Laboratory TERRA, Instituto Superior de Agronomía, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

*dfernández@unex.es.

Resumen

El cultivo tradicional de arroz (laboreo e inundación) es una de las fuentes antropogénicas más importantes en la emisión de gases de efecto invernadero (GEI), especialmente CH₄ y N₂O. Por tanto, es necesario desarrollar nuevas técnicas de manejo que puedan mitigar esta problemática. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de los diferentes manejos en condiciones aeróbicas; laboreo (L) y su homólogo con compost (LC), no laboreo (NL) y su homólogo con compost (NLC), sobre el balance de CO₂. Para ello, se realizó un experimento de campo con tres años de duración (2015-2017), donde se midieron, a lo largo del ciclo del cultivo, las emisiones de los GEI y los niveles de COT presente en los suelos. El potencial de calentamiento global (GWP) fue 1.19 veces superior en L con relación a NL. De manera que el balance neto entre emisiones y fijaciones en LC fue de 8.96 Mg de CO₂ ha⁻¹, siendo en L, NLC y NL de -7.37, -6.74 y -15.5 Mg de CO₂ ha⁻¹, respectivamente. Por tanto, la implantación de NL pueden ser una estrategia eficiente para contribuir a reducir el GWP y mejorar los balances netos de CO₂ en el cultivo de arroz.

Palabras clave: arroz, aeróbico, potencial de calentamiento global, agricultura de conservación, fijación CO₂.

Abstract

Traditional rice cultivation (tillage and flooding) is one of the most important anthropogenic sources of greenhouse gas (GHG) emissions, especially CH₄ and N₂O. Therefore, it is necessary to develop new management techniques that can mitigate this problem. The objective of the present work was to evaluate the effect of the different managements in aerobic conditions; tillage (T) and its counterpart with compost (TC), non-tillage (NT) and its counterpart with compost (NTC), exert on the CO₂ balance. To do this, a three-year field experiment (2015-2017) was carried out, where GHG emissions and TOC levels present in soils were measured throughout the crop cycle. The global warming potential (GWP) was 1.19 times higher in T compared to NT. So that the net balance between emissions and fixations in TC was 8.96 Mg of CO₂ ha⁻¹, being in T, NTC and NT -7.37, -6.74 and -15.5 Mg of CO₂ ha⁻¹, respectively. Therefore, the implementation of NT can be an efficient strategy to help reduce the GWP and improve the net balance of CO₂ in rice crop.

Keywords: rice, aerobic, global warming potential, conservation of agriculture, fixations CO₂.

1. Introducción

El arroz es un cultivo crucial para la seguridad alimentaria mundial. España es el segundo productor de la Unión Europea (28% del total), después de Italia (57%). Andalucía (40.000 ha) y Extremadura (22.000 ha) representan la primera y segunda región, respectivamente, con mayor superficie implantada en España (MAPA, 2022). Solamente, en ambas Comunidades Autónomas, este cultivo genera una facturación bruta anual superior a los 160 millones de euros, lo que pone de manifiesto el gran interés económico y social que representa este cultivo.

La producción de arroz también es uno de los principales contribuyentes a la emisión de gases de efecto invernadero (GEI), especialmente CH₄ y N₂O (Datta et al., 2009). Los valores registrados en la Unión Europea, para el año 2017 con respecto al CH₄ fueron de 273.898 Mg, y sólo en España se produjeron 54.232 Mg de este gas, producido en gran parte, bajo las condiciones anaerobias presentes en los campos de arroz inundados (FAOSTAT, 2020).

Cada año se producen en la región mediterránea unos 9,53 millones de m³ de alperujo (TPOW), este subproducto de la aceituna constituye un grave problema para la industria del aceite de oliva. Por lo que se requieren nuevas alternativas para la adecuada disposición o reciclaje de TPOW (López-Piñeiro et al., 2011a; Marks et al., 2021). La utilización de nuevas técnicas de manejo en el cultivo del arroz y la utilización de compost de TPOW sería una estrategia para mitigar la perdida de carbono de los suelos. En este sentido, la implantación de arroz aeróbico (sin inundación), con técnicas de agricultura de conservación (no laboreo), se ha propuesto como una técnica de manejo eficiente que puede garantizar la sostenibilidad de este cultivo (Fangueiro et al., 2017). Por ello, el objetivo global de este trabajo fue determinar los efectos que la aplicación de compost de TPOW en cultivos de arroz, sometidos a diferentes manejos, ejerce sobre una posible fijación de CO₂ y en el

potencial de calentamiento global, y por tanto, sobre el balance neto de CO₂.

2. Materiales y Métodos

Se realizó un ensayo de campo en una de las principales zonas arroceras de Extremadura, en las Vegas del Guadiana, dentro del término municipal de Gévora del Caudillo (Badajoz, España). Se seleccionaron cuatro tratamientos con riego por aspersión: Laboreo (L), Laboreo con Compost (LC), No Laboreo (NL), y No Laboreo con Compost (NLC). Todos los tratamientos se realizaron por triplicado, de forma que se obtuvieron 12 subparcelas de 180 m² de superficie cada una de ellas. La antigüedad de implantación de los tratamientos es de tres años. La aplicación de compost de TPOW se realizó solo el primer año a una dosis de 80.000 kg ha⁻¹ en los tratamientos correspondientes.

Las subparcelas fueron separadas entre sí por un pasillo de 2 m de ancho, la aplicación de agua fue a través de aspersores colocados equitativamente para aplicar el agua a través de boquillas que emitían un caudal de 11 L min⁻¹, cumpliendo con las necesidades de Evapotranspiración del cultivo diarias (ETc). La variedad de arroz (*Oryza sativa* L.) utilizada fue Gladio, especie índica muy extendida en la zona arrocera de Extremadura. Antes del comienzo de la siembra de arroz los tratamientos L y LC fueron arados. Previo a la siembra, se realizó un abonado de fondo a una dosis de 550 kg ha⁻¹ con abono complejo 9-18-27. Luego, atendiendo a las necesidades del cultivo, todos los manejos recibieron dos aplicaciones de N (46 % urea) a razón de 200 kg ha⁻¹, en su conjunto. Se tomaron muestras de suelo de 0-10 cm de profundidad tras la cosecha del cultivo (octubre), determinando en laboratorio el contenido en Carbono Orgánico Total (COT) por el método de oxidación en húmedo (Nelson & Sommers, 1996).

Desde el inicio de cada campaña agrícola y previo a la ejecución de las labores culturales, se colocaron campanas estáticas para medir la emisión de GEI

(N_2O , CH_4 y CO_2). Para ello, se utilizaron cámaras cerradas y estáticas de polietileno de alta densidad de 40 cm de diámetro y 30 cm de altura. Se colocaron 6 cámaras por tratamientos (2 por subparcelas). Las muestras de gases fueron analizadas con un detector selectivo de masas (MS) modelo 5973 de Agilent (USA). Los flujos de las emisiones de CO_2 , N_2O y CH_4 fueron determinados a partir del incremento lineal de la concentración de gas en cada muestreo (0 y 30 minutos).

El balance neto de $\text{CO}_2 \text{ Mg ha}^{-1}$ se calculó como la diferencia entre el potencial de calentamiento global ($\text{Mg CO}_2 \text{ eq ha}^{-1}$) y la estimación de fijación de $\text{CO}_2 \text{ Mg ha}^{-1}$.

3. Resultados y Discusión

En el tercer año de estudio, los mayores valores de GWP se registraron en el tratamiento LC (Tabla 1). De manera, que con respecto al tratamiento labrado con compost (LC) se produce un descenso del GWP de más del 35% en NL y de más del 20% en NLC. Por lo tanto, con riego por aspersión y especialmente cuando se combina con un sistema de agricultura de conservación (NL) se producen descensos significativos en el GWP. Resultados similares fueron descritos por Fangueiro et al. (2017) quienes observaron que el no laboreo, comparado con el laboreo convencional bajo técnicas de aspersión, redujo el GWP alrededor de un 30-35%.

Tabla 1 – Efecto de los diferentes tratamientos sobre el GWP ($\text{Mg CO}_2 \text{ eq ha}^{-1}$).

Tratamientos	Año 2017
NL	19,9a
NLC	24,0ab
L	23,7ab
LC	31,1b

El primer año de estudio, el contenido en COT de media para los tratamientos NL y L fue de $8,09 \text{ g kg}^{-1}$, para la profundidad de 0-10 cm, tratándose de un valor bajo como es característico de los suelos agrícolas de ambiente mediterráneo. Valores similares fueron observados por Sánchez-Llerena

(2014) también en suelos dedicados al cultivo del arroz. Sin embargo, la aplicación de compost elevó a $17,8 \text{ g kg}^{-1}$ de media los valores de COT. Siendo similares los valores obtenidos por Peña et al. (2022). Transcurridos tres años de estudio, el manejo que incorpora técnicas de agricultura de conservación (NL), dejó evidencias claras sobre el aumento del COT con el paso del tiempo, lo que originó una mayor estimación en la fijación de CO_2 en el suelo ($35,5 \text{ Mg CO}_2 \text{ ha}^{-1}$). Por tanto, el manejo NL presenta un balance neto entre las emisiones y la estimación en la fijación de CO_2 de $-15,5 \text{ Mg CO}_2 \text{ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. Con respecto al manejo L, dicho balance es de $-7,37 \text{ Mg CO}_2 \text{ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. Este hecho evidencia que el riego por aspersión, especialmente combinado con la técnica de agricultura de conservación (NL), produce mayor fijación del CO_2 en el suelo con respecto a lo que se emite. Sin embargo, en el tratamiento que combina el laboreo con la aplicación de compost, produce un balance neto positivo de $8,96 \text{ Mg de CO}_2 \text{ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, indicando como con este sistema las emisiones superan a las estimaciones en la fijación de CO_2 , haciendo que este sistema no sea sostenible desde el punto de vista relacionado con el calentamiento global.

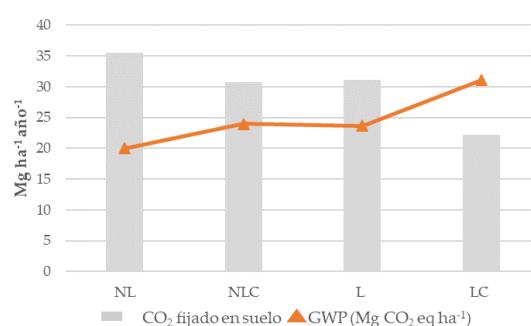


Fig. 1. Efecto de los diferentes sistemas de manejo en la fijación y balance neto de CO_2 .

4. Conclusiones

La implantación de sistemas de producción de arroz aeróbico, en combinación con técnicas de agricultura de conservación (NL), produce una mayor fijación de CO_2 en referencia a lo observado en el resto de los tratamientos. Mientras que en el sistema NL se estima una

fijación de 35,5 Mg CO₂ ha⁻¹, en L y LC es de 31,1 y 22,1 Mg CO₂ ha⁻¹, respectivamente. Además, transcurridos tres años desde su implantación, es también bajo el sistema NL donde se obtienen los menores valores de potencial de calentamiento global (19,9 Mg CO₂ eq ha⁻¹ año⁻¹) frente a los 23,7 y 31,1 Mg CO₂ eq ha⁻¹ año⁻¹, obtenidos en los tratamientos L y LC, respectivamente. Por tanto, el manejo NL en combinación con riego por aspersión podría ser considerado como una estrategia eficiente para contribuir a reducir el potencial de calentamiento global y mejorar los balances netos de CO₂ en el cultivo del arroz.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Extremadura (GR21038 e IB16075) y el proyecto RTI2018-095461-B-I00 que ha sido financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por "FEDER Una forma de hacer Europa". También recibió apoyos por parte de la Fundación Portuguesa para la Ciencia y la Tecnología (UIDB/05064/2020). Carmen Martín y Jaime Sánchez Terrón son beneficiarios de una beca otorgada por la Consejería de Economía, Comercio e Innovación de la Junta de Extremadura cofinanciando "FSE Una forma de hacer Europa" (PD16021; PD18026; PD18025). Damián Fernández es beneficiario de una ayuda para fomentar la contratación de personal de apoyo a la investigación, otorgada por la SEXPE de la Junta de Extremadura, con la cofinanciación del "FSE Invierte en tu futuro" (TE-0042-18).

5. Referencias

- Datta, A., Nayak, D.R., Sinhababu, D.P., Adhya, T.K. (2009). Methane and nitrous oxide emissions from an integrated rainfed rice-fish farming system of Eastern India. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 129, 228-237.
- Fangueiro, D., Becerra, D., Albarrán, A., Peña, D., Sanchez-Llerena, J., Rato-Nunes, J.M., López-Piñeiro, A. (2017). Effect of tillage and water management on GHG emissions from Mediterranean rice growing ecosystems. *Atmospheric Environment*. 150: 303-312.
- FAOSTAT (2020). Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/GT>. Consultado 13/01/2020.
- Guo, L., Shen, J., Li, B., Li, Q., Wang, C., Guan, Y., D'Acqui, L.P., Luo, Y., Tao, Q., Xu, Q., Li, H.d., Yang, J., Tang, X. (2020). Impacts of agricultural land use change on soil aggregate stability and physical protection of organic C. *Science of the Total Environment*. 707: 136049.
- López-Piñeiro, A., Albarrán, A., Rato Nunes, J.M., Peña, D., Cabrera, D. (2011a). Long-term impacts of de-oiled two-phase olive mill waste on soil chemical properties, enzyme activities and productivity in an olive grove. *Soil and Tillage Research*. 114, 175-182.
- MAPA, 2021. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación.
- Marks, E., Akrotir, H., Kinigopoulou, V., Doulgeris, C., Jellali, S., Rad, C., Zulueta, P.S., Tziritis, E., El-Bassi, L., Jeguirim, M. (2021). Olive Mill Wastes in the Mediterranean: An Initial Assessment of Organic Matter and Nutrients of Agricultural Value. *Environmental Science and Engineering*.
- Nelson, D.W., Sommers, L.E. (1996). Total carbon, organic carbon and organic matter. In: D.L. Sparks, A.L. Page, P.A. Helmke, R.H. Loepert, P.N. Soltanpour, M.A. Tabatabai, C.T. Johnston, M.E. Sumner (Eds.), *Methods of Soil Analysis*, Part 3: Chemical Methods, SSSA Book Ser.5 SSSA, Madison, WI, pp: 961–1010.
- OMM. Organización Meteorológica Mundial. 2019.
- Peña, D.; Fernández, D.; Albarrán, A.; Gómez, S.; Martín, C.; Sánchez-Terrón, J.; Vicente, L.; López-Piñeiro, A (2022) Using olive mill waste compost with sprinkler irrigation as a strategy to achieve sustainable rice cropping under Mediterranean conditions. *Agronomy for Sustainable Development*.
- Sánchez-Llerena, J. (2014). Cultivo de arroz aeróbico aplicando técnicas de agricultura de conservación en las vegas del Guadiana: Efectos en parámetros agronómicos y dinámica de los herbicidas bispyribac-sodio y bensulfuron-metil. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra. Extremadura, España.
- Zhang, A., Cui, L., Pan, G., Li, L., Hussain, Q., Zhang, X., Zheng, J., Crowley, D. (2010). Effect of biochar amendment on yield and methane and nitrous oxide emissions from a rice paddy from Tai Lake plain, China. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 139: 469-475.

Efeito de condicionadores à base de bagaço de azeitona na estabilidade da agregação do solo: resultados preliminares de ensaio à micro-escala

Effect of olive-pomace based conditioners on soil aggregation stability: preliminary results from a micro-scale experiment

Royer, Ana Caroline^{1,2*}; Silvestre, Laura Martins^{1,3}; Figueiredo, Daniel⁴; Figueiredo, Tomás de¹; Baldo, Maria Cleide³; Fonseca, Felícia¹; Hernández, Zulimar⁴.

¹ Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

² Universidade da Coruña, Grupo AQUATERRA, Centro de Investigacións Científicas Avanzadas (CICA), Rúa As Carballeiras, 15071, A Coruña, España

³ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Campo Mourão - Paraná, Brasil.

⁴ Ambiente de Montanha e Gestão de Ecossistemas, MORE CoLab – Laboratorio Colaborativo Montanhas de Investigação, Edifício Brigantia Ecopark, Av. Cidade de Léon 506, 5300-358 Bragança, Portugal

*ana.royer@udc.es

Resumo

A aplicação de condicionadores ao solo visa o reforço da estabilidade da agregação (EA) e da sua resistência à erosão. O bagaço de azeitona (BA) húmido, proveniente da produção de azeite em duas fases, pode ser utilizado na compostagem e obtenção de condicionadores orgânicos (CBA). O trabalho tem como objetivo apresentar resultados de ensaio experimental realizado para avaliar a influência de CBA na EA. O ensaio comportou dois solos de potencialmente distinto grau de agregação (1, franco-limoso; 2, franco-argiloso), nos quais se aplicaram três CBA, em três doses. Amostras de agregados (1-2 mm) foram misturadas com condicionador moído (<0,75 mm), submetidas a ciclos diários de humedecimento e secagem, e coletadas em 5 momentos ao longo do período experimental de 30 dias. A EA foi determinada por agitação e crivagem em húmido. Confirmou-se a hipótese de o solo 2 possuir EA significativamente superior à do solo 1. Neste, a adição dos condicionadores aumentou significativamente a proporção de agregados estáveis relativamente ao solo original, em todas as dosagens, o que não se verificou no solo 2. A incorporação de CBA em solos cultivados com olival, contribuindo para a economia circular, melhora a proteção do solo pelo incremento de agregados estáveis.

Palavras-chave: agregados estáveis em água, estrutura do solo, compostagem, bagaço de azeitona húmido.

Abstract

The application of soil conditioners aims to reinforce aggregate stability (AS) and soil resistance to erosion. The wet olive pomace (OP), from olive oil production in two phases, can be used in composting and obtaining organic conditioners (OPC). The objective of this work is to present the results of an experiment carried out to evaluate the influence of OPC on AS. The experiment involved two soils of potentially different degrees of aggregation (1, silt loam; 2, clay loam), in which three OPC were applied, in three doses. Aggregate samples (1-2 mm) were mixed with conditioner (<0.75 mm), subjected to daily cycles of wetting and drying, and collected at 5 moments along the 30-day experimental period. AS was determined by shaking and wet sieving. The hypothesis that soil 2 has a significantly higher AS than soil 1 was confirmed. In this, the addition of conditioners significantly increased the proportion of stable aggregates as compared to the original soil, at all dosages, which was not observed in soil 2. The incorporation of OPC in soils cultivated with olive groves, contributing to the circular economy, improves soil protection by increasing stable aggregates.

Keywords: water-stable aggregates, soil structure, composting, wet olive pomace.

Introdução

A agregação corresponde ao arranjo a diferentes escalas dos agregados do solo, os quais agrupam partículas primárias em resultado de diversas forças, como as de coesão (Six et al., 2004). A qualidade da estrutura do solo associa-se em regra à proporção dos macroagregados presentes e à sua estabilidade, já que ambas favorecem arejamento, infiltração e retenção de água e nutrientes (Freitas, 2018).

O bagaço proveniente da produção de azeite em duas fases possui humidade superior a 60%, o que constitui limitação importante à sua valorização. Todavia, poderá utilizar-se na produção de composto para aplicações em áreas agrícolas como corretivo orgânico (Coelho et al., 2009; Hernández et al., 2021).

A incorporação de compostos orgânicos conduz também a mudanças na agregação, convertendo-os deste modo em condicionadores do solo. A aplicação de composto pode ocasionar aumento significativo da fração de macroagregados do solo (Ma et al., 2019; Sodhi et al., 2009).

O trabalho tem como objetivo apresentar resultados de ensaio experimental realizado para avaliar a influência de condicionador de bagaço de azeitona (CBA) na estabilidade de agregados (EA).

Material e métodos

O delineamento experimental comportou dois solos com distinto grau de agregação. O Leptossolo éutrigo de xistos (FAO/UNESCO, 1988), antropizado e de textura franco-limosa, proveio de olival localizado em Mirandela (Solo 1). O Solo 2, com textura franco-argilosa e classificado como Fluvissolo éutrigo de aluvião (Santos et al., 2020; legenda FAO/UNESCO, 1998), foi coletado em parcela de milho localizada na Quinta do Poulão, Bragança.

Para o ensaio, com delineamento fatorial completo, foram tomados 100g por tratamento de agregados entre 1 e 2 mm. Foram testados 3 condicionadores (A, B, C) à base de bagaço de azeitona (CBA), em três distintas doses, múltiplas da dose

de aplicação recomendada ($d_1 = 10\text{ t/ha}$, $d_2 = 20\text{ t/ha}$, $d_3 = 40\text{ t/ha}$, sendo $d_0 = 0\text{ t/ha}$, controle ou solo original). Os condicionadores foram obtidos por compostagem de misturas de BA com uma fonte de azoto (FN) e um agente estruturante (AE), nas seguintes proporções volumétricas (BA: FN: AE), A = 4:1:8, B = 4:1:4, C = 4:8:4 (projeto BIOMA). Face à escala reduzida da experiência, os CBA foram incorporados na forma moída, passando um crivo de 0,75 mm de malha. O solo original e as misturas foram submetidas a 30 ciclos de humedecimento e secagem (1 ciclo = 24h) (Fig. 1). Com o intuito de avaliar a evolução ao longo do tempo do efeito dos tratamentos, amostras dos agregados foram coletadas nos dias 3, 6, 10, 20 e 30 do período de ensaio.



Fig. 1 – Dispositivo experimental para simulação de humedecimento e secagem das amostras.

A determinação laboratorial da estabilidade de agregados foi realizada por crivagem em húmido (*wet sieving*) em equipamento gerador de movimentos verticais cíclicos de agregados imersos sucessivamente em água destilada e em solução de hexametafosfato de sódio (Fig. 2). A malha dos crivos utilizados (0,25 mm) corresponde ao limite distintivo de macro e microagregados (Six et al., 2004).



Fig. 2 – Equipamento de agitação e crivagem em húmido de amostras para determinação da Estabilidade da Agregação.

As determinações foram realizadas em subamostras de 4 g para 100 ml de água

destilada e de solução de hexametafosfato de sódio, com 4 repetições por colheita e tratamento (representando combinações de solo, condicionador e dose). O aparelho provoca dispersão progressiva dos agregados colocados no crivo imerso, sendo avaliada a proporção em peso dos agregados estáveis após 3 min de agitação em água destilada e das partículas primárias após 9 min de agitação em solução dispersante (Freitas, 2018).

Os valores obtidos (massa seca a 105°C) foram utilizados para calcular a proporção de agregados estáveis (EA) (Eq.1) e de partículas primárias (PP) (Eq.2).

$$EA (\%) = \frac{Pfs}{PfH2O+Pfs} \quad (\text{Eq.1})$$

$$PP (\%) = \frac{Pi - (PfH2O + Pfs)}{Pi} \quad (\text{Eq.2})$$

Onde:

Pfs – Peso final seco (g) da fração <0,25 mm após agitação na solução dispersante;

Pf_{H2O} – Peso final seco (g) da fração <0,25 mm após agitação em água destilada;

Pi – Peso seco (g) da amostra colocada no crivo, calculado com a % Humididade determinada na amostra inicial.

As hipóteses de diferenças na EA no solo tratado e ao longo do tempo foram testadas por meio de Anova a dois fatores (solo e tempo), assim como os efeitos do condicionador e da dose. Quando aplicável, foi usado o teste LSD de separação de médias.

Resultados e discussões

A hipótese de distinta estabilidade da agregação à partida nos dois solos foi confirmada, sendo que o solo 2 revelou EA significativamente superior ao solo 1 (Fig. 3). Para o indicador PP, verifica-se o mesmo padrão, com uma diferença ainda mais pronunciada entre os dois solos.

A diferença na EA *a priori* pode ser associada ao material parental e composição granulométrica e mineralógica de cada um dos solos. Considerando apenas a classe textural, o solo 1 apresenta maiores teores de areia fina e limo e o solo 2 maior teor de argila. Pelo seu caráter coloidal, esta é essencial para a formação de agregados estáveis.

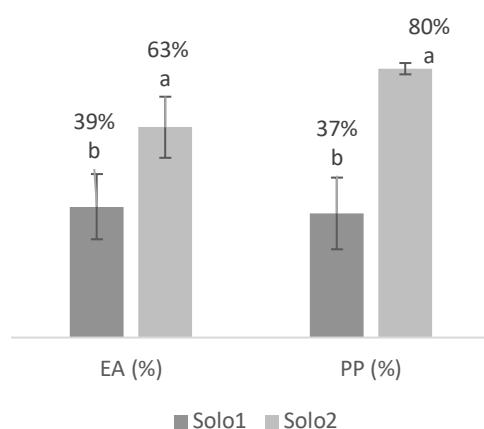


Fig. 3 – Estabilidade da agregação (EA, %) e partículas primárias (PP, %) nos solos 1 e 2, sem condicionador (em cada parâmetro, letras diferentes seguem-se a médias significativamente diferentes, $p<0,05$).

O efeito da adição dos condicionadores foi confirmado no solo 1 (Fig. 4.). A adição dos condicionadores, indiferentemente da dose, provocou um aumento significativo na EA. O mesmo não foi verificado para o solo 2, onde as diferenças entre as médias de EA no solo original (63 ± 9%) e nos tratamentos com os condicionadores A (54 ± 8%), B (55 ± 5%) e C (59 ± 6%) não se revelaram significativas.

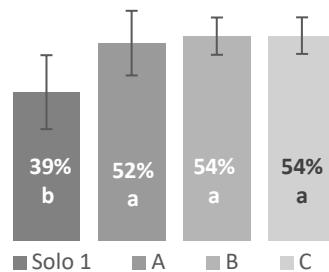


Fig. 4. Estabilidade da agregação (EA, %) do solo 1, sem e com adição dos condicionadores A, B e C (letras diferentes seguem-se a médias significativamente diferentes, teste LSD, $p<0,05$).

Ao testar o efeito combinado condicionador x dose, o fator dose revelou-se significativo para ambos os solos, enquanto os condicionadores não tiveram efeito significativo. Na Fig. 5 observa-se o incremento de EA no solo 1 nas doses D1, D2 e D3 relativamente a D0 (solo sem CBA). Embora EA seja inferior na maior dose (D3), a diferença não é significativa perante as demais doses testadas. O solo 1 tem à partida uma EA baixa e a adição do condicionador (que evolui no solo no sentido de aumentar a fração coloidal

presente) pode permitir ligações promotoras da formação de agregados estáveis.

Solo 1 ■ D0 ■ D1 ■ D2 ■ D3

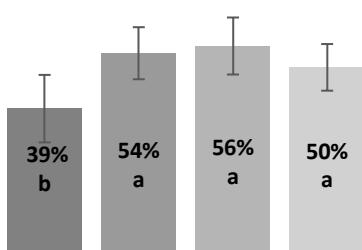


Fig. 5. Estabilidade da agregação (EA, %) para as diferentes doses de condicionador (D), aplicadas no solo 1. (letras diferentes seguem-se a médias significativamente diferentes, teste LSD, $p<0,05$).

No solo 2, o efeito dose também é significativo (Fig. 6), embora com comportamento distinto do solo 1.

Solo 2 ■ D0 ■ D1 ■ D2 ■ D3

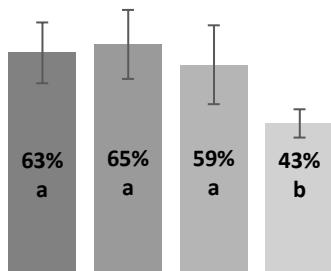


Fig. 6. Estabilidade de agregados para as diferentes doses no solo 2 (letras diferentes seguem-se a médias significativamente diferentes, teste LSD, $p<0,05$).

A dose 3 resulta em uma EA significativamente inferior à das demais doses, inclusive à do solo sem condicionador (D0). A elevada PP no solo 2 contribui à partida para a criação de zonas de descontinuidade e rotura potencial na matriz mineral do solo. Tendo em conta o curto tempo de evolução do condicionador no solo, a proporção de material orgânico particulado poderá ser considerável na dose máxima (D3), o que acrescenta zonas de descontinuidade às já derivadas da presença abundante de PP. Este efeito começa a manifestar-se em D2 no solo 2, mas apenas e não significativamente em D3 no solo 1, com muito menor proporção de PP que o solo 1.

Conclusões

A adição de condicionadores produzidos com base em bagaço de azeitona influencia a estabilidade da agregação do solo, embora os três tipos testados não tenham mostrado diferenças significativas entre si quanto a EA. Pelo contrário, a dose de aplicação interfere significativamente na formação de agregados estáveis. A incorporação destes condicionadores em solos cultivados com olival pode promover agregados estáveis, assim contribuindo para a proteção do solo e, por outro lado, para a economia circular, já que incorpora matéria-prima originada na cadeia oleícola.

Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte do projeto BIOMA (POCI-01-0247-FEDER-046112) e do programa de dupla diplomação entre a Universidade Tecnológica Federal do Paraná e o Instituto Politécnico de Bragança.

Referências bibliográficas

- Coelho, L.; et al. (2009). Valorização do bagaço de azeitona por compostagem, para utilização agrícola. V simpósio nacional de olivicultura. Escola Superior Agrária de Santarém. Santarém/Portugal.
- FAO/UNESCO. (1988). Soil Map of the World, Revised Legend. Rome: FAO.
- Freitas, D. A. (2018). Estabilidade da agregação em áreas ardidas e não ardidas no nordeste de Portugal: um importante indicador da qualidade do solo (Master's thesis, Instituto Politécnico de Bragança).
- Hernández, Z., Figueiredo, D., Royer, A. C., Madeira, F., Figueiredo, T. d. (2021). Otimização do processo industrial de compostagem de bagaço de azeitona no nordeste de Portugal. 9º Simpósio Nacional de Olivicultura INIAV, Oeiras, Portugal, 8 p. (Aceite).
- Ma, J.; et al. (2019). Traditional Chinese medicine residue act as a better fertilizer for improving soil aggregation and crop yields than manure. Soil & Tillage Research, 195, 0167-1987.
- Santos, Renecleide; Figueiredo, Tomás de; Fonseca, Felícia; Costa, Oldair; Pereira, Kayque; Rodrigues, João (2020). Efeito de mobilizações com tração animal em propriedades físicas do solo. Revista de Ciências Agrárias., 43:3, p. 255-265.
- Six, J.; Bossuyt, H.; Degryze, S.; Denef, K. A History of Research on the Link between (Micro)Aggregates, Soil Biota, and Soil Organic Matter Dynamics. Soil Tillage Res. 2004, 79, 7–31.
- Sodhi, G. P. S.; Beri, V., Bendi, D. K. (2009). Soil aggregation and distribution of carbon and nitrogen in different fractions under long-term application of compost in rice-wheat system. Soil & Tillage Research, 103, 0167-1987.

Efectos de la aplicación de biochar de alperujo como enmienda en suelos de olivar superintensivo

Application of olive pomace biochar as soil amendment for intensive olive crops

De la Rosa, José. M.^{1*}; Miller, Ana Z.¹; González-Pérez, José A.¹; Campos, Paloma²

¹ MOSS group, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC), Reina Mercedes, Av. 10, 41012, Seville, Spain;

² Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola, University of Seville, Prof. García González, 1, 41012, Seville, Spain.

* jmrosa@irnase.csic.es

Resumen

La agroindustria del aceite de oliva es un importante sector económico en los países mediterráneos, cuya producción va acompañada de la generación de enormes cantidades de residuos orgánicos. La reciente proliferación de olivares superintensivos, más rentables, genera una mayor demanda de agua para riego y está aumentando la producción de estos residuos. La conversión de los residuos de almazara en biochar mediante pirólisis, para su posterior uso como enmienda orgánica en suelos de olivar superintensivo, podría contribuir a solucionar ambos problemas, ya que el biochar tiene una alta porosidad y contenido en carbono orgánico de alta estabilidad. Sin embargo, los efectos de su aplicación en las propiedades del suelo y en la fisiología del olivo no son bien conocidos. Este estudio aborda los efectos de la aplicación de biochar de alperujo de almazara, de compost vegetal (enmienda orgánica tradicional) y de la mezcla de ambos sobre las propiedades de un suelo (Xerochrept) y en la fisiología de olivos de " arbequina ". Esta plantación de olivar superintensivo y riego deficitario está situada en la estación experimental del IRNAS-CSIC "La Hampa" (Coria del Río, Sevilla, España). Tanto el biochar como el compost redujeron la resistencia a la penetración e incrementaron el contenido en Carbono orgánico y la humedad del suelo. La aplicación de biochar resultó más eficaz para aumentar la capacidad de retención de agua y la humedad del suelo y el estatus hídrico de los olivos en la fase anterior a la cosecha sin incrementar las tasas de respiración (emisión de CO₂) del suelo.

Palabras clave: sostenibilidad, materia orgánica, propiedades hídricas, fisiología vegetal, economía circular

Abstract

The olive oil agro-industry is an important economic sector in Mediterranean countries, whose production is accompanied by the generation of huge quantities of organic waste. The recent proliferation of super-intensive olive groves, more profitable, generates a greater demand of water for irrigation and is increasing the production of organic waste. The conversion of these olive mill wastes into biochar by pyrolysis, for subsequent use as an organic amendment in super-intensive olive grove soils, could contribute to solving both problems, since biochar has a high porosity and a highly stable organic carbon content. Nevertheless, the effects of its application on soils properties and plant physiology are still not well known. This study addresses the effects of the application of olive mill pomace (*alperujo*) biochar, 100% vegetable compost (traditionally used organic amendment) and the mix of both organic amendments on the properties of a Xerochrept soil and on the physiology of "arbequina" olive trees". The super-intensive olive trees plantation, with irrigation deficit, is located in the IRNAS-CSIC field station "La Hampa" (Coria del Rio, Seville, Spain). Both biochar and compost reduced soil penetration resistance and increased soil organic Carbon and moisture content. However, the application of biochar was more effective than the addition of green compost or the compost+biochar mixture in increasing soil moisture. Biochar application improved soil physical properties and plant water status at the pre-harvest phase without increasing soil respiration (CO₂ emission) rates.

Keywords: sustainability, organic matter, water properties, plant physiology, circular economy

Introdução / Introducción

España, con más de 2,5 millones de hectáreas dedicadas al cultivo del olivar (28% de ellas de regadío; MAPA), es hoy el primer productor y exportador mundial de aceite de oliva (Vilar y Cárdenas, 2012). En los últimos años, para evitar las fluctuaciones interanuales de la productividad y garantizar la rentabilidad, el cultivo intensivo y superintensivo del olivo se ha ido extendiendo en la Península Ibérica y se plantan hasta 600 y 2000 olivos por hectárea, respectivamente. En ambos casos es posible la recolección automática, pero es necesario el riego controlado, generalmente por goteo. Sin embargo, el clima semiárido de la región mediterránea limitará el desarrollo de los cultivos intensivos de olivo, que requieren riego.

Otro de los problemas a los que se enfrenta el sector olivarero es la generación de una enorme cantidad de residuos orgánicos. La valorización y reciclado de estos residuos agrícolas para su uso como sustratos o enmiendas del suelo promueve la economía de KM0 y sostenible. Una de las enmiendas orgánicas desarrolladas durante la última década para su uso en suelos degradados es el biochar, producto sólido aromático muy poroso resultante de la pirólisis o calentamiento en ausencia de oxígeno de biomasa residual (De la Rosa et al., 2014). Numerosos estudios promueven su aplicación y han plasmado los efectos beneficiosos en la mejora de las propiedades físicas de los suelos, destacando su porosidad y su capacidad de mejorar la estructura de suelos degradados (Campos et al., 2020a). Sin embargo, los resultados varían enormemente según la naturaleza del biochar y las condiciones de producción (Campos et al., 2020b), y la mayoría de los ensayos exitosos han sido realizados en condiciones controladas, para suelos ácidos, de textura gruesa o en climas húmedos (Jeffrey et al., 2011) y por tanto aún existe incertidumbre sobre su eficacia en condiciones de clima mediterráneo. Para que el biochar producido a partir de restos de almazara pueda convertirse en una solución real de reciclado de estos residuos es necesario:

- Conocer los efectos de su aplicación en la composición y las propiedades del suelo, especialmente propiedades hídricas, y compararlo con los efectos de la aplicación de enmiendas tradicionalmente usadas como es el compost, en olivares superintensivos de clima mediterráneo.
- Evaluar el efecto de la enmienda en la respuesta fisiológica del cultivo, con el objetivo de conseguir un uso más eficiente del agua (Hernández-Santana et al., 2016).
- Abordar el efecto de la enmienda en la emisión de CO₂, uno de los gases de efecto invernadero. Estos tres aspectos constituyen los objetivos de este trabajo.

Material e métodos / Materiales y métodos

Enmiendas orgánicas

El biochar se produjo a partir de orujo o alperujo de oliva seco (en adelante denominado biochar; B) en el reactor de Carboliva S.L. (Puente del Obispo, España) mediante pirólisis a 500 °C con un tiempo de residencia de 15 minutos. B tiene un pH de 9,7, una capacidad de retención de agua del 100%, un contenido de carbono y nitrógeno del 75% y del 1%, respectivamente, y una conductividad eléctrica de 14.000 µS cm⁻¹. El compost vegetal (CP) fue elaborado por Fertilizantes Orgánicos Melguizo S.L. (Los Palacios y Villafranca, España) a partir de una mezcla de restos de poda y virutas de madera de pino reciclada. Posee un pH de 7 y su contenido en Carbono y Nitrógeno es de 41% y 2% respectivamente.

Experimento de campo

Las parcelas experimentales se ubicaron en la finca experimental del IRNAS-CSIC "La Hampa", situada en el municipio de Coria del Río (Sevilla, España). Esta zona posee un clima típicamente mediterráneo, con inviernos suaves y veranos secos y episodios de lluvia concentrados durante el otoño y la primavera. Las temperaturas medias mínimas y máximas del aire en la zona son de 12 °C y 26 °C, respectivamente. La precipitación media anual fue de 496 mm para el periodo 2015-2020, y de 442 mm durante el año 2021. El

suelo de las parcelas en estudio consiste en una marga arenosa (*Xerochrept*), mientras que los olivos son arbequinos (*Olea europaea L.*) de 6 años de edad plantados en líneas a 4 m × 1,5 m (1667 árboles ha⁻¹) irrigados con un 30% de riego deficitario regulado. Se establecieron cuatro tratamientos diferentes que consistieron en: parcelas control sin enmienda (C; control), B con una dosis de 40 t ha⁻¹ de biochar, CP con una dosis de 40 t ha⁻¹, y CP+B (20 t ha⁻¹ de cada uno). En todos los casos la enmienda orgánica se mezcló con los primeros 5 cm de suelo. Cada tratamiento se aplicó por fila completa de 24 árboles. Se tomaron periódicamente muestras de suelo de 0 a 5 cm, de 5 a 10 cm y de 10 a 20 cm de profundidad con una barrena manual para cada tratamiento en los días del año (D) 78, 92, 114, 122, 150, 213, 222, 249, 256, 256, 296 y 1 año+51 días.

Determinación de propiedades y composición de los suelos

El contenido de carbono total (C) y nitrógeno total (N) de B, CP y de los suelos se determinó por combustión en un analizador elemental (Thermo Instruments, Bremen, Alemania). El pH y la conductividad eléctrica se midieron en una mezcla 1:10 de muestra: agua destilada (p/p). La humedad de los suelos se determinó por diferencia de peso después de secar las muestras a 40 °C durante 48 h. La humedad del suelo también se midió *in situ* de manera periódica con una sonda EUROTECH PMS710, mientras que la resistencia a la penetrabilidad del suelo se midió con un penetrómetro FT327 (QA Supplies LLC).

Para cada tipo de tratamiento se instalaron 10 cilindros de PVC (10 cm de diámetro y 5 cm de altura) para medir la tasa de respiración del suelo (descomposición de la materia orgánica por los microorganismos y la respiración de las raíces del suelo) que se expresó como $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Además, a mediodía de los días 251, 287, 334 y 418 se determinó por triplicado la tasa de fotosíntesis neta (AN), la conductancia estomática (gs) y la tasa máxima de transporte de electrones

(ETRmax) en 2 hojas maduras sin lesiones del lado sur de cuatro árboles por tratamiento por el servicio de Ecofisiología Vegetal del IRNAS.

Todos los datos se expresan como la media de mediciones por triplicado.

Resultados e discussão / Resultados y discusión

La aplicación de cualquiera de las enmiendas orgánicas incrementó de manera significativa el contenido en carbono y la humedad de la fracción superior del suelo (0-5 cm). Además, los tres tratamientos con enmiendas, especialmente el biochar, redujeron la resistencia a la penetrabilidad, reduciendo la compactación del suelo y permitiendo el aumento de la humedad, con un suministro de agua similar. Este resultado fue especialmente pronunciado en los análisis realizados durante el mes de octubre (días previos a la cosecha). Ninguno de los tratamientos afectó de manera significativa al contenido en nitrógeno de los suelos. La aplicación de biochar incrementó el pH y la humedad del suelo medida *in situ*. Se encontró una correlación inversa entre la humedad del suelo y su resistencia a la penetrabilidad.

La Tabla 1 muestra los resultados de la eficiencia intrínseca del uso del agua (WUEi) por parte de los olivos de las parcelas correspondientes a cada uno de los tratamientos.

Tabla 1. Eficiencia intrínseca del uso del agua (WUEi)

	Sept.	Oct. (pre cosecha)	Nov. (post-cosecha)	Feb.	Promedio
C	138	100	125	183	137
CP+B	123	115	124	194	139
CP	121	86	129	223	140
B	136	202	133	203	168

WUEi se calcula como la relación entre la tasa neta de fotosíntesis y la conductancia estomática

Los valores de WUEi de los olivos de las parcelas enmendadas con biochar fueron en promedio un 20% mayores que los de las parcelas restantes. Esta diferencia se concentra principalmente en el período anterior a la cosecha. Este es un rasgo clave para la adaptación del olivo a la sequía, y explica el mayor WUEi registrado

habitualmente en las plantas adaptadas a la sequía. De manera similar, no se encontraron diferencias de ETRmax entre tratamientos, excepto por el aumento significativo encontrado en las plantas de las parcelas enmendadas con biochar en el periodo anterior a la cosecha ($\text{ETRmax}=184 \text{ mmol e- m}^{-2}\text{s}^{-1}$; día 287; tratamiento B). Las plantas con valores más altos de ETRmax son más eficientes en el transporte de electrones y potencialmente fijan más CO_2 (Baker y Rosenqvist, 2004).

La Figura 1 muestra escasas diferencias entre los tratamientos para cada muestreo en las tasas de emisión de CO_2 (respiración) de los suelos. En general, se observa un incremento global en las tasas de respiración del suelo de manera lineal con la temperatura promedio (variación estacional), para reducirse paulatinamente en otoño e invierno.

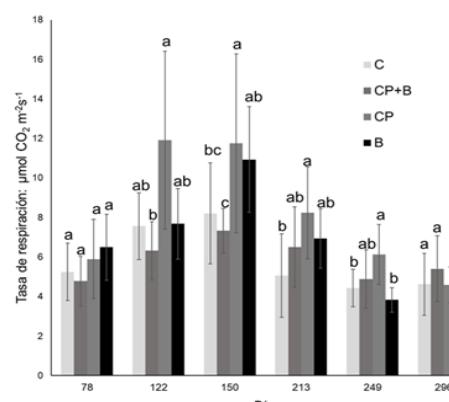


Fig. 1 – Tasas de respiración del suelo (CO_2 emitido). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en el mismo muestreo ($p < 0,05$).

En promedio los tratamientos con compost (CP, y CP+B) obtuvieron las mayores tasas de respiración, especialmente en primavera y verano, aunque las diferencias no siempre fueron significativas y es necesario realizar experimentos a largo plazo para verificar estos resultados.

Conclusões / Conclusiones

Los resultados mostraron que la aplicación de biochar (40 t ha^{-1}) aumentó la humedad del suelo y redujo su resistencia a la penetrabilidad, y por tanto su compactación. Además, las tasas de fotosíntesis neta, la eficiencia media

intrínseca de uso del agua y la tasa máxima de transporte de electrones en otoño, poco antes de la cosecha, mejoraron significativamente en los árboles de las parcelas enmendadas con biochar. No se observaron diferencias importantes en las tasas de respiración entre los suelos enmendados y no enmendados, aunque las emisiones de CO_2 de los suelos enmendados con compost fueron en promedio superiores a la de las parcelas no enmendadas o enmendadas con biochar.

Agradecimientos

La investigación objeto de esta publicación ha sido posible gracias a la financiación del Proyecto “Aplicación de biochar de residuos agrícolas para reducir el estrés hídrico e incrementar el carbono estable del suelo en plantaciones de olivar” realizado con la Beca Leonardo a Investigadores y Creadores Culturales 2020 de la Fundación BBVA. Se agradece al CSIC la financiación del proyecto PIE 20214AT021. La Dra. A. Miller agradece al Ministerio de Ciencia e Innovación la financiación del contrato RYC2019-026885-I.

Referências bibliográficas

- Baker, R., & Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Exp. Bot.*, 55, 1607-1621.
- Campos, P., Miller, A.Z., Prats, S.A., Knicker, H., Hagemann, N., & De la Rosa, J.M. (2020a). Biochar amendment increases bacterial diversity and vegetation cover in trace element-polluted soils: A long-term field experiment. *Soil Biol. Biochem.* 150, 108114. Doi: 10.1016/j.soilbio.2020.108014.
- Campos, P., Miller, A.Z., Knicker, H., Costa-Pereira, M.F., Merino, A., & De la Rosa, J.M. (2020b). Chemical, physical and morphological properties of biochars produced from agricultural residues: Implications for their use as soil amendment. *Waste Manag.* 105, 256-267.
- De la Rosa, J.M., Paneque, M., Miller, A.Z., & Knicker, H. (2014). Relating physical and chemical properties of four different biochars and their application rate to biomass production of *Lolium perenne* on a Calcic Cambisol during a pot experiment of 79 days. *Sci. Tot. Environ.*, 499, 175-184. <https://www.mapa.gob.es>
- Jeffrey, S., Verheijen, F., van der Velde, M., & Bastos, A.C. (2011). *Agri. Ecos & Env.*, 144, 175-187.
- Vilar, J., & Cárdenas, R. (2012). *El sector internacional de elaboración de aceite de oliva: un estudio descriptivo de los distintos países productores*. Úbeda: GEA Westfalia.

Avaliação agronómica e ecotoxicológica de solos do Alentejo em parcelas regadas de girassol

Agronomic and ecotoxicological assessment of Alentejo soils in irrigated sunflower plots

**Adriana Catarino^{1,2*}, Inês Martins¹, Clarisse Mourinha¹, Alexandra Tomaz^{1,3}, José Dôres¹,
Manuel Patanita^{1,3}, Patrícia Palma^{1,2}**

¹ Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Beja, R. Pedro Soares S/N, 7800-295 Beja, Portugal; * adriana.catarino@ipbeja.pt

² Instituto de Ciências da Terra (ICT), Universidade de Évora, 7000-671 Évora, Portugal

³ Universidade Nova de Lisboa, GeoBioTec, Campus da Caparica, 2829-516 Caparica, Portugal

Resumo

O desenvolvimento do regadio no Sul de Portugal tem acarretado benefícios positivos, permitindo a diversificação das culturas, a expansão e intensificação agrícola, e a melhoria económica da região. No entanto, esta mudança do uso do solo terra tem sido acompanhada pela intensificação de utilização de fatores de produção. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade de solos de duas parcelas de girassol regado (Girassol 1 (GR1) e Girassol 2 (GR2)), pertencentes à área do Empreendimento de Fins Múltiplos de Alqueva (EFMA) através de parâmetros agronómicos, ecotoxicológicos e análise de pesticidas. As amostras de solos foram recolhidas em duas fases distintas do ciclo vegetativo da planta, no período de março/abril (T1) e setembro/outubro (T2) de 2018.

A análise dos resultados permitiu concluir que os solos apresentam pH ligeiramente alcalinos, com baixo teor de matéria orgânica e concentrações elevadas de macronutrientes. Os quantitativos de pesticidas foram superiores na parcela do GR2, amostras que promoveram uma maior toxicidade aos organismos-teste utilizados, nomeadamente no final do ciclo vegetativo. Os resultados evidenciam a importância de abordagens integradoras na avaliação da qualidade de solos agrícolas, o que permite o incremento da sustentabilidade agroambiental e uma melhoria na análise da saúde dos solos.

Palavras-chave: Alqueva, *D. magna*, *P. subcapitata*, *V. fisherie*.

Abstract

The development of irrigation in the south of Portugal has brought positive benefits, allowing crop diversification, agricultural expansion and intensification, and economic improvement in the region. However, this change in land use has been accompanied by an intensification of the use of production factors. Thus, the objective of this work was to evaluate the soil quality of two irrigated sunflower plots ((Girassol 1 (GR1) and Girassol 2 (GR2)), belonging to the area of the Alqueva Multipurpose Development (EFMA) through agronomic, ecotoxicological parameters and pesticide analysis. Soil samples were collected in two distinct phases of the plant's vegetative cycle, in the period of March/April (T1) and September/October (T2) of 2018.

The analysis of the results allowed to conclude that the soils present slightly alkaline pH, with low content of organic matter and high concentrations of macronutrients. The amounts of pesticides were higher in the GR2 plot, samples that promoted greater toxicity to the test organisms used, namely at the end of the vegetative cycle. The results show the importance of integrative approaches in assessing the quality of agricultural soils, which allows for an increase in agro-environmental sustainability and an improvement in the analysis of soil health.

Keywords: Alqueva, *D. magna*, *P. subcapitata*, *V. fisherie*.

1 - Introdução

A construção do Empreendimento de Fins Múltiplos do Alqueva (EFMA), na região do Alentejo (Sul Portugal), possibilitou o aumento da área regada e a intensificação das culturas de regadio, alterando práticas agrícolas, e promovendo o aumento das áreas de culturas como o olival, o amendoal e a vinha. O desenvolvimento do regadio nesta região tem sido visto na perspetiva dos benefícios que presta, permitindo a diversificação das culturas, a expansão e intensificação agrícola, e a melhoria da economia da região. Esta mudança do uso do solo foi acompanhada pela intensificação de utilização de fatores de produção.

Esta nova realidade do sector agrícola no Alentejo, torna a avaliação da qualidade dos solos, um processo imprescindível para a sustentabilidade do agroecossistema agrário. O desenvolvimento de abordagens de avaliação, integradoras de linhas de evidência química e biológica possibilita uma melhor análise da saúde dos solos agrícolas, permitindo uma gestão mais direcionada e específica. A linha de evidência química para além dos parâmetros agronómicos deve contemplar a análise de substâncias potencialmente tóxicas para o ecossistema como pesticidas e metais. A linha de evidência biológica pode ser desenvolvida com recurso a parâmetros ecotoxicológicos permitindo analisar o efeito das práticas agrícolas em organismos de vários níveis tróficos (Martins *et al.*, 2021).

Assim, o objetivo deste trabalho foi a utilização de uma abordagem integradora (linha de evidência química e biológica) na avaliação de qualidade de solos de parcelas de girassol regado na zona de influência do EFMA.

2 - Material e métodos

2.1 – Local de estudo

O estudo foi desenvolvido no subsistema Ardila, aproveitamento hidroagrícola Brinches-Enxoé (EFMA), em 2 explorações

monitorizadas no âmbito do GO FitoFarmGest, regadas por *center-pivot*, com áreas cultivadas de 14 ha e 15 ha. As amostras de solos foram recolhidas em duas fases distintas do ciclo vegetativo da planta, no período de março/abril (T1) e setembro/outubro (T2) de 2018.

No que diz respeito aos solos analisados estes são predominantemente cambissolos calcários e vertissolos crómicos, no caso da parcela do GR1 e vertissolos pélicos e calcários no caso do GR2 (Tomaz *et al.*, 2021).

Quadro 1 – Itinerário técnico da cultura de girassol (GR1, GR2).

	Girassol 1	Girassol 2
Sementeira	18-04-2018	27-04-2018
Fertilização	<p>Fundo abril: 20-17-0 (200 kg/ha)</p> <p>Cobertura maio: 3L/ha de 10%N e 2L/ha de 11%B;</p> <p>julho: 2 aplicações (170 L/ha e 120 L/ha) de 27% N; 8%P e 5%S</p>	<p>Fundo abril: 10-20-6 (200 kg/ha)</p> <p>Cobertura maio: 2 aplicações (150 L/ha cada) de 27 %N e 5%S</p> <p>maio: aplicação foliar Boro (1L/ha)</p>
Monda e tratamento inseticida	<p>abril: pendimetalina (4L/ha) e Deltametrina (0,125 L/ha)</p>	<p>abril: Pendimetalina (4L/ha)</p>
Dotação de rega (m ³ /ha)	2517	4606
Colheita	27-08-2018 (3470 kg/ha)	18-09-2018 (4156 kg/ha)

2.2 – Metodologia

Realizou-se a recolha de amostras compostas de solo por cada 5 ha, que foram obtidas a partir da mistura de subamostras recolhidas em pontos marcados aleatoriamente, em ziguezague (Varennes, 2003).

Após recolha dos solos estes foram secos ao ar e, posteriormente crivados com malha de 2mm. Os parâmetros agronómicos foram analisados na fração fina após crivagem. Para a análise dos pesticidas, os solos foram congelados e posteriormente liofilizados. Os ensaios ecotoxicológicos foram determinados nos eluatos dos solos: 50 g de solo com 500 ml

de água ultra-pura a agitar durante 24h. Após o tempo de agitação a mistura é filtrada e o eluado armazenado a -18°C até realização dos ensaios.

Os parâmetros agronómicos determinados foram: pH, condutividade elétrica (CE; H₂O, 1:2 m/v); matéria orgânica (MO; %; Walkley-Black) e fósforo extraível (mg P₂O₅/kg; Egner-Rhiem).

Foram pesquisados 44 pesticidas, pertencentes a vários grupos segundo o protocolo descrito por Köck-Schulmeyer *et al.*, (2013).

A avaliação ecotoxicológica foi desenvolvida com o intuito de analisar a função de retenção do solo, permitindo compreender os efeitos da fração biodisponível sobre os ecossistemas, e o seu potencial impacto em águas superficiais e subterrâneas:

- (i) Inibição da bioluminiscência com a bactéria *V. fisherie* ((ISO 11348-2 (1998));
- (ii) Ensaio de inibição do crescimento com a microalga *P. subcapitata* ((ISO 8692 (2002));
- (iii) Ensaio de alimentação com o crustáceo *D. magna* (Allen *et al.*, 1995).

3 - Resultados e discussão

O pH dos solos é ligeiramente alcalino (GR1: 8,4-8,3; GR2: 8,3-7,9), característicos de solos calcários (Quadro 2), com baixos teores de MO, e valores de CE, que permitiram classificar estes solos como não salinos (<400 µS/cm; segundo Varennes, (2003)). No que respeita aos macronutrientes os solos são naturalmente pobres em fósforo disponível para as plantas, o que é revertido com a frequente adubação das culturas. Os solos apresentaram concentrações altas a muito altas destes macronutrientes em ambas as parcelas (GR1: 249-221 mg/kg de P₂O₅; GR2: 125-144 mg/kg de P₂O₅) (INIAF, 2006). A CE e o fósforo extraível assimilável (P₂O₅) são aqueles que apresentam maiores variações entre as duas parcelas de girassol, não ocorrendo diferenças significativas entre T1 e T2.

Quadro 2 – Parâmetros agronómicos das parcelas em estudo. Os valores apresentados são a média das amostras compostas recolhidas em cada parcela (média±desvio padrão; n=3).

		pH	CE (µS/cm)	%MO	P (mg P ₂ O ₅ /kg MS)
GR1	T1	8,4 ± 0,01	158,2 ± 1,6	1,6 ± 0,1	248,6 ± 7,8
	T2	8,3 ± 0,02	129,8 ± 1,4	1,3 ± 0,1	221,3 ± 5,9
GR2	T1	8,3 ± 0,02	351,3 ± 1,3	1,2 ± 0,1	124,5 ± 6,8
	T2	7,9 ± 0,01	353,6 ± 0,7	2,0 ± 0,1	143,6 ± 7,7

Dos 44 pesticidas analisados 6 foram quantificados nos solos das parcelas de girassol (GR1: 3; GR2: 6; Fig. 1). O nº e concentração total de pesticidas foi superior no GR2, destacando-se a presença de clotianidina um inseticida (neonicotinóide de 2^a geração) (7,39 ng/g) e de terbutrina um herbicida (triazina) (3,33 ng/g), ambos já não utilizados em Portugal (terbutrina desde dezembro 2003; clotianidina desde dezembro 2018; dados da DGV, 2020).

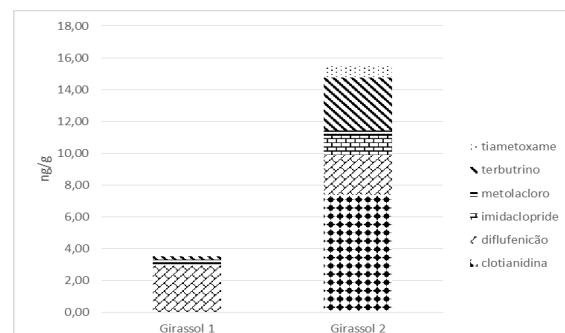


Fig. 1 – Concentração de pesticidas presentes nos solos das parcelas GR1 e GR2 (ng/g).

Os resultados ecotoxicológicos com a microalga verde *P. subcapitata* evidenciaram que todas as amostras induziram um decréscimo de crescimento, sendo este mais acentuado em T2 (Fig. 2). Estes resultados podem estar correlacionados com os quantitativos de herbicidas quantificados em cada parcela.

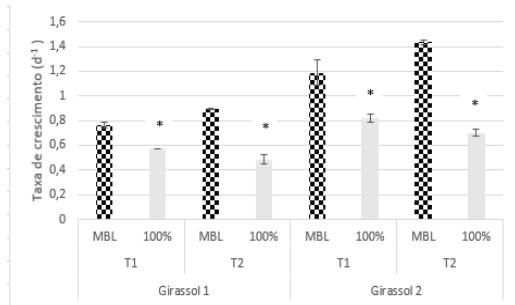


Fig. 2 – Taxa de crescimento (d^{-1}) da *P. subcapitata* nas amostras de GR1 e GR2 em T1 e T2 (média ± desvio padrão; n=6); * $p<0,05$ teste de Dunn.

O ensaio com *D. magna* evidenciou uma inibição significativa da alimentação do crustáceo quando exposto às amostras de ambas as parcelas (Fig. 3). Esta inibição foi mais acentuada no final do ciclo vegetativo da planta (T2).

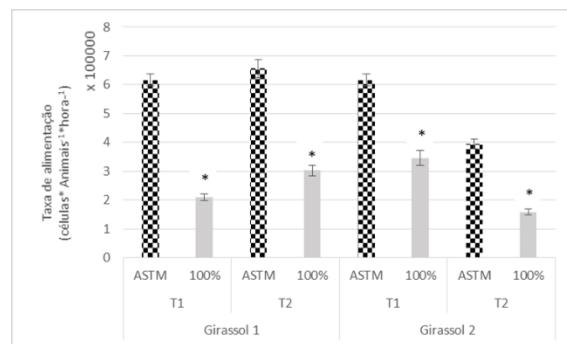


Fig. 3 – Taxa de alimentação da *D. magna* ($células \cdot Animais^{-1} \cdot hora^{-1}$) nas amostras de GR1 e GR2 em T1 e T2 (média ± desvio padrão; n=3); * $p<0,05$ teste de Dunn.

4 - Conclusões

Este trabalho permitiu integrar a linha de evidência química e biológica (avaliação ecotoxicológica), na avaliação da qualidade de solo agrícola, como forma de contribuir para uma abordagem mais integrada, permitindo uma melhoria das ações de gestão no âmbito da sustentabilidade dos agroecossistemas. Os resultados agronómicos evidenciaram os valores de pH de solo ligeiramente desajustados às necessidades da cultura de girassol que tem como pH favorável para o seu desenvolvimento 6,0 e 7,5. Os baixos teores de MO podem promover o aumento da fertilização mineral, com o intuito da compensação do azoto no solo. Os resultados do fósforo extraível indicam

adubação superior às necessidades da cultura, mais evidente em GR1. A avaliação de pesticidas no solo indicou a presença de substâncias toxicidade elevada e que deixaram de ser utilizadas, em Portugal, há mais de 4 anos.

A avaliação ecotoxicológica mostrou que se devem utilizar parâmetros subletais na avaliação de solos agrícolas. Os resultados indicaram que a função retenção dos solos pode estar comprometida a médio-longo prazo, o que pode levar a um decréscimo de biodiversidade.

Agradecimentos

O estudo é co-financiado através do projeto Instituto da Ciências da Terra (ICT; UIDB/04683/2020) com a referência POCI-01-0145-FEDER-007690, do projeto GeoBioTec (UIDB/04035/2020) e pelo Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural através do Grupo Operacional FitoFarmGest (PDR2020-101-030926).

Referências bibliográficas

- INIAP (Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas) - Laboratório químico Agrícola Rebela da Silva. (2006). Manual de Fertilização das Culturas. INIAP. ISBN-13: 978-989-95131-0-5.
- Köck-Schulmeyer, M., Olmos, M., López, M., Barceló, D. (2013). Development of a multiresidue method for analysis of pesticides in sediments based on isotope dilution and liquid chromatography electrospray-tandem mass spectrometry. J Chromatogr. 1305º Volume. pp. 176–187.
- Martins, I., Catarino, A., Mourinha, C., Alvarenga, P., Dores, J., Patanita, M., Tomaz, A., Palma, P. (2021). Avaliação de risco ecotoxicológico de pesticidas em solos agrícolas na zona de influência do Alqueva. Congresso Ibérico "Solo e Desenvolvimento Sustentável: Desafios e Soluções". 17 a 18 junho. Porto. (Plataforma Zoom).
- Tomaz A, Costa MJ, Coutinho J, Coutinho, J., Dôres, J., Catarino, A., Martins, I., Mourinha, C., Guerreiro, I., Pereira, MM., Fabião, M., Boteta, L., Patanita, M., Palma, P. I (2021) Applying risk indices to assess and manage soil salinization and sodification in crop fields within a mediterranean hydro-agricultural area. Water (Switzerland) 13:. <https://doi.org/10.3390/w13213070>
- Varennes, A. d. (2003). *Produtividade dos Solos e Ambiente*. Lisboa: Escolar Editora.

Efecto del método de terminación del cultivo cubierta en parámetros microbiológicos del suelo bajo dos niveles de riego

Effect of the termination method of cover crops on soil microbiological parameters under two levels of irrigation

N. Centurión^{1*}, M. Navas², I. Mariscal-Sancho¹, K. Ulcuango¹, A. Moliner², J. Canales¹, C. Hontoria¹

¹ Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Universidad Politécnica de Madrid, Av. Puerta de Hierro 2, 28040 España.

² Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), Finca El Encín, Ctra. A2, Km 38.200, 28800 Alcalá de Henares, España

*nellysoledad.centurion.gimenez@alumnos.upm.es

Resumen*

Los cultivos cubierta (CC) mejoran la sostenibilidad de los sistemas agrarios. El método de terminación puede afectar a los beneficios que proporcionan y este efecto puede ser modulado por la disponibilidad de agua. En un experimento en invernadero hemos evaluado la respuesta microbiológica del suelo a cuatro métodos de terminación de CC: Segado e incorporación, Glifosato, *Roller Crimper*, la combinación Glifosato+*Roller Crimper* y a un control sin CC, en combinación con dos niveles de riego, alto y bajo. A los 57 días tras la siembra del maíz se midió la respiración basal, respiración inducida por sustrato, carbono de la biomasa microbiana, cociente metabólico, cociente microbiano, hongos, bacterias y arqueas totales, ratio hongo/bacteria, longitud de micelio y colonización micorrícica. El nivel alto de riego acentuó las diferencias entre los métodos de terminación a nivel microbiológico. La incorporación de residuos fue el método más beneficioso en los dos niveles de riego. Los beneficios del roller crimper fueron mayores en alta disponibilidad de agua que en baja. Aunque la respuesta de los dos métodos con glifosato varió con el nivel de agua, su respuesta se mantuvo similar independientemente del nivel. El nivel de agua moduló la respuesta microbiológica del suelo a los métodos de terminación y debe ser considerado en su elección.

Palabras clave: terminación del cultivo cubierta, incorporación, roller, glifosato, agua.

Abstract

Cover crops (CC) improve the sustainability of agro-ecosystems. The CC termination method impacts the benefits they provide, and this effect could be modulated by water availability. In a greenhouse experiment we evaluated the soil microbiological response to four CC termination methods: Mowing and Incorporation (INC), Glyphosate (GLY), Roller Crimper (ROL), the combination Glyphosate+Roller Crimper (RGL) and a non-CC control (CON), in combination with two irrigation levels, high and low. At 57 days after maize seeding, soil basal respiration, substrate-induced respiration, microbial biomass carbon, metabolic quotient, microbial quotient, together with total fungi, bacteria and archaea, fungus/bacteria ratio, hyphal length, and mycorrhizal colonization were measured. The high level of irrigation enhanced the differences between the termination methods at microbial level. Residue incorporation was the most beneficial method at both irrigation levels. Roller crimper benefits were greater at high water availability than at low water availability. Although the response of the two methods with glyphosate varied with water level, their response remained similar regardless of the level. Water level modulated the soil microbiological response to the termination methods and should be considered in their choice.

Keywords: cover crop termination, incorporation, roller, glyphosate, water.

1. Introducción

Los cultivos cubierta (CC) brindan importantes servicios ecosistémicos e influyen sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Sharma, et al., 2018; Simon, et al, 2022). Las distintas formas de manejo de los CC pueden tener efectos a varios niveles (Adetunji, et al., 2020), entre ellos, la microbiota del suelo y sus funciones asociadas (Kim, et al., 2020). La terminación de los CC puede involucrar medios físicos o químicos, y los residuos pueden ser incorporados o quedar sobre la superficie a modo de mulch (Alonso-Ayuso, et al., 2020), con distintos efectos en los microorganismos del suelo (Manici, et al., 2019; Rhomdane, et al., 2019).

Cuando se persigue el aumento del N en el suelo a través del uso de los CC, su incorporación al suelo mediante el laboreo suele ser más eficaz (Turmel, et al., 2015). Sin embargo, la perturbación que genera la labranza en el suelo provoca cambios en la comunidad microbiana, con posibles efectos adversos en ciertos grupos y en los servicios que proporcionan (Mbuthia, et al., 2015). En los sistemas sin labranza, el uso de herbicidas como el glifosato para terminar los CC también puede afectar a la microbiota del suelo (Meena, et al., 2020). Entre las tecnologías para reducir la labranza sin recurrir a herbicidas ha surgido el *roller crimper*, que troncha y aplana el CC sobre la superficie sin remover el suelo (Mirsky, et al., 2009, Navarro-Miró, et al., 2019). Las dificultades para garantizar una buena terminación hacen que se combine el *roller* con el glifosato (Alonso-Ayuso, et al., 2020). Dado que la disponibilidad hídrica es un factor clave en el desarrollo de la planta y en la microbiota del suelo, cabe esperar que el nivel de agua module la respuesta microbiológica del suelo a los distintos métodos de terminación de los CC (Drenovsky, et al., 2004). Sin embargo, este efecto no es bien conocido. En este trabajo hemos evaluado el efecto de distintos métodos de terminación de los CC sobre parámetros microbiológicos del suelo medidos en el subsiguiente cultivo principal y su interacción con el nivel de riego.

2. Material y métodos

El estudio se llevó a cabo bajo condiciones semicontroladas en un invernadero situado en la zona centro de España. El ensayo constó de dos factores de estudio, el método de terminación del CC con cinco niveles: Control sin cultivo

cubierta (CON), Segado e incorporación (INC), Glifosato (GLI), *Roller Crimper* (ROL), y la combinación Glifosato+*Roller Crimper* (RGL); y el factor de riego con dos niveles, dosis alta (A) y dosis baja (B; 75% de la dosis A). Los tratamientos se distribuyeron al azar en 5 bloques. Los microcosmos (30 x 12 x 10 cm) se llenaron con una mezcla de arena y de suelo procedente del horizonte superficial de un Calcisol háplico con bajo contenido en materia orgánica (1.11%), pH básico (8.8) y textura franco-limosa. El CC utilizado fue una combinación de gramínea y leguminosa (*Hordeum vulgare L.+ Vicia sativa L.*), que fue terminado al cabo de tres meses mediante una aplicación de glifosato (4 L /ha) en los tratamientos con herbicida (GLI y RGL). Una semana después se aplicó el resto de los métodos (INC, ROL, RGL). A continuación, se sembró el maíz (*Zea mays L.*) con una densidad de 3 semillas por maceta. La dosis de riego durante el CC y el maíz se aplicó según nivel de riego A o B y todos los tratamientos recibieron la misma fertilización. Las muestras de suelo se tomaron con un muestreador cilíndrico (3 cm Ø y 10 cm de profundidad) 57 días después de la siembra del maíz.

Para este trabajo se han seleccionado los siguientes parámetros microbiológicos: respiración basal (RB) y respiración inducida por sustrato (RIS) medidas con trampa alcalina (Alef & Nannipieri, 1995); C orgánico total por oxidación húmeda; C de la biomasa microbiana (MBC) por el método fumigación-extracción (Vance et al. 1987); cociente metabólico ($q\text{CO}_2$) y cociente microbiano ($q\text{Mic}$) se obtuvieron a partir de los anteriores; longitud de micelio y colonización micorrícica por tinción y conteo al microscopio (García-González, et al., 2018); abundancia de hongos, bacterias y arqueas totales mediante qPCR con los marcadores específicos para cada grupo, ITS y 16rRNA (Ulcuango, et al., 2021). tras extracción del ADN del suelo con PowerSoil® DNA isolation kit (Mo-Bio laboratories, Carlsbad, CA, USA).

Se aplicó un análisis de varianza para un diseño en bloques con dos factores, separando las medias según Tukey ($p\text{-valor}<0.05$). Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con el software R (R Core Team, 2021), utilizando los paquetes factoextra y corplot. El análisis se realizó por separado según la dosis de riego. Elipses separadas en el biplot muestran diferencias con un nivel de confianza de 0.95.

3. Resultado y Discusión

El nivel de riego afectó de forma diferente a los parámetros microbiológicos en los cinco niveles de método de terminación de CC estudiados. Para estos parámetros, la dosis alta de riego acentuó más las diferencias entre los métodos de terminación de los CC que la dosis baja (Cuadro 1, Fig. 2 y 3).

Cuadro 1- Efecto del método de terminación por dosis de riego.

D	MT	RB mgkg ⁻¹ h	RIS mgkg ⁻¹ h	CBM mgkg ⁻¹ h	qCO ₂	qMIC
A	CON	0.63ab	1.73a	40.4a	0.022b	8.54 a
A	GLI	0.64ab	1.65a	63.7ab	0.010ab	12.52ab
A	INC	0.94b	1.15a	88.7b	0.010ab	17.46b
A	RGL	0.51a	0.92a	56.8ab	0.009a	10.78ab
A	ROL	0.70ab	1.69a	81.0ab	0.010ab	16.35ab
B	CON	0.64x	1.30x	44.8x	0.015x	9.02x
B	GLI	0.78x	1.69x	66.4x	0.012x	13.44x
B	INC	0.58x	0.70x	48.9x	10.25y	9.48x
B	RGL	0.60x	1.72x	78.1x	0.008x	16.45x
B	ROL	0.82x	1.38x	64.8x	0.013x	13.33x

D	MT	Micelio cm g ⁻¹	Col %	HT Log ₁₀ Copias g ⁻¹	BT Log ₁₀ Copias g ⁻¹	AT Log ₁₀ Copias g ⁻¹	H:B ratio
A	CON	18.9ab	10a	6.29a	9.86a	7.37a	0.63a
A	GLI	20.7a	20ab	6.57b	10.35b	8.49d	0.63a
A	INC	33.2b	28b	7.15c	10.59c	8.53d	0.67b
A	RGL	17.6a	20ab	6.59b	10.48bc	8.08b	0.62a
A	ROL	27.8ab	29b	7.09c	10.01a	8.31c	0.72c
B	CON	17.4x	11x	6.35x	8.89x	7.29x	0.64x
B	GLI	16.7x	11x	7.15z	9.96x	7.96y	0.71y
B	INC	27.8x	25x	7.14z	10.25y	8.54z	0.69y
B	RGL	16.2x	13x	6.89y	9.90x	7.96y	0.69y
B	ROL	20.4x	15x	7.05yz	9.95x	8.48z	0.70y

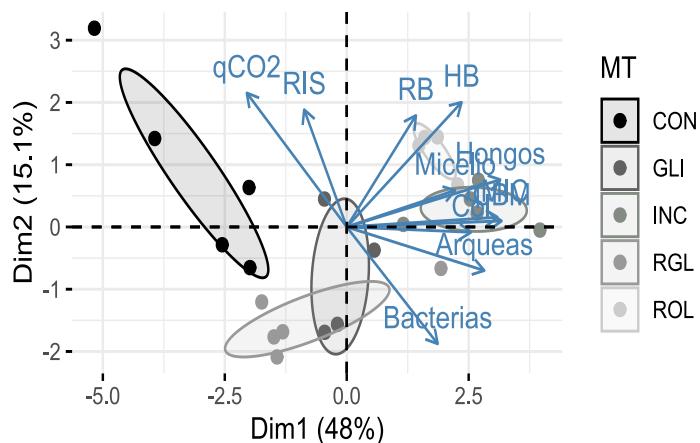
D: dosis de riego, A: dosis alta, B: dosis baja, MT: métodos de terminación. CON: control, INC: incorporado, ROL: roller crimper, RGL:glifosato+roller, GLI: glifosato; RB: respiración basal, RIS: respiración inducida por sustrato, CBM: carbono de la biomasa microbiana, qCO₂:cociente metabólico, qMIC: cociente microbiano, micelio: longitud de micelio, Col: colonización micorríctica, HT: hongos totales, BT:bacterias totales, AT:arqueas totales; en cada dosis de riego, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tratamientos según el test HSD de Tukey al 95%.

Los dos primeros componentes del ACP explicaron un 63.1% y 58.1% de la variabilidad de los datos en dosis alta y baja de riego, respectivamente. En general, los parámetros con mayor contribución fueron CBM, qMIC, hongos totales y el ratio H:B. En dosis alta destacó qCO₂ y en dosis baja, las arqueas.

Para ambas dosis de riego, y según lo esperado, CON mostró una respuesta microbiológica claramente diferenciada de la de los tratamientos con CC, en especial, de INC. Así, CON presentó en general menos hongos y arqueas que el resto. Además, en

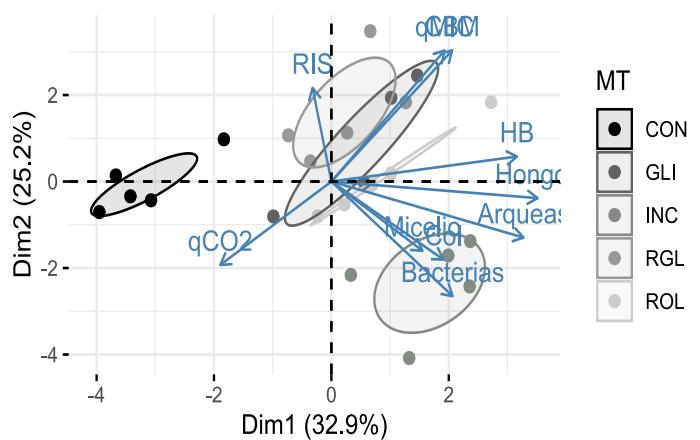
dosis alta, menos colonización y menos bacterias y, en dosis baja, menor ratio H:B. Por el contrario, INC estimuló en mayor medida hongos, bacterias, micelio, CBM y la RB, con valores más altos de qMIC. Los mejores resultados de INC se explican por la pobreza del sustrato empleado ya que una entrada de residuos orgánicos fuente de C y N y el contacto estrecho con los descomponedores, estimula la actividad biológica en el suelo (Turmel, et al., 2015).

Figura.1- Análisis de componentes principales de las variables microbiológicas del suelo en dosis alta.



Dim1 (48%)
Dim2 (15.1%)
RIS:respiracion inducida por sustrato, CBM:carbono de la biomasa microbiana, qCO₂:cociente metabolico, qMIC:cociente microbiano, AMF.Col: colonizacion micorrifica; Micelio: longitud de micelio.HB:relacion hongo/bacteria. CON: control, INC: incorporado, ROL: roller crimper, RGL:Glifosato+Roller, GLI: glifosato

Figura.2- Análisis de componentes principales de las variables microbiológicas del suelo en dosis baja.



Dim1 (32.9%)
Dim2 (25.2%)
RIS:respiracion inducida por sustrato, CBM:carbono de la biomasa microbiana, qCO₂:cociente metabolico, qMIC:cociente microbiano, AMF.Col: colonizacion micorrifica; Micelio: longitud de micelio.HB:relacion hongo/bacteria. CON: control, INC: incorporado, ROL: roller crimper, RGL:Glifosato+Roller, GLI: glifosato;

Los tratamientos GLI y RGL se vieron afectados por el nivel de riego, pero mantuvieron respuestas similares entre sí y diferentes al resto en ambos niveles, lo que sugiere una fuerte influencia del glifosato, por encima de la del roller. En general, estos dos métodos mostraron valores intermedios de las variables entre CON e INC, con RGL más cercano a CON. RGL destaca por su baja RB, qCO₂ y longitud de micelio en dosis alta de riego.

ROL presentó una respuesta propia, que fue cercana a INC en dosis alta, pero con mayor valor de colonización y ratio H:B. Con menor disponibilidad de agua, la respuesta microbiológica de ROL se aproximó a la de GLI y RGL (Fig. 2). En contra de lo esperado, la respuesta de RGL no fue intermedia entre ROL y GLI, sino que tendió a diferenciarse más de ROL, lo que sugiere que el roller podría reforzar algunos efectos adversos del glifosato.

Conclusiones

El nivel del agua modificó la respuesta microbiológica del suelo a los métodos de terminación de los CC. Las diferencias entre los métodos aumentaron cuando la disponibilidad de agua fue alta. En el suelo objeto de estudio, la incorporación de los residuos del CC resultó el método más beneficioso con respecto a los parámetros microbiológicos estudiados en los dos niveles de riego. Los beneficios del roller crimper fueron mayores en alta disponibilidad de agua que en baja. Los tratamientos con glifosato mostraron una respuesta similar independientemente del nivel de agua. La elección del método de terminación puede venir condicionado por el nivel de agua en el suelo en el momento de terminación del CC en función de los beneficios esperados, entre otros, a efectos de la salud de suelo.

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2017-83283-C2-1-R) y Comunidad de Madrid (AGRISOST-CM S2013/ABI-2717, cofinanciado Programa Operativo FSE y FEDER 2014-2020).

Referencias bibliográficas

Adetunji, A. T., Ncube, B., Mulidzi, R., & Lewu, F. B. (2020). Management impact and benefit of cover crops on soil

- quality: A review. *Soil and Tillage Research*, 204, 104717.
- Alef, K., y Nannipieri, P. (1995). Methods in applied soil microbiology and biochemistry (No. 631.46 M592ma). Academic Press.
- Alonso-Ayuso, M.; Gabriel, J. L.; Hontoria, C.; Ibáñez, M. Á.; Quemada, M. (2020). The cover crop termination choice to designing sustainable cropping systems. *Eur J Agron*, 114:126000.
- Drenovsky, R. E., Vo, D., Graham, K. J., y Scow, K. M. (2004). Soil water content and organic carbon availability are major determinants of soil microbial community composition. *Microbial ecology*, 48(3), 424-430.
- García-González, I.; Quemada, M.; Gabriel, J. L.; Alonso-Ayuso, M.; Hontoria, C. (2018). Legacy of eight year cover cropping on mycorrhizae, soil, and plants. *J Plant Nutr Soil Sc*. 181: 818-826.
- Kim, P., Hensley, D., & Labbé, N. (2014). Nutrient release from switchgrass-derived biochar pellets embedded with fertilizers. *Geoderma*, 232, 341-351.
- Manici, L. M., Castellini, M., & Caputo, F. (2019). Soil-inhabiting fungi can integrate soil physical indicators in multivariate analysis of Mediterranean agroecosystem dominated by old olive groves. *Ecological Indicators*, 106, 105490.
- Mbuthia, L. W., Acosta-Martínez, V., DeBruyn, J., Schaeffer, S., Tyler, D., Odoi, E., & Eash, N. (2015). Long term tillage, cover crop, and fertilization effects on microbial community structure, activity: Implications for soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 89, 24-34.
- Meena, R. S., Kumar, S., Datta, R., Lal, R., Vijayakumar, V., Brtnicky, M., ... & Marfo, T. D. (2020). Impact of agrochemicals on soil microbiota and management: a review. *Land*, 9(2), 34.
- Mirsky, S. B., Curran, W. S., Mortensen, D. A., Ryan, M. R., & Shumway, D. L. (2009). Control of cereal rye with a roller/crimper as influenced by cover crop phenology. *Agronomy Journal*, 101(6), 1589-1596.
- Navarro-Miró, D., Blanco-Moreno, J. M., Ciaccia, C., Chamorro, L., Testani, E., Kristensen, H. L., ... Jakop, M. (2019). Agroecological service crops managed with roller crimper reduce weed density and weed species richness in organic vegetable systems across europe. *Agronomy for Sustainable Development*, 39(6), 55.
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Romdhane, S.; Spor, A.; Busset, H.; Falchetto, L.; Martin, J.; Bizouard, F.; Bru, D.; Breuil, M.C.; Philippot, L.; Cordeau, S. (2019). Cover Crop Management Practices Rather Than Composition of Cover Crop Mixtures Affect Bacterial Communities in No-Till Agroecosystems. *Front Microbiol*. 10: 16-18.
- Simon, L. M., Obour, A. K., Holman, J. D., & Roozeboom, K. L. (2022). Long-term cover crop management effects on soil properties in dryland cropping systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 328, 107852.
- Sharma, P., Singh, A., Kahlon, C. S., Brar, A. S., Grover, K. K., Dia, M., & Steiner, R. L. (2018). The role of cover crops towards sustainable soil health and agriculture. A review paper. *American Journal of Plant Sciences*, 9(9), 1935-1951.
- Turmel, M. S., Speratti, A., Baudron, F., Verhulst, N., & Govaerts, B. (2015). Crop residue management and soil health: A systems analysis. *Agricultural Systems*, 134, 6-16.
- Ulcuango, K., Navas, M., Centurión, N., Ibáñez, M. Á., Hontoria, C., & Mariscal-Sancho, I. (2021). Interaction of Inherited Microbiota from Cover Crops with Cash Crops. *Agronomy*, 11(11), 2199.
- Vance, E. D., Brookes, P. C., & Jenkinson, D. S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil biology and Biochemistry*, 19(6), 703-707.

The fate of exogenous organic matter on Mediterranean calcareous soil

Ana Simoes-Mota^{1*}, Rosa Maria Poch², Pierre Barré³, Iñigo Virto¹

¹ Universidad Pública de Navarra, Departamento Ciencias del Medio Natural, ETSIA, Campus Arrosadia, 31006 Pamplona, Spain, *anaclaudia.simoes@unavarra.es

² Departament de Medi Ambient i Ciències del Sòl. ETSEA, Universitat de Lleida. 25198 Lleida, Spain.

³ Laboratoire de Géologie, PSL Research University, UMR 8538 CNRS–ENS, 24 rue Lhomond, 75231 Paris cedex 05, France.

Abstract

The role of soil organic carbon (SOC) as a key soil component is known, as well as its relevance for guaranteeing soil quality. One promising analytical technique in SOC research is Rock-Eval® thermal analysis. It can be an economic and time-efficient method, used to quantify soil organic and inorganic carbon fractions regarding their chemical and thermal stability. The aim of this study was to better understand the fate of the long-term application of exogenous organic matter on a calcareous soil. We hypothesized that: (i) The long-term application of sewage sludge (SS) will affect SOC stocks among the different treatments. (ii) The thermodynamic lability of SOC in the different treatments, as studied from Rock-Eval® pyrograms, can be related to the amount and stability of organic C stored in the form of SOC after long-term SS application. The application of SS resulted in accumulation of C in the soil ($p<0,001$), mostly in the active C pool ($p<0,001$). Fertilization done with mineral fertilizers does not necessarily mean more stable SOC in the long term. RockEval® was sensitive to identify stable and active pools within the same (calcareous) soil with different accumulation rates of SOC, resulting from a long-term management.

Keywords: Calcareous soil, sewage sludge, soil organic carbon, pyrolysis

Resumo

A importância do carbono orgânico do solo (SOC) para garantir a qualidade do solo é unânime. Uma técnica promissora na investigação do SOC é a análise da estabilidade térmica, Rock-Eval®. Apresenta-se como um método económico e rápido para quantificar as fracções orgânicas e inorgânicas do carbono (C) do solo, dependendo da sua estabilidade química e térmica. O objectivo deste estudo é entender o destino da matéria orgânica que é aplicada através de fertilizante orgânico num solo calcário. As nossas hipóteses são: (i) a aplicação continuada de lodos de depuradora (SS) afecta os stocks de carbono nos diferentes tratamentos; (ii) A labilidade térmica do SOC nos diferentes tratamentos, conforme os pirogramas da Rock-Eval®, pode estar relacionada com a quantidade e estabilidade do C armazenado na forma de SOC após a aplicação de SS a longo prazo. A fertilização com SS resultou numa acumulação de C no solo ($p<0,001$), principalmente como C ativo ou lábil ($p<0,001$). A fertilização mineral não significa necessariamente mais SOC. Com a análise RockEval®, foi possível identificar as diferentes componentes (estáveis e ativas) do SOC no mesmo solo (calcário) com diferentes acumulações de C, resultado da fertilização orgânica a longo prazo.

Palavras-chave: Solo calcário, biosólidos, carbono orgânico do solo, pirólise

Introduction

The role of soil organic carbon (SOC) as key component for soil function is known and is among the most frequently used indicators for the assessment of soil quality in agricultural soils (Bünemann et al., 2018). The preservation and storage of SOC has a positive effect on climate change mitigation and consequently on food security. This process is generally determined by the interactions between the soil mineral and organic fraction with soil biota (Saenger et al., 2015). Evaluating the efficiency of soil to stabilize SOC is crucial to develop environmentally friendly agricultural policies.

To understand this process two main carbon (C) pools, active and stable, were established based on their different turnover times. The active pool is related to soil biological activity and plant growth. Through its mineralization it can stimulate soil biodiversity and the development of a stable and healthy soil structure. The stable pool is related to its potential effect on climate change mitigation as a long-term carbon sequestering pool. A major challenge is to identify different components within SOC that correspond to the characteristics of the conceptualized pools. One promising analytical method is Rock-Eval® thermal analysis, to assess the biogeochemical stability of SOC. It is an economic and time-efficient method, used to quantify soil organic and inorganic carbon fractions regarding their chemical and thermal stability (Kanari et al., 2021).

Farmland soils in semiarid and sub-humid Mediterranean regions are usually depleted in organic matter (Lesschen et al., 2007), and are especially sensitive to soil degradation. It is therefore relevant to evaluate how different management practices affect soil C stocks and the soil capacity for C storage.

The aim of this study was to better understand the fate of the exogenous organic matter applied to a calcareous soil in the form of sewage sludge (SS), and to evaluate the quality of the organic compounds accumulated in the soil of this sub-humid Mediterranean area after 25

years. We hypothesized that: (i) The long-term application of SS will affect SOC stocks. (ii) The thermodynamic lability of SOC, as studied from Rock-Eval® pyrograms, can be related to the amount and stability of organic C stored in the form of SOC after long-term SS application.

Material and methods

The long-term experimental field site, in Arazuri, Navarra, NE Spain ($42^{\circ}48'N$, $1^{\circ}43'W$, 396 m a.s.l.) was established in 1992 to assess the effect of the continuous application (for 28 years) of SS on agricultural soil quality and productivity. Climate in the area is temperate Mediterranean according to Papadakis (Papadakis, 1961). Mean annual precipitation is of 750 mm year^{-1} , and mean annual Thornthwaite's evapotranspiration, 687 mm year^{-1} (Gobierno de Navarra, 2021). The soil in this field is calcareous (approx. 20% of calcium carbonate in the tilled horizon) with a clay-loam texture in the topsoil (31% clay, 30% silt, 39% sand) (Gee & Bauder, 1986), is well-drained and has no salinity problems. It has been classified as a Calcaric Cambisol (FAO, 2014).

The experimental design consists of a random factorial block design with eight treatments with three replicates ($n=3$) (Simoes-Mota et al., 2021). For this study, the treatments included four SS doses (10t ha^{-1} , 20t ha^{-1} , 40t ha^{-1} and 80t ha^{-1}) plus a control with the usual mineral fertilization in the area (46% urea and ammonium sulphate), and a baseline control without SS or mineral fertilization. Sewage sludge treatments were denoted after the dose (10ss, 20ss, 40ss, 80ss). Mineral-fertilized and baseline controls were noted as MF and C0, respectively. Sewage sludge characteristics are described by Zaragüeta et al. (2021). The crops used corresponded to the most frequent rainfed rotation of 3 years in the area (cereal–cereal–no cereal). The soil main physical-chemical characteristics in the tilled horizon (0–30 cm) at the control plots (treatment C0) are summarized in Table 1.

Table 1 - Physical and chemical properties of the soil tilled horizon (0–30 cm) for the control plots. Values are the mean \pm standard deviation (n=3).

Soil physical and chemical properties	
pH (water 1:2:5)	8.67 \pm 0.03
Electrical Conductivity ($\mu\text{s cm}^{-3}$ at 25°C) (soil:water extract 1:2.5)	169 \pm 10
Bulk density (g cm^{-3})	1.59 \pm 0.08
Carbonates (%)	16.0 \pm 2.1
Clay (%)	27.7 \pm 1.03
Organic Carbon (%) (Walkley-Black)	1.35 \pm 0.02

Disturbed soil samples were collected using an Edelman type auger ($\varnothing = 5$ cm). Three subsamples were collected per plot and combined to obtain a composite sample. Part of the sample was gently pushed through a 5 mm sieve. These aggregates were air dried and used for aggregate stability determinations. The remainder of the soil was air-dried and ground for the Rock-Eval® analysis. Total soil organic C (TOC) was determined by wet oxidation on air-dry sieved (<2mm) samples (Nelson & Sommers, 1982).

The soil samples were analysed using a Rock-Eval® 6 Turbo (Vinci Technologies) following the method described by Kanari et al. (2021). Classic Rock-Eval® parameters were acquired using the RockSix software (Vinci Technologies), and for this study the thermostable C (stable C pool), thermolabile C (active C pool) and the hydrogen index (H index, corresponding to the ratio of released hydrocarbons) (Saenger et al., 2015) were the selected as Rock-Eval® lability indicators.

All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics 27.0 (SPSS Inc., 2021). The coefficient of determination R^2 was estimated to assess the existence and strength of a correlation between TOC and Rock-Eval® lability indicators. According to the analyses of variance (ANOVA), differences were considered significant when $p<0.05$.

Results and discussion

The application of SS resulted in the accumulation of C in the soil, mostly in the active C pool. Rock-Eval® parameters were significantly correlated to TOC (table 2).

Table 2 – Total organic carbon (TOC) and Rock-Eval® parameters for the different treatments obtained through Rock-Eval® analysis. Values are given as the mean \pm standard deviation (n=3). Treatments with the same letters are not statistically different, * $p<0.1$ ** $p<0.05$ *** $p<0.001$.

	TOC g C/kg	H index	Stable C pool	Active C pool
			NS	***
10 ss	15,81 \pm 0,75 (B)	192,3 \pm 10,7 (C)	8,665 \pm 0,54	7,147 \pm 0,76 (BA)
20 ss	14,85 \pm 1,25 (B)	185,7 \pm 8,26 (BC)	8,278 \pm 0,85	6,577 \pm 0,85 (B)
40 ss	15,32 \pm 1,48 (B)	179,8 \pm 5,95 (B)	8,695 \pm 0,48	6,621 \pm 1,05 (B)
80 ss	17,18 \pm 1,23 (A)	197,8 \pm 4,67 (A)	9,127 \pm 0,48	8,054 \pm 0,76 (A)
M F	13,75 \pm 1,07 (C)	170,7 \pm 8,17 (D)	8,450 \pm 0,17	5,298 \pm 0,97 (C)
C0	13,58 \pm 0,63 (C)	166,5 \pm 6,50 (D)	8,598 \pm 0,14	4,980 \pm 0,62 (C)

Adding SS had a significant effect increasing SOC stocks ($p<0.001$), although higher doses were not directly translated into higher stable C stocks. Comparing the treatments 40ss and 80ss, with twice the dose applied, the TOC accumulation in the second was only approximately 10% higher. Also, when fertilization was MF it showed no differences when compared to C0. Regarding thermostability parameters, no differences were found on the stable C pools between the treatments. The new added C (as SS) mostly contributed therefore to the RockEval® active pool ($p<0.001$). Higher values of the H index would denote a more active C, as stable C is depleted of hydrogen (Barré et al., 2016). This parameter was different between treatments ($p<0.001$), and a clear correlation between TOC and H index was observed.

Correlation factors (Fig.1) between TOC and H index ($R^2=0,65$), stable C pool ($R^2=0,45$) and active C pool ($R^2=0,91$)

suggested indeed that exogenous C added with SS ended mostly in the active C pool.

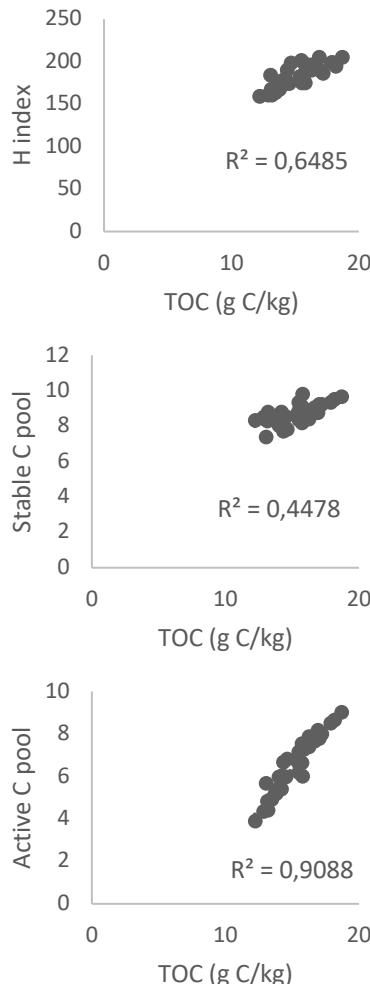


Figura 1 – Correlation between TOC and Hindex, Stable C pool and Active C pool. (n=36)

Conclusions

In this study, long-term SS application resulted in a net SOC gain in a calcareous soil, which was found to be mostly accumulated in the active pool, as determined by Rock-Eval® pyrolysis. This technique was sensitive and able to identify stable and active pools within the same (calcareous) soil with different amounts of SOC as a result of long-term management.

Acknowledgements

This project has received funding from the National Institute for Agricultural and Food Research and Technology (INIA) through the RTA2017-00088-C03-01 project and from the European Union's H2020 research and innovation programme under Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 801586. We are grateful for the services and disposition of the Commonwealth of Pamplona,

which contributed with the experimental plot and the sludge from the Arazuri treatment plant.

References

- Barré, P., Plante, A. F., Cécillon, L., Lutfalla, S., Baudin, F., Bernard, S., Christensen, B. T., Eglin, T., Fernandez, J. M., Houot, S., Kätterer, T., Le Guillou, C., Macdonald, A., van Oort, F., & Chenu, C. (2016). The energetic and chemical signatures of persistent soil organic matter. *Biogeochemistry*, 130(1–2). <https://doi.org/10.1007/s10533-016-0246-0>
- FAO. (2014). International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. In *World Soil Resources Reports N° 106*.
- Gee, G. W., & Bauder, J. W. (1986). Particle-size Analysis. In A. Klute (Ed.), *Methods of Soil Analysis: Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, 5.1, Second Edition. American Society of Agronomy, Inc. Soil Science Society of America, Inc.
- Gobierno de Navarra. (2021). *Meteorología y climatología de Navarra*. <http://meteo.navarra.es/>
- Kanari, E., Barré, P., Baudin, F., Berthelot, A., Bouton, N., Gosselin, F., Soucémarianadin, L., Savignac, F., & Cécillon, L. (2021). Predicting Rock-Eval® thermal analysis parameters of a soil layer based on samples from its sublayers; an experimental study on forest soils. *Organic Geochemistry*, 160(March). <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2021.104289>
- Lesschen, J. P., Stoorvogel, J. J., Smaling, E. M. A., Heuvelink, G. B. M., & Veldkamp, A. (2007). A spatially explicit methodology to quantify soil nutrient balances and their uncertainties at the national level. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 78(2), 111–131. <https://doi.org/10.1007/s10705-006-9078-y>
- Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (1982). Total carbon, organic carbon and organic matter. In A. L. Page, R. H. Miller, & D. R. Keeney (Eds.), *Methods of Soils Analysis* (pp. 539–579). Soil Science Society of America and Agronomy Society of America.
- Papadakis, J. (1961). *Climatic tables for the world*.
- Saenger, A., Cécillon, L., Poulenard, J., Bureau, F., De Daniélis, S., González, J. M., & Brun, J. J. (2015). Surveying the carbon pools of mountain soils: A comparison of physical fractionation and Rock-Eval pyrolysis. *Geoderma*, 241–242, 279–288. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.12.001>
- Simoes-Mota, A., Poch, R. M., Enrique, A., Orcaray, L., & Virto, I. (2021). *Soil Quality Assessment after 25 Years of Sewage Sludge vs. Mineral Fertilization in a Calcareous Soil*. 1–20.
- SPSS Inc. (2021). *Statistical Software SPSS 27.0. SPSS*.
- Zaragüeta, A., Enrique, A., Virto, I., Antón, R., Urmeneta, H., & Orcaray, L. (2021). Effect of the long-term application of sewage sludge to a calcareous soil on its total and bioavailable content in trace elements, and their transfer to the crop. *Minerals*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/min11040356>

Vermicompostagem de substratos com lamas de ETAR: efeitos em *Eisenia fetida*

Vermicomposting of substrates with sewage sludge: effects on *Eisenia fetida*

Gonçalves, José¹; Coimbra, Ana M.²; Sousa, João Ricardo¹; Oliveira, Paula²; Roboredo, Marta^{3*}

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

² Centro de Investigação e de Tecnologias Agroambientais e Biológicas, Inov4Agro, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

³ Centro de Química Vila Real, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, roboredo@utad.pt

Resumo / Resumen

A valorização das lamas de ETAR na agricultura como fonte de matéria orgânica e nutrientes tem vindo a ganhar relevo. Estes resíduos, produto do tratamento de águas residuais, podem ser melhorados através de bioprocessos como a vermicompostagem, ultrapassando limitações tais como a estabilidade da matéria orgânica e/ou presença de contaminantes. Com o objetivo de melhor compreender a viabilidade da vermicompostagem de lamas de ETAR efetuou-se um ensaio com substratos contendo proporções variáveis deste resíduo, de estrume de equino maduro e de casca de arroz. Aos diferentes substratos, sujeitos a um período de pré-compostagem, adicionaram-se minhocas adultas da espécie *Eisenia fetida* por um período de 31 dias. O efeito nas minhocas da exposição às diferentes misturas foi avaliado ao nível da mortalidade, crescimento e reprodução. Os resultados revelaram que substratos com proporções elevadas de lamas de ETAR são letais para as minhocas e que a exposição às lamas inibe a reprodução desta espécie. O pH, condutividade eléctrica e razão C/N foram as características dos substratos que sugerem um maior impacto nos resultados obtidos e a ter em principal consideração em estudos futuros.

Palavras-chave: vermicompostagem, lamas de ETAR, *Eisenia fetida*.

Abstract

The valorization of sewage sludge as a source of organic matter and nutrients in agriculture has been gaining importance. These residues, a product of wastewater treatment, can be improved through bioprocesses such as vermicomposting, overcoming limitations such as the stability of organic matter and/or the presence of contaminants. In order to better understand the viability of vermicomposting of sewage sludge, a trial was carried out with substrates containing varying proportions of this residue, of matured horse manure and of rice husk. Adult earthworms of the *Eisenia fetida* species were added to the different substrates, previously pre-composted for a period of 31 days. The effect of exposing the earthworms to the different mixtures was evaluated in terms of mortality, growth and reproduction. The results revealed that high amounts of sewage sludge are lethal to earthworms and exposure to the sludge inhibited this species reproduction. The pH, electrical conductivity and C/N ratio were the characteristics of the mixtures that suggest a greater impact on the results obtained and to be considered in future studies.

Keywords: vermicomposting, sewage sludge, *Eisenia fetida*.

Introdução

O aumento da população mundial, acompanhado da urbanização e industrialização, conduz inevitavelmente ao aumento da produção de todo o tipo de resíduos (Rékási et al., 2019). A ampliação e melhoria das redes de recolha de águas residuais segue este crescimento, contribuindo para um consequente aumento do volume total de lamas provenientes das estações de tratamento de águas residuais (ETARs) (Suleiman et al., 2017). Este subproduto é composto principalmente por água, matéria orgânica, microrganismos, metais pesados, gorduras e sólidos inorgânicos, variando a sua composição com o tipo de zona que é drenada para a ETAR (urbana, industrial, rural), época do ano e ainda com as características técnicas do tratamento das águas residuais (Rorat et al., 2017).

A valorização agronómica de lamas como fertilizante, tendo em conta o princípio da economia circular, é um dos possíveis destinos para as lamas de ETAR que se tem vindo a revelar promissor (Suleiman et al., 2017). Contudo, as lamas, para além da matéria orgânica e nutrientes que podem introduzir nos solos, podem conter organismos patogénicos, elementos potencialmente tóxicos como metais pesados, fármacos, compostos aromáticos, hormonas e/ou matéria orgânica não estabilizada que limitam fortemente a sua utilização devido aos elevados riscos de toxicidade e contaminação associados.

A vermicompostagem é um processo acelerado de bio oxidação e estabilização de resíduos orgânicos que envolve a ação conjunta de minhocas, impulsionadoras do processo através da fragmentação do substrato e de microrganismos, responsáveis pela degradação bioquímica (Dominguez, 2004). Este processo tem-se revelado favorável na ultrapassagem das limitações das lamas como matéria fertilizante (Rékási et al., 2019), pois proporciona a estabilização da matéria orgânica e a redução da disponibilidade de compostos potencialmente tóxicos, com vantagens agronómicas e ambientais evidentes.

O objetivo do presente estudo consistiu em avaliar a viabilidade do processo de vermicompostagem em substratos com quantidades variáveis de lamas de ETAR digeridas.

Material e métodos

Inicialmente foram preparadas 3 misturas, em diferentes proporções (massa fresca), de lama de ETAR digerida (LE), estrume de equino maturado (EE) e casca de arroz (CA). As misturas M1, M2 e M3 foram compostas por: M1- 45% LE, 45% EE, 10% CA; M2- 35% LE, 55% EE, 10% CA; M3- 25% LE, 65% EE, 10% CA. As misturas, e o substrato controlo (100% EE), foram sujeitos a 5 semanas de pré-compostagem e manualmente reviradas todas as semanas para eliminação de gases voláteis (NH_3 e CH_4) potencialmente tóxicos para as minhocas.

No final do período de pré-compostagem foram preparados os substratos para a vermicompostagem. Os substratos consistiram nas misturas iniciais M1, M2 e M3 e em mais três substratos, M1L, M2L e M3L, que corresponderam a 75% de cada uma das misturas iniciais (M1, M2 e M3, respectivamente) com 25% de LE (Fig. 1). O tratamento controlo consistiu em estrume de equino maturado (EE).

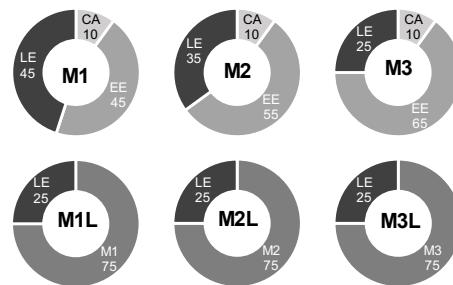


Fig. 1- Esquema representativo dos substratos com lamas de ETAR

O processo de vermicompostagem decorreu nos 6 tratamentos com lamas e no tratamento controlo: M1, M2, M3, M1L, M2L, M3L e EE. As misturas foram colocadas em biorreatores constituídos por caixas de polipropileno (20 cm

comprimento x 15 cm largura x 10 cm altura) com tampa perfurada para assegurar o arejamento adequado. Antes da sua colocação nos biorreatores, as minhocas (*Eisenia fetida*) adultas, com clitelo desenvolvido, foram depuradas para limpeza do conteúdo intestinal e procedeu-se ao registo da sua massa corporal (29 minhocas/ kg de mistura, massa fresca). O teor de humidade dos biorreatores foi reposto sempre que necessário por aspersão periódica de uma quantidade adequada de água destilada. Os biorreatores foram mantidos no escuro a uma temperatura ambiente de 20°C durante 31 dias.

A condição das minhocas foi avaliada aos 7, 14, 21 e 31 dias, com registo da mortalidade. Aos 31 dias, nos tratamentos sem mortalidade (M2, M3, M3L e controlo) as minhocas foram removidas, lavadas com água destilada, depuradas por um período de 24 horas, e determinada a sua massa corporal. Em cada biorreator foi avaliada a produção de casulos, com contagem do número de casulos depositados.

Nesses tratamentos (M2, M3, M3L e controlo) foram analisados, aos 0 e 31 dias, os seguintes parâmetros: matéria seca, pH, condutividade elétrica (CE), C_{total}, N_{total}, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, P, Ca, K, Mg, S, Cu, Zn, Fe, Pb, Hg, Cr, Cd, Ni, Mn.

Resultados e discussão

Mortalidade

Os resultados obtidos revelaram que os tratamentos M2, M3, M3L e controlo não induziram mortalidade nos 31 dias de exposição das minhocas. Ao fim de 7 dias de exposição, os tratamentos M1, M1L e M2L registaram mortalidades superiores a ou iguais a 60%, tendo o tratamento M1L, com a maior quantidade de lama de ETAR, apresentado uma mortalidade de 100%.

Embora a mortalidade inicial de M1 (72%) tenha sido superior à registada em M2L (60%), o máximo de mortalidade foi alcançado ao fim de 14 dias em M2L (98%) e ao fim de 31 dias em M1 (100%) (Fig. 2).

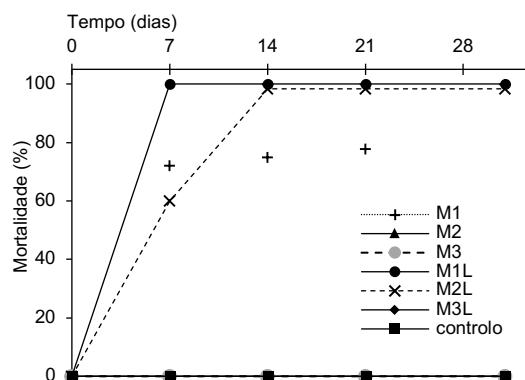


Fig. 2- Mortalidade das minhocas, expressa em %, nos diferentes tratamentos

Reprodução

A reprodução, avaliada ao fim de 31 dias pela produção de casulos, foi significativamente inibida pela presença de lamas nas diversas misturas. Enquanto o tratamento controlo registou uma deposição média de 11,22 casulos por minhoca, nos restantes tratamentos, com a exceção de M3L com uma média de 0,07 casulos por minhoca, não se observou a deposição de casulos.

Massa das minhocas

No início do ensaio, dia 0, não se registaram diferenças significativas na massa média das minhocas (Fig. 3). Ao fim de 31 dias, as diferenças entre os vários tratamentos foram significativas, com a exceção entre o tratamento M3L e controlo.

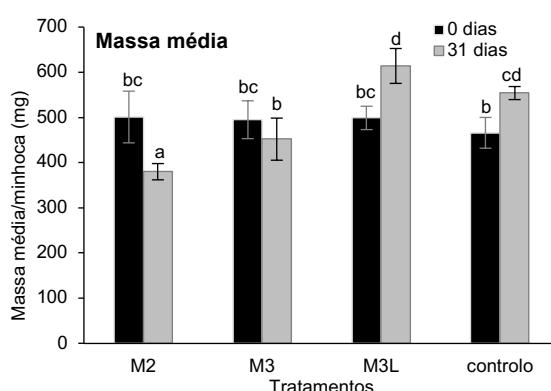


Fig. 3- Massa média (mg) por minhoca obtida aos 0 e 31 dias nos tratamentos M2, M3, M3L e controlo

Na comparação dos resultados obtidos entre o início e final do ensaio, destaca-se M2 e M3 com decréscimos de massa/minhocas entre os 0 e os 31 dias de exposição, sendo a diferença significativa apenas em M2, tratamento com maior quantidade de lama de ETAR. Pelo contrário, os tratamentos M3L e controlo registaram acréscimos significativos de massa/minhocas entre os dois períodos.

Os efeitos observados na mortalidade, reprodução e massa das minhocas poderão ser atribuídos à composição das misturas: (i) valores de pH < 5.3 em M2, M3 e M3L; (ii) aumento significativo durante o processo de vermicompostagem de N-NH₄⁺ nas misturas com lamas, atingindo valores superiores a 400 mg N kg⁻¹ em M3L; (iii) valores de condutividade elétrica > 1.7 dS m⁻¹ nos tratamentos com lamas e acréscimos significativos ao fim de 31 dias; (iv) as lamas consistiram numa fonte significativa de Cu, Zn, Cd, Pb, e Hg, contudo salvaguarda-se que nos substratos preparados os valores máximos admissíveis para teores totais destes metais pesados em matérias fertilizantes obtidos a partir de resíduos orgânicos não foram ultrapassados (Decreto-Lei n.º 103/2015).

Nos tratamentos com incorporação de lamas, destaca-se a prestação de M3L pelo maior acréscimo de massa das minhocas, podendo este resultado estar associado a: (i) razão C/N significativamente inferior a M2, M3 e controlo, tanto no início como no final do ensaio com diferenças não significativas entre os 0 e 31 dias; (ii) valor de pH significativamente mais elevado do que o observado em M2 e M3, no início e final do ensaio (dados não apresentados).

Conclusões

O presente trabalho revelou a importância da composição do substrato para a viabilidade do processo de vermicompostagem, uma vez que foi condicionante para a sobrevivência, crescimento e reprodução das minhocas, *Eisenia fetida*. As quantidades mais elevadas de lamas de ETAR provocaram a morte das minhocas, e a presença de

lamas inibiu o processo reprodutivo. Além dos parâmetros avaliados, propõe-se a determinação de outros contaminantes ambientais usualmente encontrados em lamas de ETAR (compostos aromáticos, fármacos, hormonas, produtos de limpeza e de higiene pessoal) para uma melhor compreensão dos resultados obtidos.

Referências bibliográficas

- Decreto-Lei n.º 103/2015 de 15 de junho do Ministério da Economia. Diário da República, 1.ª série — N.º 114 — 15 de junho de 2015.
- Dominguez, J. (2004). State-of-the-art and new perspectives on vermicomposting research. In: In: Edwards, C.A. Ed., *Earthworm Ecology*, 2nd Edition, CRC Press, pp 401-424.
<http://dx.doi.org/10.1201/9781420039719.ch20>
- Rékási, M., Mazsu, N., Draskovits, E., Bernhardt, B., Szabó, A., Rivier, P. A., Farkas, C., Borsányi, B., Pirkó, B., Molnár, S., Kátay, G., & Uzinger, N. (2019). Comparing the agrochemical properties of compost and vermicomposts produced from municipal sewage sludge digestate. *Bioresource Technology*, 291.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121861>
- Rorat, A., Wloka, D., Grobelak, A., Grosser, A., Sosnecka, A., Milczarek, M., Jelonek, P., Vandenbulcke, F., & Kacprzak, M. (2017). Vermiremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in sewage sludge composting process. *Journal of Environmental Management*, 187, 347–353.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.10.062>
- Suleiman, H., Rorat, A., Grobelak, A., Grosser, A., Milczarek, M., Plytycz, B., Kacprzak, M., & Vandenbulcke, F. (2017). Determination of the performance of vermicomposting process applied to sewage sludge by monitoring of the compost quality and immune responses in three earthworm species: *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei* and *Dendrobaena veneta*. *Bioresource Technology*, 241, 103–112.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.104>

SOC stock in woody crops in Madrid Region depends on the soil conservation management

El almacenamiento de SOC en cultivos leñosos en la Región de Madrid depende de la práctica de conservación del suelo

Sastre, Blanca^{*1}; Antón, Omar¹; Moreno-Delafuente, Ana¹; Borrego, Adrián¹; Cuevas, Alfredo¹; García-Díaz, Andrés¹; Marqués, María José²; Bienes, Ramón¹

¹ Dept. Applied Research and Agrarian Extension, Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), El Encín, A-2, km 38.2, Alcalá de Henares, 28805 Madrid, Spain

² Geology and Geochemistry Department, Faculty of Sciences, Autonomous University of Madrid, Calle Francisco Tomás y Valiente, 7, 28049 Madrid, Spain

[*blanca.esther.sastre@madrid.org](mailto:blanca.esther.sastre@madrid.org)

Resumen

Las cubiertas vegetales son una práctica muy recomendada para el manejo del suelo en cultivos leñosos, con el objeto de proteger el suelo frente a la erosión y aumentar el contenido de carbono orgánico que almacena. Un estudio en la zona sureste de la Comunidad de Madrid comparando parcelas con manejos alternativos al laboreo (cubierta vegetal segada mecánicamente, cubierta vegetal eliminada con herbicida y sin manejo debido a la escasa vegetación) frente a parcelas labradas fue llevado a cabo entre 2018 y 2021 (34 parcelas en total). Tan solo las parcelas con cubiertas vegetales segadas, incrementaron significativamente el contenido de carbono orgánico del suelo (SOC) frente a parcelas próximas labradas ($+4.9 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$), mientras que las parcelas con cubiertas segadas con herbicida o las parcelas que no tenían manejo del suelo porque tenían escasa vegetación no tuvieron un contenido diferente de SOC frente a sus homólogas labradas. Bajo las condiciones edafoclimáticas de la zona de estudio, las parcelas con cubiertas segadas mecánicamente llegaron a almacenar de media $33.5 \text{ Mg SOC}\cdot\text{ha}^{-1}$ en el espesor de 0-30 cm, que es un valor menor que el de otros estudios similares en zonas diferentes, mostrando las importantes limitaciones edafoclimáticas de esta zona.

Palabras clave: cubiertas vegetales, stock de carbono, siega mecánica, siega química, herbicida.

Abstract

Cover crops or groundcovers in woody crops are a highly recommended conservation practice to protect soil against erosion and to increase soil organic carbon (SOC) stock. A study in southeastern Madrid Region was performed comparing plots under a soil conservation management (mechanically mowed, chemically mowed and no soil management) regarding tilling (total of 34 plots). This work was carried out from 2018 to 2021. Only plots under mechanically mowing significantly increased SOC stock comparing with nearby tilling plots ($+4.9 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$). Plots managed chemically mowing or with no management due to weed scarcity did not increase SOC stock regarding their homologues tilled plots. Under the edaphoclimatic conditions of the study area, mechanically mowed plots reached $33.5 \text{ Mg SOC}\cdot\text{ha}^{-1}$ on average at 0-30 cm depth. This value is quite below regarding similar studies in other areas, showing the highly restricted edaphoclimatic conditions of the study zone.

Keywords: cover crops, SOC stock, mechanically mowing, chemically mowing, herbicide.

Introduction

Most olive groves are managed by tillage in the Madrid Region (>71%), as in other Spanish regions (MAPAMA, 2019). This practice leads to soil erosion with an important loss of organic carbon and nutrients (Bienes et al., 2010; Gómez et al., 2009).

Alternative soil managements are crucial to avoid soil and nutrient loss, in order to reach a sustainable agriculture. Permanent or annual cover crops, seeded or spontaneous, and mulching are strategies to protect the soil from erosive processes (FAO & ITPS, 2021; Sastre et al., 2017). Moreover, carbon sequestration in soils is a key process for adaptation and mitigation of the expected negative impacts of Climate Change (Rodríguez Martín et al., 2016).

Material and Methods

This work was performed mainly in "Comarca de Las Vegas", a shire at the south-east of Madrid Region with high extensions of woody crops (mainly olive groves). The climate is classified as Continental Mediterranean, with a mean annual temperature of 14.7°C, accumulated annual precipitation of 370 mm, and a reference evapo-transpiration (ET_0 Penman-Monteith) of 1170 mm.

The first stage of the project was to find farmers who did not use tillage as soil management in their woody crops. More than 30 plots were visited, selecting 15 private rainfed olive groves, and adding two research IMIDRA's farms to the trial (Fig. 1): "La Chimenea" and "El Socorro". These are experimental farms with olive orchards and vineyards, respectively.

Once the soil alternative management plots were selected, a close farm with the same crop and similar soil was chosen. From the 17 plots with soil conservation management 7 were mechanically mowed once or twice per year (mean of 7 years with this management), 3 were yearly chemically mowed (mean of 6 years with this management), and 7 had no soil management due to the scarcity of the spontaneous vegetation growing in these

soils (mean of 6 years with this management).

Soils were classified according to the FAO's map (Centro de Investigaciones Agrarias del CSIC (Ministerio de Economía, Industria y Competitividad) & Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio (Comunidad de Madrid), 1990) as follows: 2 Calcisols, 1 Cambisol, 2 Gypsisols, 5 Leptosols, 6 Luvisols and 1 Regosol.

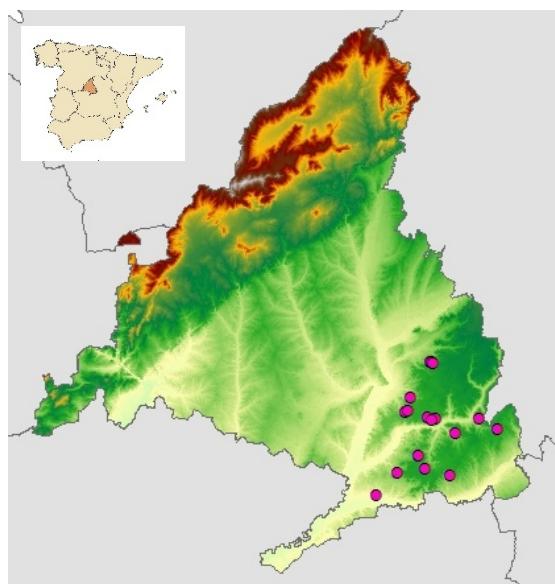


Fig. 1 –Plots location in Madrid Region (n=16, each dot is a pair of plots: soil conservation management and tillage).

In each plot, 3 composite samples were taken in the inter-rows at 4 depths: 0–5, 5–10, 10–20 and 20–30 cm. The samples were sieved at 2 mm, to analyze soil organic carbon (SOC) by wet oxidation method (Walkley & Black, 1934). SOC stock was obtained as follows:

$$C\ Stock = conc. \times BD \times d \times (1-S) \times 10^2$$

where C Stock is the stock of carbon ($Mg\ ha^{-1}$); conc. is the concentration of carbon (%); BD is the bulk density ($Mg\ m^{-3}$); d is the thickness (m); and S is the stoniness (% of coarse fragments >2 mm).

One and two-way ANOVA tests were used for the groups of managements to establish significant differences between variables (LSD test for differences).

Results and Discussion

SOC stock at 0-30 cm depth was statistically different for the different soil management (Fig. 2). The means were 33.5 [18.7-66.4], 31.6 [23.2-39.8], 27.0 [19.0-32.7] and 28.6 [17.0-44.3] Mg·ha⁻¹ for Mechanical mowing, Chemical mowing, with No management and Tillage, respectively (minimum and maximum values in brackets). Only under mechanical mowing there were statistical significant differences regarding Tillage. These results of carbon stock are higher than those found by Calvo de Anta et al. (2020) in soils of woody crops from Madrid (24 Mg SOC·ha⁻¹); but quite below to those described for soils in woody crops in Spain by Rodríguez Martín et al. (2016) being 38.09 Mg·ha⁻¹ of SOC; or those considered by Batoni et al. (2019) in olive groves in Italy , being 36-71 Mg·ha⁻¹. This lower content of SOC stock is due to the edaphoclimatic conditions (Calvo de Anta et al., 2020), since this area is under semiarid or close to semiarid climate with thin soils, some of them with high content of gypsum or lime.

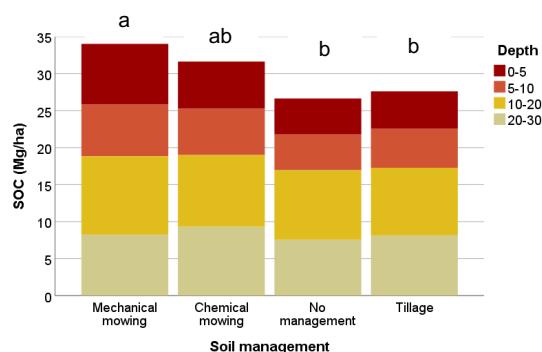


Fig. 2 – Soil Organic Carbon (SOC) stock at 0-30 cm depth under different soil management. Different letter above the column means statistically significant differences according LSD test ($p<0.05$).

SOC stock in woody crops with a groundcover managed with a mechanical mowing increases by 20% regarding tillage. It means an increase of 4.9 Mg·ha⁻¹ in groundcovers managed mechanically mowed for 7 years on average. This result is consistent with previous works of the group (Sastre et al., 2018), where an increase of SOC stock of 1 Mg·ha⁻¹ year⁻¹ under the permanent cover crop at 0-10 cm depth was measured. However, these results are far from those from Nieto et al. (2013) who measured an increase of 4.02 Mg·ha⁻¹·year⁻¹ in olive groves with cover

crops in southern Spain. This rise in 4.9 Mg·ha⁻¹ SOC stock could be the limit that this type of soil under this climate could accumulate.

SOC stock variation between the pair of plots (Soil conservation management and Tillage) was calculated in order to evaluate the effect of the soil conservation management classes, for the same edaphoclimatic conditions (Fig. 3). The main differences appears between Mechanical mowing in the upper horizons.

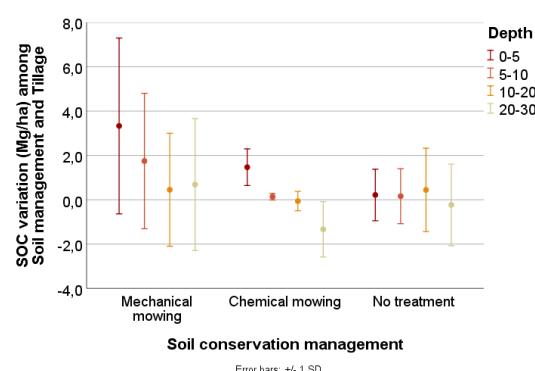


Fig. 3 – Soil Organic Carbon (SOC) stock differences among soil conservation management and tillage in each plot.

A Two-way ANOVA was performed to determine the effect of the management and depth in the variations in SOC stock under the soil conservation management regarding tillage (Table 1).

Tabla 1 – Two-way ANOVA and Least Significant Difference tests for pairwise comparison of Soil Organic Carbon stock variation at different soil treatments and depths.

Factor		p-value
	Treatment	0.000
	Depth	0.012
	Treatment x Depth	0.080
Treatment		LSD mean of SOC variation (Mg·ha⁻¹)
	Mechanical mowing	1.55 ^a
	Chemical mowing	0.56 ^b
Depth	No management	-0.06 ^b
	0-5 cm	1.60 ^a
	5-10 cm	0.81 ^{ab}
	10-20 cm	0.31 ^b
	20-30 cm	0.02 ^b

Different lowercase letters indicates differences between levels of the factor according to LSD test at $p<0.05$.

Both factors, Soil Treatment and Depth, were significantly different, and there was

no interaction between factors. Woody crops managed under Mechanical mowing stores significantly more SOC compared with tillage than the other two managements, that are similar between them. The largest differences in SOC variation appear at 0-5 cm depth, being statistically different than the variations at 10-20 and 20-30 cm depth. This is consequence of SOC stratification caused by the contribution of plant debris in the topsoil. Tillage homogenization is absent, contributing to a layered differentiation.

Conclusions

SOC stock depends on the soil conservation management applied and on the local edaphoclimatic conditions. Only Mechanically mowing increase SOC stock at 0-30 cm regarding tillage, but there were no differences with Chemical mowing or No treatment. This information should be taken into account in order to be considered among the "greening" measures of the next Common Agricultural Policy. The 'green direct payment' (or 'greening') supports farmers who adopt or maintain farming practices that contribute to EU environmental and climate goals.

Acknowledgement

This research was carried out under the project ACCION of the Madrid Region's Rural Development Programme (RDP), funded by the European Union (FEADER), Spanish Ministry of Agriculture, Fisheries and Food and the Madrid Regional government through IMIDRA.

References

- Bateni, C., Ventura, M., Tonon, G., & Pisanelli, A. (2019). Soil carbon stock in olive groves agroforestry systems under different management and soil characteristics. *Agroforestry Systems*, , 1-11.
- Bienes, R., Ruiz, M., & Marques, M. J. (2010). Pérdida de suelo, fósforo y materia orgánica por erosión hídrica en parcelas revegetadas con matorral autóctono bajo clima semiárido [Loss of soil, phosphorous and organic matter by hydric erosion in revegetated plots with autochthonous shrubs under semiarid climate]. *Revista De Ciencias Agrarias*, 33(1), 58-69.
- Calvo de Anta, R., Luís, E., Febrero-Bande, M., Galiñanes, J., Macías, F., Ortiz, R., & Casás, F. (2020). Soil organic carbon in peninsular Spain: Influence of environmental factors and spatial distribution. *Geoderma*, 370, 114365. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114365>
- Centro de Investigaciones Agrarias del CSIC (Ministerio de Economía, Industria y Competitividad), & Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio (Comunidad de Madrid). (1990). Asociaciones de Suelos (Sistemática FAO) de la Comunidad de Madrid, a escala 1:200.000 del año 1990. [FAO soil classification of Madrid Region, at a scale of 1:200.000, of 1990.]
- FAO, & ITPS. (2021). Recarbonizing Global Soils – A technical manual of recommended sustainable soil management. Volume 4: Cropland, grassland, integrated systems and farming approaches – Case studies. <https://doi.org/10.4060/cb6598en>
- Gómez, J. A., Guzmán, G., Giráldez, J. V., & Fereres, E. (2009). The influence of cover crops and tillage on water and sediment yield, and on nutrient, and organic matter losses in an olive orchard on a sandy loam soil. *Soil and Tillage Research*, 106(1), 137-144. <https://doi.org/10.1016/j.still.2009.04.008>
- MAPAMA. (2019). Encuesta de Superficies y Rendimientos de Cultivos (ESYRCE). Análisis de las plantaciones de olivar en España [Survey about extensions and yields in crops (ESYRCE). Analysis of olive groves in Spain]. Secretaría General Técnica, Subdirección General de Estadística del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- Nieto, O. M., Castro, J., & Fernández-Ondoño, E. (2013). Conventional tillage versus cover crops in relation to carbon fixation in Mediterranean olive cultivation. *Plant and Soil*, 365(1), 321-335. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1395-0>
- Rodríguez Martín, J. A., Álvaro-Fuentes, J., Gonzalo, J., Gil, C., Ramos-Miras, J. J., Grau Corbí, J. M., & Boluda, R. (2016). Assessment of the soil organic carbon stock in Spain. *Geoderma*, 264, 117-125. <https://doi.org/j.geoderma.2015.10.010>
- Sastre, B., Barbero-Sierra, C., Bienes, R., Marques, M. J., & García-Díaz, A. (2017). Soil loss in an olive grove in Central Spain under cover crops and tillage treatments, and farmer perceptions. *Journal of Soils and Sediments*, 17, 873-888. <https://doi.org/10.1007/s11368-016-1589-9>
- Sastre, B., Marques, M. J., García-Díaz, A., & Bienes, R. (2018). Three years of management with cover crops protecting sloping olive groves soils, carbon and water effects on gypsiferous soil. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.07.003>
- Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1), 29-38.

Caracterização ecotoxicológica de um substrato orgânico em fim de vida

Ecotoxicological characterization of end-of-life organic substrate

Serrão, Joana¹, Bouguerra, Sirine¹, Nogueira, Verónica², Sanchez-Hernandez, Juan C.³, Carvalho, Susana M.P.⁴, Pereira, Ruth^{1*}

¹ GreenUPorto - Research Centre on Sustainable Agrifood Production / Inov4Agro & Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto, Porto 4169-007, Portugal

² Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research (CIIMAR), University of Porto, 4450-208 Matosinhos, Portugal

³ Laboratory of Ecotoxicology, Faculty of Environmental Science and Biochemistry, University of Castilla-La Mancha, 45071 Toledo, Spain

⁴ GreenUPorto - Research Centre on Sustainable Agrifood Production / Inov4Agro & DGAOT, Faculty of Sciences of University of Porto, Rua da Agrária 747, 4485-646 Vairão, Portugal

* ruth.pereira@fc.up.pt

Resumo

Nos últimos anos a utilização de substratos para a produção de frutos e hortícolas em estufa tem vindo a aumentar. Estes materiais apresentam várias vantagens, nomeadamente um uso mais eficiente da água e dos nutrientes e a redução da aplicação de produtos fitofarmacêuticos. No entanto, o destino destes substratos no fim da sua vida útil é um assunto controverso que necessita de aprofundamento científico. Devido ao alto teor de matéria orgânica, a incorporação de substratos orgânicos (OS) em solos agrícolas poderá representar uma mais-valia. Porém, a segurança ambiental desta prática necessita de ser avaliada devido ao risco de acumulação de contaminantes e moléculas bioativas durante os ciclos de produção. Assim, este trabalho teve como objetivo efetuar uma avaliação ecotoxicológica de um OS em fim de vida, proveniente da cultura de tomate, através da realização de ensaios padronizados. Três percentagens deste resíduo foram incorporadas num solo agrícola natural (2,5, 5 e 10%), tendo sido testados os efeitos na germinação de sementes, crescimento de plantas, reprodução de oligoquetas e atividade enzimática dos solos. Os resultados preliminares não revelaram impactos negativos preocupantes para as concentrações testadas. De futuro, são necessários estudos mais abrangentes, nomeadamente para avaliar os possíveis efeitos ecotoxicológicos em matrizes aquáticas.

Palavras-chave: substratos orgânicos, ensaios ecotoxicológicos, avaliação de risco ambiental, valorização de resíduos, saúde dos solos

Abstract

In recent years the use of substrates in horticultural protected crops has been increasing. Their use presents several advantages including a more efficient use of water and nutrients and a reduction in the use of phytopharmaceutical products. However, at the end-of-life of these materials, their disposal is still a matter of continuous research and controversial discussion. Due to the high organic matter content of organic substrates (OS), the incorporation of these residues in agricultural fields could be advantageous. However, this practice requires a prior assessment of its environmental safety because of the risk of contamination and accumulation of bioactive molecules during cultivation cycles. The aim of this work was to make an ecotoxicological evaluation of one OS from soilless tomato production using standard protocols. A natural agricultural soil was amended with three increasing percentages of end-of-life OS (2,5, 5 and 10%). Effects of amended soils on seedling emergence and plant growth, earthworm reproduction rate and selected soil enzymatic activity were assessed. The preliminary results did not reveal major detrimental effects derived from the amendment of soil using end-of-life coconut substrate, at least for the percentages tested. In the future, more studies are necessary to evaluate possible impacts in freshwater resources.

Keywords: organic substrates, ecotoxicological assays, environmental risk assessment, waste valorisation, soil health

Introduction

Soilless production systems are a form of intensive agriculture that relies on the use of growing media, which have the advantages of maximizing crop yield and product quality while reducing the use of phytopharmaceutical products (PPPs) particularly for soil disinfection (Asaduzzaman et al., 2015; Atzori et al., 2021). Organic substrates (OS) growing media offer several advantages in comparison with inorganic ones (e.g., nutrient efficiency, cost, end-of-life environmental impact), so their use have been continuously increasing (Raviv, 2011). Nevertheless, end-of-life (EL) OS disposal can still pose an environmental risk due to their potential to accumulate fertilizers, PPPs and salts.

Many studies have focused on promoting agricultural waste recycling, especially regarding crops residues and the production of more eco-friendly substrates (Diacono et al., 2019). Even so, further research is still needed to promote the valorisation of agricultural wastes and to produce value-added products (O'Connor et al., 2020). Currently, there is still a lack of proper solutions to EL-OS.

In fact, several farmers already perform the incorporation of EL-OS in agricultural soils considering that this practice increases the organic matter content of degraded soils, also contributing to fertilizing the soil (data not shown) (Fig. 1).



Fig. 1 – End-of-life substrate accumulated in open field before incorporation in soil.

To create adequate solutions and/or validate the use of EL-OS as a soil amendment, it is critical to evaluate the

environmental safety of these residues. Therefore, the aim of this study was to assess the potential ecotoxicity of agricultural soils amended with different percentages EL-OS.

Material and methods

An EL-OS, originally consisting of 100% coconut fibre, used in a commercial greenhouse for tomato soilless production, was collected at the Centre Region of Portugal. The substrate was dried and sieved and the fraction <4 mm was incorporated (2.5, 5 and 10%) in a natural agricultural soil (NAS) collected at Vairão Campus of the Faculty of Sciences, University of Porto. All amended soils (NAS-EL-OS) were left to stabilize for 48h before being used and assays were performed using standard methods. In all ecotoxicity assays, EL-OS-free, NAS was used as control.

NAS, OS and NAS-EL-OS pH and electrical conductivity (EC) were measured in a soil:water suspension (1:5 w/v) according to ISO (2021). Similarly, maximum water holding capacity (WHC_{\max}) was determined following OECD (2016). Lastly, soil organic matter content (SOM) was measured by loss on ignition at 450°C for 8h.

Four seedling emergence and seedling growth tests were performed following ISO (2012a). Two dicotyledonous *Lactuca sativa* and *Solanum lycopersicum* and two monocotyledonous *Avena sativa* and *Zea mays* species were used as test plants. All seeds were purchased at a local supplier. Briefly, five pots were prepared for each percentage of NAS-EL-OS, including controls, and moisture was adjusted to 45% of WHC_{\max} . Then, twenty seeds were sown per replicate. Pots were kept under optimal conditions of light and temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$; $16\text{h}^{\text{L}}:8\text{h}^{\text{D}}$) and moisture was continuously monitored and adjusted. After 50% of the control group plants emerged, exposure lasted 14 days. At the end of the assay, seed emergence was recorded, plants were harvested, fresh and dry shoot weight were determined.

Eisenia fetida reproduction test was carried out accordingly to ISO (2012b). Four containers for each percentage of NAS-EL-OS, including controls, were prepared and moisture was adjusted to 60% of WHC_{max}. Ten adult earthworms, originated from synchronised laboratory culture, with well-developed clitellum, were randomly distributed for each container and kept under optimal conditions of light (16h^L:8^D) and temperature (20 ± 2°C). Once a week, moisture content was adjusted and worms were fed. After 28 days, adults were removed, counted, weighed and the containers kept at the same experimental conditions for another additional 28 days. In the end of this period, juveniles were counted.

To assess the effects on soil enzymatic activity, three containers for each percentage NAS-EL-OS were incubated for 28 days at 20 ± 2°C. Photoperiod was set for 16h^L:8^D and moisture was kept at 80% of WHC_{max}. (n=3, including control group). In the end of incubation, the fraction <2mm was stored at -20°C until further analyses. The activity of dehydrogenase (DHA), acid phosphatase (AP), urease (UR), cellulase (CL), nitrogen mineralization (NM) and potential nitrification (PN) were measured based on adaptations of Schinner et al. (1996) methodology as described by Bouguerra et al. (2022).

Statistical analyses were performed in IBM® SPSS® 26 Statistics software (IBM Corp Armonk, NY). Significant differences were calculated using one-way ANOVA followed by post-hoc comparisons using Dunnett test. Significant differences were accepted when $p<0.05$.

Results and discussion

NAS-EL-OS resulted in a decrease of pH values and increase in EC to a maximum value of 0.426 dS/m. Furthermore, WHC and SOM increased as the percentages of EL-OS increased in soil.

Regarding seedling growth and seedling emergence, none of the tests revealed valuable toxic effects for these endpoints. Moreover, *L. sativa* and *S. lycopersicum* showed to benefit with some of the tested

percentages of EL-OS, increasing wet and dry shoot weight.

E. fetida reproduction was not affected by any of the tested percentages of EL-OS incorporation.

When compared with control (NAS) the activity of DHA, AP, and PN showed a tendency to increase with the increase of the percentage of EL-OS incorporated. Contrariwise, UR and CL activities tended to decrease. NM activity did not change compared with the control.

Physical-chemical parameters results were expectable. pH and EC are a direct consequence of the intensive use of fertilizers required in these systems being extensively explained in literature (Robson, 2012). Although acidity and salinity can compromise crops quality and yield, the obtained values were within acceptable range for agriculture production (Van Beek et al., 2010).

Coconut fibre OS is recognized to have an apparent low density and high WHC and SOM (Louro & Reis, 2020). As expected, our results showed that the incorporation of NAS with EL-OS resulted in an increase of these parameters. Such alterations have the potential to improve aeration, WHC_{max}, function and fertility of soils, especially in more degraded ones.

Improvements observed on plants biomass, although significantly positives, were not detected in all species, probably indicating that the bioavailability of the nutrients on the organic matter can be enhanced. Composting is well established solution to increase organic wastes fertilizing capacity (Zhang et al., 2019), possibly being a suitable approach for EL-OS. More importantly, plants and earthworms were not negatively affected, indicating that soils amended with EL-OS at the doses tested in this study were not toxic.

EL-OS amended soils increased the overall microbial metabolic activity as showed by the higher DHA activity. This can result of the increase of SOM content

since it offers more substrate to support higher microbial biomass (Wolińska & Stępniewska, 2012). However, enzymatic activities translate complex relations between biotic and abiotic factors. Also, the C, N, P and K content and bioavailability that EL-OS can add to soil are important factors to interpret our results regarding nitrification and mineralization processes, as well as CL and UR activities. Overall, the quantified values obtained for EL-OS amended soils did not suggest major concerns regarding their safety.

Conclusions

Our results showed that soil amended with end-of-life coconut fiber substrate (up to 10%) obtained from tomato cultivation was safe for terrestrial matrices. Nevertheless, these results should be interpreted with caution because they may be dependent of the substrate origin (farming-specific differences), agronomic practices during cultivation, the OS incorporation rate and the type of soil. Different substrates constituents, crops cultivated, certification processes and countries regulations and policies are all factors that should be consider before validating the incorporation of end-of-life substrate in open fields. Further studies are needed, not only with substrates from different provenience but also to assess the safety for aquatic resources and organisms.

Acknowledgements

This work was supported by the project S4Hort_Soil&Food (Ref. NORTE-01-0145-FEDER-000074), funded by Norte2020 and CCRN. Joana Serrão was supported by Fundação para a Ciência e a Tecnologia through a PhD Research Scholarship (Ref. 2021.08020.BD).

References

- Asaduzzaman, M., Saifullah, M., Mollick, A., Hossain, M. M., Halim, G., & Asao, T. (2015). Influence of soilless culture substrate on improvement of yield and produce quality of horticultural crops. *Soilless culture-Use of substrates for the production of quality horticultural crops*. InTech, 1-32. <https://doi.org/10.5772/59708>
- Atzori, G., Pane, C., Zaccardelli, M., Cacini, S., & Massa, D. (2021). The Role of Peat-Free Organic Substrates in the Sustainable Management of Soilless Cultivations. *Agronomy*, 11(6), 1236. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061236>
- Bouguerra, S., Gavina, A., Natal-da-Luz, T., Sousa, J. P., Ksibi, M., & Pereira, R. (2022). The use of soil enzymes activity, microbial biomass, and basal respiration to assess the effects of cobalt oxide nanomaterial in soil microbiota. *Applied Soil Ecology*, 169, 104246. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104246>
- Diacono, M., Persiani, A., Testani, E., Montemurro, F., & Ciaccia, C. (2019). Recycling agricultural wastes and by-products in organic farming: Biofertilizer production, yield performance and carbon footprint analysis. *Sustainability*, 11(14), 3824. <https://doi.org/10.3390/su11143824>
- ISO. (2012a). Soil quality - determination of the effects of pollutants on soil flora - part 2: effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants. International Organization for Standardization 11269-2:2012. Geneve, Switzerland.
- ISO. (2012b). Soil quality - effects of pollutants on earthworms - part 2: determination of effects on reproduction of Eisenia fetida /Eisenia andrei. International Organization for Standardization 11268-2:2012. Geneve, Switzerland.
- ISO. (2021). Soil, treated biowaste and sludge – Determination of pH. International Organization for Standardization 10390:2021. Geneva, Switzerland.
- Louro, M., & Reis, M. (2020). *Manual de cultivo sem solo. Aspectos teóricos e práticos dos cultivos hidropónicos e em substrato*: Quântica Editora. ISBN: 9789898927798
- O'Connor, J., Hoang, S. A., Bradney, L., Dutta, S., Xiong, X., Tsang, D. C., . . . Bolan, N. S. (2020). A review on the valorisation of food waste as a nutrient source and soil amendment. *Environmental Pollution*, 115985. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115985>
- OECD. (2016). *Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (Eisenia fetida/Eisenia andrei)*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264070325-en>
- Raviv, M. (2011). *Composts in growing media: what's new and what's next?* Paper presented at the International Symposium on Responsible Peatland Management and Growing Media Production 982. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.982_3
- Robson, A. (2012). *Soil acidity and plant growth*: Elsevier.
- Schinner, F., Öhlinder, R., Kandeler, E., & Margesin, R. (1996). *Methods in Soil Biology*. Switzerland: Springer. ISBN: 978-3-642-60966-4
- Van Beek, C., Tóth, T., Hagyó, A., Tóth, G., Recatalá Boix, L., Añó Vidal, C., . . . Van der Zee, S. (2010). The need for harmonizing methodologies for assessing soil threats in Europe. *Soil Use and Management*, 26(3), 299-309. <https://doi.org/10.1111/j.1475-743.2010.00280.x>
- Wolińska, A., & Stępniewska, Z. (2012). Dehydrogenase activity in the soil environment. In *Dehydrogenases* (Vol. 10, pp. 183-210). InTechOpen. <https://doi.org/10.5772/48294>
- Zhang, X., Ge, J., Zhang, S., Zhao, Y., Cui, H., Wei, Z., . . . Cao, J. (2019). Bioavailability evaluation of dissolved organic matter derived from compost-amended soils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(21), 5940-5948. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01073>

Field mobility of bispyribac-sodium herbicide under different rice crop management systems

Movilidad en campo del herbicida bispyribac-sodio sobre distintos sistemas de laboreo en el cultivo del arroz

Fernández-Rodríguez, Damián^{1*}; Peña, David²; Rato-Nunes, Jose Manuel³; Martín, Carmen²; Sánchez, Jaime¹; Vicente, Luis¹; Albarán, Ángel¹; Fangueiro, David⁴; López-Piñeiro, Antonio².

¹ Área de Producción Vegetal, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura, Ctra. de Cáceres, 06071 — Badajoz, Spain.

² Área de Edafología y Química Agrícola, Facultad de Ciencias, Universidad de Extremadura, Avda de Elvas s/n, 06071 — Badajoz, Spain.

³ Valoriza – Centro de Investigação para a Valorização de Recursos Endógenos, Instituto Politécnico de Portalegre, Edifício BioBIP, Campus Politécnico, 7300-555 Portalegre, Portugal

⁴ LEAF, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

*dfernandez@unex.es

Resumen

El arroz aeróbico se ha propuesto como una práctica de gestión eficiente para ahorrar agua y mejorar la sostenibilidad del arroz como cultivo. Sin embargo, esta técnica influye significativamente en las propiedades del suelo y, por lo tanto, pueden modificar el comportamiento de los pesticidas. El Bispyribac-sodium (BYS) es un herbicida post-emergente que se usa con frecuencia en los agroecosistemas del arroz, pero que se considera muy tóxico para los organismos acuáticos y peligroso para el medio ambiente. Este trabajo persigue evaluar los efectos de la transición del sistema de riego por inundación al riego por aspersión en persistencia y movilidad en campo del BYS. Además, otra variable que se evaluó fue la aplicación de enmiendas orgánicas. La enmienda usada fue compost de alperujo subproducto agroindustrial (alperujo) del procesado de aceitunas (almazara). Para este propósito se realizaron experimentos de campo, implicando a seis tratamientos: Sin laboreo y riego por aspersión (SD) y el equivalente con aplicación de alperujo (SDC). Laboreo convencional y riego por aspersión (LC) y el equivalente con aplicación del alperujo (LCC) y laboreo convencional con inundación (LCI) y con incorporación de alperujo (LCIC). Las técnicas tradicionales en el cultivo del arroz (Laboreo convencional + inundación) benefician la movilidad en campo del herbicida BYS suponiendo un inconveniente para las aguas subterráneas frente a los suelos irrigados por aspersión. Además, el uso de alperujo podría considerarse como una estrategia para reducir contaminación de las aguas por BYS e incrementar su persistencia en las capas más superficiales del suelo, especialmente en sistemas de arroz aeróbico.

Palabras clave: Bispyribac-sodium, arroz, alperujo, agricultura de conservación, aspersión.

Abstract

Aerobic rice has been proposed as an efficient management practice to save water and improve rice crop sustainability. However, this technique significantly influences the soil properties and, therefore, can modify the pesticides behavior. Bispyribac-sodium (BYS) is a post-emergence herbicide frequently used in rice agroecosystems but is considered highly toxic to aquatic organisms and dangerous to the environment. This work aims to evaluate the transition from flood irrigation to sprinkler irrigation effects on the persistence and field mobility of BYS. In addition, another variable evaluated was the application of organic amendments. The amendment used was olive pomace compost, an agro-industrial by-product (alperujo) of olive oil processing (almazara). For this purpose, field experiments were carried out, involving six different treatments: Without tillage and sprinkler irrigation (SD) and the equivalent with compost application (SDC). Conventional tillage and sprinkler irrigation (LC) and the equivalent with compost application (LCC) and conventional tillage with flooding (LCI) and with the compost incorporation (LCIC). Traditional techniques in rice cultivation (conventional tillage + flooding) benefit the mobility of the BYS herbicide in the field, assuming a disadvantage for groundwater quality when compared to soils irrigated by sprinklers. In addition, compost application could be considered a strategy to reduce water contamination by BYS and increase its persistence in the most superficial soil layers, especially in aerobic rice systems.

Keywords: Bispyribac-sodium, rice, alperujo, conservation agriculture, spraying.

1. Introducción

El arroz (*Oryza sativa* L.) se cultiva tradicionalmente mediante prácticas agrícolas convencionales e irrigado por inundación, lo que implica un alto consumo de agua, grandes emisiones de metano y elevadas necesidades en mano de obra. Además, el cultivo de arroz realizado en condiciones de inundación se señala como una actividad de alto potencial contaminante debido a la proximidad habitual de los campos a las masas de aguas superficiales. La producción de arroz en condiciones de inundación se ve amenazado por la progresiva disminución de la disponibilidad de agua, especialmente en el Mediterráneo, países como Italia y España, los dos países que representan la mayor parte de la producción de arroz de Europa. Desde la producción de arroz sin inundación (aeróbico) las condiciones requieren menos agua que la labranza convencional con inundación (anaeróbicas), se ha considerado como una gestión potencial la práctica para el cultivo sostenible del arroz (Singh, et al., 2018).

En la actualidad, la contaminación de suelos y aguas por fitosanitarios constituye un problema de enorme importancia. En España y otros países de ambiente mediterráneo la contaminación de aguas superficiales y subterráneas por plaguicidas en general, se ha convertido en un serio problema y ha dado lugar a que las autoridades prohíban o restrinjan la aplicación de materias activas ampliamente usadas (Sánchez-Llerena, 2016).

El uso de residuos orgánicos como enmiendas puede dar lugar a un incremento en la adsorción de plaguicidas reduciendo, en algunos casos, el riesgo de lixiviación (López-Piñeiro et al., 2016). En otros casos se ha observado el efecto contrario, es decir una mayor movilidad, lo cual se ha atribuido a procesos en los que la materia orgánica soluble de las enmiendas está implicada, como interacciones en solución o adsorción competitiva (Cox, et al., 2007).

A pesar de que el cultivo de arroz aeróbico es una alternativa atractiva al arroz de tierras bajas en áreas donde el agua es el factor limitante, una desventaja de este sistema de manejo es la mayor cantidad de malas hierbas. No obstante, la disponibilidad de nuevos herbicidas para el control de malezas ha hecho que este cambio sea técnicamente viable. El bispyribac-sodio (BYS), es un herbicida ampliamente usado debido a su eficacia en el control de malezas anuales de hoja ancha y gramíneas. Además, aunque el BYS generalmente se aplica a dosis bajas, para controlar las malezas en etapas más avanzadas de desarrollo del cultivo, se necesitan dosis crecientes, hecho que se atribuye a un abuso en la utilización de concentraciones más elevadas en cada aplicación, lo que lleva a un mayor riesgo de contaminación de los suelos y los recursos hídricos por pesticidas. Por tanto, el objetivo del presente trabajo es determinar el efecto que los diferentes sistemas de manejo (Siembra Directa vs Laboreo Convencional, Aspersión vs Inundación, Enmendado vs no enmendado) ejerce en la movilidad del herbicida BYS en condiciones reales de cultivo.

2. Materiales y Métodos

Se realizó un experimento de campo en las Vegas Bajas del Guadiana, zona de gran interés en el cultivo del arroz en Extremadura. El clima es mediterráneo con una precipitación media anual de 480 mm y veranos muy calurosos y secos. El ensayo se dividió 18 subparcelas de 180 m² (18 x 10 m) cada una. Que fueron sometidas a seis regímenes de manejo: (SD) aplicando técnicas de siembra directa con riego por aspersión, (SDC) siembra directa con aplicación de alperujo compostado con riego por aspersión, (LC) labranza convencional con riego por aspersión, (LCC) labranza convencional con aplicación de alperujo con riego por aspersión, (LCI) labranza convencional con riego por inundación permanente y (LCIC) labranza convencional con aplicación de alperujo y con riego por inundación. Para todos los tratamientos se realizaron tres

réplicas. La enmienda se aplicó a 80 Mg ha⁻¹, incorporándolo al suelo con un rotavator. El herbicida se aplicó mediante fumigadora a la dosis de campo recomendada 0.5 kg ha⁻¹ del producto comercial Nominee. Las muestras se tomaron mediante barrena de media caña, en inox, con a 1m de profundidad. Se determinaron las concentraciones del herbicida a través de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) Waters 600E, utilizando un cromatógrafo acoplado a un detector de matriz de diodos (modelo Waters 966). La fase móvil fue 55:45 Acetonitrilo/agua con 0.1% Ac. Fosfórico, a λ de 248nm y un tiempo de retención de 2.23min. Se extrajeron periódicamente replicados de cada tratamiento (a las 2 horas, 3 días y 5 días después de la aplicación del herbicida, y luego a intervalos de 7 días durante 49 días) para medir la concentración de herbicida en campo.

3. Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestran los efectos de los diferentes sistemas de manejos en la cantidad de herbicida extraído a las diferentes profundidades a lo largo de todo el experimento. En primer lugar destacar la elevada movilidad que presenta el BYS pues transcurridos tan sólo 2 horas de su aplicación ya se detecta en todos los tratamientos a partir de los 10 cm. Esto podría estar ocasionado por la débil capacidad de adsorción que presentan los suelos del estudio por el BYS. Los valores de capacidad de adsorción estuvieron comprendidos entre 0.675 y 1.53 para LC y LCI, respectivamente (Datos no mostrados). Transcurridos 3 días desde la aplicación del herbicida está presente en todo el perfil del suelo muestreado (hasta la profundidad de 1 m), sin embargo, se observan diferencias destacables entre los diferentes tratamientos. Así, mientras en los tratamientos regados por aspersión, la cantidad de herbicida extraída de la capa más profunda (60-100 cm) representa alrededor del 10% de total extraído, en el caso de los tratamientos inundados esta cantidad representa más de un 25%, poniendo de manifiesto como el tipo de

riego afecta al movimiento del herbicida a lo largo del perfil del suelo.

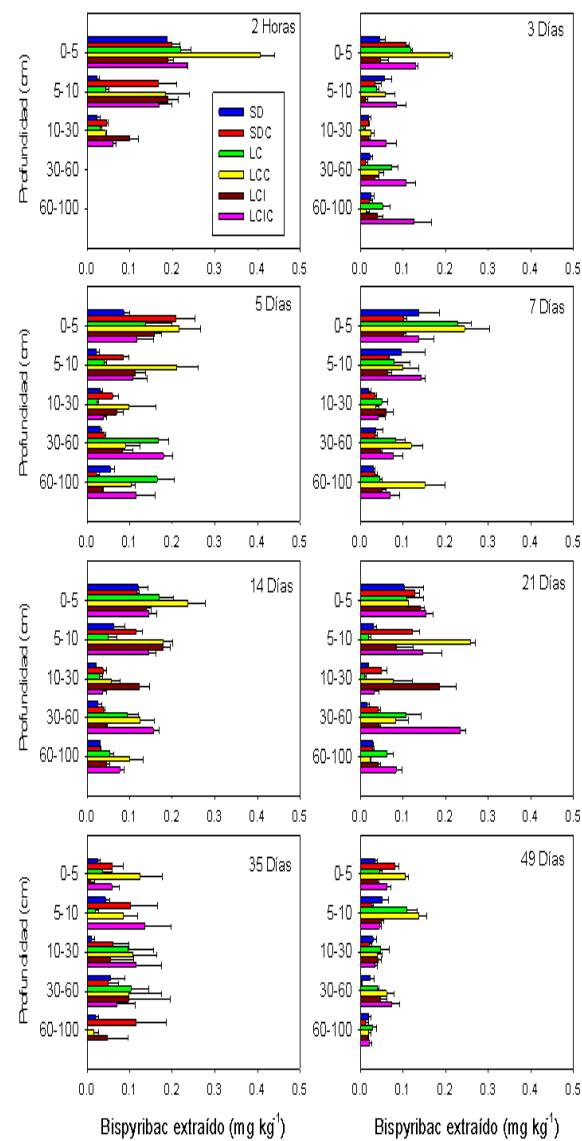


Fig. 1 - Concentración de BYS en los diferentes manejos y a diferentes profundidades.

Si comparamos estos resultados con otros estudios, López-Piñeiro, *et al.* (2016), demuestra la menor lixiviación del BYS en suelos enmendados con compost de alperujo, aunque mediante el uso de columnas alteradas de suelo, en condiciones de laboratorio.

Transcurridos 14 días desde la aplicación del herbicida, se observan diferencias entre los tratamientos regados por aspersión a partir de los 30 cm de profundidad. Si bien

en el caso de los tratamientos SD y SDC, la cantidad de herbicida extraído a partir de esa profundidad sólo representa un 20% del total extraído, en los tratamientos LC y LCC representa un 35%, indicando como las técnicas de agricultura de conservación reducen la movilidad del herbicida a través del perfil del suelo.

Transcurridos 59 días desde la aplicación del herbicida, se observa como la aplicación de compost retiene más herbicida en la capa superior del suelo (0-10) cm, especialmente bajo los sistemas regados por aspersión. Así, la cantidad de herbicida extraída a la profundidad de 0-10 cm es superior en SDC y LCC 1.40 veces, y 1.16 veces con respecto a SD y LC, respectivamente. Sin embargo, en los tratamientos inundados no hay cambios significativos.

4. Conclusiones

Las técnicas tradicionales en el cultivo del arroz (Laboreo convencional + inundación) benefician la movilidad en campo del herbicida BYS suponiendo un inconveniente para las aguas subterráneas frente a los suelos irrigados por aspersión. Además, en aquellos tratamientos que recibieron la aplicación de materia orgánica compostada presentan una mayor concentración de herbicida en las capas superficiales del suelo (0-10) cm, donde además, es necesario que este presente para que el herbicida mantenga su efecto, especialmente en suelos regados por aspersión.

Agradecimientos

Support for this work was provided by Grant GR21038 and IB16075 funded by the Extremadura Regional Government, Grant RTI2018-095461-B-I00 funded by MCIN/AEI/ 10.13039/501100011033 and by “ERDF A way of making Europe”, Grant the Spanish Ministry of Economics and Competitiveness (AGL2013-48446-C3-2-R). Soraya Gómez, Carmen Martín, and Jaime Sánchez Terrón are the recipients of a grant awarded by the Consejería of Economía, Comercio e Innovación of the

Extremadura Regional Government co-financing ESF A way of making Europe (PD16021; PD18026; PD18025). Damian Fernández is recipient of a grant-in-aid to promote research support personnel hiring, awarded by the SEXPE of the Extremadura Regional Government, with co-financing from the ESF Investing in your future (TE-0042-18).

This work was supported by national funds through the Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P. (Portuguese Foundation for Science and Technology) by the project UIDB/05064/2020 (VALORIZA – Research Centre for Endogenous Resource Valorization).

5. Referencias

- Cox, L., Velarde, P., Hermosín M.C. & Cornejo, J.P. (2007). Dissolved organic carbon interactions as affecting sorption and leaching behaviour of diuron in organic amended soils. *Eur. J. Soil Sci.* 58, 714-721. doi:10.1111/j.1365-2389.2006.00856.x
- López-Piñeiro, A., Sánchez-Llerena, J., Peña, D., Albarrán, Á. & Ramírez, M. (2016). Transition from flooding to sprinkler irrigation in Mediterranean rice growing ecosystems: effect on behaviour of bispyribac sodium. *Agric. Ecosyst. Environ.* 223, 99–107. doi: doi.org/10.1016/j.agee.2016.03.003
- Sánchez-Llerena, J., López-Piñeiro, A., Albarrán, Á., Peña, D., Becerra, D. & Rato-Nunes, J.M. (2016). Short and long-term effects of different irrigation and tillage systems on soil properties and rice productivity under Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 77, 101–110. doi:10.1016/j.eja.2016.04.005
- Singh, A.K., Arora, S., Singh, Y.P., Verma, C.L., Bhardwaj, A.K. & Sharma, N. (2018). Water use in rice crop through different methods of irrigation in a sodic soil. *Paddy Water Environ.* 16 (3), 587–593. doi: 10.1007/s10333-018-0650-2

Métodos de Mapeamento Digital do Solo para monitorização de parâmetros edáficos (Sentinel-2 e VANT) de suporte à conservação do solo e gestão hídrica em parcelas de vinha

[*Digital Soil Mapping methods for monitoring edaphic parameters (Sentinel-2 and UAV) to support soil conservation and water management in vineyard plots*]

Gonçalves-Rodrigues, Tânia^{1,2*}, Silva, Renato^{1,2}, Mouta, Nuno^{1,2}, Barros, Cristiano^{1,2}, Mendes, Susana^{1,3}, Paredes, Cláudio^{1,2}, Valín, Isabel^{1,3}, Charters, Lourenço⁴, Alonso, Joaquim^{1,2}

¹ Escola Superior Agrária de Ponte de Lima - Instituto Politécnico de Viana do Castelo (ESA/IPVC), Ponte de Lima, Viana do Castelo

² proMetheus, Unidade de Investigação & Desenvolvimento em Materiais, Energia e Ambiente para a Sustentabilidade, Ponte de Lima, Viana do Castelo

³ Cisas, Centro de Investigação e Desenvolvimento em Sistemas Agroalimentares e Sustentabilidade, Ponte de Lima, Viana do Castelo

⁴ Quinta do Ameal - Esporão, S.A., Ponte de Lima, Viana do Castelo

* tarodrigues@ipvc.pt

Resumo

O solo constitui um recurso natural complexo e central para a produção agrícola e a qualidade ambiental dos agroecossistemas. O mapeamento e modelação detalhada das propriedades do solo por deteção remota permitem desenvolver ferramentas e conhecimento úteis para uma agricultura sustentável e responsável. Neste contexto, recolheram-se dados multiespectrais a partir do Sentinel-2 e de um veículo aéreo não tripulado (VANT), com sensor multiespectral RedEdge-MX acoplado. Desenvolveu-se um modelo digital de elevação (3D) para uma parcela de vinha na Região Demarcada dos Vinhos Verdes (Ponte de Lima, NW Portugal). A análise da superfície 3D e das bandas permitiu a produção de índices microtopográficos, litológicos, micro(bio)climáticos e edáficos espacialmente explícitos. Estes índices permitem, entre outros, representar e analisar a altitude, declive, exposição ao vento, carga térmica, evaporação de água do solo, albedo, carbonatos, óxidos de ferro e tipo de rocha. A integração dos dados obtidos neste trabalho com as análises ao solo realizadas pelo Institut Français de la Vigne et du Vin (2022), permitem a validação dos resultados e auxiliam nas decisões e ações operacionais de conservação do solo e de gestão hídrica em parcelas de vinha.

Palavras-chave: propriedades do solo, mapeamento, agricultura sustentável, VANT, Sentinel-2

Abstract

Soil is a complex and central natural resource for agricultural production and the environmental quality of agroecosystems. The mapping and detailed modeling of soil properties by remote sensing allow the development of useful tools and knowledge for sustainable and responsible agriculture. In this context, multispectral data were collected from Sentinel-2 and from an unmanned aerial vehicle (UAV), with a RedEdge-MX multispectral sensor coupled. A digital elevation model (3D) was developed for a vineyard plot in the Demarcated Region of Vinhos Verdes (Ponte de Lima, NW Portugal). The analysis of the 3D surface and the bands allowed the production of spatially explicit microtopographic, lithological, micro(bio)climatic and edaphic indices. These indices allow, among others, to represent and analyze altitude, slope, exposure to wind, thermal load, soil water evaporation, albedo, carbonates, iron oxides and rock type. The integration of the data obtained in this work with the soil analyzes carried out by the Institut Français de la Vigne et du Vin (2022), allows the validation of the results and helps in the decisions and operational actions of soil conservation and water management in vineyard plots.

Keywords: soil properties, mapping, sustainable agriculture, UAV, Sentinel-2

Introdução

As condições ambientais e práticas culturais nas parcelas de vinha modificam as propriedades e variabilidade pedológica do solo (Costantini et al., 2015). As alterações físico-químicas e biológicas dos materiais geológicos originais, como resultado de adições e intervenções humanas, influenciam os processos biogeoquímicos, como sejam a lixiviação e a erosão, promovendo a degradação dos solos (Fayolle et al., 2019; Garcia et al., 2018).

As propriedades do solo influenciam o crescimento radicular da videira, permitindo a absorção de nutrientes, água e um regime de temperatura específico na zona radicular, contribuindo para o desenvolvimento fisiológico e fenológico da planta (van Leeuwen et al., 2018).

Neste contexto, verifica-se a necessidade de desenvolver técnicas responsáveis, sustentáveis e economicamente viáveis de caracterização e monitorização dos solos, que permitam estabelecer ferramentas eficientes de apoio à decisão e ação (Mashalaba et al., 2020). O mapeamento digital do solo com elevada escala e resolução que represente a variabilidade local, suporta o conhecimento das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo na sua relação com a geomorfologia, fisiografia e relevo bem como, capacidade de retenção de água e disponibilidade de nutrientes. O conhecimento espacialmente explícito pode contribuir para os itinerários produtivos, técnicas e tecnologias de produção sustentáveis dos solos e da vinha através da análise de funcionamento do sistema solo-planta, condicionado pela mudança e adaptação climática local (Castaldi et al., 2016; Morlat & Jacquet, 1993; USDA, 2021; White, 2003).

Este trabalho visa testar e desenvolver técnicas de aquisição e avaliação de imagens para geração de superfícies e índices de caracterização e monitorização de solos em viticultura.

Material e métodos

Esta investigação desenvolveu-se na Região dos Vinhos Verdes (sub-região do

Lima, NW Portugal), numa parcela de vinha de 4 ha, plantada em 2021 com a casta Loureiro (Fig.1). As imagens foram recolhidas por um veículo aéreo não tripulado (VANT) associado a um sensor multispectral RedEdge-MX (02 de fevereiro de 2022), complementados com uma imagem SENTINEL-2 (a 05 de maio de 2021, aquando da preparação do terreno para plantação). O Modelo Digital de Elevação (MDE), criado a partir das imagens VANT, permitiu a produção de vários índices de ordem topográfica (Fig.2) (declive, exposição ao vento (WEI) e carga térmica), através de modelação morfológica e hidrográfica (GRASS e SAGA (QGIS, 2021)). A partir da imagem SENTINEL-2, foi possível calcular índices (Fig.2) (CaCO_3 , Fe_2O_3 e Albedo) e analisar as bandas que refletem as propriedades físico-químicas do solo. Para avaliar a variabilidade local da litologia, recorreu-se a uma análise de componentes principais (PCA), onde foi possível obter um mapa com os tipos de rocha existentes na parcela (Fig.2) (Kamel et al., 2016). Os produtos foram validados pela realização e resultados das diferentes análises dos solos a dois perfis, efetuadas na parcela pela equipa de Cartografia de Terroirs Vitícolas do Institut Français de la Vigne et du Vin (2022) (Quadro 1).

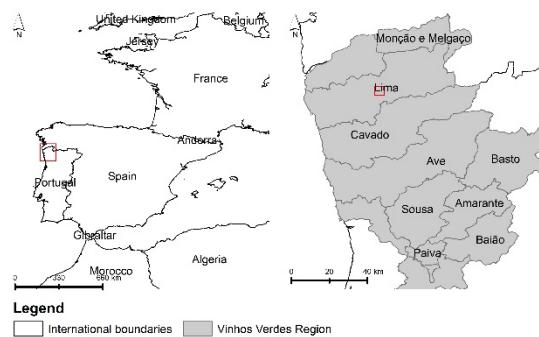


Fig.1 – Enquadramento da área de estudo.

Resultados e discussão

Os resultados validados pelas análises ao solo (Quadro 1) indicam duas unidades de terroir (UT) compostas por granitos (rocha dura e areia) e coluvões arenoso-argiloso/areia granítica, com propriedades e comportamentos do solo diferenciados. A microtopografia influencia a interceptação da luz solar, a exposição aos ventos, a drenagem da água e os fluxos atmosféricos

e os microclimas locais. A camada superficial do solo influencia as propriedades de transferência e armazenamento da água (Maschmedt et al., 2002) e o comportamento térmico relaciona-se com o albedo e a radiação emitida pelo material rochoso da superfície (Evett, 2001). Por sua vez, os resultados mostram que a textura e a composição influenciam a capacidade de retenção de água do solo e a água disponível para as videiras (Carey, 2001).

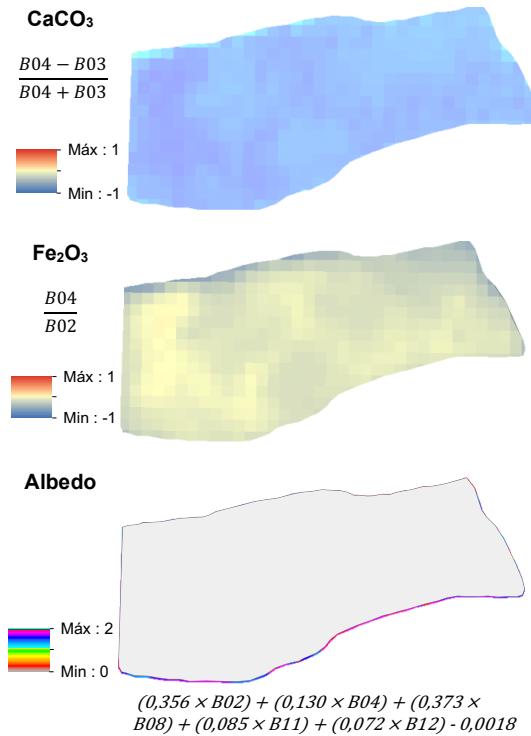
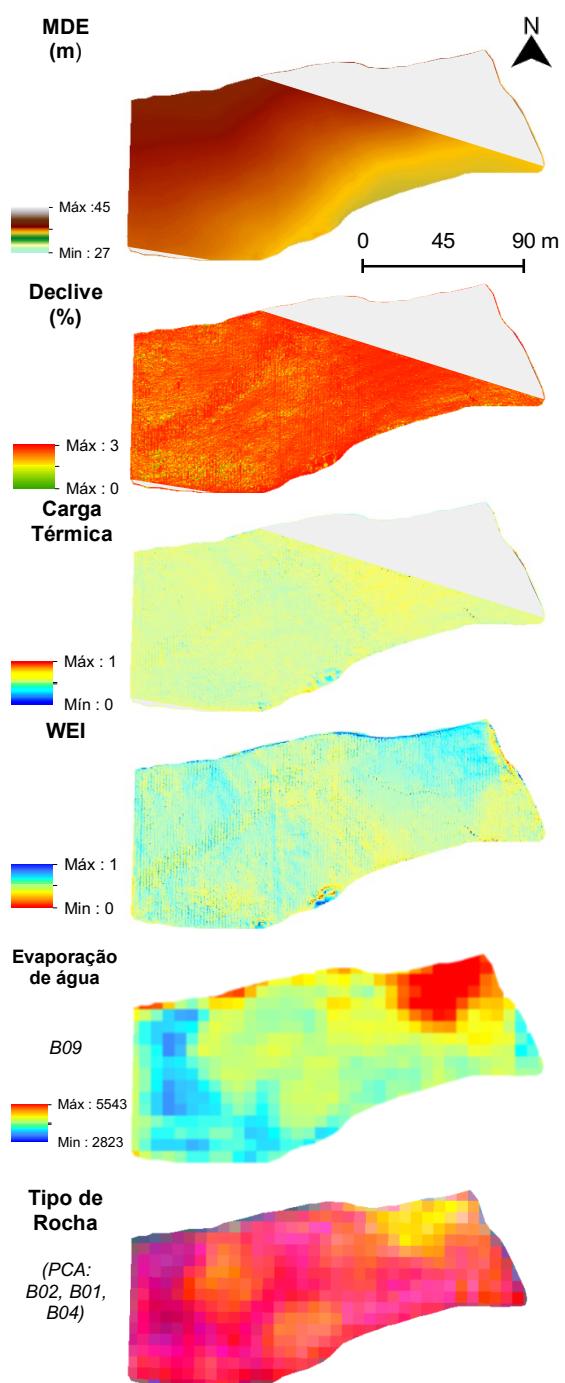


Fig. 2 – Mapeamento de características físico-químicas, topográficas, litológicas e comportamento térmico do solo.

Quadro 1 – Resultado das análises a dois perfis do solo (Institut Français de la Vigne et du Vin, 2022).

Unidades de Terroir	Colúvio arenoso-argiloso / Arena granítica	Granito (Rocha dura e areia)
	0-80 cm	0-40 cm
Horizonte		
Argila (< 2 µm)	8,16	5,02
Limo Fino (2-20 µm)	16,98	6,08
Limo Grosso (20-50 µm)	16,54	11,19
Areia fina (50-200 µm)	17,51	11,16
Areia Grossa (200-2000 µm)	37,62	65,23
%		
M.O.	2,77	1,32
N total	0,17	0,07
K2O	286,00	307,00
P2O5	65,00	120,00
MgO	63,00	96,00
CaO	854,00	533,00
g kg ⁻¹		
CTC (Cmol (+) kg ⁻¹)	13,50	6,00

Conclusões

A recolha e a integração de dados obtidos por imagem e análise de solos permitem prever e mapear a distribuição de propriedades do solo relevantes para a tomada de decisão operacional em viticultura.

Os mapas obtidos para a parcela em estudo, são úteis para prever certas

propriedades e comportamentos do solo e apresentam relação com os resultados das análises efetuadas a dois perfis. A variabilidade topográfica, ou microtopografia, pode influenciar a hidrologia e as propriedades físico-químicas, influenciando o equilíbrio dos nutrientes disponíveis para as plantas (Moser et al., 2009). A evaporação da água do solo pode ser relacionada com a capacidade de retenção de água promovida pela concentração de argilas e profundidade do solo (Kosmas et al., 1998).

Esta investigação indica que o conhecimento espacial das diferentes características e comportamentos do solo, capazes de prever o funcionamento solo-planta (Hannah et al., 2013), permitem ao viticulor otimizar as práticas culturais, desde a escolha do material vegetal (Fayolle et al., 2019), o planeamento de setores de rega e gestão hídrica (Droogers & Bastiaanssen, 2002), a seleção da cobertura vegetal do solo, a identificação de zonas de erosão, escorrência e lixiviação de nutrientes (Ma et al., 2019) bem como, no suporte a fertilizações de precisão (Hounkpatin et al., 2022).

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Grupo Esporão e ao Institut Français de la Vigne et du Vin pela disponibilidade e colaboração.

Referências bibliográficas

- Carey, V. A. (2001). Spatial characterisation of natural terroir units for viticulture in the Bottelaryberg-Simonsberg-Helderberg winegrowing area [South Africa: Stellenbosch University]. <https://scholar.sun.ac.za/handle/10019.1/52459>
- Castaldi, F., Palombo, A., Santini, F., Pascucci, S., Pignatti, S., & Casa, R. (2016). Evaluation of the potential of the current and forthcoming multispectral and hyperspectral imagers to estimate soil texture and organic carbon. *Remote Sensing of Environment*, 179, 54–65. <https://doi.org/10.1016/J.RSE.2016.03.025>
- Costantini, E. A. C., Agnelli, A. E., Fabiani, A., Gagnarli, E., Mocali, S., Priori, S., Simoni, S., & Valboa, G. (2015). Short-term recovery of soil physical, chemical, micro- and mesobiological functions in a new vineyard under organic farming. *SOIL*, 1(1), 443–457. <https://doi.org/10.5194/SOIL-1-443-2015>
- Droogers, P., & Bastiaanssen, W. (2002). Irrigation Performance using Hydrological and Remote Sensing Modeling. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 128(1), 11–18. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9437\(2002\)128:1\(11\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9437(2002)128:1(11))
- Evett, S. R. (2001). Water and energy balances at soil-plant-atmosphere interfaces. *Soil Physics Companion*, 127–188. <https://doi.org/10.1201/9781420041651.CH5>
- Fayolle, E., Follain, S., Marchal, P., Chéry, P., & Colin, F. (2019). Identification of environmental factors controlling wine quality: A case study in Saint-Emilion Grand Cru appellation, France. *Science of The Total Environment*, 694, 133718. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.133718>
- Garcia, L., Celette, F., Gary, C., Riposte, A., Valdés-Gómez, H., & Metay, A. (2018). Management of service crops for the provision of ecosystem services in vineyards: A review. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 251, 158–170. <https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2017.09.030>
- Hannah, L., Roehrdanz, P. R., Ikegami, M., Shepard, A. v., Shaw, M. R., Tabor, G., Zhi, L., Marquet, P. A., & Hijmans, R. J. (2013). Climate change, wine, and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(17). <https://doi.org/10.1073/PNAS.1210127110>
- Hounkpatin, K. O. L., Bossa, A. Y., Yira, Y., Igue, M. A., & Sinsin, B. A. (2022). Assessment of the soil fertility status in Benin (West Africa) – Digital soil mapping using machine learning. *Geoderma Regional*, 28, e00444. <https://doi.org/10.1016/J.GEODRS.2021.E00444>
- Kamel, M., Youssef, M., Hassan, M., & Bagash, F. (2016). Utilization of ETM+ Landsat data in geologic mapping of wadi Ghadir-Gabal Zabara area, Central Eastern Desert, Egypt. *The Egyptian Journal of Remote Sensing and Space Science*, 19(2), 343–360. <https://doi.org/10.1016/J.EJRS.2016.06.003>
- Kosmas, C., Danalatos, N. G., Poelen, J., & van Wesemael, B. (1998). The effect of water vapour adsorption on soil moisture content under Mediterranean climatic conditions. *Agricultural Water Management*, 36(2), 157–168. [https://doi.org/10.1016/S0378-3774\(97\)00050-4](https://doi.org/10.1016/S0378-3774(97)00050-4)
- Ma, Y., Minasny, B., Malone, B. P., & McBratney, A. B. (2019). Pedology and digital soil mapping (DSM). *European Journal of Soil Science*, 70(2), 216–235. <https://doi.org/10.1111/EJSS.12790>
- Maschmedt, D., Fitzpatrick, R., & Cass, A. (2002). Key for identifying categories of vineyard soils in Australia 1.
- Morlat, R., & Jacquet, A. (1993). The soil effects on the grapevine root system in several vineyards of the Loire valley (France). *Vitis*, 32, 35–42.
- QGIS. (2021). Welcome to the QGIS project! <https://qgis.org/en/site/>
- USDA. (2021). Digital Soil Mapping (DSM) | NRCS Soils. <https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/geo/?cid=stelprdb1254424>
- van Leeuwen, C., Roby, J. P., & de Rességuier, L. (2018). Soil-related terroir factors: a review. *OENO One*, 52(2), 173–188. <https://doi.org/10.20870/OENO-ONE.2018.52.2.2208>
- White, R. E. (2003). Soils for Fine Wines. In *Oxford University Press* (Oxford University). <https://doi.org/10.1093/oso/9780195141023.001.0001>

Impact of tillage and legume crop introduction on the microbial community linked to the stages of the carbon and nitrogen cycle in a biannual cereal rotation system

Impacto del laboreo y la introducción del cultivo de leguminosas sobre la comunidad microbiana vinculada a las etapas del carbono y nitrógeno del suelo en un sistema de rotación bianual de cereales

*** Navas, Mariela^{1y2*}, Centurión Nelly², González-Canales² Javier, Mariscal-Sancho Inacio², Ulcuango Kelly², Gabriel José Luis³, Moliner Ana², Hontoria Chiquinquirá².**

¹Dept. of Applied Research and Agricultural Extension, Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), El Encín, A-2, km 38.2, Alcalá de Henares, 28805-
[*marielajose.navas@madrid.org](mailto:marielajose.navas@madrid.org)

²Dpto. Producción Agraria, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid. Avda. Puerta de Hierro, 2, 28040 Madrid)

³Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA-INAGEA), Dpto. Medio Ambiente y Agronomía, Ctra. de la Coruña km 7,5, 28040. Madrid, Spain.; CEIGRAM-UPM, Senda del Rey 13, 28040 Madrid, Spain

Abstract

We evaluated the effect of tillage and the introduction of legumes as cover crops on the bacterial, archaeal and fungal communities involved in the different stages of the C and N cycle in an irrigated maize-wheat rotation system. The trial was established in 2018 in Central Spain. Three levels of legume input were tested: i) maize-wheat rotation with bare fallow (R0); ii) mixture (barley-vetch) between wheat and maize (R1); iii) inter-seeding of vetch in maize before wheat, plus barley-vetch mixture between wheat and maize (R2). The treatments were established with two types of tillage, traditional (TT) and minimum tillage (MT), resulting in six treatments: R0TT, R1TT, R2TT, R0MT, R1MT and R2MT. Functional groups of microorganisms were quantified using molecular markers via qPCR. We quantified the abundance of ammonia-oxidizing archaea archaea (AOA) and bacteria (AOB), bacteria linked to the different stages of denitrification (*narG*, *nirS*, *nosZ*) as well as bacteria (BGH1 and BGH3) and fungi (FGH3) linked to β-glucosidase activity. Cover crops mainly favoured the abundance of the different functional groups, With special emphasis on treatments with higher input of legumes (R2). However, these increases were differentially conditioned by tillage. R2TT favoured nitrogen-related guilds whereas R2MT favoured C-related guilds. Total nitrogen, potentially mineralised nitrogen, and P were the soil parameters that best explained the variability of these functional guilds.

Keywords: molecular markers, β-betaglucosidase, nitrification, denitrification, cereals

En este trabajo se ha evaluado el efecto del laboreo y la introducción de cobertura con leguminosas (CL) sobre la comunidad bacteriana, arqueana y fúngica que participan en las diferentes etapas del ciclo C y N en una rotación maíz-trigo de regadio. El ensayo se estableció en 2018 en el Centro de España. Se probaron tres niveles de aportación de leguminosas: i) rotación maíz-trigo con barbecho desnudo (R0); ii) mezcla (cebada-veza) entre el trigo y el maíz (R1); iii) intersemeja de veza en el maíz antes del trigo, además de la mezcla cebada-veza entre el trigo y el maíz (R2). Los tratamientos se establecieron con dos tipos de laboreo, tradicional (TT) y mínimo laboreo (MT), dando lugar a seis tratamientos: R0TT, R1TT, R2TT, R0MT, R1MT y R2MT. Los grupos funcionales de microorganismos se cuantificaron utilizando marcadores moleculares vía qPCR. Así, se cuantificó la abundancia de arqueas (AOA) y bacterias (AOB) que participan en la oxidación del amonio, bacterias vinculadas a las diferentes etapas de la desnitrificación (*narG*, *nirS*, *nosZ*), además de bacterias (BGH1 y BGH3) y hongos (FGH3) vinculadas a la actividad β-glucosidasa. Los CL favorecieron la abundancia de los grupos funcionales, con especial énfasis en los tratamientos con mayor aporte de leguminosas (R2). No obstante, estos incrementos fueron condicionados diferencialmente por el laboreo. R2TT favoreció a los gremios vinculados al nitrógeno y R2MT favoreció a los vinculados al C. NT, PMN y P fueron los parámetros edáficos que mejor explicaron la variabilidad de estos gremios funcionales.

Palabras clave: Marcadores moleculares, β-betaglucosidasa, nitrificación, desnitrificación, cereales

:

Introduction

Soil harbours microbiomes that are involved in crucial processes of biogeochemical cycles and play an essential role in the provision of ecosystem services, mainly in agricultural systems. Thus, the availability of nutrients in the soil is mainly a product of the activity of different microbial species. The adoption of different management practices can greatly modulate the microbial community that is linked to the biogeochemical cycles of C, N and P (Nannipiri et al. 2012; Merino et al. 2016). In semi-arid climates, the introduction of cover leguminous species is often promoted in the biannual cereal rotation to reduce the environmental impact on agricultural systems and improve their sustainability (Alonso-Ayuso et al., 2020). However, little information is available on the structure and functions of the microbial community in semi-arid irrigated agroecosystems hosting multispecific cover crops.

Molecular markers (*16S rRNA* and *ITS*) are now available to quantify the abundance of total soil bacteria, archaea and fungi. In addition, functional molecular markers of genes are used to quantify groups of bacteria and fungi linked to a particular nutrient cycle (Meyer 1994, Vitousek & Hooper 1994). Molecular markers to quantify nitrogen functional groups include: *nifH* (nitrogenase), bacterial and archeal *amoA* (ammonium-oxidizing gene), *narG*, *nirK*, *nirS*, *norB* and *nosZ* genes of denitrifying bacteria. In addition, functional markers are available to quantify micro-organisms related to β -betaglucosidase activity, including *bgl1* (Glucosee hydrolase 1, GH1) and *bgl3* (GH3) genes (Adetunji et al., 2020; Cañizares et al. 2012).

Mixing different crop species as cover crops can result in a wide variety of substrates that can alter the habitat and functions of different guilds of microorganisms (Rousk & Baath 2007). Therefore, considering the importance of microorganisms in the provision of ecosystem services for agricultural systems, we evaluated the microbial communities linked to β -glucosidase

activity and different stages of the nitrogen cycle in a soil with maize-wheat rotation and different levels of cover crop input and tillage, in order to detect changes in the abundance of these communities to select the best management strategy according to soil quality.

Material and methods

The study was carried out on the "La Canaleja" experimental estation, located at 40° 32'N and longitude 3° 20'W, with an altitude above sea level of 600 m, in Alcalá de Henares, Madrid (Spain). The soil where the study was established was classified as Typic Calcixercept (Soil Survey Staff, 2014), with sandy loam texture. The climate was semi-arid Mediterranean with an average annual rainfall of 438.9 mm; average annual temperatures ranged from 6.7°C to 20.3°C, reaching minimum temperatures of -0.3°C in January and the highest in July (32.8°C). The trial was set up in 2018 with a factorial design with four replications on a bi-annual maize/wheat rotation. The first factor (F1) referred to the introduction of winter and interseeded cover crops, leading to three levels of legume input in the rotation: i) no cover crop control (R0); ii) cover crops (barley and vetch mixture) between wheat and maize (R1); and iii) intercropping of vetch with maize before wheat + cover crop mixture (barley and vetch) between wheat and maize (R2). A second factor (F2) corresponded to two types of tillage, traditional (TT) and minimum tillage (MT). Six treatments were obtained (R0TT, R1TT, R2TT, R0MT, R1MT, R2MT), distributed in 24 plots (6 treatments x 4 replicates).

The main crops used in the cereal rotation were maize (*Zea mays* L., variety Pioneer P1574) and wheat (*Triticum aestivum* L., variety Badiel). Vetch (*Vicia sativa* L., variety Aitana) was used as intercrop together with a mixture of 50% vetch (variety Aitana) and 50% barley (*Hordeum vulgare* L., variety Vinagrosa) as winter cover crops. Rotations started in May 2018 with maize sowing. Vetch was interseeded in July 2018, and from then on maize and vetch were grown together. Maize was harvested at the end of October and vetch was killed at the end of 2018.

Spring wheat was sown in February 2019 and harvested in early July. A mixture of barley and vetch (cover crops) was sown in September of the same year and kept alive until the end of March 2020. In April 2020 a new rotation cycle was started when maize was sown again.

Soil sampling was carried out in May 2020, two weeks after maize sowing and before the second interseeded vetch. Composite soil samples were taken at a 0-10 cm depth, obtaining a composite sample in each of the 24 established plots. One part was stored at -20°C for biological determinations (DNA extraction and quantification of molecular markers) and the rest was air-dried or stored at 4°C and sieved for physico-chemical determinations (total organic carbon -TOC-, dissolved organic carbon -DOC-, particulate organic matter -POM-, NH₄-N, NO₃-N, P, total nitrogen -TN-, potentially mineralised nitrogen -PMN-, electrical conductivity -EC-, bulk density -BD-, pH).

Total DNA was extracted from 0.3 g of soil using the PowerSoil DNA isolation kit (MOBIO laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer protocol. The abundance of nitrogen and carbon functional groups were quantified using molecular markers by qPCR. For the nitrogen cycle guilds we used the gene *amoA* encoding the enzyme ammonium monooxygenase whose function is the oxidation of ammonia, carried out by bacteria (AOB) and archaea (AOA); *narG* (encoding the bacterial nitrate reductase that reduces NO₃⁻ to NO₂⁻), *nirS* and *nirK* (bacterial nitrate reductases that catalyse the reduction of NO₂ to NO) and *nosZ* (bacterial gene coding for the enzyme nitrous oxide reductase, these bacteria drive the last step of denitrification, the transformation of NO into N₂). For the C-cycle guilds we used the *bg1* and *gb13* genes that code for the β-glucosidase activity of bacteria (BGH1 and BH3) and fungi (FGH3).

A multivariate analysis (Partial Least Squares Regression-PLS-) was performed to assess the relationship of functional guilds (Y) with a set of soil variables (X). This technique generalises and combines

principal component analysis (PCA) and linear regression analysis to describe the interactions of functional guilds linked to carbon and nitrogen cycling with the studied soil parameters. In addition, an analysis of variance and Fisher's multiple comparisons method (LSD Fisher) were applied to quantify the effect of treatments on the abundance of these groups of microorganisms (*p*-valor ≤ 0.05). The multivariate analysis and the rest of the statistical analyses were performed with InfoStat software (Di Rienzo et al., 2020).

Results and discussion

Genes linked to nitrogen and carbon cycling were differentially affected by the study factors (cover crop management -F1-, tillage -F2- and the interaction of both factors). Most of the N-linked genes (AOA, *nirS*, and *nosZ*) were significantly affected by the interaction of both factors, only AOB was affected by F2, while the remaining genes (*narG* and *nirK*) were not affected by any of the factors studied (Table 1). When comparing the copy number of AOA, AOB, *nirS* and *nosZ* obtained in the different treatments with the control treatment (R0TT), we found that R2TT improved the abundance of AOA, AOB and *nirS* by 100%, 63% and 100% respectively. Contrary to the rest of the genes, *nosZ* was favoured by R1TT. R1TT showed increases of 58% compared to the control (Table 1). Regarding the copy number of genes linked to β-glucosidase activity (BGH1, BGH3 and FGH3) we observed that only BGH3 and FGH3 were significantly affected by the studied factors. BGH3 increased by 77% in R2MT, while FGH3 was favoured by R2MT and R1TT. FGH3 increased by 67.9% and 63.45% respectively in R2MT and R1TT, when compared to the control treatment (Table 2, Figure 1a and 1b).

PLS allowed to identify the relationship between the abundance of genes (AOA, AOB, *nirS*, *nosZ*, FGH3, BGH) linked to N and C cycling and soil parameters (TOC, DOC, POM, NH₄-N, NO₃-N, P, TN, NPM, EC, BD, pH). Figure 1a and 1b show response or dependent variables (green ended vectors), explanatory or independent variables (yellow ended vectors) and the distribution of the treatments on the plane (blue dots). *nirS*,

AOA and AOB showed an inverse relationship with POM, DOC, TOC, EC, TN, P and a direct relationship with PNM and BD. nosZ, contrary to the rest of the genes, was negatively affected by NPM, BD, TOC POM and was positively related to NO₃-N, P, TN, EC and pH (figure 1a). BGH3 and FGH3 showed a direct relationship with TOC, POM, EC, DOC and pH, and an inverse relationship with NH₄-N, TN and PMN.

In summary, the functional guilds linked to N and C cycling were particularly favoured by the rotation that included the highest level in cover crops with legumes (R2). But these groups showed different responses to tillage management. N-related microorganisms were favoured by R2TT while C-related microorganisms were favoured by R2MT. These results could be explained by the availability of organic matter in the soil. The different forms of organic matter evaluated in this study (TOC, DOC and POM) showed a positive relationship with the C-related guilds and a negative relationship with the different forms of N (TN and NPM). P was an important factor to explain the abundance of bacteria related to nitrous oxide reductase activity (nosZ). These bacteria participate in the last step of denitrification by converting N₂O to N₂ and are directly related to the availability of P in the soil.

Table 1. Analysis of variance for the effects of tillage, cover cropping techniques on functional genes linked to soil nitrogen cycle

FV	AOA	AOB	narG	nirS	nirK	nosZ	p-value
Cover crop	0.1356	0.694	0.0647	0.1016	0.21	0.7027	
Tillage	0.0299	0.0184	0.058	0.7323	0.791	0.2151	
Cover crop X Tillage	0.0234	0.0683	0.2164	0.0217	0.1138	0.0086	

Treatments	AOA	AOB	nirS	nosZ
ROTT	1.38E+07	bc	6.96E+06	ab
R1TT	1.66E+07	abc	1.36E+07	a
R2TT	2.96E+07	a	1.14E+07	a
ROMT	2.07E+07	abc	7.55E+06	ab
R1MT	3.24E+06	c	2.57E+06	b
R2MT	9.04E+06	bc	7.08E+06	a

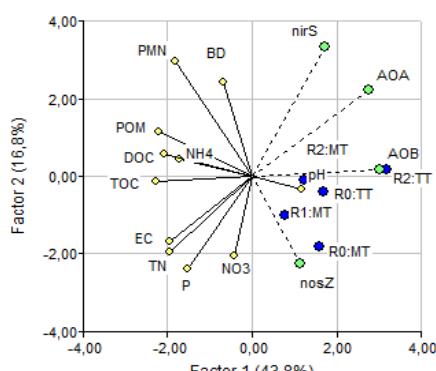


Figure 1a. Relationship of the abundance of the functional guilds of the nitrogen cycle against a matrix of soil covariates

Table 2. Analysis of variance for the carbon functional guilds

FV	BGH1	BGH3	FGH3	p-value
Cover crop	0.017	0.050	0.036	
Tillage	0.34802	0.682	0.116	
Cover crop X Tillage	0.560	0.1574	0.001	

Test: LSD Fisher Alpha: 0.05; Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

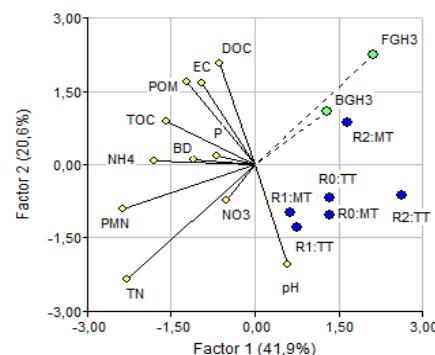


Figure 1b. Relationship of the abundance of the functional guilds of the carbon cycle against a matrix of soil

Acknowledgements

Ministry of Science and Innovation (AGL2017-83283-C2-1-R and 2-R) and Community of Madrid (AGRISOST-CM S2013/ABI-2717, co-financed by FSE and FEDER Operational Programme 2014-2020).

References

- Adetunji, A. T., Ncube, B., Meyer, A. H., Mulidzi, R., & Lewu, F. B. (2020). Soil β -glucosidase activity, organic carbon and nutrients in plant tissue in response to cover crop species and management practices. South African Journal of Plant and Soil, 37(3), 202-210.
- Alonso-Ayuso, M., Gabriel, J. L., Pancorbo, J. L., & Quemada, M. (2020). Interseeding cover crops into maize: Characterization of species performance under Mediterranean conditions. Field Crops Research, 249, 107762.
- Cañizares, R., Moreno, B., & Benítez, E. (2012). Bacterial β -glucosidase function and metabolic activity depend on soil management in semiarid rainfed agriculture. Ecology and Evolution, 2(4), 727-731.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., González L., Tablada M. & Robledo C.W. (2020) InfoStat versión. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Merino, C., Godoy, R., & Matus, F. (2016). Soil enzymes and biological activity at different levels of organic matter stability. Journal of soil science and plant nutrition, 16(1), 14-30.
- Meyer, O. (1994). Functional groups of microorganisms. In Biodiversity and ecosystem function (pp. 67-96). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Rousk, J., & Bååth, E. (2007). Fungal and bacterial growth in soil with plant materials of different C/N ratios. FEMS microbiology ecology, 62(3), 258-267
- Vitousek, P. M., Aber, J. D., & Howarth, R. W. (1997). Technical report: Human alteration of the global nitrogen cycle. Ecol Appl, 7, 737-50.

Using a Portuguese regosol to derive soil reference values for arsenic

Utilização de um regossolo português para derivar valores de referência para arsénio

Anumah Abdulraheem Okehi^{1,2}, Nogueira Verónica^{1,3}, Cachada Anabela^{1,3}, Pereira Ruth^{1,4*}

¹FCUP - Faculty of Sciences, University of Porto, Rua do Campo Alegre s/n, Porto, Portugal

²Research Centre for Experimental Marine Biology & Biotechnology, Plentzia Marine Station, University of the Basque Country (PIE-UPV/EHU), Areatza Pasealekua, 48620 Plentzia – Bizkaia, Basque Country (Spain)

³CIIMAR – Interdisciplinary Center of Marine and Environmental Research, Terminal de Cruzeiros de Leixões, Av. General Norton de Matos s/n, Matosinhos, Portugal

⁴GreenUPorto - Sustainable Agrifood Production Research Center/ INOV4Agro & Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto, Rua do Campo Alegre s/n, Porto, Portugal

*email corresponding autor: abdulraheemanumah@yahoo.com

Resumo

Os valores de referência do solo (VRS) são usados para avaliações preliminares da potencial toxicidade de contaminantes específicos presentes nos solos. A Agência Ambiental Portuguesa propôs VRS para metais e metalóides com base no uso potencial do solo, mas sem considerar o tipo de solo. Este trabalho tem como objetivo derivar VRS para o arsénio (As) usando um solo natural português, tendo por base o conhecimento de que as propriedades do solo podem influenciar a mobilidade e a biodisponibilidade de contaminantes. Para atingir este objetivo, um regossolo não contaminado foi recolhido e contaminado com uma gama de concentrações de As. Posteriormente, foi realizada uma bateria de testes ecotoxicológicos usando o solo contaminado e incluindo parâmetros microbianos, reprodução com invertebrados, ensaios crescimento e germinação de plantas, assim como ensaios com organismos aquáticos (para avaliação de elutriados do solo contaminado) seguindo protocolos padronizados (ISO e OCDE), de forma a determinar as concentrações que causam um efeito de X% nos organismos ou parâmetros testados (CE ou do Inglês ECx). Estes valores serão usados para estimar um VRS (por exemplo, PNEC - concentração para a qual não se prevê a ocorrência de efeitos no ecossistema ou HC₅ - concentração de perigo (do inglês: Hazard Concentration) para 5% das espécies do ecossistema) usando curvas de distribuição da sensibilidade das espécies (do inglês: SSDs). Os resultados mostram que o As é muito tóxico para todos os organismos/parâmetros testados e, com base nos dados recolhidos, um HC₅ baseado em concentrações de efeito de 10% HC₅ (EC₁₀) de 2,80 mg kg⁻¹ de solo_{ps} foi proposto como VRS para regossolos.

Palavras-chave: Valores de Referência do Solo (VRS), Avaliação de Risco, Testes Ecotoxicológicos, curvas de distribuição de sensibilidade das espécies

Abstract

Soil reference values (SRV) are preliminary screening benchmark values used to evaluate the potential toxicity of specific contaminants in soils. The Portuguese Environmental Agency has proposed SRV for metals and metalloids based on soil uses but without consideration for the soil type. This project aims to derive SRV for arsenic (As) using a natural Portuguese soil since it is known that soil properties can influence the mobility and bioavailability of contaminants. To achieve this aim, a non-contaminated regosol was collected and spiked with a range of concentrations of As. After, a battery of ecotoxicological tests was performed using the spiked soil, including microbial parameters, reproduction with invertebrates, plant growth assays, and aquatic organisms (to evaluate elutriates from the spiked soil) following standard protocols (ISO and OECD) and aimed at deriving concentrations that cause a x% effect (ECx) to the tested organism and/or the test endpoints assessed. The endpoints will be used to estimate a SRV (e.g., PNEC- predicted no effect concentration to the ecosystem or HC₅ – hazard concentration for 5% of the species of the ecosystem) using Species Sensitivity Distribution (SSD) models. The results showed that As was very toxic to all the tested organisms, and based on the data we collected, an HC₅ based on 10% effect concentrations HC₅ (EC₁₀) of 2.80 mg kg⁻¹ of soil_{dw} was proposed as SRV for regosol.

Keywords: Soil Reference Values, Environmental Risk Assessment, Ecotoxicological Tests, Species Sensitivity Distribution models.

1. Introduction

Soil reference values (SRV) are threshold concentrations of pollutants in soil that, when attained, an effect on the terrestrial ecosystem is expected. These values are generic screening standards used majorly to evaluate the potential toxicity of specific contaminants in the soils, providing valid and specific information about the impacts on the terrestrial biota when exposed (Friday, 1999; Pereira et al., 2018).

Toxicity data for plants, invertebrates, soil microbial activity, and sometimes mammals and birds, or even background concentrations obtained from natural soils, are frequently used to derive SRV for environmental risk assessment (Caetano et al., 2016; Pereira et al., 2018). The effects of the contaminant on the soil biota are tested at different endpoints and organisms. Then probabilistic or deterministic methods are applied for the estimations of the reference values for the pollutant, following different standard guidance documents, such are the European Commission Technical Guidance Document on Risk Assessment (Commission, 2003), United States Environmental Protection Agency (e.g., ASTM, 1998) or the United States Environmental Protection Agency (USEPA), and the methods proposed by The Netherlands (Swartjes et al., 2012).

In Portugal, derivation of SRV started with a cambisol, which is the most common soil category in the country's north and center. For this kind of soil, SRV for copper, cadmium, and uranium have already been suggested (Caetano et al., 2014; Caetano, Marques, Gavina, et al., 2016; Caetano, Marques, Gonçalves, et al., 2016). The major objective of this work is to generate an ecotoxicological dataset using a specific type of Portuguese natural soil (regosol) for the derivation of soil reference values for arsenic (As). The regosol is the dominant type of soil at Estarreja region (center of Portugal), where historical problems of soil contamination were caused by the Estarreja Chemical Complex. Obtaining regional SRVs of the most concerning contaminants in the region, as for example As, to be used in for first-tier soil risk

assessment purposes is of utmost importance for a site-specific evaluation.

2. Material and methods

Based on the area's geological maps and historical soil uses, a representative regosol soil from Estarreja was collected from three different sites ($40^{\circ}45'47.5''N$ $8^{\circ}35'49.6''W$) randomly and mixed thoroughly to obtain a composite sample, as a true representative of a regosol from that area. Soil samples were collected (0-10 cm depth), labelled, transported, processed adequately (2 mm sieve was used for the enzyme and aquatic toxicity assays and 4 mm for the assays with terrestrial invertebrates and plant assays), and stored depending on the parameters to be analysed (e.g., oven/air-dried for physical-chemical analysis).

The soil was spiked with a range of concentrations, defined based on the Effect concentration (ECx) sampling design (12 concentrations with minimum of 3 replicates per concentrations) and left for 48 hours. The concentrations tested were 0, 1.86, 3.25, 5.68, 9.95, 17.41, 30.46, 54.31, 93.29, 163.27, 285.71 and 500 mg of As kg⁻¹ of soil_{dw} respectively. After 48 hours, the spiked soil samples were used to perform a battery of terrestrial ecotoxicological tests with *Eisenia fetida* and *Folsomia candida* to assess the effects on the reproduction of terrestrial invertebrates following the OECD 232 and 222 criteria, the seedling emergence and growth of terrestrial plants (at least two monocotyledonous and two dicotyledonous species) following the OECD 208 protocol. In our case, we used *Avena sativa*, *Triticum aestivum*, *Lactuca sativa* and *Solanum lycopersicum* respectively. The contaminated soils were also brought in contact with deionized water containing 0.001 mol/l of CaCl₂ solution (in a liquid to solid ratio of 4:1 l/kg) and agitated for 24 hours until near equilibrium between liquid and solid phase was achieved. After 24 hours, the samples were taken to the centrifuged for 20 min and then the supernatant was collected, sieved with a 0.45 µm syringe filters and then used for the aquatic toxicity assays with *Daphnia magna*

(immobilization test following OECD 202), *Raphidocelis subcapitata* and *Lemna minor* (Growth inhibition tests following OECD 201 and 221) and *Allivibrio fischeri* (following the Microtox® model 500 Toxicity Analyzer (Modern Water, New Castle, DE) with the 81.9% basic test protocol.

A sample of fresh soil was also contaminated with the range of concentrations of As as stated previously and incubated for 30 days under a well-controlled photoperiod and temperature conditions, for microbial parameters. After 30 days, the contaminated soil was used to assess the activity of several soil microbial enzymes (dehydrogenases, cellulase (Schinner, 1996; Schinner F, 1990), arylsulfatase (Schinner, 1996; Tabatabai MA, 1970), urease (Kandeler, 1998; Schinner, 1996), phosphatases, potential nitrification and nitrogen mineralisation (Keeney DR., 1982; Schinner, 1996).

A one-way analysis of variance test was used to test for a significant effect of the pollutant concentrations on each of the tested species/parameters. After all the ANOVA assumptions had been met, Dunnett's post-hoc test was employed to determine which concentrations differed significantly from the control and the LOEC (low observed effect concentration) and NOEC (no observed effect concentration) values obtained. The EC₅₀, EC₂₀ and EC₁₀ values were calculated using the DRC package in R and compared with the STATISTICA® 7.0 software (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). All the estimations were recorded at a 95% confidence interval and alpha 0.05.

The USEPA species sensitivity distribution software and the ssdtool package in R were used to estimate the percentage hazard concentration (HC_p), and the protection level was determined and proposed as the SRV for As in regosol.

3. Results and discussion

Arsenic was very toxic for all the plant species tested, with total inhibition noted at $\geq 281 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ soil}_{\text{dw}}$. However, *L. sativa* had a better germination percentage than *H. vulgare*, but the dry mass of *H. vulgare*

proved to be a more sensitive endpoint amongst the parameters tested for plants. Figure 1 shows the effect of As on the growth of one of the terrestrial plants (*L. sativa*).



Figure 1: Phytotoxicity of As to *L. sativa*.

For the invertebrates, As significantly inhibited the reproduction of *E. fetida* ($p<0.01$) and *F. candida* ($p<0.01$) as the concentration increases, with a total inhibition noted at $\geq 93.29 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ soil}_{\text{dw}}$ as shown in figure 2. The NOEC and LOEC values recorded were $1.86 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ soil}_{\text{dw}}$ and $3.35 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ soil}_{\text{dw}}$ and $5.68 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ soil}_{\text{dw}}$ and $9.95 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ soil}_{\text{dw}}$, respectively, for these organisms.

For the microbial parameters, As inhibited the activity of acid phosphatase as the concentration increases with concentrations $\geq 93.95 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ soil}_{\text{dw}}$ being significantly different from the control. Furthermore, As inhibited dehydrogenase activity with the activity at concentrations $\geq 30.46 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ soil}_{\text{dw}}$ being significantly different from the control.

For the aquatic organisms, As was extremely toxic to *D. magna*, with total immobilization being noted in the elutriate prepared from soils with concentrations above $17.41 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ soil}_{\text{dw}}$.

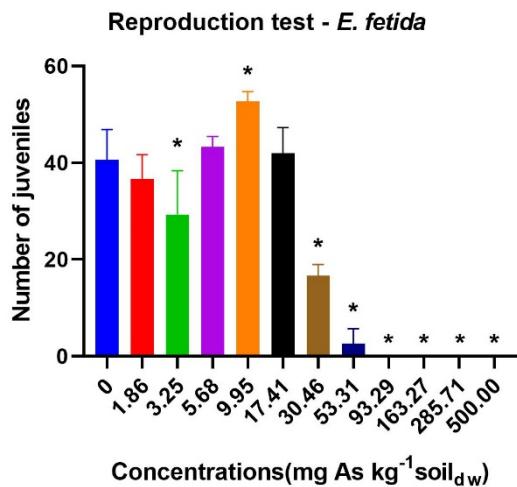


Figure 2 - Average number of juveniles produced by *E. fetida* exposed to several concentrations of As in the regosol. The asterisks sign out for significant differences relatively to the control (0.0mg As kg⁻¹ soil_{dw}) (Dunnet test, p<0.05).

4. Conclusions

The ecotoxicological data gathered in this study showed that As has an impact on the soil and aquatic community, even at the lowest concentrations tested, when the organisms are exposed through a regosol

The estimated Effect Concentrations (ECx) that were calculated from each of the experiments were used to derive the reference values.

This was achieved by fitting the most sensitive endpoints from each of the assays to a mathematical model using the USEPA SSD software to derive a HC₅ for EC₁₀, EC₂₀ and EC₅₀. Based on the data collected, an SRV of 2.80 mg As kg⁻¹ soil_{dw}, with R² of 0.96 was proposed.

Other assays are currently running, and the data would be used to generate an SRV that genuinely represents the ecological reality of the study location, which is related to agricultural soils.

Acknowledgements

The authors acknowledge the project's funder, The OHM Estarreja (<https://ohmestarreja.in2p3.fr>) in collaboration with the GreenUPorto's Strategic Funding (IUDB / 05748/2020).

References

- Caetano, A. L., Marques, C. R., Gonçalves, F., Da Silva, E. F., & Pereira, R. (2016). Copper toxicity in a natural reference soil: ecotoxicological data for the derivation of preliminary soil screening values. *Ecotoxicology*, 25(1), 163-177.
- Commission, E. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, and Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. *Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council Concerning the Placing of Biocidal Products on the Market*.
- Friday, G. (1999). Ecological screening values for surface water, sediment, and soil.
- Pereira, R., Cachada, A., Sousa, J. P., Niemeyer, J., Markwiese, J., & Andersen, C. P. (2018). Chapter 8 - Ecotoxicological Effects and Risk Assessment of Pollutants. In A. C. Duarte, A. Cachada, & T. Rocha-Santos (Eds.), *Soil Pollution* (pp. 191-216). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-849873-6.00008-X>
- Swartjes, F., Rutgers, M., Lijzen, J., Janssen, P., Otte, P., Wintersen, A., Brand, E., & Posthuma, L. (2012). State of the art of contaminated site management in The Netherlands: Policy framework and risk assessment tools. *Science of The Total Environment*, 427, 1-10.
- DR., K. (1982). Nitrogen availability indices. In *methods of soil analyses*, 711-733.
- Kandeler, E., Gerber, H. (1998). Short term assay activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils*, 6, 68-72.
- Schinner, F., Kandeler, E., Ohlinger, R. & Margesin, R. (Eds.) (1996). Methods in soil Biology. Springer – Verlag Germany.
- Schinner F, M. W. v. (1990). Xylanase-, CM-Cellulase- and invertase activity in soil, an improved method. *Soil Biol. Biochem* (22), 511-515.
- Tabatabai MA, B. J. (1970). Arylsulfatase activity in soils. *Soil Sci Soc Am Proc*, 34, 225-229.

Impacto do fogo controlado na estabilidade da agregação do solo em áreas de matos do Parque Natural de Montesinho, NE Portugal

Impact of prescribed fire on soil aggregate stability in shrub areas in Montesinho Natural Park, NE Portugal

Santos, Israel^{1*}, Figueiredo, Tomás¹, Royer, Ana Caroline¹, Szymczak, Denise², Fonseca, Felícia¹

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253, Bragança, Portugal.

²Cordenão de Engenharia Ambiental (COEAM), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão, 85601-970, Paraná, Brasil.

*israelnsantos0@gmail

Resumo

O solo é um recurso indispensável para a manutenção da vida. No entanto, com o tempo, vem sofrendo impactos negativos capazes de reduzir a sua qualidade, comprometendo a manutenção dos ciclos naturais dependentes deste meio. Neste sentido, o fogo é considerado uma atividade que pode interferir com o estado de conservação do solo. Devido à utilização do fogo controlado em Portugal como ferramenta de gestão da vegetação, torna-se importante a realização de estudos que contribuam para o conhecimento dos seus efeitos no solo. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o impacto de um fogo controlado aplicado no Parque Natural de Montesinho, NE Portugal, na estabilidade da agregação do solo dois e sete meses pós-fogo, comparando com o solo original. As amostras foram coletadas em 11 pontos nas profundidades 0-3, 3-6, 6-10 e 10-20 cm ao longo de dois transetos, com aproximadamente 15 m de distância entre pontos e transetos. Após a avaliação da estabilidade da agregação, foram comparadas as condições do solo antes e depois do fogo. O fogo contribuiu para a redução da estabilidade da agregação ao longo do tempo e da profundidade do solo, mostrando os agregados de maiores dimensões menor estabilidade. Estes efeitos podem traduzir-se num aumento da erodibilidade do solo.

Palavras-chave: fogo controlado, agregação do solo, Portugal.

Abstract

Soil is an indispensable resource for the maintenance of life. However, over time, it has undergone changes that may reduce its quality, compromising the maintenance of natural cycles dependent on this system. In this sense, fire is considered an activity that can interfere with the state of soil conservation. Due to the high use of controlled fire in Portugal as a vegetation management tool, it is important to carry out studies that contribute to the knowledge of its effects on the soil. Thus, the present study aimed to evaluate the impact of a controlled fire applied in the Montesinho Natural Park, NE Portugal, on the soil aggregate stability two and seven months after fire, compared to the original soil. Samples were collected in 11 points at depths 0-3, 3-6, 6-10, and 10-20 cm along two transects, with approximately 15 m of the distance between points and transects. After evaluating the aggregate stability, the soil conditions before and after the fire were compared. Fire contributed to the reduction of aggregation stability over time and soil depth, with larger aggregates showing less stability. These effects can translate into an increase in soil erodibility.

Keywords: prescribed fire, soil aggregation, Portugal.

Introdução

A existência do solo é um fator essencial para o sustento da vida tal como é conhecida, pois está associada à manutenção de processos naturais, como os ciclos biogeoquímicos, assim como o ciclo e qualidade da água.

Segundo Bradford et al. (2016) e Luo et al. (2015), parâmetros físicos e químicos são aspectos capazes de traduzir o estado em que o solo se encontra. E estes, podem sofrer alterações através de ações naturais ou antrópicas (Silva et al., 2008; Debiasi e Franchini, 2012).

Neste sentido, uma atividade que apresenta grande potencial de dano para o solo é o fogo, pois é capaz de alterar, dentre diversas características, a estabilidade da agregação do solo (Giovannini et al., 1987; Diaz-Fierros et al., 1990; Josá et al., 1994).

Diante dos severos focos de incêndios florestais observados em Portugal (Catry et al., 2007), e devido aos seus impactos na redução do teor de matéria orgânica, esta, responsável por auxiliar na agregação das partículas do solo, é importante conhecer os efeitos do fogo na estabilidade da agregação do solo.

Fatores como tamanho, forma e arranjo das partículas, juntamente com os espaços vazios, constituem os poros. Estes, são responsáveis por manter um bom arejamento, propiciando melhores condições de estrutura e agregação do solo.

Segundo Lal (1991) e Franzluebbers (2002), a estabilidade da agregação promove a fertilidade do solo, melhorando a produção agronómica, e diminuindo os índices de erodibilidade. Um solo estável apresenta maior proteção da matéria orgânica e menores efeitos dos processos erosivos.

Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos de um fogo controlado aplicado no Parque Natural de Montesinho, NE Portugal, na estabilidade da agregação do solo.

Material e métodos

O trabalho decorreu no Parque Natural de Montesinho, NE Portugal, próximo da aldeia de Aveleda, Bragança ($41^{\circ}53'57.06''N$, $6^{\circ}40'55.39''O$) (Figura 1), onde a 22 de março de 2021 foi realizado um fogo controlado numa área de matos de cerca de 5 ha, com vista à gestão da vegetação e consequente proteção de um povoamento de *Pinus pinaster* contra a possível ocorrência de incêndios florestais.



Fig. 1 – Localização geográfica da área de estudo

A fim de avaliar os efeitos a curto prazo deste método de gestão e os impactos gerados nas características do solo, foram realizadas coletas do solo em 11 pontos antes da aplicação do fogo (SO), dois meses (2MPF) e sete meses (7MPF) após o fogo controlado.

As amostras foram coletadas ao longo de dois transetos, às profundidades 0-3, 3-6, 6-10 e 10-20 cm, com distância de aproximadamente 15 m entre pontos e transetos.

Após coletadas, as amostras foram secas em estufa a $45^{\circ}C$ durante um período de 48 horas e, posteriormente, crivadas em crivos de malha de 2 mm e 1 mm. Para a avaliação da estabilidade dos agregados utilizou-se apenas as partículas que ficaram retidas naturalmente no crivo de 1 mm, ou seja, partículas com dimensões entre 1 e 2 mm.

Na avaliação da estabilidade dos agregados, utilizou-se crivos de malha 0,4 mm e 0,25 mm (classes de agregados). Os ensaios para cada classe de agregados ocorreram num equipamento denominado “estabilizador de agregados”, e foram realizados separadamente, isto é, primeiro

determinou-se a estabilidade dos agregados maiores (crivo 0,4 mm) e depois a dos menores (crivo 0,25 mm).

Para cada amostra foram adicionadas 4g de solo no crivo e 100mL de água destilada em recipientes adaptados ao equipamento. Em sequência, o equipamento ficou em atividade por 3 minutos. Após este período, o material instável foi levado à estufa a uma temperatura de 105°C durante 24 horas.

O mesmo processo foi realizado em sequência, porém, com a utilização de hexametafosfato diluído em água destilada e durante um período de 10 minutos, afim de auxiliar a desagregação das partículas. Foram realizadas 4 repetições para cada amostra.

Para interpretar os resultados, foi aplicada a análise de variância ANOVA a $p<0.05$ e em sequência o teste Tukey para avaliar se existiam diferenças significativas entre os períodos estudados.

Resultados e discussão

Efeito do fogo

Ao comparar os períodos antes e depois da aplicação do fogo controlado, constatou-se que existem diferenças significativas entre as médias das duas classes de agregados (0,4 e 0,25 mm). Além disto, foi possível verificar uma maior estabilidade da agregação no solo original (não ardido) (Figura 2).

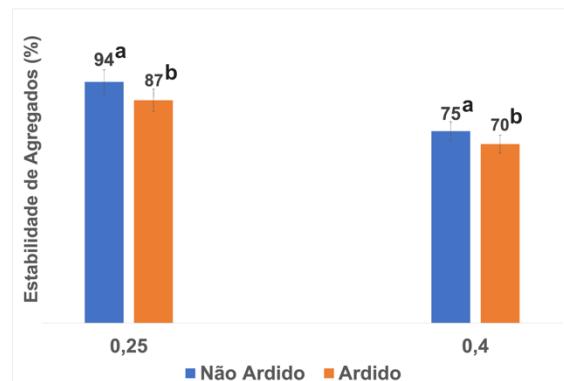


Fig. 2 - Estabilidade dos agregados nos períodos não ardido e ardido para cada classe de agregados (0,25 e 0,4mm). Valores nas colunas seguidos de letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$)

A identificação de maior estabilidade na área não ardida comparativamente à ardida, está ligada aos impactos causados

pelo fogo em atributos físicos e químicos do solo, tal como o teor de matéria orgânica e carbono orgânico total (Badía-Villas et al., 2014). Autores como Thomaz (2011), Mataix-Solera et al. (2011), Chen et al. (2016) e Nunes et al. (2019), abordam os impactos da temperatura na estabilidade dos agregados.

Efeito da profundidade

Na Figura 3 é possível observar a estabilidade da agregação em profundidade nos diferentes períodos de amostragem. Nota-se um padrão de maior estabilidade da agregação no solo original (SO), quando comparado aos períodos pós fogo, principalmente nas camadas superiores (0–6 cm) com diferenças significativas relativamente aos períodos pós-fogo (2MPF e 7MPF).

No entanto, quando se compara os períodos 2MPF e 7MPF entre si, normalmente não apresentam diferenças significativas. Tendo variação apenas na profundidade 10-20 cm, na classe 0,25 mm, onde a maior estabilidade está relacionada ao período de 2MPF.

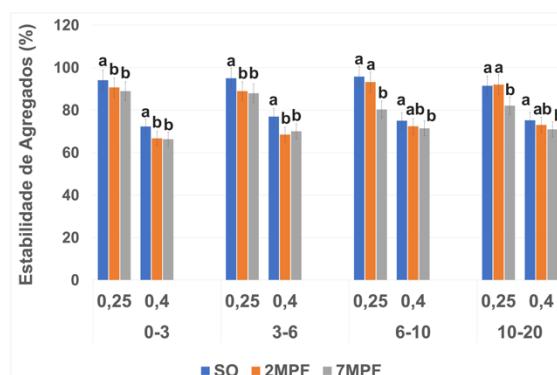


Fig. 3 - Estabilidade dos agregados em profundidade, nos diferentes períodos de amostragem (SO, 2MPF e 7MPF) para cada classe de agregados. Letras diferentes nas colunas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Conforme Junior et al. (2012), a presença de vegetação sobre o solo é um fator que contribui significativamente para a manutenção de uma boa estabilidade da agregação. Também Salton et al. (2008), propõem que a disposição de raízes, tecidos vegetais mortos e a liberação de agentes cimentantes provenientes da vegetação presente são aspectos que melhoram, sobretudo, a agregação em camadas superiores do solo.

Classes dos agregados ao longo do tempo

Conforma a Figura 4, nota-se que a estabilidade do solo diminui após sofrer a ação do fogo e é significativamente superior para a classe de agregados de 0,25 mm, comparativamente à classe de agregados 0,4 mm.

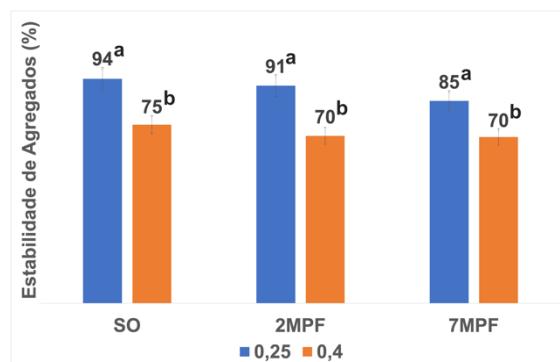


Fig. 4 - Estabilidade dos agregados conforme a classe de agregados (0,25mm e 0,4mm) independente do período (SO, 2MPF e 7MPF). Valores seguidos de letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$)

Pádua et al. (2015) afirma que o tamanho dos agregados do solo influencia a estabilidade da agregação. Pois agregados menores tendem a ser mais estáveis, enquanto agregados maiores tendem a possuir maior instabilidade.

Conclusões

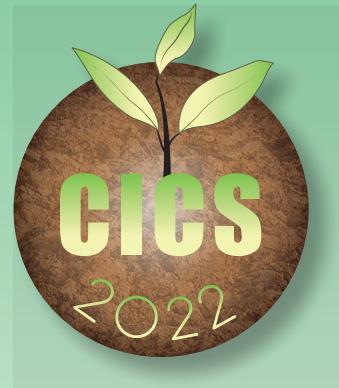
A estabilidade da agregação apresenta valores significativamente superiores no solo original quando comparado com as avaliações realizadas nas áreas ardidas. Quando se compara individualmente os períodos e as profundidades, é possível concluir que os momentos dois meses (2MPF) e sete meses (7MPF) pós-fogo tendem a apresentar menor estabilidade da agregação, independentemente da profundidade, em relação ao solo original (SO). Conclui-se também que a estabilidade dos agregados é sempre superior na classe 0,25 mm, comparativamente a 0,4 mm.

Agradecimentos

TERRAMATER- Innovative preventive recovery measures in burnt areas, 0701_TERRAMATER_1_E, co-funded by FEDER through Interreg V-A Espanha-Portugal (POCTEP) 2014–2022.

Referências bibliográficas

- Badía-Villas, D., González-Pérez, J.A., Aznar, J.M., & Arjona-Gracia, B. (2014). Changes in water repellency, aggregation and organic matter of a mollic horizon burned in laboratory: soil depth affected by fire. *Geoderma* 213, 400-407.
- Bradford, M.A., Wieder, W.R., Bonan, G.B., Fierer, N., Raymond, P.A., & Crowther, T.W. (2016). Managing uncertainty in soil carbon feed-backs to climate change. *Nature Climate Change*, 6, 751-758.
- Chen, Z., Zhu, H., Yan, Z., Zhao, L., Shen, Y., & Misra, A. (2016). Experimental study on physical properties of soft soil after high temperature exposure. *Engineering Geology* 204, 4-22.
- Debiasi, H., & Franchini, J.C. (2012). Atributos físicos do solo e produtividade da soja em sistema de integração lavoura-pecuária com braquiária e soja. *Ciência Rural* 42 (7), 1180-1186.
- Díaz-Fierros, F., Benito, E., Veja, J.A., Castelao, A., Soto, B., Pérez, R., & Taboada T. (1990). Solute loss and soil erosion in burnt soil from Galicia (NW Spain). In *Fire in Ecosystem Dynamics: Mediterranean and Northern Perspectives*, Goldammer JG, Jenkins MJ (eds). SPB Academic Publishing: The Hague, 103-116.
- Franzluebbers, A.J. (2002). Water infiltration and soil structure related to organic matter and its stratification with depth. *Soil Tillage Res.* 66, 197-205.
- Giovannini, G., Luchesi, S., & Giachetti, M. (1987). The natural evolution of a burned soil: a three years investigation. *Soil Sci.* 143, 220-226.
- Josá, R. (1994). Effects of slashburning on some physical properties in an olm-oak coppice. *Geoforma Ediciones*, Logronó, pp. 29-42.
- Luo, Y., Keenan, T.F., & Smith, M. (2015). Predictability of the terrestrial carbon cycle. *Global change biology* 21, 1737-1751.
- Lal, R. (1991). Soil structure and sustainability. *Journal of Sustainable Agriculture* 1, 67-92.
- Larson, W.E., & Pierce, F.J. (1994). The dynamics of soil quality as a measure of sustainable management. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F. & Stewart, B.A., eds. *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison, SSSA.
- Mataix-Solera, J. (2011). "Fire effects on soil aggregation: A review" *Earth-science Reviews*, 109; Elsevier; pág. 44-60.
- Nunes, H.B., Kato, E., Sá, M.A.C., Rosa, V.A., Carvalho, A.S., & Neto, J.P.S. (2019). Influência da temperatura sobre a agregação do solo avaliada por dois métodos. *Ciência Florestal* 29 (2), 496-507
- Pádua, E.J., Guerra, A.R., & Zinn, Y.L. (2015). Modelagem da densidade do solo em profundidade sob vegetação nativa em Minas Gerais. *Revista brasileira de ciência do solo* 39 (3), 725-736.
- Salton, J.C., Mielińczuk, J., Bayer, C., Boeni, M., Conceição, P.C., Fabrício, A.C., Macedo, M.C. M., & Broch, D.L. (2008) Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. *R Bras Ci Solo*. 32, 11-21.
- Thomaz, E.L. (2011). Influência da temperatura no diâmetro e na estabilidade de agregados em chernossolo, Saskatchewan, Canadá. *Ciencia del Suelo* 29(2), 277-284.
- Junior, C.C., Piccolo, M.C., Camargo, P.B., Cerri, C.C., & Bernoux, M. (2012). Carbono em agregados do solo sob vegetação nativa, pastagem e sistemas agrícolas no bioma Cerrado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 36 (4), 311-322.



Sistemas do uso da terra e gestão sustentável do solo

Posters

Plant-Nematode co-cultures in the screening of sustainable nematicides against soil-dwelling parasitic nematodes of plants

Co-culturas planta-nemátoide para a despistagem de nematicidas sustentáveis contra nemátodes fitoparasitas do solo

Jorge M. S. Faria^{1*}, Cláudia S. L. Vicente^{2,1}, Leidy Rusinque¹, M. João Camacho^{1,2}, Maria L. Inácio^{1,3}

¹ INIAV, I.P., Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Quinta do Marquês, 2780-159 Oeiras, Portugal

² MED, Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development, Institute for Advanced Studies and Research, Évora University, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal

³ GREEN-IT Bioresources for Sustainability, Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa (ITQB NOVA), Av. da República 2780-157 Oeiras, Portugal

*jorge.faria@iniav.pt

Resumo

As doenças causadas pelos nemátodes fitoparasitas permanecem uma considerável limitação á produção agrícola global. Um crescente número substâncias activas, utilizadas em formulações nematicidas comerciais, têm sido proibidas por políticas comuns de gestão de pragas, devido a preocupações ambientais e de saúde humana. Muitas vezes, os pesticidas de substituição demonstram uma menor eficiência no campo, o que se reflete num decréscimo do rendimento e da produtividade agrícola. O desenvolvimento de novos biopesticidas de alta eficiência para o combate de pragas e doenças das culturas é urgente e permitirá dar resposta adequada à crescente necessidade de produtos agrícolas, respeitando as novas políticas ambientais. As co-culturas planta-nemátoide permitem uma despistagem simultânea da eficiência nematocida de um composto e da sua influência nos tecidos vegetais do hospedeiro, num sistema facilmente acessível que simula a infecção natural. O laboratório de Nematologia do INIAV encontra-se a desenvolver estes sistemas e foram já obtidos resultados preliminares para as co-culturas de *Solanum lycopersicum* com o nemátoide *Meloidogyne ethiopica* e *S. tuberosum* com *Globodera pallida*. Em ensaios futuros outros nemátodes fitoparasitas serão avaliados, como os nemátodes das lesões da raiz (*Pratylenchus penetrans*) em raízes transgénicas de batata e do nemátoide da madeira do pinheiro (*Bursaphelenchus xylophilus*) em rebentos *in vitro* de pinheiro (*Pinus* sp.).

Palavras-chave: agroecossistemas, biopesticidas, culturas *in vitro*, despistagem de nematicidas, nemátodes do solo

Abstract

The diseases caused by plant parasitic nematodes are still a serious constraint to modern global crop production. An increasing number of active compounds in commercial nematicidal formulations is being banned from use by common policies of pest management. Farmer communities report a low efficiency for the replacement pesticides, which reflects on crop yield and productivity. Novel sustainable biopesticides are urgently needed to cope with global food demands while respecting the most recent environmental policies. Plant-nematode co-cultures offer a stable biotechnological screening tool able to assess the active compound's nematicidal activity and its effect on host tissues, simultaneously, in an easily accessible system that simulates natural infection. These systems are being developed and optimized at the Nematology laboratory of INIAV. Preliminary results were obtained for co-cultures of *Solanum lycopersicum* with the nematode *Meloidogyne ethiopica* and *S. tuberosum* with *Globodera pallida*. Future studies will target other plant parasitic nematodes, e.g., the root lesion nematodes (*Pratylenchus penetrans*) in transgenic roots of potato and the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) on *in vitro* pine shoots (*Pinus* sp.).

Keywords: agroecosystems, biopesticides, *in vitro* cultures, nematicide screening, soil nematodes

Introduction

Plant parasitic nematodes (PPNs) are small roundworms that greatly affect crops in modern agriculture. They belong to the phylum Nematoda and are characterized by the presence of the stylet, a piercing mouthpart that aids in plant parasitism. Root-knot nematodes (RKN), of the genus *Meloidogyne*, and cyst nematodes (CNs), of the genus *Globodera* and *Heterodera*, are the most economically important soil-dwelling PPNs, responsible for heavy losses to farmers. Recently, the damaging effects of PPN diseases have increased dramatically, due to globalization and monoculture mass production, requiring more effective means of pest management.

Pest management is usually performed through non-chemical means, relying on natural host resistance or on cultural controls, and chemically, using nematicides. Nematicide screening is mainly performed using *in vitro* direct contact assays or *in vivo* screening. However, direct contact assays are unable to reflect phytotoxicity to the host or compound biotransformation and metabolism, while *in vivo* screening is an extremely lengthy and unpractical process, beset by environmental and genetic variations.

An innovative screening procedure was developed based on *in vitro* cultures of transgenic roots with soil PPNs (Faria et al., 2014), and validated as being able to evaluate nematicidal activity and toxicity to the host, simultaneously, in an easily accessible biotechnological system (Faria et al., 2015). *In vitro* co-cultures are refined screening systems, kept under controlled nutritional and environmental conditions, with defined and easily manipulated biological parameters (Faria et al., 2016). Furthermore, co-cultures need fewer resources, in terms of space and time, offering additional advantages to conventional *in vivo* systems for large-scale screening of nematicidal compounds.

In the present work, *Solanum lycopersicum* and *S. tuberosum* transgenic roots were established as *in vitro* culture hosts for *Meloidogyne ethiopica* and

Globodera pallida. These plant - parasite biotechnological systems will be used to obtain aseptic phytoparasitic nematodes in large amounts and to futurely test biopesticide compounds.

Material and methods

Tubers of *S. tuberosum* cv. Agria and fruits of *S. lycopersicum* cv. Cerasiforme were obtained locally. Samples were washed with commercial bleach 20% (v/v), for 10 min, and surface sterilized by immersion in ethanol 96% (v/v) for 10 min. Under asepsis, potatoes and tomatoes were rinsed 3 times in ultrapure sterile water, the outer 2 cm portion was removed, and the central piece divided into segments with approximately 0.5 cm of thickness.

Transgenic roots were induced by inoculating the aseptic potato or tomato sections with *Rhizobium rhizogenes* ARQuia strain, according to the previously described protocol (Faria et al., 2014). Transgenic roots were then maintained in semi-solid Schenk and Hildebrandt (SH) medium supplemented with 30 g L⁻¹ sucrose and 8 g L⁻¹ agar at pH = 5.6. Plates were kept at 24±1°C, in darkness, under regular subculturing.

Co-cultures were established according to, Faria et al. (2014). For *M. ethiopica*, egg masses were handpicked from infected tomato plants from the *in vivo* nematode collection of INIAV's Nematology Lab (Rusinque et al., 2022). The eggs were extracted with 0.52% (v/v) sodium hypochlorite (NaOCl) solution and the debris removed with a 47% (w/v) sucrose solution. Afterwards, second stage juveniles (J2) were hatched from the eggs in moist chambers and surface sterilized in 70% ethanol for 2 min, centrifuged for 2 min at 500 g, and finally rinsed in sterile water (4 times) to eliminate traces of ethanol. For *G. pallida*, cysts were provided by the cyst nematode collection of Nematology Lab of INIAV. Cysts were extracted from the soil samples using the Fenwick can method, eggs and J2 were recovered from cysts and surface sterilized as described above. Approximately 50 *M. ethiopica* juveniles or *G. pallida* eggs were added to *S. lycopersicum* or *S. tuberosum* transgenic roots, respectively, and kept for 2 months for infection and female maturation.

Results and discussion

For *in vitro* infected tomato sections, transgenic roots began emerging from etiolated seedling hypocotyls, from the seeds that immediately germinated of the tomato sections. After a month, transgenic roots were already evident (Fig 1A). These roots were excised and periodically subcultured (Fig 1B and C). The aseptic *M. ethiopica* J2 added were identified in the vicinity of tomato roots and after approximately 2 weeks the first indications of root galling were detected (Fig 1D).

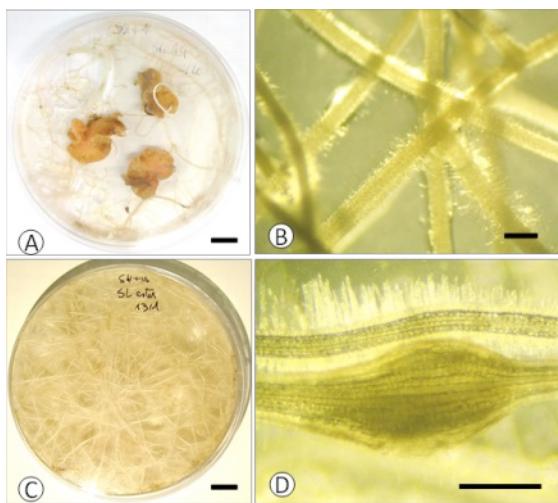


Fig. 1 – (A) Visual aspect of transgenic roots developing from aseptic tomato sections, (B) microscopic aspect of a tomato transgenic root, (C) transgenic roots culture in semi-solid SH culture medium and (D) a root gall encasing a maturing *Meloidogyne ethiopica* female. Bar = 1 cm for A and C; and 1 mm for B and D.

For potato sections, transgenic roots began emerging from small cell clusters formed in the surface of the section. Within two months root primordia were discernible, and in the following weeks transgenic roots began growing throughout the culture medium (Fig 2A, B and C). The added aseptic *G. pallida* eggs hatched within the first week and J2 were observed trussing their stylet at the root epidermis. After approximately one month the first maturing females were identified on wounds in the root (Fig 2D).

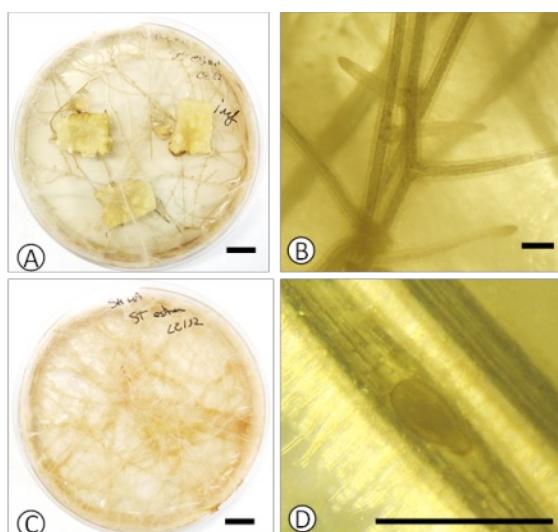


Fig. 2 – (A) Visual aspect of transgenic roots developing from aseptic potato sections, (B) microscopic aspect of a potato transgenic root, (C) transgenic roots culture in semi-solid SH culture medium and (D) a maturing *Globodera pallida* female. Bar = 1 cm for A and C; and 1 mm for B and D.

Conclusions

Transgenic roots offer many advantages for plant-parasitic nematode research. At the Plant Nematology Lab of INIAV, they will be used to maintain a reference collection of PPN races, to obtain high quantities of aseptic PPNs for nematicide screening and as novel biotechnological tools to enhance procedures of biopesticides screening.

Acknowledgements

We would like to thank Dr. Esther Menéndez (Universidad de Salamanca) for providing *R. rhizogenes* ARqual strain. This research was partially funded by the Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT/MCTES) through national funds, under LISBOA-01-0145-FEDER-028724 and PTDC/ASP-PLA/0197/2020 projects.

References

- Faria, J. M. S., Rodrigues, A. M., Sena, I., Moiteiro, C., Bennett, R. N., Mota, M., & Figueiredo, A. C. (2016). Bioactivity of *Ruta graveolens* and *Satureja Montana* Essential Oils on *Solanum tuberosum* Hairy Roots and *Solanum tuberosum* Hairy Roots with *Meloidogyne chitwoodi* Co-cultures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(40), 7452–7458. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03279>
- Faria, J. M. S., Sena, I., Moiteiro, C., Bennett, R. N., Mota, M., Figueiredo, A. C., & Cristina Figueiredo, A. (2015). Nematotoxic and phytotoxic activity of *Satureja montana* and *Ruta graveolens* essential oils on *Pinus pinaster* shoot cultures and *P. pinaster* with *Bursaphelenchus xylophilus* *in vitro* co-cultures. *Industrial Crops and Products*, 77, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.045>
- Faria, J., Sena, I., Maleita, C., da Silva, I., Ascensão, L., Abrantes, I., Bennett, R., Mota, M., & Cristina Figueiredo, A. (2014). Characterization of structure, growth and production of volatiles of *Solanum tuberosum* hairy roots and *Solanum tuberosum* hairy roots/*Meloidogyne chitwoodi* *in vitro* co-cultures. *Planta Medica*, 80(16). <https://doi.org/10.1055/s-0034-1394962>
- Rusinque, L., Nóbrega, F., Cordeiro, L., Lima, A., Andrade, S., & Inácio, M. L. (2022). Root-Knot Nematode Species Associated with Horticultural Crops in the Island of Azores, Portugal. *Horticulturae*, 8(2). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8020101>

Efeito da metafedrona no comportamento de fuga e na reprodução da minhoca *Eisenia fetida*

Effect of metaphedrone on avoidance behavior and reproduction of the earthworm *Eisenia fetida*

Ribeiro, Ondina^{1,2}, Natal-da-Luz, Tiago³, Sousa, João Ricardo^{1,2}; Pinto, Vera¹; Ribeiro, Cláudia^{4,5}, Ferreira, João¹ e Carrola, João Soares^{1,2,6*}

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.

² Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), UTAD, Vila Real, Portugal.

³ Centro de Ecologia Funcional, Departamento de Ciências da Vida da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

⁴ TOXRUN – Unidade de Investigação em Toxicologia, Instituto Universitário de Ciências da Saúde, Cooperativa de Ensino Superior Politécnico e Universitário (CESPU), CRL, 4585-116 Gandra, Portugal.

⁵ Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR), Universidade do Porto, Edifício do Terminal de Cruzeiros do Porto de Leixões, Matosinhos, Portugal.

⁶ Inov4Agro - Instituto de Inovação, Capacitação e Sustentabilidade da Produção Agro-alimentar, UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal.

*e-mail: joao@utad.pt;

Resumo

O consumo crescente de substâncias psicoativas (SPA) para usos recreativos tem gerado preocupação no campo da saúde pública e ambiental nomeadamente, na ecologia do solo e cadeias alimentares. De facto, a concentração de SPA nos ecossistemas aquáticos e efluentes tem aumentado e, consequentemente no ambiente terrestre como resultado da aplicação de lamas provenientes de estações de tratamento de águas residuais e à utilização de águas contaminadas para rega, entre outras. A metafedrona, 3-MMC, é uma catinona sintética com efeitos psicoestimulantes sendo excretada na urina após o consumo e, desta forma, podendo chegar aos ecossistemas aquáticos e solos. Uma vez que a presença e concentração destas substâncias nos solos tem aumentado, torna-se imperativo estudar os efeitos que estas podem ter nos organismos do solo. Assim, o objetivo principal deste trabalho foi estudar os possíveis efeitos tóxicos da 3-MMC em minhocas adultas da espécie *Eisenia fetida*. Foram testadas várias concentrações de 3-MMC nomeadamente 25, 250 e 2500 µg/kg (de solo artificial seco) no comportamento de fuga e na taxa reprodutiva de *E. fetida* ao longo de 48 horas e 56 dias, respetivamente. Verificamos que as diferentes concentrações testadas não induziram efeitos significativos quer na percentagem de fuga das minhocas quer no número de juvenis eclodidos. Estes dados preliminares indicam que a 3-MMC não interfere no comportamento nem na reprodução da *E. fetida*. No entanto é importante realizar mais estudos, por exemplo com mistura de substâncias psicoativas, de forma a verificar se existem ou não efeitos sinergéticos, e por outro lado estudar os efeitos desta substância noutros invertebrados edáficos com papel relevante na ecologia dos solos agrícolas.

Palavras-chave: metafedrona, *Eisenia fetida*, evitamento, reprodução, solo.

Abstract

The growing consumption of psychoactive substances (SPA) for recreational uses has generated concern in the field of public and environmental health, namely, in soil ecology and food chains. The concentration of SPA in aquatic ecosystems and effluents has increased and consequently, increased also in the terrestrial environment as a result of the application of sludge from wastewater treatment plants, and the use of contaminated water for irrigation, among others. Metaphedrone, 3-MMC, is a synthetic cathinone with psychostimulant effects being excreted in the urine after consumption and, in this way, reaching aquatic ecosystems and soils. Since the presence and concentration of these substances in soils has increased, it is imperative to study the effects they may have on soil organisms. Thus, the main objective of this work was to study the possible toxic effects of 3-MMC in adult earthworms of the species *Eisenia fetida*. Various concentrations of 3-MMC namely 25, 250 and 2500 µg/kg (of dry artificial soil) were tested on the escape behavior and reproductive rate of *E. fetida* over 48 hours and 56 days, respectively. We verified that the different concentrations tested did not induce significant effects either in the percentage of earthworm escape or in the number of hatched juveniles. These preliminary data indicate that 3-MMC does not interfere with the behavior or reproduction of *E. fetida*. However, it is important to carry out more studies, for example with a mixture of psychoactive substances to verify whether or not there are synergistic effects, and on the other hand to study the effects of this substance on other edaphic invertebrates with a relevant role in the ecology of agricultural soils. Keywords: Metaphedrone, *Eisenia fetida*, avoidance behavior, reproduction, soil.

Introdução

Diariamente inúmeras substâncias tóxicas chegam aos ecossistemas aquáticos e terrestres, incluindo as substâncias psicoativas, podendo causar efeitos nefastos diversos nos organismos expostos (Carter, Williams, & Sallach, 2020).

A metafedrona (3-MMC) é uma catinona sintética pertencente à classe das feniletilaminas, com efeitos psicoestimulantes, tais como: euforia, aumento da energia, excitação, entre outros (Ferreira, da Silva, Carvalho, de Lourdes Bastos, & Carmo, 2019). Este contaminante emergente chega aos ecossistemas aquáticos através da excreção pela urina ou descarte inapropriado, e pode ser introduzida nos solos através da irrigação com águas contaminadas, aplicação de biosólidos, entre outros (Subedi & Kannan, 2015).

As minhocas são importantes organismos no funcionamento do solo, sendo diretamente afetadas pelos respetivos processos de contaminação do solo. Deste modo, a espécie *Eisenia fetida* tem sido utilizada como modelo biológico em ensaios ecotoxicológicos, sendo considerada um bioindicador fundamental na avaliação dos processos de contaminação do solo (OECD, 1984), através de ensaios de fuga e reprodução.

Apesar da crescente contaminação dos ecossistemas com substâncias psicoativas, os ensaios para avaliar os potenciais efeitos destas substâncias nos organismos do solo são escassos. Assim, o principal objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da 3-MMC no comportamento de fuga e reprodução da *E. fetida*.

Material e métodos

Foram seguidas as diretrizes para o estudo de substâncias químicas para realizar o ensaio de fuga (ISO, 2008) e de reprodução (ISO, 2012; OECD, 2016). Inicialmente foi preparado um solo artificial, composto por 70% de areia, 20% de caulino e 10% de turfa, com base no peso

seco. Adicionalmente foi corrigido o valor de pH da mistura para $6,0 \pm 0,5$ através da adição de CaCO_3 . Posteriormente, foi determinada a capacidade máxima de retenção de água (CMRA) da matriz e ajustado o seu teor de água para 40% da CMRA.

Para os ensaios de fuga e de reprodução, foram estudadas as seguintes concentrações de metafedrona: 25, 250 e 2500 $\mu\text{g/kg}$ e um controlo (sem adição de 3-MMC) sendo realizadas três repetições por concentração estudada. A 3-MMC foi adquirida na LGC Standards GmbH (Wesel, Germany). De acordo com as concentrações e repetições testadas, foram utilizadas 12 caixas PVC, como recipiente-teste, com as respetivas tampas perfuradas, para possibilitar as trocas gasosas. Os ensaios decorreram sob condições constantes de temperatura ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), fotoperíodo (16-h luz e 8-h escuro), intensidade de luz, arejamento e humidade.

Antes do início dos ensaios, 300 minhocas adultas da espécie *Eisenia fetida*, com clitelo bem desenvolvido e com um peso entre as 300 e 600 mg, foram aclimatizadas em solo artificial durante 24 horas.

Para a realização do ensaio de fuga, foi colocada uma placa divisória a meio de cada recipiente-teste, e posteriormente em cada secção foram colocadas 250 g de solo artificial (peso seco) a 40% da CMRA, ao qual foi adicionado 3-MMC nas diferentes concentrações selecionadas e um solo controlo. Depois de retirada da placa divisória, foram inseridas 10 minhocas na linha média entre as duas secções das réplicas. Após um período de incubação de 48 horas, foi inserida novamente a placa divisória na linha central, e procedeu-se à contagem do número de organismos em cada secção, de forma a determinar a percentagem de fuga (x) de acordo com a equação seguinte:

$$x (\%) = [(nc - nt)/N] * 100$$

em que nc representa o número de minhocas presentes no solo controlo, nt

representa o número de minhocas presentes no solo teste e N o número total de minhocas por recipiente-teste.

Por sua vez, no ensaio de reprodução, foram colocados 500 g de solo (equivalente a peso seco), a 40% de CMRA com a respetiva concentração de 3-MMC. De seguida, foram colocadas 10 minhocas adultas em cada recipiente-teste e adicionou-se 1 g de aveia biológica moída e previamente esterilizada em câmara UV. A cada 7 dias, procedeu-se ao controlo gravimétrico do teor de humidade e à alimentação. Ao fim de 28 dias de exposição, as minhocas adultas foram retiradas dos recipientes-teste e os casulos foram mantidos por mais 28 dias, ao fim dos quais foi realizada a contagem dos juvenis ecclodidos.

Os dados obtidos foram sujeitos a uma análise de normalidade e homogeneidade, pelos testes de Kolmogorov e Bartlett, respetivamente. Posteriormente, os dados foram sujeitos a uma ANOVA de uma via, seguida do teste de Dunnett para um grau de probabilidade de $p \leq 0,05$.

Resultados e discussão

Os resultados observados no ensaio de fuga, relativos à distribuição das minhocas em cada uma das secções, pode ser observado na figura 1. A presença de 3-MMC no solo não induziu um comportamento de fuga nas minhocas, para todas as concentrações de substância testadas ($p > 0,05$). Observou-se para a concentração de 25 µg/kg uma percentagem de fuga de 40% e de 6,67% para as concentrações mais elevadas (250 e 2500 µg/kg). Apesar da percentagem mais elevada de fuga na concentração mais baixa, este comportamento não foi muito evidente nem consistente com o aumento das concentrações.

Relativamente ao ensaio de reprodução verificou-se que as diferentes concentrações de 3-MMC não afetam significativamente a capacidade reprodutiva das minhocas, não tendo sido observadas diferenças estatísticas no número de juvenis ecclodidos para os diferentes tratamentos (figura 2). No

entanto, com o aumento das concentrações de metafedrona, foi observada uma tendência crescente do número de juvenis ecclodidos.

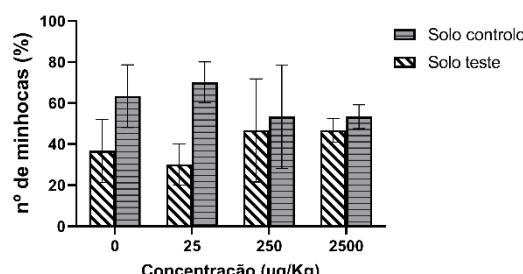


Fig. 1 – Ensaio de fuga de minhocas adultas da espécie *E. fetida* (valores representados em forma de médias e desvio-padrão; $n=3$).

Analizando os resultados nos dois ensaios realizados, estes sugerem que a 3-MMC não induz efeitos tóxicos na espécie *E. fetida*. Carter, Ryan, and Boxall (2016) observaram que a exposição de minhocas a diferentes fármacos, como carbamazepina, diclofenac, fluoxetina e orlistat em concentrações de 26, 25, 28 e 44 µg/kg, respetivamente, não induziram efeitos no comportamento de escavação dos organismos expostos. No entanto, a exposição ao antibiótico lasalocid induziu uma resposta de fuga significativa com o aumento das concentrações testadas (Žížek & Zidar, 2013).

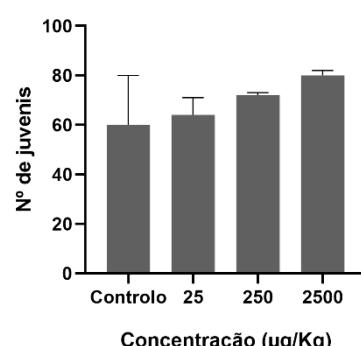


Fig. 2 – Ensaio de reprodução com minhocas adultas expostas ao longo de 28 dias (resultados expressos em forma de média e desvio-padrão).

A ausência de efeitos no comportamento de fuga das minhocas à 3-MMC pode estar relacionada com os fenómenos de

adsorção que os constituintes do solo exercem sob o composto, que diminuem a sua biodisponibilidade para os organismos expostos (Silva & van Gestel, 2009). Além disso, o tempo reduzido do ensaio (48 horas) pode limitar o nível de resposta das minhocas, no entanto como observado anteriormente, a 3-MMC não induziu nenhum efeito estatisticamente significativo no ensaio de reprodução, no qual o tempo de exposição é mais longo (28 + 28 dias).

Na presença de resíduos industriais farmacêuticos à base de plantas num vermicompostor, a *E. fetida* apresentou um crescimento significativo, bem como um aumento do desempenho reprodutivo (Singh & Suthar, 2012). Minhocas expostas ao antibiótico de uso veterinário, enrofloxacina, apresentaram uma redução da taxa de reprodução e do crescimento de uma forma dose-dependente (Li, Hu, Ai, Qiu, & Wang, 2015). Estas diferenças nas respostas dos organismos aos diferentes compostos em comparação com a 3-MMC, pode estar relacionada com o mecanismo de ação dos diferentes compostos em relação à substância psicoativa ou as diferentes concentrações testadas.

Os estudos com substâncias psicoativas em organismos terrestres são escassos, sendo que até ao momento não foi encontrado nenhum estudo que avalie o efeito tóxico da 3-MMC no comportamento de fuga e na reprodução de minhocas da espécie *E. fetida*.

Conclusões

Os resultados obtidos mostraram que a 3-MMC não induz efeitos tóxicos nas minhocas da espécie *E. fetida*, para a gama de concentrações testadas. Estes dados preliminares indicam que a 3-MMC não interfere no comportamento nem na reprodução da *E. fetida*. No entanto é importante realizar mais estudos de forma a validar estes resultados e, por outro lado, estudar os efeitos desta substância noutras invertebrados edáficos com papel relevante na ecologia dos solos agrícolas e na bioacumulação nas cadeias alimentares.

Financiamento: Este trabalho foi financiado pela FCT/MCTES (PIDDAC), no âmbito do projeto PTDC/CTA-AMB/6686/2020 e UIDB/04033/2020.

Agradecimento: Ondina Ribeiro agradece a bolsa de investigação sob o projeto PTDC/CTA-AMB/6686/2020.

Referências bibliográficas

- Carter, L. J., Ryan, J. J., & Boxall, A. B. (2016). Effects of soil properties on the uptake of pharmaceuticals into earthworms. *Environmental pollution*, 213, 922-931.
- Carter, L. J., Williams, M., & Sallach, J. B. (2020). Uptake and effects of pharmaceuticals in the soil-plant-earthworm system. *Interaction and Fate of Pharmaceuticals in Soil-Crop Systems*, 175-220.
- Ferreira, B., da Silva, D. D., Carvalho, F., de Lourdes Bastos, M., & Carmo, H. (2019). The novel psychoactive substance 3-methylmethcathinone (3-MMC or metaphedrone): a review. *Forensic science international*, 295, 54-63.
- ISO. (2008). Soil quality — Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour — Test 17512-1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Geneva, Switzerland.
- ISO. (2012). Soil quality—effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*). Test nº 11268–2: Determination of on reproduction. Geneva, Switzerland.
- Li, Y., Hu, Y., Ai, X., Qiu, J., & Wang, X. (2015). Acute and sub-acute effects of enrofloxacin on the earthworm species *Eisenia fetida* in an artificial soil substrate. *European Journal of Soil Biology*, 66, 19-23.
- OECD. (1984). *Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2*, OECD Publishing, Paris.
- OECD. (2016). *Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida/Eisenia andrei*)*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris.
- Silva, P. M. C., & van Gestel, C. A. (2009). Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and *Perionyx excavatus* in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics. *Chemosphere*, 77(11), 1609-1613.
- Singh, D., & Suthar, S. (2012). Vermicomposting of herbal pharmaceutical industry waste: Earthworm growth, plant-available nutrient and microbial quality of end materials. *Bioresource technology*, 112, 179-185.
- Subedi, B., & Kannan, K. (2015). Occurrence and fate of select psychoactive pharmaceuticals and antihypertensives in two wastewater treatment plants in New York State, USA. *Science of The Total Environment*, 514, 273-280.
- Žížek, S., & Zidar, P. (2013). Toxicity of the ionophore antibiotic lasalocid to soil-dwelling invertebrates: Avoidance tests in comparison to classic sublethal tests. *Chemosphere*, 92(5), 570-575.

Efeito da aplicação direta de lamas tratadas na habitabilidade do solo: ensaios de evitamento com *Eisenia fetida*

Effect of direct application of treated sludge on soil habitability: avoidance assays with *Eisenia fetida*

Migueis, Daniel¹; Rodrigues, Paula¹; Roboredo, Marta^{1,2}; Sousa, João Ricardo^{1,3*}

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.

² Centro de Química (CQ), UTAD, Vila Real, Portugal.

³ Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), UTAD, Vila Real, Portugal.

*e-mail: jricardo@utad.pt

Resumo

A crescente urbanização e industrialização promoveram um considerável aumento da produção de lamas de depuração que, no âmbito de uma economia circular, importa reciclar e valorizar sendo a aplicação ao solo uma alternativa viável, de baixo custo, devido ao respetivo valor fertilizante. A aplicação direta destes resíduos poderá potenciar riscos para a qualidade do solo uma vez que, em termos legais, para além dos elementos potencialmente tóxicos e microrganismos patogénicos, não considera os efeitos de outros potenciais contaminantes existentes. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da aplicação direta de lamas de depuração, em diferentes doses (0, 2, 5 10, 15, 30 e 60 t/ha), na habitabilidade do solo, através da avaliação do comportamento da *Eisenia fetida*, com base em testes definidos pelas ISO. Os resultados obtidos evidenciam ausência de efeitos no comportamento da *E. fetida* em todas as doses estudadas ($p>0,05$), com uma percentagem de fuga negativa a variar entre os 40 e 60%, comparativamente ao controlo. Estes resultados estarão relacionados com os baixos teores de metais pesados e com a melhoria das condições físico-químicas do solo, resultando numa maior atratividade por parte do modelo biológico usado. Outros estudos, com outros solos, bioindicadores e métodos com maior tempo de exposição, serão necessários para validar a tendência observada.

Palavras-chave: lamas, *Eisenia fetida*, evitamento, poluição, solo.

Abstract

The increasing urbanization and industrialization have promoted a considerable expansion in the production of sewage sludge, which it is important to recycle and valorise in the circular economy context, with soil application being a viable, low-cost alternative, due to its high fertilizing value. Though the legal policies considered limit fixed quantities of heavy metals and pathogenic microorganisms, the direct application of these residues may potentiate risks to soil quality, since it does not consider the effects of different contaminants presence. The objective of this work is to evaluate the effect of direct application of sewage sludge, at different application rates (0, 2, 5 10, 15, 30 and 60 t/ha) on soil habitability, based on rapid tests defined by ISO guidelines, through the evaluation of the behaviour of *Eisenia fetida*. The results reveal no effects on the behaviour of *E. fetida* in all treatments studied with sewage sludge ($p>0.05$), with a percentage of negative avoidance varying between 40 and 60%, compared to the control group. These results are related to the low levels of heavy metals and to the improvement of the physical-chemical conditions of the soil, resulting in an increase attractiveness of the biological model used. Other studies, with other soils, bioindicators type and methodologies, with longer exposure time, will be necessary to validate the observed aptness.

Keywords: sewage sludge, *Eisenia fetida*, avoidance, pollution, soil.

Introdução

As lamas de depuração, devido às suas características físico-químicas, com elevados teores de matéria orgânica, macro- e micronutrientes (Boundjabi & Chenchouni, 2021), apresentam um elevado valor fertilizante, representando uma alternativa de baixo custo na melhoria dos aspectos da fertilidade do solo, contribuindo para uma economia circular e maior sustentabilidade dos recursos naturais.

Apesar da valorização agrícola ser uma perspetiva desejável, mesmo quando as respetivas características o permitam, a aplicação destes materiais ao solo não está isenta de riscos devido à presença de contaminantes variados (Lamastra et al., 2018). Como forma de prevenir potenciais efeitos negativos sobre a qualidade do solo, um conjunto alargado de legislação, relativo a leis, normas e códigos de boas práticas, define valores limite de aplicação, de acordo com critérios químicos relacionados com os teores de metais pesados (Decreto-Lei nº 276/2009) e/ou de nitratos e fósforo nestes materiais, negligenciando potenciais efeitos ecotoxicológicos de outro tipo de contaminantes existentes.

A utilização de testes que incluem o comportamento de um determinado modelo biológico, como a espécie *Eisenia fetida*, constituem metodologias sensíveis, simples e de fácil execução que, quando usadas como complemento de outro tipo de análises, ajudam a uma melhor compreensão do risco que a aplicação deste tipo de resíduos apresenta ao nível da qualidade e saúde do solo, facto que constitui o objetivo do presente trabalho.

Material e métodos

Na realização do trabalho foram aplicadas as normas para o estudo de substâncias químicas (ISO, 2008), com alterações ao nível da matriz edáfica usada para este tipo de ensaio. Ao contrário do solo artificial proposto, baseado numa mistura de turfa, caulino e areia, foi usado um solo natural, sujeito a pousio, testado como alternativa em trabalhos similares

(Sousa & Roboredo, 2021). Para efeitos de preparação da matriz para o ensaio de evitamento, o solo foi seco em condições naturais e crivado a 4 mm. Uma toma composta foi, posteriormente, colhida de forma aleatória e crivada a 2 mm para caracterização físico-química inicial, sendo alguns parâmetros apresentados no quadro 1.

Quadro 1 – Características físico-químicas do solo e das lamas de depuração em estudo.

Parâmetro	Solo	Lama
pH H ₂ O	5,0	7,9 *
CE (dS/m)	-	1,15 *
H ₂ O (g/kg)	-	800,1 *
Mat. Org. (g/kg)	10,0	745,0 **
N total (g/kg)	-	55,7 **
P total (g/kg)	17,5	21,4 **
CTC _{efetiva} (cmolc/kg)	1,82	-
Cu (mg/kg)	0,21	181,1 **
Zn (mg/kg)	0,30	651,6 **
Fe (mg/kg)	108,5	38112 **
Mn (mg/kg)	18,0	225 **
Ni (mg/kg)	-	20,7 **
Cd (mg/kg)	-	0,71 **
Pb (mg/kg)	-	104,5 **
Cr (mg/kg)	-	54,3 **
Hg (µg/kg)	-	2,48 **
Areia (g/kg)	860,0	-
Limo (g/kg)	63,0	-
Argila (g/kg)	77,0	-
Classe de textura	arenofranco	-

* valores referentes ao material original

** valores referentes à matéria seca do material

O valor inicial de pH (KCl 1M) do solo foi corrigido para valores de 6,0±0,5, por adição de CaCO₃ (pa). A capacidade máxima de retenção de água (CMRA) foi determinada e o teor de humidade ajustado para valores de 40% da CMRA, antes da sua utilização. Os teores de humidade e pH em KCl 1M do solo foram determinados no início e final do ensaio.

As lamas de depuração, recolhidas na estação de tratamento da empresa Águas do Norte (AdN), localizada em Vila Real, foram sujeitas a um tratamento secundário, seguido de uma estabilização por digestão anaeróbia e desidratação. Uma toma composta foi amostrada após a fase de desidratação para efeitos de estudo e caracterização físico-química, sendo os resultados apresentados no quadro 1.

Para o desenvolvimento do estudo de comportamento-fuga foram seguidas e aplicadas as normas ISO 17512-1, para minhocas da espécie *E. fetida* (ISO, 2008). Um total de 300 indivíduos adultos, com

clitelo desenvolvido e massa entre os 300 a 600 mg, foram selecionados e colocados em condições controladas de temperatura ($20\pm2^{\circ}\text{C}$), fotoperíodo (16-h de luz e 8-h de escuro), intensidade de luz, arejamento e umidade, durante 24 a 48 horas, antes do início do ensaio, para efeitos de aclimatação.

Para o ensaio de comportamento-fuga com *E. fetida* (figura 1), foram estudados sete tratamentos de lamas de depuração, equivalentes às doses de 0, 2, 5, 10, 15, 30 e 60 toneladas de material fresco por hectare (t/ha), tendo-se como referência a quantidade máxima de N (170 kg/ha), correspondente à dose de 15 t/ha.

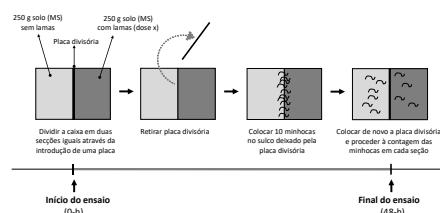


Fig. 1 – Ensaio de evitamento com *E. fetida* para os diferentes tratamentos estudados, com e sem lamas de depuração tratadas.

Para cada tratamento foram consideradas três repetições, num total de 21 recipientes-teste de PVC ($24 \times 30 \times 5$ cm), perfurados para facilitar trocas gasosas e tapados para retenção da umidade, impedindo a fuga das minhocas. Cada recipiente-teste foi dividido em duas secções iguais, através da introdução de uma placa divisória de PVC e cada secção preenchida com iguais quantidades de solo teste (250 g) (peso seco, ps), com lama de depuração equivalente à dose estudada, e o controlo, sem lama de depuração. Após preenchimento, a placa divisória foi removida e 10 minhocas, previamente selecionadas, peso médio de 450 mg, e lavadas, foram colocadas na linha divisória entre secções e deixadas em contato durante um período de 48-h, em condições laboratoriais idênticas à fase de aclimatação. No final do período de exposição, a placa divisória foi colocada na zona central do recipiente-teste e realizada a contagem dos indivíduos em cada seção comparada, solo-teste e solo-controlo. Minhocas localizadas na interface das

seções foram consideradas como 0,5 indivíduos. Após contagem do número de organismos em cada secção, com e sem lama de depuração, foi determinada a percentagem de fuga ($\%Fg$) de acordo com a equação 1:

$$Fg (\%) = [(n_c - n_t)/N] * 100 \quad (\text{Eq.1})$$

em que n_c , n_t e N são referentes ao número de minhocas no solo-controlo, solo-teste e número total de minhocas por recipiente-teste, respectivamente. Valores positivos (+) indicam evitamento enquanto valores negativos (-) uma não resposta ou atração à presença de lamas (ISO, 2008). Os dados obtidos foram sujeitos a uma análise de normalidade e homogeneidade, pelos testes de Shapiro-Wilk e Barlett, respectivamente. Posteriormente, os dados foram sujeitos a uma ANOVA a um fator, seguida do teste de Tukey para um grau de probabilidade de $p \leq 0,05$.

Resultados e discussão

Após 48 h de exposição, não foi observada mortalidade das minhocas (<10%) nos diferentes tratamentos estudados cumprindo-se, assim, um dos critérios de validação da metodologia experimentada (ISO, 2008). Acrescenta-se que, no teste dual do grupo controlo, as minhocas não revelaram preferência significativa ($p > 0,05$) entre as seções comparadas, apresentando uma distribuição média de 50%, respeitando o intervalo de valores normativos (40 a 60%), para este tipo de tratamento (figura 2).

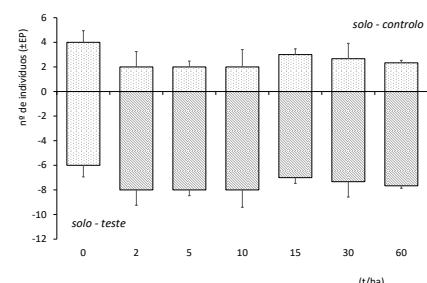


Fig. 2 – Ensaio de fuga: distribuição dos indivíduos (média ± EP), pelas secções com solo teste e controlo, em cada recipiente-teste, para as doses de lamas estudadas.

Estes resultados refletem as condições de habitabilidade favoráveis do solo usado

neste estudo corroborando, uma vez mais, as observações descritas por Sousa & Roboredo (2021). Em relação ao efeito da aplicação de lamas, os resultados do teste de comportamento evidenciam uma não resposta em todos os tratamentos com lamas (solo-teste), com estes a registar um maior número de indivíduos em relação ao controlo (solo-teste) (figura 2). Estes resultados traduziram-se numa percentagem de fuga negativa para todos os tratamentos com lamas, com os valores a variar entre os -60 a -40%, sem diferenças significativas entre si ($p>0,05$) (dados não revelados). Moreira et al. (2008), em estudos similares, avaliando a função habitat do solo, em resultado da aplicação de vários resíduos orgânicos, incluindo lamas digeridas, também observaram uma ausência de resposta no solo-teste, com as minhocas a revelarem maior preferência pelos solos fertilizados. Esta maior atratividade das minhocas está relacionada com as condições decorrentes da aplicação de matéria orgânica ao solo, mais favoráveis para o respetivo desenvolvimento. O aumento da concentração de nutrientes, como P e Ca (Edwards & Bohlen, 1996), ou do pH, que no presente trabalho revelou aumentos significativos ($p<0,05$) em relação ao solo-controlo, para a maioria dos tratamentos estudados. Pelo contrário, a condutividade elétrica (CE) não sofreu variação significativa (figura 3).

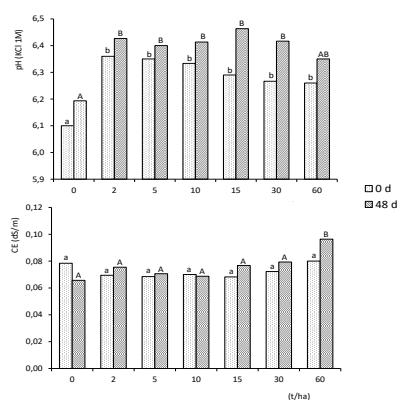


Fig. 3 – Valores de pH (KCl 1M) e CE (dS/m) para os tratamentos estudados. (barras, relativas ao tempo 0d e 48d, seguidas da mesma letra minúscula e maiúscula, respectivamente, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Dunnett, para 5% de probabilidade).

O caráter alcalinizante da lama poderá ainda apresentar um efeito mitigante na

toxicidade potencial dos metais pesados veiculados, devido à potencial redução da respetiva solubilidade (Sukreeyapongse et al., 2002), mesmo apesar dos teores de metais pesados (quadro 1), inferiores aos valores impostos legalmente (Decreto-Lei nº 276/2009), não ultrapassando as quantidades anuais. Estas condições terão também contribuído para a ausência de efeitos de toxicidade na *E. fetida*, mesmo nas doses mais elevadas (figura 2).

Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que, para o tipo de lamas e solo estudados, a respetiva aplicação, nas doses testadas, não provocou efeitos negativos na *E. fetida*. Importa reforçar que estes estudos terão de ser mais alargados, incluindo outras matrizes edáficas, bioindicadores e ensaios de reprodução, com maior tempo de exposição, de modo a melhor avaliar o efeito da aplicação de resíduos orgânicos na qualidade e saúde do solo.

Financiamento: Este trabalho foi financiado no âmbito do projeto SoilRec4+Health - Soil recover for a healthy food and quality of life (NORTE-01-0145-FEDER-000023).

Agradecimento: João Ricardo Sousa, agradece a colaboração do CITAB/UTAD, no âmbito do projeto SoilRec4+Health - Soil recover for a healthy food and quality of life.

Referências bibliográficas

- Boundjabi, S., Chencouni, H. 2021. On the sustainability of land applications of sewage sludge: how to apply the sewage in order to improve soil fertility and increase crop yield? *Chemosphere*, 282: 1-12.

Decreto-Lei nº 276/2009, sobre a aplicação de lamas de depuração no solo. Ministério do Ambiente do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Diário da República, 1ª série – 192-2 de outubro de 2009.

Edwards, C.A., Bohlen, P.J. 1996. Biology and Ecology of Earthworms. 3rd ed. London, Chapman & Hall. 426 p.

ISO. Soil quality 2008. Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour-Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). ISO 17512-1. International Organization for Standardization, Genéve.

Lamastra, L., Nicoleta, A.S., Trevisan, M. 2018. Sewage sludge for sustainable agriculture: contaminants contents and potential use as fertilizer. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 5: 10-16.

Moreira, R., Sousa, S.P., Canhoto, C. 2008. Biological testing of digested sewage sludge and derived composts. *Biores. Technol.*, 99: 8382-8389.

Sousa, J.R., Roboredo, M. 2021. Avaliação da qualidade do solo de uma exploração minera, com base num teste de evitamento com *Eisenia fetida*. Encontro Nacional da Sociedade Portuguesa de Ciência do Solo, Portalegre, Portugal.

Sukreeyapongse, O., Holm, Perter E., Stroble, B.W., Supamard, P., Magid, J., Hansen, H.C.B.H. 2002. pH-dependent release of cadmium, copper, and lead from natural and sludge amended soil. *J. Environ. Qual.*, 31: 1901-1909.

Análise preliminar da comunidade bacteriana em diferentes fases do processo de compostagem de bagaço de azeitona

Preliminary analysis of the bacterial community in different phases of the olive pomace composting process

Royer, Ana Caroline^{*1,2}, Nancassa, Inês¹, Cameirão, Cristina¹, Figueiredo, Tomás de¹, Figueiredo, Daniel³, Hernández, Zulimar³, Baptista, Paula¹.

¹ Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

² Universidade da Coruña, Grupo AQUATERRA, Centro de Investigacións Científicas Avanzadas (CICA), Rúa As Carballeiras, 15071, A Coruña, España

³ Ambiente de Montanha e Gestão de Ecossistemas, MORE CoLab - Laboratorio Colaborativo Montanhas de Investigação, Edifício Brigantia Ecopark, Av. Cidade de Léon 506, 5300-358 Bragança, Portugal

*ana.royer@udc.es

Resumo

O bagaço de azeitona (BA) é um subproduto húmido gerado na produção de azeite, com alta carga orgânica, e elevada toxicidade devido à sua composição em polifenóis. A sua produção pode, assim, constituir um problema ambiental para os países produtores de azeite, como Portugal. A compostagem poderá ser uma forma de valorizar este subproduto, sendo os microrganismos os principais agentes deste processo de degradação aeróbica. O objetivo do presente estudo foi estudar a evolução da comunidade bacteriana ao longo do processo de compostagem de BA e isolas e identificar bactérias com a finalidade de explorá-las no futuro como inóculos de compostagem. A compostagem foi realizada em quatro pilhas de escala industrial com diferentes proporções de BA, fonte de azoto, agente estruturante e reviramentos. Amostras compósitas foram coletadas nas pilhas em três momentos: fase inicial, fase mesófila e fase termófila. Os isolados bacterianos, obtidos através de diluições seriadas, foram identificados por sequenciação da região 16S do rRNA. Os resultados de composição e diversidade, mostraram diferenças significativas entre as fases de compostagem e entre pilhas, sugerindo uma mudança contínua de espécies bacterianas ao longo das diferentes fases do processo de compostagem do BA.

Palavras-chave: Diversidade, composição, bactérias, bagaço húmido de azeitona.

Abstract

Olive pomace (OP) is a wet by-product generated in olive oil production, with a high organic load, and high toxicity due to its polyphenol composition. Its production can therefore be an environmental problem for olive oil-producing countries, such as Portugal. Composting may be a way to valorise this by-product, and the microorganisms are the main agents of this aerobic degradation process. The aim of the present study was to study the evolution of the bacterial community along the OP composting process and to isolate and identify bacteria with the purpose of exploring them in the future as composting inoculums. Composting was carried out in four industrial-scale piles with different proportions of OP, nitrogen source, structuring agent, and turnings. Compost samples were collected from the piles at three-time points: initial phase, mesophilic phase, and thermophilic phase. The bacterial isolates, obtained through serial dilutions, were identified by sequencing the 16S rRNA region. The results of composition and diversity, showed significant differences among the composting phases and among piles, suggesting a continuous change of bacterial species throughout the different phases of the OP composting process.

Keywords: diversity, composition, bacteria, wet olive pomace.

Introdução

O bagaço de azeitona (BA) oriundo do processo de extração de azeite por centrifugação contínua em duas fases é um subproduto de difícil degradação. A elevada humidade e fitotoxicidade do BA limitam a sua utilização, sendo necessário encontrar formas alternativas para a sua valorização. Portugal representa 5% da produção de azeite da União Europeia, produzindo cerca de 100 mil toneladas de azeite e 547 mil toneladas de BA anualmente (Hernández et al., 2021, GPP, 2020).

O processo de compostagem de BA poderá ser uma alternativa de valorização, tendo em vista a obtenção de compostos que podem ser reintroduzidos no ciclo de nutrientes, contribuindo para a economia circular. Os microrganismos são os grandes agentes que promovem a degradação aeróbica dos resíduos, e podem diferenciar-se de acordo com as condições térmicas da pilha de compostagem (Panaliveloo et al., 2020), comumente divididas em fase mesófila ou de ativação, fase termófila e fase de maturação ou arrefecimento. Os grupos mais abundantes de microrganismos nos processos de compostagem compreendem bactérias e fungos, e sabe-se que a atividade da população bacteriana é mais intensiva durante as fases mesófila e termófila devido ao rápido metabolismo das bactérias e a sua rápida adaptação às mudanças e condições do substrato durante a compostagem, enquanto as populações fúngicas atuam especialmente quando ocorre a humificação, durante a fase de maturação (Tortosa et al., 2020).

Tanto quanto se sabe, existem poucos estudos que tenham avaliado a comunidade microbiana durante o processo de compostagem de bagaço de azeitona (Filippi et al., 2002). Face ao exposto o presente trabalho tem por objetivos: (I) estudar a evolução da comunidade bacteriana ao longo do processo de compostagem de BA; (II) Isolar e identificar bactérias com a finalidade de explorá-las no futuro em processos de compostagem de BA.

Material e métodos

Compostagem

A compostagem foi realizada na empresa ACUSHLA S.A. azeites biológicos em pilhas trapezoidais (Fig. 1) com proporções de BA: fonte de azoto: agente estruturante iguais a 4,1:1:8,2 (pilha A), 4,1:1:4,1 (pilha B), 1:2:1 (pilha C) e 4,1:1:8,2 (pilha D). As pilhas foram reviradas manualmente, com exceção da pilha D, que permaneceu estática ao longo do processo. Foram recolhidas 5 amostras compósitas de cada pilha em três fases distintas da compostagem: T0, correspondente ao tempo inicial; T1, correspondente a fase mesófila, de ativação; e T2, fase termófila, com exceção da pilha C, onde a amostragem do T1 não foi possível.



Fig. 1 – Pilhas de compostagem de BA, em escala industrial.

Isolamento de bactérias

Para o isolamento de bactérias utilizou-se o método da diluição seriada, utilizando uma solução tampão fosfato salino (PBS). Diluições de 10^{-5} e 10^{-6} foram utilizadas para inocular placas de petri contendo meio de cultura PCA (*Plate Count Agar*), em duplicata. As placas foram incubadas no escuro, a 25 °C (T0), 30°C (T1) e 45°C (T2), para mimetizar as condições térmicas de cada uma das fases de compostagem, durante 48h. Ao fim deste tempo procedeu-se à contagem do número de colónias de cada morfotipo, e à obtenção de culturas puras.

Identificação das bactérias

A identificação das bactérias obtidas foi feita pela sequenciação de uma porção do gene 16S do rRNA. Para tal, procedeu-se à extração de DNA dos isolados bacterianos utilizando o kit REDExtract-N-AmpTM Plant PCR (Sigma-Aldrich), seguindo as instruções do fornecedor. A amplificação do DNA foi realizada utilizando o mesmo Kit, no termociclador MyCycler da BioRad, com 20 µl de mistura final, que

possuía a Taq polimerase (1,25 U), os primers 27F (0,2 μ M) e 534R (0,2 μ M), dNTP's (200 μ M), tampão contendo MgCl₂ (2,5 mM), água ultrapura estéril e 2 μ L de DNA bacteriano. Os produtos amplificados foram purificados e sequenciados usando os serviços da Macrogen Inc. (Madrid, Espanha). As sequências de DNA obtidas foram analisadas utilizando o software informático BioEdit. Recorrendo ao servidor NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) e utilizando o algoritmo BLAST, foi analisada a homologia das sequências obtidas com outras sequências presentes na base de dados GenBank.

Análise estatística

A diversidade da comunidade bacteriana entre as pilhas e fases da compostagem foi avaliada pela riqueza de espécies (nº de espécies) e abundância (nº de isolados). As diferenças entre médias foram determinadas por análise de variância ANOVA e Tukey, no software PAST 4.10. Para avaliar a similaridade da comunidade microbiana entre pilhas e fases de compostagem, procedeu-se à elaboração de uma ordenação não métrica multidimensional (NMMS) utilizando o coeficiente de similaridade de Bray-Curtis. Para detetar as diferenças significativas, aplicou-se o ANOSIM. Estas duas análises foram efetuadas recorrendo ao software *Community Analysis Package v. 5.0*.

Resultados e discussões

Em termos de composição, a ordenação não métrica multidimensional (Fig. 2) e ANOSIM, mostram que a comunidade bacteriana varia significativamente ($p=0,001$) entre as diferentes fases da compostagem (T0, T1 e T2). Por sua vez, as diferenças de composição bacteriana entre pilhas foram significativas ($p<0,05$) apenas na fase inicial T0 (A vs C, A vs D, B vs C e C vs D) e termófila T2 (A vs C, B vs D e C vs D).

As espécies bactérias que mais contribuíram para a diferenciação entre tempos foram *Acetobacter cf. tropicalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus siamensis*, *Bacillus subtilis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Mycoplasma wenyonii*,

Enterococcus saccharolyticus e *Gluconacetobacter cf. aggeris*.

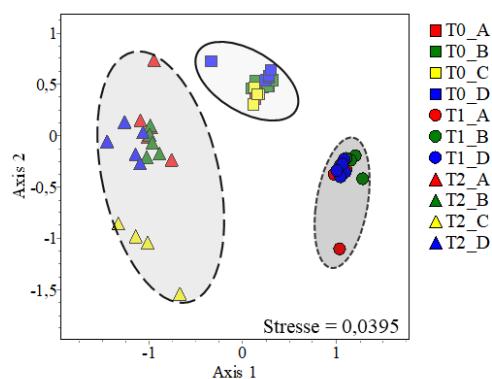


Fig. 2 – Ordenação não métrica multidimensional (NMMS) da comunidade bacteriana agrupada por matriz biológica (i.e., fases da compostagem – T0, T1, T2; e pilha – A, B, C e D), usando o coeficiente de Bray-Curtis.

É importante ressaltar que a espécie *Salmonella enterica* foi detetada somente na fase de ativação (T1), provavelmente devido à presença de estrume de animais (fonte de azoto), mas que desapareceu na fase termófila. Isso demonstra o importante papel da compostagem no processo de sanitização do composto, eliminando os organismos patogénicos (Palaniveloo et al., 2020).

Na fase termófila T2, observou-se uma abundância das bactérias *Pseudomonas thermotolerans* e dos géneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, que são considerados eficientes na decomposição de matéria orgânica e sua transformação em húmus, e benéficas à melhoria das propriedades do solo aquando da aplicação do composto (Pant et al., 2012).

Em termos de diversidade, verificaram-se diferenças significativas ($p<0,05$) entre fases de compostagem. Quer a riqueza (Fig. 3) como a abundância (Fig. 4) de espécies bacterianas foi significativamente superior durante a fase de ativação (mesófila), quando comparado com a fase inicial (T0) ou mesmo a fase termófila, onde se registou o valor mais baixo. A comparação entre pilhas mostra diferenças significativas ($p<0,05$) ao nível da riqueza e da abundância de espécies no tempo inicial, com a pilha C revelando valores maiores e a pilha D valores menores. De

igual modo, durante a fase termófila (T2), observaram-se diferenças significativas na riqueza de espécies entre as pilhas C e D, apresentando a pilha D um valor superior, também observado na abundância.

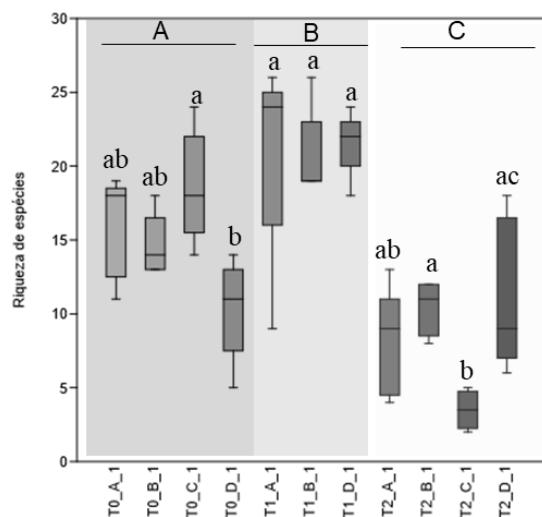


Fig. 3 – Gráfico Boxplot da riqueza de espécies para as diferentes pilhas (A, B, C e D) e fases da compostagem (T0, T1, T2). As barras com letras diferentes são estatisticamente diferentes, $p<0,05$, entre tempos (maíscula) e entre pilhas (minúscula).

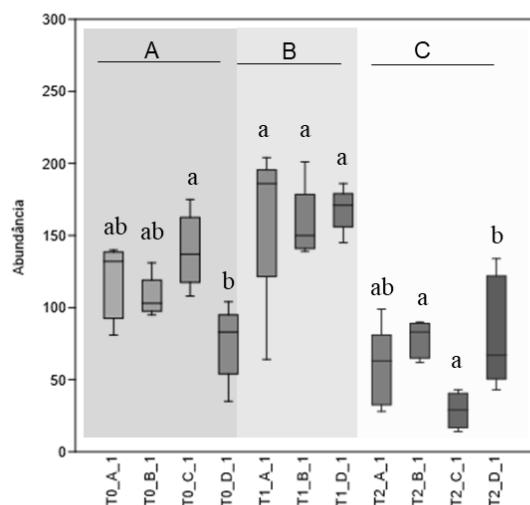


Fig. 4 – Gráfico Boxplot da abundância para as diferentes pilhas (A, B, C e D) e fases da compostagem (T0, T1, T2). As barras com letras diferentes são estatisticamente diferentes, $p<0,05$, entre tempos (maíscula) e entre pilhas (minúscula).

Conclusões

Os resultados observados neste estudo evidenciam que a comunidade bacteriana evolui de forma diferente ao longo das diferentes fases do processo de compostagem do bagaço de azeitona. Esta

variação da comunidade parece ter importância na transformação dos resíduos orgânicos em compostos livres de microrganismos patogénicos e de fitotoxicidade. Foram igualmente detetadas diferenças na composição bacteriana entre as quatro pilhas estudadas. Esforços futuros serão direcionados à exploração do potencial uso de microrganismos como bioproductos, acelerando o processo de compostagem e melhorando as características do composto final.

Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte do projeto “BIOMA - Soluções integradas de Bioeconomia para a Mobilização cadeia Agroalimentar” (POCI-01-0247-FEDER-046112).

Referências bibliográficas

- Filippi, C., Bedini, S., Levi-Minzi, R., Cardelli, R. & Saviozzi, A. (2002). Cocomposting of Olive Oil Mill By-Products: Chemical and Microbiological Evaluations. *Compost Science & Utilization*, 10 (1), 63-71.
- Hernández, Z., Figueiredo, D., Royer, A. C., Madeira, F., Figueiredo, T. d. (2021). Otimização do processo industrial de compostagem de bagaço de azeitona no nordeste de Portugal. 9º Simpósio Nacional de Olivicultura INIAV, Oeiras, Portugal, 8 p. (aceite).
- GPP, Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração geral. (2020). Análise Setorial AZEITE. Disponível em: https://www.gpp.pt/images/PEPAC/Anexo_NDIC_E_ANLISE_SETORIAL__AZEITE.pdf
- Palaniveloo K, Amran MA, Norhashim NA, Mohamad-Fauzi N, Peng-Hui F, Hui-Wen L, Kai-Lin Y, Jiale L, Chian-Yee MG, Jing-Yi L, Gunasekaran B, Razak SA. Food Waste Composting and Microbial Community Structure Profiling. Processes. 2020; 8(6):723. <https://doi.org/10.3390/pr8060723>
- Pant, A.P.; Radovich, T.J.K.; Hue, N.V.; Paull, R.E. (2012) Biochemical properties of compost tea associated with compost quality and effects on pak choi growth. *Sci. Hortic.*, 148, 138–146.
- Tortosa, Tortosa, G., Torralbo, F., Márquez, P. M., Aranda, E., Calvo, C., Murua, C. G., & Bedmar, E. J. (2020). Assessment of the diversity and abundance of the total and active fungal population and its correlation with humification during two-phase olive mill waste (“alperujo”) composting. *Bioresource Technology*, 295.

Los suelos de viñedos manejados con cubiertas espontáneas mejoran su capacidad de secuestro de carbono

Soils of vineyards managed with spontaneous grass cover improve their ability to store organic carbon

López-Romano, Hugo¹, Marqués-Pérez, María José¹, Jiménez-González, Marco Antonio¹, Carral-González, Pilar¹, Álvarez-González, Ana María¹, Sastre, Blanca^{2*}, García-Díez, Andrés², Muñoz-Organero, Gregorio²

¹ Departamento de Geología y Geoquímica. Universidad Autónoma de Madrid. C/ Francisco Tomás y Valiente, 7. 28049 Madrid, Spain.

² Departamento de Investigación Aplicada y Extensión Agraria. IMIDRA, Finca El Encín, Carretera A-2, km 38.2, Alcalá de Henares, 28800 Madrid, Spain

* blanca.esther.sastre@madrid.org

Resumen

La situación de pobreza endémica de carbono orgánico de los cultivos leñosos españoles es bien conocida. El laboreo excesivo mineraliza la materia orgánica y degrada los suelos agrícolas. El manejo mediante cubiertas vegetales puede sustituir al laboreo para aumentar el carbono orgánico del suelo, mejorar sus características y ser un sumidero más eficaz. Se presentan resultados de carbono orgánico oxidable y disuelto (COD) en un viñedo del centro España tras 10 años de manejo con laboreo y con cubiertas vegetales espontáneas segadas en calles alternas. Se estudian 3 capas del suelo, hasta 50cm de profundidad. Los cambios son evidentes en superficie, hasta unos 20cm, donde la materia orgánica aumenta desde 1.8 con laboreo hasta 2.5 % con cubiertas, también aumenta el COD, de 8.9 a 10.5 mg/L. No se han detectado diferencias significativas en las capas más profundas (35 y 50cm), pero se ha observado una tendencia clara a que el COD aumente en relación al contenido de carbono orgánico a 50cm. El desplazamiento del COD hacia horizontes más profundos se interpreta como una nueva ventaja de las cubiertas para mejorar la capacidad de secuestro de carbono a más largo plazo de estos suelos agrícolas.

Palabras clave: secuestro de carbono, carbono orgánico disuelto, cambio climático, viñedo, calcisol.

Abstract

The endemic scarcity of organic carbon in soils of Spanish woody crops is well known. Excessive tillage mineralizes organic matter and degrades agricultural soils. Soil management through grass covers can replace tillage and increase the soil organic carbon, leading to improvements of soil condition and acting as a more efficient carbon sink. Organic and dissolved carbon (DOC) results are presented in this work, in a vineyard located in the center of Spain; soils have been managed with alternate strips of tilled, and mowed spontaneous grass covers for the last 10 years. The study includes data from 3 soil layers, up to 50cm deep. Changes are evident in the upper layer, by 20cm, where organic matter increases from 1.8 in tilled soils to 2.5% in grassed soils; DOC also increases, from 8.9 to 10.5 mg/L. No significant differences have been detected in the deepest layers (by 35 and 50cm), however, a clear tendency has been observed for DOC to increase in relation to the organic carbon content at 50cm. The movement of DOC to deeper horizons is seen as a new advantage of the grass covers to improve the capacity of carbon sequestration in the long term of these agricultural soils.

Keywords: carbon sequestration, dissolved organic carbon, climate change, vineyard, calcisol.

Introducción

La gran variabilidad de suelos existente implica una diferente capacidad y aptitud para suministrar bienes y servicios. Por ello, los estudios a escala local son imprescindibles para contrastar la información existente a escala global, cada vez más abundante. En los últimos años se ha elaborado un mapa de contenido de carbono en el suelo (FAO & ITPS, 2018), uno de cuyos objetivos es que sirva de punto de partida para conocer la evolución del contenido de carbono en el suelo a lo largo del tiempo. Este aspecto, la capacidad de secuestro de carbono del suelo, se ha considerado clave por múltiples razones, pero fundamentalmente por la cascada de beneficios físicos, químicos y bióticos que aporta al suelo (Blavet et al., 2009; Thiele-Bruhn et al., 2012; Van der Wal & de Boer, 2017), y por su contribución colateral en la lucha contra el cambio climático (Emmett et al., 2004; Rumpel et al., 2020). El manejo de los suelos agrícolas influye de forma determinante en su capacidad de almacenamiento de carbono. Los cultivos leñosos, como los viñedos, manejados tradicionalmente con frecuentes laboreos han conducido a un agotamiento del carbono orgánico del suelo, habiéndose publicado cifras de carbono entre 0,7 y 1% para los primeros 30 cm de suelo en el centro peninsular (Calvo de Anta et al., 2020). Este equipo investigador lleva varias décadas estudiando suelos agrícolas y ha ensayado diferentes cubiertas vegetales y caracterizado los efectos en el suelo. Por la dificultad que entraña el muestreo más allá del horizonte Ap, la mayoría de los trabajos se han referido a los primeros 20 o 30 cm de suelo, por otra parte, recomendados por la FAO (2020). No obstante, es importante saber hasta qué punto el manejo del suelo puede ayudar a que el carbono orgánico se almacene a más profundidad y, por tanto, a más largo plazo. El carbono orgánico se estudia mayoritariamente como contenido de carbono orgánico oxidable, pero son pocos los estudios que incluyen el carbono orgánico disuelto (COD). Se parte de la hipótesis de que una mayor proporción de COD favorecerá su lavado hacia horizontes

más profundos del suelo y facilitará su almacenamiento a más largo plazo (Kaiser & Kalbitz, 2012). Este trabajo ha analizado tanto el carbono orgánico oxidable como el COD en dos manejos de un viñedo en el centro de la península ibérica. Se pretende conocer si las cubiertas vegetales favorecen que haya más carbono orgánico, total y disuelto estudiando muestras hasta 50 cm de profundidad, más allá del horizonte de laboreo.

Material y métodos

El viñedo de estudio se encuentra en la finca experimental El Encín, perteneciente al IMIDRA ($40^{\circ}31' 34.0''$ N, $3^{\circ}17' 21.5''$ W). El clima es semiárido, con una temperatura media anual de 13°C y una precipitación acumulada de 450 mm. El suelo es un Calcisol (FAO, WRB) algunas de cuyas características se observan en la Tabla 1.

Tabla 1 – Perfil edáfico en la zona de estudio (INIA, 1977)

Prof. cm	Ar. (%)	L. (%)	Arc. (%)	Caliza (%)	pH (agua)	MO (%)
0-18	49	38	14	10	8,1	1,1
18-38	49	37	15	8	8,2	1,5
38-67	48	32	21	18	7,9	0,7

El viñedo está dividido en tres bloques, con calles alternas de laboreo y cubierta vegetal espontánea segada. Se tomaron 6 muestras aleatoriamente en cada uno de los bloques, 3 en suelos con cubiertas y 3 en suelos labrados. En total se analizaron 3 bloques x 3 réplicas x 2 manejos x 3 profundidades, es decir 54 muestras.

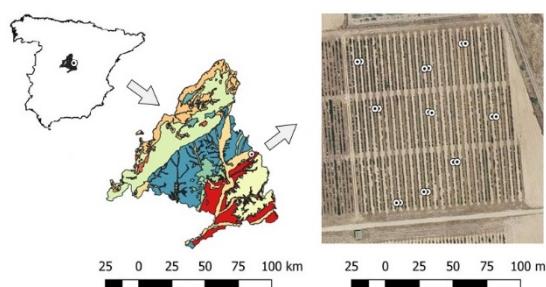


Fig. 1 – Localización del viñedo y puntos de muestreo. Alcalá de Henares, Comunidad de Madrid, España.

El COD se midió siguiendo el método propuesto por Jones & Willet (2005), que implica extracción acuosa con agitación, centrifugación y filtrado ($< 0.45\mu\text{m}$). El análisis se realizó con el equipo Multi N/C Analytik Jena Analyzer. El carbono oxidable se obtuvo por oxidación húmeda siguiendo el método de Walkley-Black (1934). Todos los análisis fueron realizados por duplicado.

Las diferencias entre profundidades o entre manejos se han establecido estadísticamente mediante test Kruskal-Wallis (1952), empleándose el programa Statistica StatSoft Inc. 8.0.

Resultados y discusión

El contenido de carbono orgánico es mayor en la superficie de los suelos manejados con cubiertas vegetales y desciende significativamente con la profundidad en ambos manejos, como era esperable. La Fig. 2 muestra una diferencia entre los suelos labrados, que tienen una mediana de 0,92 % de materia orgánica, frente a 1,27 % en la superficie de los suelos con cubiertas (Kruskal-Wallis test: $H (1, N=18) = 5,9$; $p = 0,015$). Las capas más profundas, a 35 y 50 cm de profundidad tienen valores estadísticamente similares de materia orgánica, en torno a 0,6 % y 0,4 % respectivamente.

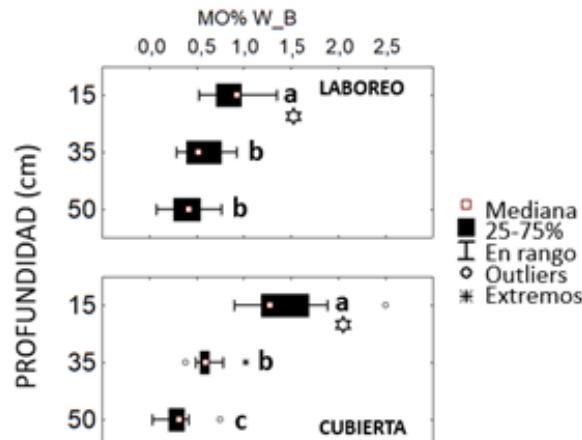


Fig. 2 – Materia orgánica oxidable (MO%, método Walkley-Black) a diferentes profundidades y manejos ($n=9$). Diferentes letras indican diferencias en profundidad. Los casos con el símbolo * indican diferencias entre manejos ($p<0,01$).

Análogamente el COD disminuye en profundidad (Fig. 3), habiéndose encontrado diferencias apreciables entre laboreo (8,9 mg/L) y cubierta (10,5 mg/L) en superficie (Kruskal-Wallis test: $H (1, N=18) = 3,60$; $p = 0,057$), a mayor profundidad no parece haber diferencias de COD.

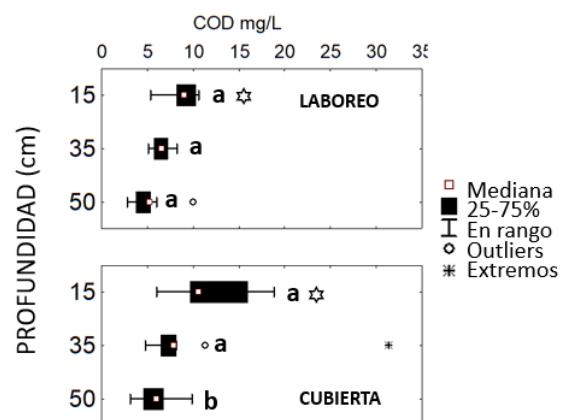


Fig. 3 – Carbono Orgánico Disuelto (COD) a diferentes profundidades y manejos ($n=9$). Diferentes letras indican diferencias en profundidad. Los casos con el símbolo * indican diferencias entre manejos ($p=0,06$).

En esta dinámica de disminución de carbono orgánico en profundidad, es interesante conocer la proporción de COD en relación al carbono orgánico oxidable (CO_WB). El resultado es que esta relación COD/CO_WB tiene tendencia a aumentar en profundidad (Kruskal-Wallis test: $H (1, N=18) = 1,87$; $p = 0,17$) en el manejo de cubiertas (Fig. 4).

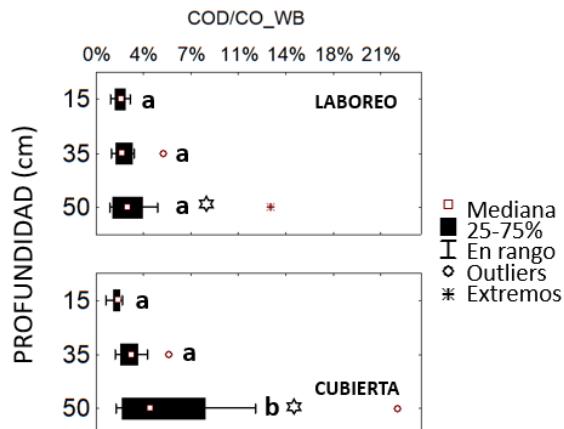


Fig. 4 – Porcentaje de Carbono orgánico Disuelto (COD) con relación al carbono orgánico oxidable (CO_WB) en diferentes profundidades y manejos ($n=9$). Diferentes letras indican diferencias en profundidad. Los casos con el símbolo * indican diferencias entre manejos ($p=0,17$).

Referencias bibliográficas

Conclusiones

Tras 10 años de manejo del suelo de este viñedo con cubiertas vegetales espontáneas segadas, se ha podido demostrar un aumento significativo del contenido de carbono orgánico oxidable. La materia orgánica llega a un 1,5% de media en el horizonte superficial, mientras que el laboreo ha mantenido valores similares a los publicados en los años 70 en estos suelos. También se ha demostrado un aumento en el carbono orgánico disuelto en el horizonte superficial manejado con cubiertas. Un cambio en la importancia relativa del COD con relación al carbono orgánico total se interpreta como un transporte de carbono en disolución hacia la profundidad del perfil del suelo. Diez años son un plazo muy corto para observar este tipo de cambios en horizontes profundos, pero los resultados parecen apuntar a que en los suelos con cubiertas, esta relación parece aumentar a 50 cm de profundidad. Esto podría permitir un almacenamiento más a largo plazo de carbono, que en los horizontes más profundos podría estabilizarse. Los suelos con cubiertas serían pues más eficaces en su función de sumidero o secuestro de carbono.

Agradecimientos

Al proyecto ACCION, en el marco del Programa de Desarrollo Rural de Madrid, en cooperación con fondos FEADER y Ministerio de Agricultura.

- Blavet, D., De Noni, G., Le Bissonnais, Y., Leonard, M., Maillo, L., Laurent, J.Y., Asseline, J., Leprun, J.C., Arshad, M.A., Roose, E (2009). Effect of land use and management on the early stages of soil water erosion in French Mediterranean vineyards. *Soil Till. Res.* 106, 124–136.
- Calvo de Anta, R., Luís, E., Febrero-Bande, M., Galiñanes, J., Macías, F., Ortiz, R., & Casás, F. (2020). Soil organic carbon in peninsular Spain: Influence of environmental factors and spatial distribution. *Geoderma*, 370, 114365. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114365>
- Emmett, B. A., Beier, C., Estiarte, M., Tietema, A., Kristensen, H. L., Williams, D., et al. (2004). The response of soil processes to climate change: Results from manipulation studies of shrublands across an environmental gradient. *Ecosystems* 7, 625–637.
- FAO & ITSPS (2018). Global Soil Organic Carbon Map (GSOCmap). Technical Report. Rome. 162 pp.
- FAO (2020). A protocol for measurement, monitoring, reporting and verification of soil organic carbon in agricultural landscapes – GSOC-MRV Protocol. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb0509en>
- INIA (1977). El Encín, suelo y clima. Departamento de Ecología. CRIDA 6. ISSN: 0210-3354
- Jones, D. & Willett, V. (2005). Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 38. 991-999. 10.1016/j.soilbio.2005.08.012.
- Kaiser, K. & Kalbitz, K. (2012). Cycling downwards-dissolved organic matter sin soils. *Soil Biology and Biochemistry* 52: 29-32.
- Rumpel, C., Amirsalani, F., Chenu, C. et al. (2020). The 4p1000 initiative: Opportunities, limitations and challenges for implementing soil organic carbon sequestration as a sustainable development strategy. *Ambio* 49, 350–360.
- Thiele-Bruhn, S., Bloem, J., de Vries, F.T., Kalbitz, K., Wagg, C. (2012). Linking soil biodiversity and agricultural soil management. *Environmental Sustainability* 4:523-528.
- Van der Wal, A. & De Boer, W. (2017). Dinner in the dark: Illuminating drivers of soil organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 105: 45-48.
- Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1), 29-38

Efeitos no solo da aplicação de compostado num olival superintensivo: resíduos orgânicos e carbono oxidável pelo permanganato

Effects on soil of the application of compost in a super-intensive olive grove: organic residues and permanganate oxidizable carbon

Alexandre, C.^{1,3*}, Bajouco, R.^{1,3}, Leal, J.S.¹, Saragoça, J.^{2,3}, Dias, A.B.^{2,3} e Peça, J.O.^{2,3}

¹ Dept. de Geociências, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal

² Dept. de Engenharia Rural, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal

³ MED - Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, apartado 94, 7006-554 Évora, Portugal

*e-mail do autor de contacto: cal@uevora.pt

Resumo

A aplicação ao solo de subprodutos orgânicos compostados é uma medida paradigmática da Economia Circular. Apresentam-se resultados de 2 anos de um ensaio de aplicação de um compostado num olival superintensivo (var. "Cobrançosa"), em Monforte, Portalegre, com o objectivo de avaliar os efeitos a curto prazo nos resíduos orgânicos e na matéria orgânica do solo. O compostado foi produzido com estrume de ovinos e folhas e raminhos da limpeza das azeitonas. Foram aplicadas as dosagens T0 (0 kg m⁻²), T1 (2,5 kg m⁻²) e T2 (5,0 kg m⁻²) em blocos completos casualizados (3 tratamentos, 3 repetições, total de 9 talhões). Determinou-se a massa seca dos resíduos orgânicos (>1 mm) à superfície do solo e o carbono oxidável pelo permanganato de potássio (POX-C) em amostras de solo compostas das camadas 0-5, 5-15 e 15-30 cm. Dois anos após a aplicação (i) a massa de resíduos orgânicos à superfície do solo diminuiu para 1/3 a 1/2 do valor 5 meses após a aplicação, (ii) o POX-C na camada 0-15 cm é superior ao controlo, em especial no T2, o que indica um aumento da matéria orgânica estável, (iii) os métodos usados permitiram detetar efeitos no solo, a curto prazo, resultantes da aplicação de compostado.

Palavras-chave: matéria orgânica do solo, POX-C, indicadores do solo, olivicultura, Alentejo

Abstract

The application of composted organic by-products to the soil is a paradigmatic practice of the Circular Economy. Results of a 2-year trial of application of compost in a super-intensive olive grove (var. "Cobrançosa"), in Monforte, Portalegre, are presented, aiming to evaluate short-term effects on organic residues and soil organic matter. The compost was produced with sheep manure and leaves and sprigs from cleaning the olives. Application rates T0 (0 kg m⁻²), T1 (2.5 kg m⁻²) and T2 (5,0 kg m⁻²) were tested in complete randomized blocks (3 treatments, 3 replications, total of 9 plots). The dry mass at 65°C of organic residues (>1 mm) on the soil surface and permanganate oxidizable carbon (POX-C) were determined in composite soil samples from layers 0-5, 5-15 and 15-30 cm. Two years after application (i) the mass of organic residues at the soil surface decreased to 1/2 to 1/3 of the value 5 months after application, (ii) POX-C in layer 0-15 cm is still higher than control, especially in T2, which suggests an increase in stable organic matter, (iii) the methods used allowed the detection of short-term effects on soil, resulting from compost application.

Keywords: soil organic matter, POX-C, soil indicators, oliculture, Alentejo

Introdução

A aplicação ao solo de resíduos orgânicos compostados é um exemplo de medida paradigmática da Economia Circular, integrada no Pacto Ecológico Europeu “Green Deal”. Esta técnica permite não só resolver o problema da acumulação de diversos resíduos orgânicos, como pode, também, contribuir para aumentar o teor de matéria orgânica do solo, sequestrando carbono e melhorando diversas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo.

Apesar do seu interesse para resolver e aproveitar o potencial de resíduos gerados pela crescente capacidade produtiva do sector olivícola nacional, a utilização de compostados em olivais é uma prática ainda pouco disseminada.

Apresentam-se resultados de dois anos de um ensaio de aplicação de um compostado num olival superintensivo, com o objectivo de avaliar se: (1) ocorrem efeitos no solo a curto prazo e, em especial, na matéria orgânica do solo; (2) os métodos adotados permitem detetar alterações no solo resultantes da aplicação de compostados.

Apresentam-se resultados dos resíduos à superfície do solo e do carbono oxidável pelo permanganato de potássio (POX-C) (Weil *et al.*, 2003). O POX-C tem sido considerado um bom indicador precoce de práticas promotoras da acumulação ou da estabilização da matéria orgânica no solo e, portanto, um bom indicador do sequestro de carbono no solo nomeadamente, através da aplicação de compostados (Huriasso *et al.*, 2016).

Material e métodos

Este trabalho resulta de um ensaio em olival superintensivo (var. “Cobrançosa”), localizado na Herdade de Torre das Figueiras, Monforte, Portalegre ($39^{\circ}04'09.19''N$, $7^{\circ}27'58.69''O$).

O solo dominante na área do ensaio é um coluviossolo de textura mediana (Sb), formado por coluviação de material

proveniente, pelo menos parcialmente, de um solo Pcx (Solo Calcário Pardo de xistos ou grauvaques associados a depósitos calcários), que se encontra mais acima na encosta (SROA, 1970). A textura varia entre franco-argilosa, na parte superior da encosta, a franca, na parte inferior, sem grande contraste até aos 30 cm de profundidade.

Usou-se um delineamento experimental em blocos completos casualizados (3 tratamentos e 3 repetições, num total de 9 talhões - Fig. 1). Foram marcadas 3 linhas de árvores (blocos I, II, III) separadas por duas linhas. Em cada bloco foram casualizados 3 talhões, cada um com uma das 3 dosagens (tratamentos) diferentes: T0 (0 kg m^{-2}), T1 ($2,5 \text{ kg m}^{-2}$) e T2 (5 kg m^{-2}). Cada talhão tem 20 árvores separadas, entre si, por 6 árvores de bordadura.

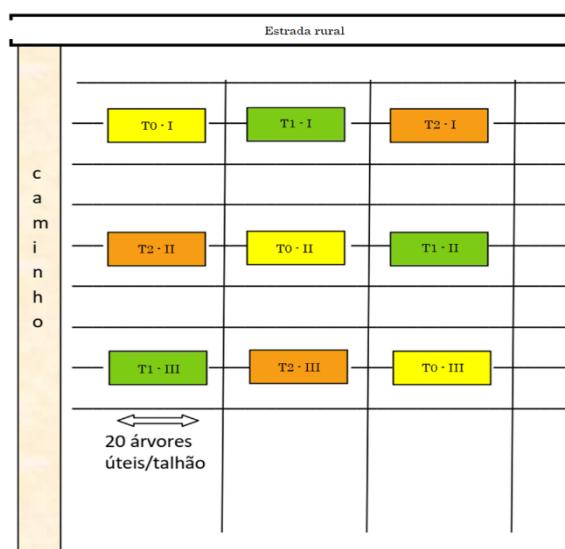


Fig. 1 – Esquema do ensaio com a var. “Cobrançosa”.

O compostado foi produzido na própria exploração entre junho e outubro de 2019, a partir de estrume de ovino e das folhas e raminhos da limpeza das azeitonas antes da entrada no lagar. No final, o compostado apresentou 42,4% de humidade, 12,4% C orgânico e razão C/N=11,8 (Peça, 2021). Foi aplicado em fevereiro de 2020 com recurso ao espalhador de estrume Herculano H2RSP, que permitiu a sua distribuição à superfície numa faixa até ~1 m de cada lado da linha (Fig. 2).

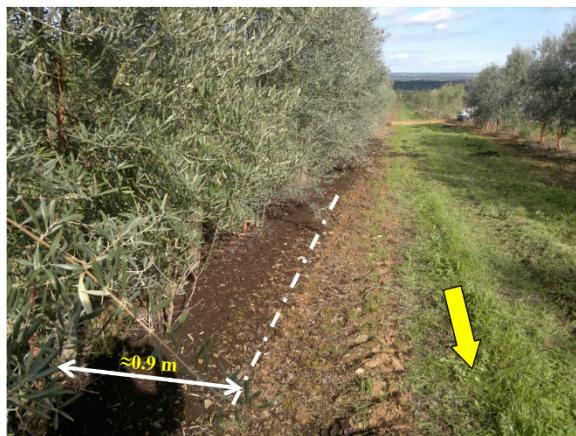


Fig. 2 – Aspetto da aplicação do compostado na linha.

A amostragem do solo em cada talhão realizou-se por aleatorização das árvores, considerando um quadrado de cerca $0,5 \times 0,5$ m em que a árvore é um dos vértices e a recolha das amostras se realiza no vértice oposto. Foram recolhidas quatro amostras por talhão dos resíduos orgânicos à superfície do solo (36 amostras no total) usando para o efeito um quadrado metálico de 25×25 cm² de área. Foi determinada a massa seca a 65°C dos resíduos orgânicos de dimensão >1 mm. Recolheu-se uma amostra composta de solo, por talhão, das camadas 0-5, 5-15 e 15-30 cm, extraídas com uma sonda manual, de um mínimo de 12 pontos de amostragem por talhão, metade de cada lado da linha. O carbono oxidável pelo permanganato de potássio (POX-C) (Culman et al., 2014) foi determinado (em duas repetições) nestas amostras de solo.

Fizeram-se as seguintes amostragens antes e após a aplicação do compostado, realizada no final de fevereiro de 2020: i) antes (início de 2020); ii) 5 meses após (2020.07) – apenas recolha de resíduos; iii) um ano após (2021.03) e iv) dois anos após (2022.01). Todas as amostragens se realizaram de acordo como os mesmos critérios já apresentados.

Para cada data de amostragem confirmou-se a homoscedasticidade das variâncias pelo teste de Fligner, procedeu-se à análise de variância e, sempre que a hipótese de igualdade das médias teve

$p < 0,05$, compararam-se as médias pelo teste múltiplo de Tukey. Nas análises estatísticas utilizou-se a linguagem R (R Core Team, 2021).

Resultados e discussão

No Quadro 1 apresentam-se os dados da massa de resíduos orgânicos à superfície do solo, em kg m⁻².

Quadro 1 - Resíduos orgânicos (> 1 mm) acumulados à superfície do solo (kg m⁻²). Valores com a mesma letra em cada linha (ano.mês de amostragem) não apresentam diferenças estatisticamente significativas.

Ano.mês	T0		T1		T2	
	m	s	m	s	m	s
2020.02	0.77a	±0.29	0.54a	±0.23	0.69a	±0.35
2020.07	1.26a	±0.78	3.08b	±1.10	5.80c	±2.71
2021.03	0.97a	±0.43	1.28a	±0.32	3.12b	±1.25
2022.01	1.25a	±0.33	1.50a	±0.93	1.84a	±0.97

Aplicações de compostado (kg m⁻²): T0=0; T1=2,5 e T2=5.

Não se verificaram diferenças entre os tratamentos antes da aplicação do compostado. As diferenças entre os três tratamentos são máximas, e significativas, na monitorização realizada 5 meses após a aplicação do compostado, esbatendo-se a partir daí. Ao fim de 2 anos (2022) as diferenças ainda são evidentes, mas não significativas, em parte devido à elevada variabilidade dos resultados de T1 e T2. A par da mineralização dos materiais orgânicos compostados, outros efeitos podem contribuir para esta tendência, por ex., a redistribuição a partir da faixa junto à linha para a entrelinha. Para tal pode contribuir o escoamento superficial e a circulação de pessoas e máquinas nas diversas práticas agrícolas. Oscilações dos valores em T0 podem resultar de maior desfolha, como na primavera de 2020, em virtude de uma maior ocorrência do “olho de pavão” (comunic. oral).

O Quadro 2 apresenta os resultados do carbono oxidável pelo permanganato de potássio (POX-C) determinado antes da aplicação do compostado, um e dois anos após essa aplicação. Também aqui não se verificam diferenças significativas entre

tratamentos na situação inicial (2020.01), em nenhuma das três camadas adotadas.

Quadro 2 – Carbono da matéria orgânica oxidável pelo permanganato de potássio (POX-C) (valores em mg kg⁻¹). Valores com a mesma letra em cada linha (camada) não apresentam diferenças estatisticamente significativas (em 2020 não há diferenças significativas entre tratamentos).

Camadas (cm)	T0		T1		T2	
	m	s	m	s	m	s
2020.01						
00-05	542.7 ±45.9		534.6 ±11.4		516.7 ±12.6	
05-15	410.8 ±25.0		407.2 ±15.5		431.9 ±55.1	
15-30	248.1 ±21.8		260.1 ±29.9		273.5 ±15.0	
2021.03						
00-05	547.1a ±9.4		663.0a ±84.7		771.1b ±71.0	
05-15	379.7a ±10.3		434.8a ±46.7		469.7b ±31.0	
15-30	234.4a ±14.4		255.3a ±3.8		286.6b ±18.2	
2022.01						
00-05	575.8a ±37.0		659.0a ±50.5		835.6b ±117.0	
05-15	414.4a ±31.1		434.5ab ±22.6		492.4b ±38.5	
15-30	248.2a ±45.4		253.9a ±37.3		265.2a ±82.4	

Aplicações de compostado (kg m⁻²): T0=0; T1=2,5 e T2=5.

Ao fim de cerca de um ano após a aplicação do compostado (2020.02) verificam-se diferenças marcadas entre os tratamentos, mas apenas no caso da aplicação máxima (T2) apresentam significado estatístico nas três camadas. Ao fim de dois anos continuam a verificar-se os valores mais altos do POX-C em T2, mas sem significado estatístico no caso da camada mais profunda (15-30 cm). Após um ano, na dosagem simples (T1) e dupla (T2), verificam-se aumentos de POX-C de respectivamente, c. 25% e 50% nos 0-5 cm, 8% e 10% nos 5-15 cm e, apenas em T2, 5% na camada 15-30 cm. Ao fim de 2 anos, apenas na camada 15-30 cm, em T2, se verifica uma redução. São necessários mais anos de monitorização para confirmar a tendência observada, de que o aumento do POX-C no solo, induzido pelo compostado, não é apenas um efeito de curta duração.

Os resultados obtidos comprovam a utilidade do POX-C na deteção de efeitos de práticas agrícolas sobre a matéria orgânica do solo (Lucas & Weil, 2021).

Conclusões

Dois anos após a aplicação (i) a massa de resíduos orgânicos à superfície do solo diminuiu para 1/3 a 1/2 do valor medido 5 meses após a aplicação, (ii) o POX-C na camada 0-15 cm é superior ao controlo, em especial no T2 (5 kg/m²), indicando um aumento da matéria orgânica estável, (iii) os métodos usados permitiram detetar efeitos no solo a curto prazo.

Agradecimentos

A José Maria Falcão e José Reis pelo apoio na Herdade de Torre das Figueiras e a Patrick L. Donno e Ivo Dias pelo apoio no trabalho de campo. Trabalho do Grupo Operacional PDR2020-101-031763 “Técnicas e Tecnologia para valorização de subprodutos em olivicultura – TECOLIVE”.

Referências bibliográficas

- Culman, S.; Freeman, M.; Snapp, S. (2014). *Procedure for the Determination of Permanganate Oxidizable Carbon*. Michigan State University. East Lansing, Michigan. USA.
- Hurisso, T., et al. (2016). Comparison of Permanganate-Oxidizable Carbon and Mineralizable Carbon for Assessment of Organic Matter Stabilization and Mineralization. *Soil Science Society of America Journal* 80, 1352–136. doi: [org/10.2136/sssaj2016.04.0106](https://doi.org/10.2136/sssaj2016.04.0106)
- Lucas, S., & Weil, R. (2021). Can permanganate oxidizable carbon predict soil function responses to soil organic matter management? *Soil Science Society of America Journal*, 85(5), 1768–1784. doi: [10.1002/saj2.20282](https://doi.org/10.1002/saj2.20282).
- Peça, J.O. (2021). *TECOLIVE. Técnicas e tecnologia para a valorização de subprodutos em olivicultura. Relatório de progresso, Janeiro de 2019 a Março de 2021*. Universidade de Évora.
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- SROA (1970). Carta dos Solos de Portugal (Esc. 1:50.000). 6^a Ed., Vol. I: Classificação e caracterização morfológica dos solos. Secretaria de Estado da Agricultura. Lisboa, 162 pp.
- Weil RR, Islam KR, Stine MA, Gruver JB, Samson-Liebig SE. (2003). Estimating active carbon for soil quality assessment: A simplified method for laboratory and field use. *American Journal of Alternative Agriculture* 18:3–17 doi: [org/10.1079/AJAA20028](https://doi.org/10.1079/AJAA20028).

Efecto del manejo de los pastos y el ganado sobre indicadores de calidad del suelo en una dehesa extremeña.

Pasture and livestock management effects on soil quality indicators in a dehesa of Extremadure

De Santiago Ana^{1*}, Maya Valentín², Berdón José³, Murillo Mónica³

¹Área de Protección Vegetal y ²Área de Cultivos Extensivos. Finca La Orden.Ctra. A-V, Km372, 06187, Badajoz, España.

³Área de Dehesas, Pastos y Producción Forestal. Instituto del Corcho, la Madera y el Carbón Vegetal (ICMC) Polígono Industrial El Prado, C/Pamplona, sector D, parcela 64. 06800 Mérida, Badajoz.

Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX)

anarosario.santiago@juntaex.es

Resumen

La dehesa (*montado* en Portugal) es un ejemplo de aprovechamiento sostenible de los recursos que puede estar amenazado por las malas prácticas de pastoreo. Este trabajo analiza el impacto que tiene la mejora de pastos y su aprovechamiento ganadero sobre indicadores de calidad del suelo. Se han estudiado dos parcelas S+ y S donde se ha llevado a cabo la siembra de leguminosas pratenses (en 2006 (S+) y en 2016 (S)) con pastoreo regenerativo. La parcela S- (control) no sembrada con pastoreo rotacional convencional, y por último simulando el abandono, (A) una parcela donde no hubo mejora de pastos y además no tiene aprovechamiento ganadero desde hace 8 años. El estudio bioquímico del suelo indicó una mayor actividad en las parcelas mejoradas con pastoreo regenerativo respecto a la abandonada. Las relaciones establecidas entre los indicadores estudiados con los parámetros físico químicos más importantes, desde el punto de vista de la fertilidad del suelo, demostraron la dependencia del contenido en nutrientes con la actividad microbiana y viceversa. Este estudio ha puesto de manifiesto que el abandono de las dehesas sin aprovechamiento ganadero, puede resultar en una pérdida de fertilidad del suelo y la consecuente disminución de actividad microbiana asociada.

Palabras clave: indicadores, aprovechamiento del pasto, pastoreo regenerativo, actividad enzimática.

Abstract

Dehesa (*montado* in Portugal) is an example of sustainable use of resources that may be jeopardized by improper grazing practices. This work analyzes the impact of pasture improvement and livestock management on soil quality indicators. Two plots S+ and S were studied where sowing of leguminous grasses was carried out (in 2006 (S+) and in 2016 (S)) and had regenerative grazing. Other plot S- (control) not improved by sowing legumes and with conventional rotational grazing, and finally simulating abandonment, (A) a plot where there was no pasture improvement and also has not had livestock exploitation for 8 years. The soil biochemical study indicated a higher activity in the improved plots with regenerative grazing compared to the abandoned plot. The relationships established between the indicators studied with the most important physical-chemical parameters, from the point of view of soil fertility, demonstrated the dependence of nutrient content on microbial activity and vice versa. This study has shown that the abandonment of pastures without livestock use can result in a loss of soil fertility and a consequent decrease in the associated microbial activity.

Key words: indicators, pasture management, regenerative livestock grazing, enzymatic activity.

1. Introducción.

La dehesa es un sistema agrosilvopastoril que necesita mejoras y un manejo adecuado para conservar su valor natural. Cuando el suelo pierde la capacidad de resistir a los cambios, se degrada afectando al potencial biológico, a la productividad del agrosistema y a sus propiedades físicas, químicas y biológicas.

Las metodologías regenerativas pueden mejorar la capacidad productiva de la dehesa de forma directa, con el manejo de pastos y forrajes, y de manera indirecta, mejorando el suelo. Con este trabajo pretendemos evidenciar que la siembra de praderas biodiversas y el pastoreo regenerativo puede mejorar las propiedades del suelo.

El estudio de los suelos en base al factor “manejo de los pastos y el aprovechamiento ganadero” ha sido previamente abordado en las dehesas, puesto que puede tener efectos negativos sobre el suelo y la vegetación cuando se lleva a cabo un pastoreo intensivo (Pulido *et al.*, 2016). El uso de indicadores para monitorizar los efectos de la gestión ganadera sobre el suelo de dehesa ha sido empleado con anterioridad, pero no todos los indicadores son igual de dinámicos. Los indicadores biológicos son más sensibles a las perturbaciones (Gil-Sotres *et al.*, 2005) y, por ello, pretendemos identificar los efectos del manejo del ganado y de los pastos sobre algunos indicadores de calidad del suelo asociados a los ciclos de nutrientes C, N y P, identificando los más dinámicos para promover una mejora en la gestión de la dehesa, ecosistema esencial para la Península Ibérica que debemos proteger.

2. Materiales y Métodos.

El estudio se ha llevado a cabo en cuatro cercados de una dehesa de 300 ha en Alburquerque (Badajoz). Los tratamientos (fig. 1) con mejora de pastos (siembra de leguminosas pratenses) son: S+ mejorado en 2006 (a largo plazo) y S mejorado en 2016 (a corto plazo) donde el manejo del

ganado se lleva a cabo mediante pastoreo regenerativo, basado en períodos cortos de aprovechamiento (a diente) durante momentos óptimos de desarrollo del pasto. Los tratamientos no mejorados fueron: S- con aprovechamiento convencional del ganado y A, un cercado abandonado con pasto natural y sin aprovechamiento ganadero desde hace ocho años (fig 1).

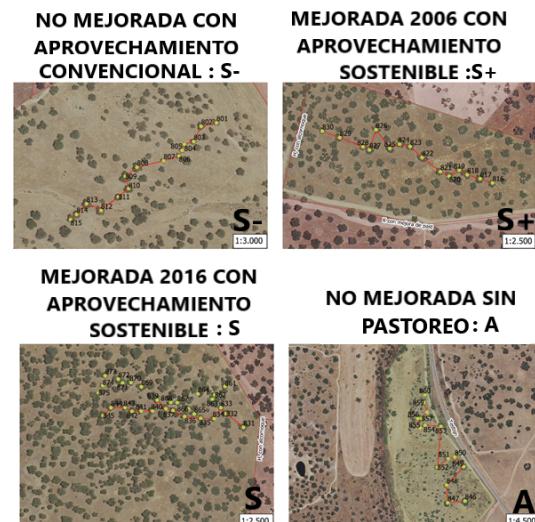


Fig. 1 – Transectos establecidos en los distintos cercados.

El muestreo de suelos (15 muestras por transecto) se realizó en primavera (2021) a una profundidad de 0-15 cm. Los suelos fueron llevados al laboratorio y conservados a 4°C hasta su análisis biológico, ejecutados en un plazo máximo de 4 días. El resto se dispuso en bandejas y se secó en estufa de aire forzado a 28°C para proceder a su análisis físico-químico mediante metodologías reconocidas ampliamente por la comunidad científica.

2.1 Análisis biológico: actividades enzimáticas.

Las oxidoreductasas estudiadas han sido la actividad deshidrogenasa (DHA), que se asocia a procesos microbianos *in vivo* favoreciendo la mineralización de la materia orgánica, y la catalasa (CAT), considerada un indicador de la actividad microbiana aeróbica, a su vez relacionada con la fertilidad del suelo.

Las hidrolasas analizadas han sido la β-Glucosidasa (GLC) involucrada en el ciclo del C, la ureasa (URE), que

cataliza la conversión de urea en amonio y dióxido de carbono y la fosfatasa (FOS) que está involucrada en el ciclo del fósforo. Todas las enzimas se analizaron siguiendo las metodologías descritas en García-Izquierdo et al. (2003).

2.2 Análisis estadístico.

Se utilizó IBM SPSS Statistic 22.0. para los análisis de normalidad de los datos y la homocedasticidad. Las variables necesarias fueron transformadas ($\text{Log}(X)$), las comparaciones de medias entre cercados (ANOVA) se llevaron a cabo mediante el test de Tukey ($P < 0.05$) y cuando no cumplían la homocedasticidad (ej. CAT, GLC) las comparaciones se realizaron mediante test no paramétricos. La correlación (Pearson) entre los distintos indicadores se calculó antes del análisis de componentes principales (ACP) y se llevó a cabo la verificación del modelo mediante el test de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) y la prueba de Bartlett.

3. Resultados y discusión.

Tabla 1. Media de los indicadores físico-químicos analizados en los suelos de cada cercado ($n=15$).

	S-	S+	S	A
Arcilla g kg ⁻¹	130 b	150 ab	190 a	130 b
MO _t g kg ⁻¹	18 b	19 b	24 a	15 c
pH _t	5,6 a	5,4 a	5,6 a	5,5 a
CIC cmol _c kg ⁻¹	4,7 a	4,6 a	3,6 a	3,9 a
K _t cmol _c kg ⁻¹	0,21 ab	0,32 a	0,17 b	0,29 a
Ca cmol _c kg ⁻¹	3,46 a	2,89 a	2,40 a	2,83 a
N _t %	0,09 b	0,11 a	0,09 b	0,08 b
P _{Bray} mg kg ⁻¹	3 b	15 a	19 a	5 b

MO: materia orgánica; CIC: capacidad de intercambio catiónico. N_t: nitrógeno total (método Kjeldahl). K y Ca: potasio y calcio de cambio.

P_{Bray}: fósforo analizado por el método de Bray-Kurtz.

Medias seguidas de diferentes letras en la misma fila indican una diferencia estadísticamente significativa de acuerdo con el test de Tukey para un nivel de probabilidad de 0.05. † Se lleva a cabo la comparación de medias mediante el test no paramétrico Kruskal-Wallis para muestras independientes por pares.

Los suelos de dehesa son poco profundos, desarrollados sobre rocas silíceas, duras y ácidas, principalmente pizarras y granitos. Suelos generalmente pobres, con baja capacidad de intercambio catiónico (CIC) y un bajo contenido en materia orgánica (MO). Se consideran deficientes en fósforo, nitrógeno y potasio, de ahí que hayamos incluido algunos indicadores físico-químicos (tabla 1) para entender mejor la fluctuación de los indicadores biológicos.

En el caso de las parcelas mejoradas, S+ obtuvo medias significativamente mayores que en los cercados no mejorados salvo en la actividad DHA (físicoquímicos; tabla 1, y bioquímicos; tabla 2) dando cuenta estos últimos de su debilidad desde el punto de vista de la aptitud productiva, sobre todo para P y en el caso de la parcela sin aprovechamiento (A) también para N y MO.

Tabla 2. Media de las actividades enzimáticas con cambios significativos entre los cercados ($n=15$).

TRATAMIENTO	GLC _t	CAT _t	DHA	URE
	μgPNP · g ⁻¹ · h ⁻¹	mmoles O ₂ · g ⁻¹ · h ⁻¹	μgINTF · g ⁻¹ · h ⁻¹	μgN-NH ₄ · g ⁻¹ · h ⁻¹
S-: no mejorada	75b	1,39a	149b	2,6a
S+: mejorada 2006	91a	1,45a	140b	2,1a
S: mejorada 2016	106a	1,19b	398a	1,1b
A: abandonada	65b	1,28b	122b	0,9b

Medias seguidas de diferentes letras en la misma columna indican una diferencia estadísticamente significativa de acuerdo con el test de Tukey (ANOVA) para un nivel de probabilidad de 0.05. † Se lleva a cabo la comparación de medias mediante el test no paramétrico Kruskal-Wallis para muestras independientes por pares.

Las prácticas implementadas en la dehesa pueden alterar el contenido en carbono orgánico y aunque no conocemos el papel que juegan los cambios en la intensidad del pastoreo sobre la capacidad de las comunidades microbianas del suelo para procesar la materia orgánica (Eldridge & Delgado-Baquerizo, 2017), sí sabemos que la enzima GLC se correlaciona con la MO y con parámetros asociados a la fertilidad del suelo (tabla 3; y estudios anteriores (de Santiago et al., 2019)). Los valores mínimos para URE en la parcela A probablemente sean debidos a la ausencia de aporte orgánico al no entrar el ganado en la parcela. La DHA, superior en S se correlacionó también con el contenido en MO así como con el P disponible; este aumento puede deberse al mayor contenido en MO del cercado, esta parcela es más umbría y probablemente el proceso de mineralización en primavera sea más lento.

La FOS (datos no incluidos en tabla 2) no obtuvo diferencias significativas entre cercados ($F=1.428$; $\text{sig}=0.244$) siendo su valor medio 378 μg PNP · g⁻¹ · h⁻¹. Esta actividad enzimática no se correlacionó con

el P disponible, probablemente debido a que el nivel se considera bajo (tabla 1), aunque suficiente para la producción de pasto de calidad (en los cercados mejorados).

Los resultados mostraron que el valor KMO (0.641) y la prueba de esfericidad (Chi= 228,55; gl =55 y Sig.=0.000) fueron adecuados para ejecutar el análisis de ACP indicando una correlación significativa entre los distintos indicadores elegidos para explicar por un lado factores asociados a la actividad microbiana (CP1), y por otro los que inciden directamente en la fertilidad del suelo (CP2) (tabla 3), que explicaban entre los dos el 54,59% de la varianza acumulada.

Tabla 3. Matriz de componente rotado^a.

	Componente	
	1	2
GLC	,802	
DHA	,799	
PBray	,743	
MO	,729	,361
arcilla	,423	
FOS	,353	,741
CIC	-,403	,723
Nt		,677
Ca		,614
URE		,564
Valor característico	3,252	1,661
Contribución VARIANZA (%)	36,13	18,46
(%) VARIANZA acumulada	36,13	54,59

Método de extracción: análisis de componentes principales. Método de rotación: Varimax con normalización Kaiser. ^a. La rotación ha convergido en 3 iteraciones.

La componente principal (CP1) se relacionó con aquellos indicadores que reflejan una mayor vinculación con la actividad microbiana asociada al ciclo del carbono: GLC y DHA, pero además, al igual que confirmaron los coeficientes de correlación de Pearson (datos no incluidos), se correlacionó con la liberación de P disponible, la MO y la arcilla. La actividad fosfatasa (FOS), el Nt, la CIC y el Calcio de cambio se asociaron con la fertilidad directa del suelo correspondiente

a la CP2 representando el 18.46% de la varianza.

Los indicadores propuestos, a priori, se promulgan como adecuados para monitorizar la calidad del suelo desde el punto de vista de la aptitud productiva en la dehesa, tal y como proponen Seker et al. (2017) en sistemas agroforestales.

4. Conclusiones

La mejora de pastos y el pastoreo sostenible favorecen la fertilidad del suelo y aumentan parámetros relacionados con el C lúbil del suelo, aumentando la actividad microbiana. El abandono del pastoreo en las dehesas disminuye su fertilidad.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Extremadura (Proyecto SINERGEX), cofinanciado por el Programa Operativo del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) 2014-2020 de Extremadura y el Grupo de Investigación AGA001 (GR21196).

Referencias bibliográficas

- De Santiago, A., Recena-Garrido, R., Perea-Torres, F., Moreno-Aguirre, M.T., Carmona-Chiara, E. & Delgado-García, A. (2019). Relationship of soil fertility to biochemical properties under agricultural practices aimed at controlling land degradation. *Land Degradation and Development* 30 (9), 1121-1129.
- Eldridge, D., & Delgado-Baquerizo, M. (2017). Continental-scale impacts of livestock grazing on ecosystem supporting and regulating services. *Land Degradion and Development* 28, 1473–1481.
- García-Izquierdo, C., Gil, F., Hernández, T., & Trasar-Cepeda, C. (2003). *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana*. Ediciones Mundi-Prensa.
- 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.
- Pulido, M., Schnabel, S., Lavado-Contador, J.F., Lozano-Parra, J., & González, F. (2016). Evaluación de la calidad del suelo en dehesas y pastizales del suroeste de España. Congreso Ibérico de la Dehesa y el Montado – Badajoz, Noviembre.
- Seker, C., Özaytekin, H.H., Negi, S. H., Gümü, S. L., Dedeoglu, M., Atmaca, E., & Karac Ü. (2017) Identification of regional soil quality factors and indicators: a case study on an alluvial plain (central Turkey). *Solid Earth*, 8, 583–595.

Efeito da mobilização do solo na composição do coberto vegetal espontâneo em olival: resultados preliminares

Effect of tillage on spontaneous ground cover composition in olive groves: preliminary results

Campos, Carolina¹; Villa, Maria¹; Reis, Carlos¹; Aguiar Carlos¹; Baptista Paula¹

¹ Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

*carolinacampos@ipb.pt

Resumo

O olival é uma cultura de elevada importância na região de Trás-os-Montes, constituindo o olival tradicional o principal sistema de produção. A mobilização do solo para controlo de infestantes, é tradicionalmente, praticada nos olivais desta região, no entanto esta prática aumenta a susceptibilidade dos solos à erosão e pode perturbar a biota do solo e as suas interações. O conhecimento acerca do efeito desta prática cultural no coberto vegetal espontâneo do olival é escasso. Este estudo pretende elucidar os efeitos que a mobilização poderá provocar na diversidade e composição da vegetação espontânea de cobertura do solo em olival tradicional. Os resultados preliminares mostram que a mobilização do solo parece promover o aumento da abundância de espécies pertencentes às famílias Caryophyllaceae e Poaceae, e de limitar o desenvolvimento das famílias Asteraceae, Geraniaceae e Polygonaceae. Algumas destas famílias, em particular Poaceae e Asteraceae, contém espécies com reconhecido papel na atração de organismos auxiliares e, por conseguinte, são importantes fatores a ter em conta na gestão sustentável desta cultura.

Palavras-chave: Asteraceae, *Olea europaea* L., Olival tradicional, Poaceae, vegetação espontânea.

Abstract

The olive grove is a highly important crop in the region of Trás-os-Montes, being the traditional olive grove the main production system. Tillage for weed control is traditionally practiced in the olive groves of this region, however this practice increases soil susceptibility to erosion and can disturb soil biota and their interactions. Knowledge about the effect of this cultural practice on spontaneous vegetation cover in olive groves is scarce. This study aims to elucidate the effects that tillage may have on the diversity and composition of spontaneous ground cover vegetation in traditional olive groves. Preliminary results show that tillage seems to promote increased abundance of species belonging to the families Caryophyllaceae and Poaceae, and to limit the development of the families Asteraceae, Geraniaceae and Polygonaceae. Some of these families, in particular Poaceae and Asteraceae, contain species with recognized roles in attracting auxiliary organisms and are therefore important factors to consider in the sustainable management of this crop.

Keywords: Asteraceae, *Olea europaea* L., Poaceae, Traditional olive grove, spontaneous vegetation.

1. Introdução

A oliveira (*Olea europaea* L.) tem elevada importância sócio-económica em Portugal, sendo este o quarto maior produtor europeu de azeite e o oitavo a nível mundial (IOC, 2021). Em Trás-os-Montes, a segunda maior região produtora de azeite em Portugal, o olival tradicional constitui o principal sistema de produção. Estes olivais, normalmente de sequeiro, possuem uma densidade de plantação baixa e reduzido uso de fatores de produção (fertilizantes e produtos fitofarmacêuticos). O controlo das infestantes é feito mediante a mobilização do solo, com recurso a grade de discos ou escarificador. Esta prática faz com que o solo passe grande parte do ano completamente nu, sem qualquer tipo de vegetação, aumentando a suscetibilidade dos solos à erosão e perda da capacidade de retenção de água, aspeto fundamental para os olivais de sequeiro (Cerdà et al., 2021). O problema da erosão dos solos é ainda mais acentuado na região de Trás-os-Montes, uma vez que, os olivais estão frequentemente localizados em áreas com declive e em solos com baixa fertilidade. Por outro lado, a mobilização poderá perturbar a biota presente no solo, bem como as interações que se estabelecem entre eles e deles com as plantas, causando desequilíbrios difíceis de restaurar (Simões et al. 2014). Estes desequilíbrios poderão culminar num aumento de incidência de pragas e doenças que, no atual contexto de alterações climáticas, em que a frequência de eventos extremos é maior, poderão ter efeitos ainda mais preocupantes.

Existe atualmente algum conhecimento sobre o impacto da mobilização do solo nas suas propriedades químicas e físicas, mas sabemos menos sobre o efeito que poderá ter na composição do coberto vegetal espontâneo. Este aspeto é de extrema importância uma vez que a disponibilidade de plantas úteis em proteção biológica de conservação, por serem habitat e fontes de alimentação alternativas para a entomofauna auxiliar (predadores e parasitoides), pode ficar comprometida

pela prática da mobilização do solo. No entanto, esta prática também poderá contribuir para a diminuição de plantas que sejam hospedeiras de pragas e consequentemente contribuir para uma redução da incidência de ataques. Apesar da mobilização ser feita com o principal objetivo de controlar as infestantes, esta prática poderá ter efeitos indesejáveis ao promover a germinação de espécies anuais de infestantes que não foram eliminadas pela mobilização. O processo de mobilização do solo poderá também trazer para a superfície do solo sementes de infestantes que se encontravam enterradas em profundidade, potenciando assim o reaparecimento destas plantas. Estes aspectos são de extrema importância no olival, uma vez que as espécies de infestantes normalmente presente nos seus solos caracterizam-se por possuírem grande capacidade de propagação e germinação, podendo manter-se viáveis durante vários anos, o que as torna extremamente invasoras e competitivas. Face ao exposto, o objetivo deste trabalho é avaliar a influência da mobilização do solo na diversidade e composição da cobertura vegetal espontânea num olival. Pretende-se ainda, verificar se a mobilização do solo poderá ter um maior impacto do que a não mobilização do solo na variação da composição do coberto vegetal ao longo do tempo (1 ano).

2. Material e métodos

2.1. Área de estudo

O olival onde decorreu o estudo encontra-se localizado em Mirandela, região de Trás-os-Montes, nas seguintes coordenadas geográficas $41^{\circ} 29' 19.19''$ N e $7^{\circ} 14' 53.37''$ O. Este local encontra-se a uma altitude de 351 m e o clima é do tipo Csa (clima temperado com Inverno chuvoso e verão seco e quente) de acordo com a classificação climática de Köppen. O local pertence em termos geomorfológicos ao Maciço Ibérico, mais concretamente à Depressão de Mirandela.

O olival no qual o estudo foi realizado é de sequeiro, com cerca de 10 anos, e encontra-se em modo de produção biológico há cerca de 5 anos. O controlo de infestantes, antes do início do ensaio, era feito pelo destroçamento do coberto vegetal, uma a duas vezes no ano. O espaçamento entre as árvores é de 7×7 m, sendo a maioria das cultivares Madural e Cobrançosa. Este olival, com uma área de cerca de 4 ha, foi dividido em duas parcelas (cada uma com cerca de 2 ha), tendo sido uma mobilizada e a outra não mobilizada. A mobilização do solo foi feita na Primavera de 2021, com recurso a um escarificador, a uma profundidade aproximada de 10 cm da superfície do solo.

2.2. Análise da vegetação espontânea

A composição do coberto vegetal espontâneo do olival em estudo foi avaliado imediatamente antes da realização da mobilização (i.e., 18 de maio de 2021), e passado quase um ano depois da mobilização (i.e., 1 de março de 2022). Para tal, foram estabelecidas em cada parcela (mobilizado e não mobilizado) 12 subparcelas com 49 m^2 cada, correspondendo a um quadrado em que os 4 vértices eram oliveiras. Em cada uma das subparcelas foi feita a avaliação do coberto vegetal. Para tal, colocou-se sobre o solo uma fita métrica, para um comprimento total de 6 m, foram identificadas as espécies de plantas a cada 20 cm ou a presença de solo. Este processo foi efetuado 2 vezes em cada subparcela. Com os dados obtidos calculou-se a percentagem de cobertura de cada espécie. Os resultados são apresentados por famílias de plantas. Foi avaliado ainda o índice de diversidade de Shannon.

3. Resultados e discussão

No total deste estudo foram identificadas 81 espécies de plantas, pertencentes a 16 famílias (Figura 1). Independentemente do tratamento, verificou-se uma maior abundância de plantas das famílias Asteraceae (47% do coberto vegetal), seguida por Fabaceae (19%) e Poaceae

(16%). Ao nível das espécies, no ano de 2021 as que apresentaram maiores percentagens de cobertura foram *Coleostephus myconis L.* (43%), *Bartsia trixago L.* (10%), *Anthemis arvensis L.* (9%), *Rumex bucephalophorus L.* (9%) e *Trifolium glomeratum L.* (9%). Em 2022 *Spergula arvensis L.* (11%), *Poa bulbosa L.* (7%), *Erodium cicutarium L.* (7%), *Chamemelum fuscatum (Brot.) Vasc.* (7%) e *Andryala integrifolia L.* (6%) foram as espécies com maior percentagem de cobertura da área de estudos. Espécies pertencentes aos géneros Rumex, Poa e Erodium são frequentemente encontradas em olival e descritas como infestantes (Barros 2020)

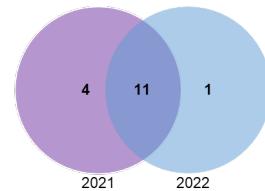


Figura 1. Diagrama de Venn o número de famílias de plantas identificadas neste trabalho, durante o ano de 2021 e 2022. Comparando a composição da vegetação espontânea entre a parcela mobilizada e não mobilizada ao fim de um ano de estudo (Figura 2) verificamos diferenças ao nível de algumas famílias. A mobilização do solo parece promover o desenvolvimento de plantas pertencentes às famílias Caryophyllaceae e Poaceae, e de limitar o desenvolvimento das famílias Asteraceae, Geraniaceae e Polygonaceae, uma vez que estas famílias apresentavam uma maior e menor percentagem de cobertura nos solos mobilizados face aos não mobilizados, respetivamente. Em termos de diversidade de espécies os resultados relativos ao índice de Shannon não mostraram diferenças significativas ($p>0,05$). Espécies de plantas destas famílias são frequentemente encontradas e referidas como infestantes em olivais (Barros 2020), no entanto plantas da família das Poaceae e Asteraceae são consideradas como espécies de interesse por constituir fontes de pólen e melada, para entomofauna auxiliar, tais como predadores e (Franco, 2010). Famílias como a Boraginaceae, Brassicaceae, Campanulaceae, Crassulaceae, Fabaceae, Plantaginaceae e Rosaceae parecem não ser afetadas pela mobilização

do solo, apresentando percentagens de cobertura muito similares entre parcelas mobilizadas e não mobilizadas (Figura 2).

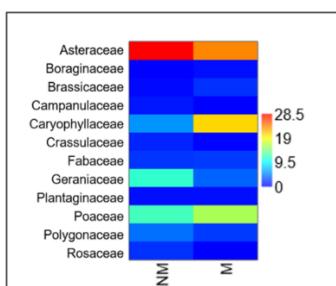


Figura 2. Heatmap comparativo das percentagens de cobertura do solo para cada uma das famílias identificadas na parcela mobilizada (M) e não mobilizada (NM) no ano de 2022.

Com o intuito de avaliar o impacto da mobilização face à não mobilização do solo na variação da composição do coberto vegetal ao longo do tempo, procedeu-se à comparação do coberto vegetal do ano de 2021 com o de 2022, para ambas as parcelas (mobilizado e não mobilizado). Os resultados apresentados na figura 3 mostram que, em ambas as parcelas, ocorreu uma redução na abundância das famílias Asteraceae, Fabaceae, Orobanchaceae, Poaceae e Polygonaceae, de 2021 para 2022. No entanto, esta redução foi mais notória e expressiva na parcela não mobilizada. Por exemplo, nesta parcela, a família Fabaceae reduziu cerca de 27 vezes de 2021 para 2022, enquanto que na parcela mobilizada a redução foi de 7 vezes. Este resultado sugere que existe uma maior variação na abundância da vegetação espontânea em solo não mobilizado, ao fim de 1 ano. A diversidade de espécies, avaliada pelo índice de Shannon, reduziu significativamente ($p<0,01$) até 1,2 vezes de 2021 para 2022, em ambas as modalidades mobilizado e não mobilizado.

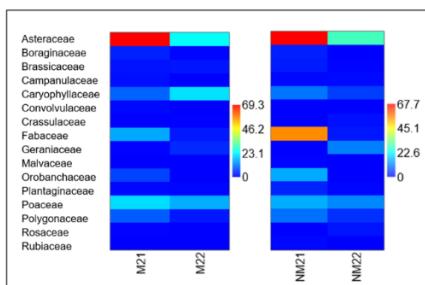


Figura 3. Heatmap comparativo das percentagens de cobertura do solo para cada uma das famílias identificadas na parcela mobilizada (M) e não mobilizada (NM) entre o ano de 2021 e 2022.

4. Conclusões

Os resultados, apesar de preliminares sugerem que a mobilização do solo influência a diversidade e abundância de determinadas espécies de plantas, algumas das quais atrativas para organismos auxiliares. No contexto atual, em que se pretende produzir de uma forma mais sustentável, é fundamental conhecer as várias funções que estas espécies de plantas podem desempenhar tendo em vista a sua exploração para o aumento da biodiversidade funcional da exploração olivícola.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem ao projeto “Man4Health - New management strategies in olive groves for improving soil health and crop yield”, NORTE-01-0145-FEDER-000060 pelo suporte a este trabalho

6. Referências bibliográficas

- Barros, J. (2020). Controlo de infestantes em olival com enrelvamento.
- Cerdà, A., Terol, E., & Daliakopoulos, I. N. (2021). Weed cover controls soil and water losses in rainfed olive groves in Sierra de Enguera, eastern Iberian Peninsula. *Journal of Environmental Management*, 290, 112-516.
- Franco, J. C. (2010). Infra-estruturas ecológicas e limitação natural dos inimigos das culturas fruteiras. *Actas Portuguesas de Horticultura*, nº 16 (2010).
- IOC. (International Olive Oil Council) - world statistics on production, imports, exports and consumption. Retrieved February 25, 2021,
- Simoes, M. P., Belo, A. F., Pinto-Cruz, C., & Pinheiro, A. C. (2014). Natural vegetation management to conserve biodiversity and soil water in olive orchards. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12(3), 633-643.

Cover crops for the improvement of soil microbiological properties in intensive horticultural production systems

Culturas de cobertura para a melhoria das propriedades microbiológicas do solo em sistemas de produção hortícola intensiva

Fareleira, Paula^{1*}, Videira e Castro, Isabel¹, Soares, Ricardo¹, Matos, Susete², Almeida, Lurdes³, Barradas, Ana⁴, Nunes, Ana Paula⁵

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, INIAV, I.P., Av. da República, Quinta do Marquês, 2780-159 Oeiras, Portugal.

² AgroMais, Entreposto Comercial Agrícola, CRL, Zona Industrial de Riachos – Apartado 24 - 2354-908 Riachos, Portugal

³ Torriba, Organização de Produtores de Hortofrutícolas, S.A., Estrada Municipal 589, Herdade Convento da Serra, 2080-401 Raposa, Portugal

⁴ Fertiprado – Sementes e Nutrientes Lda, Herdade Esquerdos, 7450-250 Vaiamonte, Portugal

⁵ COTHN - Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional – Centro de Competências, Estrada de Leiria, S/N, 2460-059 Alcobaça, Portugal.

* paula.fareleira@iniav.pt.

Abstract

The production of horto-industrial crops in the Portuguese region of Ribatejo is based on monoculture systems with high technical intervention, which results in soil biodiversity imbalances, loss of fertility and progressive degradation. In these systems, the introduction of cover crops preceding the main crop of the agricultural year can contribute to improving the soil status and the sustainability of the production systems. The present work describes the evaluation of soil microbiological indicators in two field trials in Ribatejo, where different cover crops were installed: biodiverse mixture of legumes and grasses, including clovers inoculated with rhizobia; annual ryegrass (*Lolium multiflorum*); and forage turnip (*Raphanus sativus*) for biofumigation. Control plots without cover crops were maintained in both fields. The evaluations focused on soil enzymatic activities (dehydrogenase, alkaline phosphatase and β-glucosidase) and several groups of microorganisms, including total bacteria, symbiotic nitrogen-fixing bacteria (rhizobia), free-living nitrogen-fixing bacteria, phosphate-solubilizing bacteria and phytostimulating microorganisms. The results indicated a tendency for the increase of soil microbiological activity and beneficial microorganisms with cover crops, especially with the biodiverse mixture of legumes and grasses and annual ryegrass.

Keywords: Cover crops, Soil microbiological indicators, Soil enzyme activities, Plant-beneficial microorganisms

Resumo

A produção de culturas hortoindustriais na região do Ribatejo assenta em sistemas de monocultura com elevada intervenção fitotécnica, o que resulta em desequilíbrios de biodiversidade, perda de fertilidade e degradação progressiva dos solos. Nestes sistemas, a introdução de culturas de cobertura no período que antecede a cultura principal do ano agrícola pode contribuir para melhorar o estado do solo e a sustentabilidade da produção. O presente trabalho descreve a avaliação de indicadores microbiológicos do solo em dois campos piloto no Ribatejo, onde foram instaladas diferentes culturas de cobertura: mistura biodiversa de leguminosas e gramíneas, incluindo trevos inoculados com rizóbios; azevém anual (*Lolium multiflorum*); e nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) para biofumigação. Em ambos os campos foram mantidos talhões-controlo, sem culturas de cobertura. As avaliações incidiram sobre atividades enzimáticas do solo (desidrogenase, fosfatase alcalina e β-glucosidase) e vários grupos de microrganismos, incluindo bactérias totais, bactérias fixadoras de azoto simbióticas (rizóbios), bactérias fixadoras de azoto de vida livre, bactérias solubilizadoras de fosfato e microrganismos fitoestimulantes. Os resultados indicaram uma tendência para o aumento da atividade microbiológica do solo e de microrganismos benéficos com as culturas de cobertura, em especial com a mistura biodiversa de leguminosas e gramíneas e com azevém anual.

Palavras-chave: Culturas de cobertura, Indicadores microbiológicos do solo, Atividades enzimáticas do solo, Microrganismos benéficos para as plantas.

Introduction

Horticultural production for industry is mainly based on monoculture systems with a high degree of intensification and technical intervention. At the soil level, these practices result in biodiversity imbalances, loss of fertility, increased erosion and surface runoff. The low plant diversification reflects in the structure of soil microbial communities, disfavouring plant-beneficial populations and facilitating the emergence and progression of soil-borne phytopathogens, which compels producers to excessive use of phytopharmaceuticals. All this tends to aggravate in the climate change scenario that is already a reality. Therefore, there is an urgent need to adopt alternative and more eco-friendly production strategies.

Cover crops have been considered as a promising option for the sustainable production of agricultural systems. In intensive monoculture systems, the introduction of cover crops during the fall-winter period preceding the main crop of the agricultural year may positively influence the beneficial soil microbiota, enhancing soil health and contributing to mitigate the consequences of soil degradation. This has been addressed in projects MaisSolo and HortiCover, particularly referring to intensive horticultural systems in the Portuguese region of Ribatejo. The objective of the present work was to evaluate the response of soil microbiological indicators to the introduction of cover crops in these systems.

Material and methods

The evaluations were carried out in the scope of project MaisSolo, in two farms located in Ribatejo (São João de Brito and Quinta do Manique) between 2018 and 2020 (Table 1). In each farm, four different modalities (0.5 ha plots) were installed during the fall-winter period: 1) biodiverse mixture of legumes and grasses, including clovers inoculated with rhizobia; 2) *Lolium multiflorum* (annual ryegrass); 3) *Raphanus sativus* (forage turnip) for biofumigation; and 4) no cover crop (control).

Table 1 – Location, soil type and main crops in the field trials

Farm	Location	Soil type	Main crop (2018/2019/2020)
São João de Brito	Golegã	Fluvisol	Potato/Maize/Maize
Quinta do Manique	Vila Franca de Xira	Fluvisol	Tomato

Samples of rhizospheric soil from end-of-cycle plants were collected and the following indicators were evaluated: enzyme activities (dehydrogenase, alkaline phosphatase, β -glucosidase), abundance of total culturable bacteria, abundance of free-living nitrogen-fixing aerobic bacteria, abundance of phosphate-solubilizing bacteria, activity of phytostimulating microorganisms, and abundance of symbiotic nitrogen-fixing bacteria (rhizobia). The methods are in Table 2.

Table 2 – Methods used in the evaluation of indicators.

Indicator	Method*
Dehydrogenase activity	Spectrophotometric quantification of triphenyl formazan formed from the reduction of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (Menino, et al., 2021, adapted from Casida, Klein, & Santoro, 1964)
Alkaline phosphatase activity	Spectrophotometric quantification of <i>p</i> -nitrophenol formed from <i>p</i> -nitrophenyl-phosphate (adapted from Tabatabai, 1994)
β -Glucosidase activity	Spectrophotometric quantification of <i>p</i> -nitrophenol formed from <i>p</i> -nitrophenyl- β -glucoside (adapted from Tabatabai, 1994)
Abundance of total bacteria (heterotrophic)	Dilution spread-plate method (CFU counts in generic agar medium) (Zuberer, 1994)
Abundance of free-living aerobic nitrogen-fixing bacteria	Dilution spread-plate method (CFU counts in N-free agar medium) (Martinez-Toledo, et al., 1985)
Abundance of phosphate solubilizing bacteria	Dilution spread-plate method (CFU forming solubilisation haloes on agar medium supplemented with $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) (Castagno, et al., 2011)
Activity of phytostimulating microorganisms	Stimulation of <i>Arabidopsis thaliana</i> growth (fresh weight) upon inoculation with extracted soil microbiota
Abundance of symbiotic nitrogen-fixing bacteria (rhizobia)	Most Probable Number by the plant-infection method (Vincent, 1970) using <i>Trifolium suaveolens</i> as host plant

* CFU, colony forming units.

Results and discussion

Several soil microbiological indicators were assessed in two field trials in the scope of project MaisSolo, aiming to evaluate the effects of cover crops on soil microbiology. In order to obtain the general response tendency of each indicator, the sets of data from both fields over time (whenever available) were here considered for the analysis.

The results showed a general increase in soil enzyme activities when using the biodiverse mixture of legumes and grasses or annual ryegrass as cover crops, relative to soils without cover (Fig. 1.A). The exception was β -glucosidase activity with annual ryegrass. Soil enzymes play an essential role in the degradation, mineralization and immobilization of nutrients in soil, and can be used as dynamic bioindicators of soil quality and health. In this study, we evaluated three enzyme activities that participate in organic matter degradation and nutrient cycling in soils. Dehydrogenases are a wide and diverse group of intracellular enzymes involved in microbial respiration pathways, and the measurement of their total activity reflects the metabolic activity of the soil microbiota (Makoi & Ndakidem, 2008) and indicates about the potential to oxidise soil organic matter (Alkorta, et al., 2003). Phosphatases are a broad group of extracellular enzymes that play a key role in the mineralization of organic phosphorus and are considered as good indicators of soil fertility (Makoi & Ndakidem, 2008). β -glucosidases act on the hydrolysis of β -glucosyl residues (including the final step in cellulose hydrolysis) to release β -D-glucose, which can be an energy source for soil microorganisms (Alkorta, et al., 2003). Thus, our results on the evaluation of soil enzymes indicate that the introduction of cover crops in these systems, particularly the biodiverse mixture of legumes and grasses and annual ryegrass, result in higher soil microbiological activity and increased potential for nutrient cycling.

Cover crops also positively influenced beneficial rhizospheric microorganisms, including several groups of plant growth promoters (Fig. 1.B-D). The abundance of

phosphate solubilizing bacteria increased with the biodiverse mixture of legumes and grasses and with annual ryegrass, compared with controls without cover crops (Fig. 1.B). These bacteria have the ability to remove phosphorus adsorbed to soil particles and make it available to plants. Our results indicate a greater capacity to solubilize soil-immobilized phosphorus, which is particularly relevant in soils with low levels of bioavailable phosphorus and may also improve the utilization efficiency of phosphorus fertilizers.

The introduction of cover crops, especially annual ryegrass, increased the phytostimulating activity of rhizospheric microorganisms (Fig. 1.C). Several microorganisms are capable of producing molecules (phytohormones) that stimulate root growth and plant development. Phytohormones of microbial origin affect the metabolism of endogenous growth regulators in plants and may improve their performance under different types of stress (Egamberdieva, et al., 2017). By stimulating plant growth and stress resistance, this will contribute to more resilient ecosystems.

The symbiotic nitrogen fixing bacteria, generically designated as rhizobia, are able to fix atmospheric nitrogen in symbiosis with legume plants, playing a key role in the nitrogen nutrition of the host and the sustainable enrichment of the soil in nitrogen. The evaluation of the rhizobial abundance in these soils revealed very low native populations. However, important increases were observed following the introduction of the mixture of legumes and grasses, in which the clovers had been inoculated with rhizobia (Fig. 1.D). This result shows the importance of introducing inoculated legumes to enrich the soil with these bacteria.

Free-living (non-symbiotic) nitrogen-fixing bacteria can also contribute to the enrichment of the rhizosphere in nitrogen. These bacteria were naturally abundant in these soils (10^7 - 10^8 colony forming units/g soil) and, as with total bacteria, were not affected by the introduction of cover crops (Fig. 1.B).

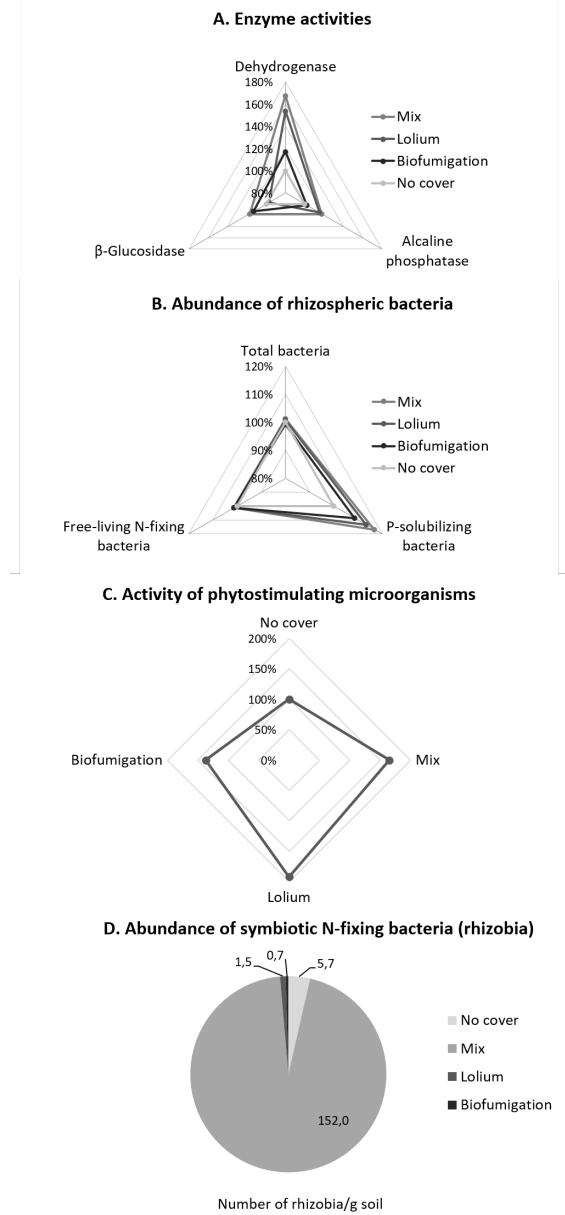


Fig. 1 – Soil microbiological indicators evaluated in the field trials. Except for D, results are presented as percentage of the control (no cover). A, B: mean values of the determinations in both fields in 2018-2020, at the end of cycle of the main crop. C: São João de Brito in 2018, at the end of cycle of the main crop. D: mean values of the determinations in São João de Brito in 2019-2020, at the end of cycle of the cover crops and main crop. No cover – control without cover crops; Mix – biodiverse mixture of legumes and grasses; Lolium – annual ryegrass; Biofumigation – forage turnip.

Conclusions

In two horticultural production farms, the introduction of cover crops, especially the biodiverse mixture of legumes and grasses and annual ryegrass, increased soil microbiological activity and favoured several groups of plant-growth promoting microorganisms, including phosphate

solubilizing bacteria, phytostimulating microorganisms and symbiotic nitrogen-fixing bacteria. These indicators are positively correlated with the equilibrium and robustness of the soil microbiome, pointing to a favourable evolution of the soil status. The evaluations are now proceeding in project HortiCover, which develops biodiverse cover mixtures based on selected ecotypes, optimally adapted to the cultural systems and to climate change.

Acknowledgements

Funded by projects PDR 2020-101-030821 (MaisSolo) and LISBOA-01-0247-FEDER-072223 (HortiCover).

References

- Alkorta, I., Aizpurua, A., Riga, P., Albizu, I., Amezaga, I., & Garbisu, C. (2003). Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. *Environ Health Rev*, 18(1), 65-73.
- Casida, L., Klein, D., & Santoro, T. (1964). Soil dehydrogenase activity. *Soil Sci*, 98, 371-376.
- Castagno, L., Estrella, M., Sannazzaro, A., Grassano, A., & Ruiz, O. (2011). Phosphate-solubilization mechanism and in vitro plant growth promotion activity mediated by *Pantoea eucalypti* isolated from *Lotus tenuis* rhizosphere in the Salado River Basin (Argentina). *J Appl Microbiol*, 110, 1151-1165.
- Egamberdieva, D., Wirth, S., Alqarawi, A., Abd Allah, E., & Hashem, A. (2017). Phytohormones and beneficial microbes: essential components for plants to balance stress and fitness. *Front Microbiol*, 8, article 2104.
- Makoi, J., & Ndakidem, P. (2008). Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*, 7(3), 181-191.
- Martinez-Toledo, M., Gonzalez-Lopez, J., de la Rubia, T., & Ramos-Cormenzana, A. (1985). Isolation and characterization of *Azotobacter chroococcum* from the roots of *Zea mays*. *FEMS Microbiology Ecology*, 31, 197-203.
- Menino, R., Felizes, F., Castelo-Branco, M., Fareleira, P., Moreira, O., Nunes, R., & Murta, D. (2021). Agricultural value of Black Soldier Fly larvae frass as organic fertilizer on ryegrass. *Helyion*, 7(1), e05855.
- Tabatabai, M. (1994). Soil enzymes. In R. Weaver, J. Angle, & P. Bottomley (Eds.), *Methods of soil analysis: Part 2. Microbiological and biochemical properties* (pp. 775-833). Madison: Soil Science Society America.
- Vincent, J. (1970). *A manual for practical study of root nodule bacteria*. Oxford, UK: IBP Handbook; Blackwell Scientific Publishers.
- Zuberer, D. (1994). Recovery and enumeration of viable bacteria. In R. Weaver, J. Angle, & P. Bottomley (Eds.), *Methods of soil analysis: Part 2. Microbiological and biochemical properties* (pp. 119-144). Madison: Soil Science Society America.

Gránulos de organoarcilla como adsorbente para aumentar la persistencia del compuesto alelopático escopoletina en el suelo

Organoclay granules as a sorbent to increase the persistence of the allelochemical scopoletin in soil

Galán-Pérez, Jose Antonio*; Gámiz, Beatriz; Celis, Rafael

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC, Avenida Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla, España
 *jagalan@irnas.csic.es

Resumen

Los compuestos alelopáticos están recibiendo un gran interés como herbicidas respetuosos con el medio ambiente, pero su eficacia en el campo suele ser limitada debido a que generalmente presentan una escasa persistencia en los suelos. En este estudio se ha evaluado la incorporación en gránulos de organoarcilla como estrategia de protección del compuesto alelopático escopoletina frente a su rápida biodegradación en el suelo, con la finalidad de aumentar su persistencia y bioactividad. La cinética de adsorción de escopoletina en los gránulos de organoarcilla fue más lenta comparada con la adsorción en el polvo de la misma y sugirió un proceso controlado por difusión intraparticular. Tras la incorporación de escopoletina en los gránulos de organoarcilla, la vida media del compuesto alelopático en un suelo agrícola mediterráneo aumentó de 0,34 a 14,4 días en condiciones de laboratorio y de 0,54 a 20,1 días en condiciones de campo, respecto al compuesto libre en disolución. Además, la incorporación en los gránulos de organoarcilla mejoró la expresión de la fitotoxicidad de escopoletina en el experimento de campo, reduciendo la germinación y la longitud radicular de *Lactuca sativa* L. en mayor medida que el compuesto alelopático libre sin granular. Los resultados indican que la incorporación en gránulos de organoarcilla podría constituir una estrategia tecnológica eficaz para proteger a los compuestos alelopáticos de una rápida disipación en los suelos, aumentando su persistencia y mejorando su rendimiento en la protección de los cultivos.

Palabras clave: compuestos alelopáticos, bioherbicidas, fitotoxicidad, gránulos, organoarcillas.

Abstract

Allelochemicals have been proposed as eco-friendly herbicides, but they often display a limited performance under field conditions because of a short persistence in soils. In this study, incorporation into organoclay granules was investigated as a strategy to protect the allelochemical scopoletin from rapid biodegradation processes and prolong its persistence and bioactivity in soil. A kinetic study revealed that the adsorption of scopoletin on the granules was slower than on the organoclay powder and indicated an intraparticle pore diffusion mechanism. After being incorporated into the organoclay granules, the half-life of scopoletin in a Mediterranean soil increased from 0.34 to 14.4 days under laboratory conditions, and from 0.54 to 20.1 days under field conditions, compared to the free compound. The granules also favored the expression of the phytotoxicity of scopoletin in the field experiment, reducing the germination and root growth of *Lactuca sativa* L. to a greater extent than the free, non-granulated allelochemical. The results of this work indicate that incorporation into organoclay granules could represent a suitable technological approach to protect allelochemicals from rapid dissipation losses in soil, which may help increase their persistence for a better performance as crop protection products.

Keywords: allelochemicals, bioherbicides, phytotoxicity, granules, organoclays.

Introducción

La necesidad de buscar plaguicidas respetuosos con el medio ambiente ha generado interés en la investigación de compuestos alelopáticos. La alelopatía es un fenómeno por el cual plantas o microorganismos liberan compuestos que afectan al crecimiento de plantas vecinas, los cuales presentan interés como posibles bioherbicidas (Duke et al., 2019).

La escopoletina (Fig. 1) es un compuesto alelopático de la familia de las hidroxicumarinas que presenta actividad fitotóxica (Graña et al., 2017). Sin embargo, su escasa persistencia en el suelo constituye una limitación importante en su aplicación como bioherbicida (Galán-Pérez et al., 2021, 2022).

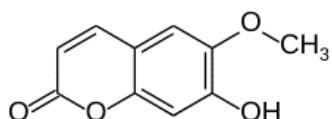


Fig. 1 – Estructura química de la escopoletina.

En un estudio previo, la organoarcilla comercial Cloisita 10A, añadida como enmienda, mostró capacidad de aumentar la persistencia de escopoletina en suelos alcalinos gracias a su poder adsorbente (Galán-Pérez et al., 2022). En forma de polvo, no obstante, el uso de organoarcillas presenta una serie de inconvenientes, como una rápida pérdida de su capacidad de adsorción en presencia de suelo y riesgos en su aplicación por la posible ingestión o inhalación del polvo. La granulación de las organoarcillas puede ayudar a reducir estos inconvenientes (Gámiz & Celis, 2021).

Los objetivos de este trabajo han sido: 1) comparar la capacidad adsorbente de la organoarcilla comercial Cloisita 10A en polvo y granulada hacia escopoletina, 2) evaluar el efecto de ambas en la disipación de escopoletina en un suelo alcalino en condiciones de laboratorio, 3) estudiar la persistencia y fitotoxicidad de gránulos de organoarcilla cargados con escopoletina bajo condiciones de campo.

Material y métodos

La escopoletina (SCOP) fue suministrada como compuesto de alta pureza (> 99,0%) por Merck (Spain).

El suelo (S) utilizado en el experimento de laboratorio fue un suelo mediterráneo franco arenoso de pH 8,4, con un 75% de arena, 6% de limo, 19% de arcilla y 0,34% de carbono orgánico.

La organoarcilla (OA) comercial Cloisita 10A, en forma de polvo, fue suministrada por BYK (Germany). Posee un espaciado basal de 1,92 nm, un 27,0% de C y un 1,13% de N. La granulación de la organoarcilla se llevó a cabo en un granulador DGI-01 (LSC, France) usando 50 ml de agua destilada como aglutinante por cada 50 g de OA. Una vez obtenidos, los gránulos se secaron a 60°C, seleccionando posteriormente los de un tamaño entre 63 µm y 2 mm.

El estudio de adsorción de escopoletina a la OA se llevó a cabo a 25°C poniendo en contacto 320 mg de OA, granulada y sin granular, con 250 ml de una disolución de escopoletina a una concentración de 2 mg/l. A tiempos seleccionados ($t = 0, 8, 24, 48$ y 72 h) se tomaron muestras de la disolución sobrenadante y se analizaron por HPLC para determinar la cantidad de escopoletina adsorbida (q_t).

Para el estudio de disipación de SCOP en condiciones de laboratorio se emplearon los siguientes tratamientos: a) S sin tratar + SCOP, b) S + OA en polvo (OA-P) + SCOP, c) S + OA granulada (OA-G) + SCOP y d) S + OA-G preadsorbidos con SCOP. Las incubaciones se llevaron a cabo a 25°C usando 1 g de suelo sin tratar o tratado con 20 mg de OA, una dosis de SCOP inicial (C_0) de 9 mg/kg de suelo y una humedad del suelo del 30%, tomando muestras a $t = 0, 1, 2, 3, 4$, y 7 días para su extracción y análisis por HPLC, con el fin de determinar la concentración de SCOP residual en el suelo (C_s).

El experimento en campo se realizó en un suelo muy similar al empleado en el estudio de laboratorio, de textura franco arenosa, pH 8,4 y 63% de arena, 21% de limo, 16% de arcilla y 1,42% de carbono orgánico. En

parcelas de 0,5 x 0,5 m, se realizaron los siguientes tratamientos: 1) dos parcelas sin tratar (controles), 2) dos parcelas tratadas con una disolución de escopoletina y 3) dos parcelas tratadas con gránulos de organoarcilla (OA-G) preadsorbidos con escopoletina, con un contenido de compuesto alelopático de 4,5 mg/g. Además, en cada parcela se sembraron 3 g de semillas de *Lactuca sativa* L. para comparar la fitotoxicidad entre tratamientos de escopoletina en campo. La dosis de escopoletina empleada fue de 12 kg/ha, aplicando diariamente a cada parcela 3 mm de agua para mantener la humedad del suelo. A $t = 0, 2, 4$ y 7 días, se tomaron muestras de suelo (0-5 cm) para su extracción y análisis.

El análisis de SCOP se llevó a cabo por HPLC y se utilizó el modelo de difusión de Weber & Morris para describir las cinéticas de adsorción ($q_t = k_{WM} t^{0,5}$) y una ecuación de primer orden para obtener la vida media ($t_{1/2}$) de SCOP en los experimentos de disipación ($C_s = C_0 e^{-k \cdot t}$).

Resultados y discusión

Mientras que la adsorción de escopoletina a la OA en polvo fue prácticamente inmediata, la cinética de adsorción a la OA granulada fue más lenta y se ajustó de forma precisa al modelo de difusión intraparticular de Weber & Morris, sugiriendo una menor accesibilidad de los sitios de adsorción (Fig. 2).

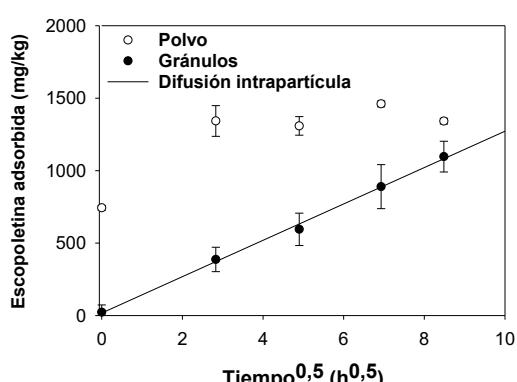


Fig. 2 – Cinéticas de adsorción de escopoletina a polvo y gránulos de la organoarcilla Cloisita 10A.

En condiciones de laboratorio, todos los tratamientos con la OA aumentaron la persistencia de escopoletina, pero el patrón de disipación dependió de la forma de aplicación de la OA y el compuesto alelopático (Fig. 3). Una observación clave fue que los gránulos, especialmente cuando se preadsorbieron con el compuesto alelopático, fueron más efectivos a largo plazo a la hora de aumentar la persistencia de escopoletina (Fig. 3). La vida media de escopoletina en el suelo aumentó de 0,34 a 14,4 días por la incorporación del compuesto en los gránulos de OA.

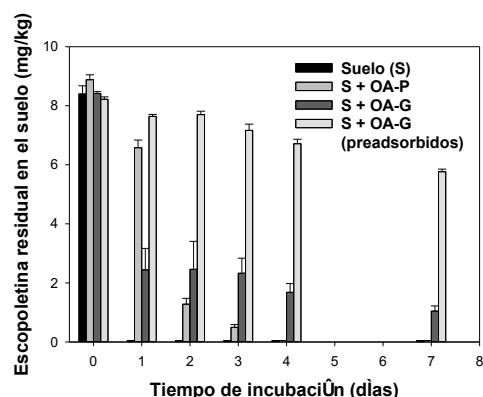


Fig. 3 – Curvas de disipación de escopoletina en suelo en condiciones de laboratorio.

En condiciones de campo, la escopoletina añadida en forma libre se degradó muy rápidamente. En cambio, la aplicación de los gránulos con escopoletina preadsorbida conllevó un aumento muy pronunciado en la persistencia del compuesto (Fig. 4).

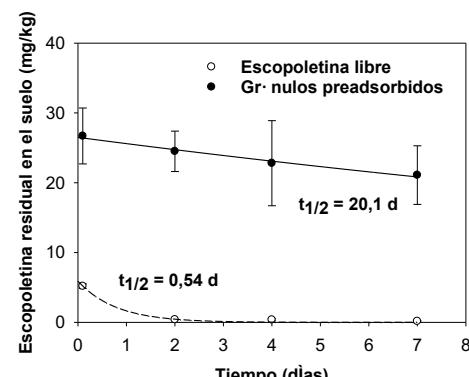


Fig. 4 – Curvas de disipación de escopoletina en parcelas de campo.

La vida media de escopoletina aumentó de 0,54 d para escopoletina libre a 20,1 d para el compuesto soportado en gránulos, reflejando cómo el comportamiento observado en condiciones de laboratorio (Fig. 3) se mantuvo también bajo condiciones reales de campo (Fig. 4).

La aplicación de escopoletina preadsorbida en gránulos de OA mejoró la expresión de la fitotoxicidad del compuesto, reduciendo la germinación de *Lactuca sativa L.* en mayor medida que el compuesto alelopático libre sin granular (Fig. 5). También se observó una reducción de la longitud media de las raíces de las semillas germinadas en las parcelas tratadas con el compuesto preadsorbido ($3,5 \pm 0,5$ cm) respecto al control ($5,3 \pm 0,4$ cm), que no se produjo en el caso de las parcelas tratadas con el compuesto libre ($4,9 \pm 0,2$ cm). Estos resultados se pueden atribuir al aumento de la persistencia del compuesto al ser aplicado preadsorbido en los gránulos de la OA (Fig. 4), que lo mantuvo en el suelo durante más tiempo a niveles fitotóxicos para la planta.

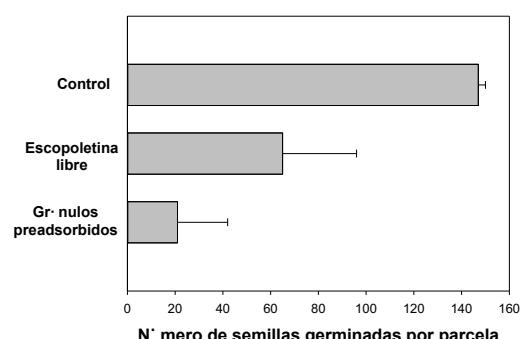


Fig. 5 – Efecto de escopoletina aplicada a parcelas de campo como compuesto libre o soportado en gránulos de organoarcilla en la germinación de *Lactuca sativa L.*

Conclusiones

La adsorción a gránulos de organoarcilla protegió a escopoletina de su rápida biodegradación en el suelo, tanto en condiciones de laboratorio como en condiciones reales de campo. La preadsorción en los gránulos antes de su aplicación al suelo acentuó el efecto protector, favoreciendo la expresión de la actividad fitotóxica del compuesto.

Los resultados muestran que el uso de organoarcillas como soportes puede representar una buena estrategia para aumentar la persistencia y bioactividad de los compuestos alelopáticos en el suelo. No obstante, el procedimiento descrito en este trabajo debe optimizarse para un escenario agrícola real de manejo de malas hierbas, a través de mejoras que permitan una reducción de la cantidad de organoarcilla y compuesto alelopático a emplear y ensayos adicionales que demuestren su eficacia frente a especies de malas hierbas de interés.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (MCIN/AEI/10.13039/501100011033), a través de los proyectos AGL2017-82141-R y PID2020-112563-I00, y por la Junta de Andalucía, a través del proyecto P20-00746, cofinanciado con fondos FEDER de la UE. J.A. Galán-Pérez agradece al MCIN la concesión de un contrato predoctoral (PRE2018-083293) asociado al proyecto AGL2017-82141-R, cofinanciado con fondos FSE de la UE.

Referencias bibliográficas

- Duke, S.O., Evidente, A., & Vurro, M. (2019). Natural products in pest management: innovative approaches for increasing their use. *Pest Manag. Sci.*, 75, 2299-2300. doi:10.1002/ps.5552
- Galán-Pérez, J.A., Gámiz, B., & Celis, R. (2021). Determining the effect of soil properties on the stability of scopoletin and its toxicity to target plants. *Biol. Fertil. Soils*, 57, 643-655. doi:10.1007/s00374-021-01556-2.
- Galán-Pérez, J.A., Gámiz, B., & Celis, R. (2022). Soil modification with organic amendments and organo-clays: Effects on sorption, degradation, and bioactivity of the allelochemical scopoletin. *J. Environ. Manage.*, 302, 114102. doi:10.1016/j.jenvman.2021.114102.
- Gámiz, B., & Celis, R. (2021). S-Carvone formulation based on granules of organoclays to modulate its losses and phytotoxicity in soil. *Agronomy*, 11, 1593. doi:10.3390/agronomy11081593.
- Graña, E., Costas-Gil, A., Longueira, S., Celeiro, M., Teijeira, M., Reigosa, M.J., & Sánchez-Moreiras, A.M. (2017). Auxin-like effects of the natural coumarin scopoletin on *Arabidopsis* cell structure and morphology. *J. Plant Physiol.*, 218, 45-55. doi:10.1016/j.jplph.2017.07.007.

Impact of maintenance techniques for woody crops (olive trees and vines) on the bacterial and fungal biomass of the soil, in the region of "Las Vegas of Madrid"

Impacto de las técnicas de mantenimiento de cultivos leñosos (olivo y viñas) sobre la biomasa bacteriana y fúngica del suelo, en la comarca de "Las Vegas de Madrid"

Álvarez, Belén; Navas, Mariela*; Antón, Omar; Borrego, Adrián; García, Andrés; Bienes, Ramón; Sastre, Blanca

Dept. of Applied Research and Agricultural Extension, Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), El Encín, A-2, km 38.2, Alcalá de Henares, 28805- Madrid, Spain*marielajose.navas@madrid.org

Summary

The aim of this study was to evaluate the effect of different maintenance practices (tillage and mulching) applied in woody crops on soil parameters related to water availability and how these changes modulate the abundance of bacteria and fungi. The study was carried out in 24 farms (22 olive tree groves and 2 vineyards) established in the Las Vegas de Madrid area. We carried out soil sampling at a 0-10 cm depth. We assessed chemical parameters (pH, total organic carbon –TOC–), physical parameters related to water availability (permanent wilting point -PMP-, macropores, mesopores, micropores, water stable aggregates WSA- and bulk density –BD-) and we quantified bacterial and fungal biomass. Then, we performed a multivariate analysis (Partial Least Squares Regression PLS-) to quantify the relationship between soil variables and bacterial and fungal biomass. The results indicate that the water availability in the soil (PMP) modulated the abundance of bacteria, while fungi, in contrast to bacteria, responded positively to soil carbon and negatively to BD. Our analyses indicate that, under these study conditions, bacteria were more sensitive to water availability while fungi were more sensitive to changes in soil compaction.

Keywords: traditional tillage, bacterium, fungus, PLS, porosity

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de las labores de mantenimiento (laboreo y *mulching*) utilizadas en cultivos leñosos sobre parámetros de suelo vinculados a la disponibilidad de agua y como estos cambios modularon la abundancia de bacterias y hongos. El estudio se realizó en 24 fincas (22 con olivos y 2 con viñas) establecidas en la comarca de Las Vegas de Madrid. Los muestreos de suelo se realizaron a una profundidad de 0-10 cm. Se cuantificó la biomasa bacteriana y fúngica, y se estimaron parámetros químicos (pH, carbono orgánico total total -TOC-) y físicos, relacionados con la disponibilidad de agua en el suelo (punto de marchitez permanente -PMP-, macroporos, mesoporos, microporos, agregados estables al agua -WSA- y densidad aparente -BD-). Para cuantificar la relación de las variables edáficas con la biomasa bacteriana y fúngica se realizó un análisis multivariado (Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales -PLS-). Los resultados señalan que la disponibilidad de agua en el suelo (PMP) moduló la abundancia de bacterias, mientras que los hongos, a diferencia de las bacterias, respondieron positivamente al carbono del suelo y negativamente a BD. En general podemos decir que, bajo estas condiciones de estudio, las bacterias fueron más sensibles a la disponibilidad de agua mientras que los hongos lo fueron a cambios en la compactación suelo.

Keywords: laboreo, bacteria, hongo, PLS, porosidad,

Introduction

Tillage is the main soil management of olive tree groves in the Community of Madrid (>71%), as in other Spanish regions (MAPAMA, 2019). This practice leads to soil erosion with a significant loss of organic carbon and nutrients (Marques et al., 2020; Gómez et al., 2009). It directly and indirectly influences soil properties related to water retention and availability, as well as its biological properties. Maintenance techniques for woody crops in the Madrid region, as in the rest of Spain, vary according to the crop. The Community of Madrid has an area of woody crops of approximately 62.069 ha, of which 23.816 ha are maintained with traditional tillage, 28.859 ha with minimum tillage, 94.558 ha with spontaneous plant coverings and the remaining hectares have no maintenance at all (MAPAMA, 2019; FAOSTAT, 2020). Olive groves in the Mediterranean basin are usually managed with continuous tillage and low organic matter inputs, which leads to several soil degradation processes.

Alternative soil conservation practices prevents soil and nutrient loss and slows down physical soil deterioration, which can indirectly compromise water availability for crops, especially in regions with semi-arid climates such as Las Vegas in Madrid region. Among them, cover crops have emerged as an alternative soil management strategy to improve soil fertility, the amount of organic matter and the sustainability of agroecosystems. Permanent or annual cover crops, sown or spontaneous, and mulching are strategies to protect the soil from erosive processes (FAO & ITPS, 2021; Sastre et al., 2017) in addition to improving the abundance and function of the soil microbial community related to soil biogeochemical cycles. However, farmers are still unwilling to apply cover crops or reduce the frequency of tillage. Therefore, it is essential to perform studies that confirm the benefits of this practice.

Water is a key factor to consider in crop production, especially for crops grown in the Mediterranean Basin. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of different maintenance practices (tillage

and mulching) in woody crops on soil parameters related to water availability and how these changes modulate the abundance of fungus and bacteria.

Material and methods

The study was carried out in the region of Las Vegas, located in the Southeast of the Community of Madrid, Spain, with large areas of woody crops (mainly olive groves). The climate was classified as continental Mediterranean, with a mean annual temperature of 14.7°C, a cumulative annual rainfall of 370 mm, and a reference evapotranspiration (ET₀ Penman-Monteith) of 1170 mm. Twelve plots with traditional tillage and 12 plots in close proximity with the same soil and crop, but with alternative management (soil conservation practices), were selected.

The plots with traditional tillage were identified with the letter L, whereas those with alternative management (mulching) with C. For example, code O3-L means olive grove, plot 3, and traditional tillage whereas VO3-C vineyard with olive grove, plot 3 and coverage (Table 1). Figure 1 shows the geographical distribution of the plots. The soils of the plots were classified as Calcisols, Cambisols, Luvisols, Leptosols (according map to FAO map, Comunidad de Madrid, 1990).

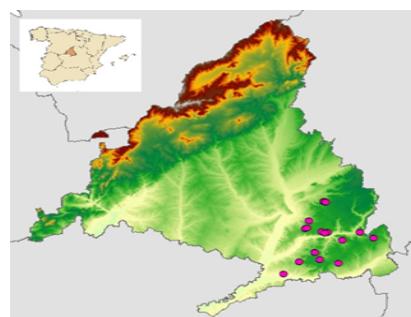


Figure 1. Location of plots in Madrid Region (n=12 each dot consists of a pair of plots: soil conservation management and tillage).

In each plot, three composite samples were taken at a 0-10 cm depth. The samples were subdivided into two parts, one part was stored at 6°C for biological analyses (bacterial and fungal biomass determination) and the other part was air-dried and sieved at 2 mm to determine pH, electrical conductivity and total organic carbon (TOC). In addition, undisturbed

samples were taken in stainless steel cylinders (100 cm³ and 5 cm high) at a 0-10 cm depth to determine physical parameters related to soil water retention (permanent wilting point-PMP-, field capacity-CC-, total porosity-TP-, micro, meso and macroporosity, bulk density-/BD-, and water stable aggregates/WSA). Microbial biomass was estimated by plate count of isolated colonies on specific culture media

Table 1. Identification and description of the plots.

Code	Crop	Municipality	Area (ha)	Maintenance practices
O-03-C	Olive grove	Perales de Tajuña	0.8	Minimal tillage, chopping and incorporation of residues (spring and autumn)
O-03-L	Olive grove	Perales de Tajuña	0.4	Conventional tillage
O-07-C	Olive grove	Chinchón	0.17	Spontaneous coverage. No tillage since 2016
O-07-L	Olive grove	Chinchón	0.14	Conventional tillage
O-09-C	Olive grove	Chinchón	0.51	Spontaneous coverage. No tillage since 2016
O-09-L	Olive grove	Villaconejos	0.89	Conventional tillage
O-11-C	Olive grove	Arganda del Rey	4.67	Spontaneous coverage with supporting irrigation
O-11-L	Olive grove	Arganda del Rey	2.27	Conventional tillage
O-12-C	Olive grove	Villarejo de Salvanés	0.47	Spontaneous ground cover,
O-12-L	Olive grove	Villarejo de Salvanés	0.5	Conventional tillage
O-16-C	Olive grove	Torres de la Alameda	0.19	Spontaneous vegetal covering, soil and foliar application of fertiliser.
O-16-L	Olive grove	Torres de la Alameda	0.45	Conventional tillage
O-18-C	Olive grove	Torres de la Alameda	0.31	Spontaneous vegetative covering
O-18-L	Olive grove	Torres de la Alameda	0.14	Conventional tillage soil and foliar application of fertiliser
O-19-C	Olive grove	Torres de la Alameda	0.34	Spontaneous, spontaneous covering, soil and foliar application of fertiliser.
O-19-L	Olive grove	Torres de la Alameda	0.27	Conventional tillage
O-22-C	Olive grove	Perales de Tajuña	0.46	Spontaneous, vegetative covering
O-22-L	Olive grove	Perales de Tajuña	0.36	Conventional tillage
O-27-C	Olive grove	Perales de Tajuña	0.24	Spontaneous, vegetative covering
O-27-L	Olive grove	Perales de Tajuña	0.41	Conventional tillage
V-C	Vineyard	Belmonte de Tajo	7.53	Plant covering sown more than 8 years ago
V-L	Vineyard	Belmonte de Tajo	7.53	Conventional tillage

for bacteria (Nutrient Agar) and fungi (Potato Dextrose Agar) after incubation at 25°C for 48h for bacteria and 72h for fungi (Varghese and Joy, 2014) (Fig. 2). Cylinder samples were saturated with water by capillary action in a sandbox to determine pF between 0 and 2.0 (0.1 to 10 kPa respectively) by successive weight measurements. Water retention between 2 and 4.2 pF (10 to 1500 kPa respectively) was determined by a progressive drying process with pressure plate extractors (Richards, 1941). Finally, the samples were dried completely in an oven (24 h at 105 °C) corresponding to pF 7 (106 kPa). The weight of these dried samples also allowed the determination of the soil BD (Blake and Hartge, 1986). The relationship between

pore size and water holding capacity was established as follows: macropores (>60 µm) corresponded to matrix potentials between pF 0 and 1.8; mesopores (60 to 10 µm) to pF values between 1.8 and 2.54; and micropores (<10 µm) to pF > 2.54. Pores smaller than 0.2 µm in diameter corresponded to matrix potentials higher than pF 4.2. (Bienes et al., 2016). The available water capacity (AWC) was determined by the difference between the volumes of water.

A multivariate analysis (Partial Least Squares Regression -PLS-) was performed to assess the relationship between bacterial and fungal biomass (Y) and a set of soil variables (X). This technique generalises and combines principal component analysis (PCA) and linear regression analysis in order to describe the interactions of bacterial and fungal biomass with soil parameters related to water retention and to quantify the common variation in the data. This analysis was done using InfoStat software (Di Rienzo et al., 2020).

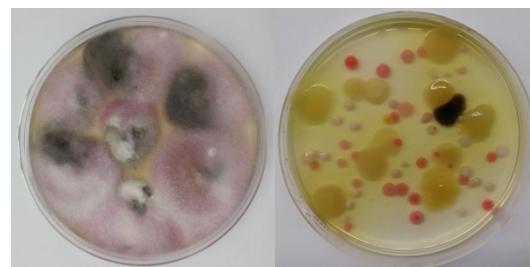


Figure 2. Fungi and bacteria were isolated on their respective general media (see text for details).

Results and discussion

The multivariate analysis (PLS) indicates that the variability of the data is explained by 76.7% (Figure 3). It also shows the interaction of edaphic variables with the abundance of bacterial and fungal biomass. The edaphic variables that showed the highest projection on the main axis were TOC, BD, PMP, macroporosity and mesoporosity, and those with the lowest projection were WSA and micropores, indicating that TOC, BD, PMP, macroporosity and mesoporosity were the edaphic parameters that mainly interacted with bacterial and fungal biomass. Figure 3 displays the distribution of the plots. The distribution of fungi and bacteria in the

different plots (blue dots) is grouped approximately in three or four groups, with the plots within the same group being very similar to each other and different between groups. Bacteria stood out in O7-C and V1-C while fungi stood out in V1-C and were statistically similar to O3-C and O3-L (Tukey test). Bacteria showed a significant positive relationship with fungi and a negative relationship with PMP, but were not significantly related to TOC. However, fungi showed a positive and significant relationship with TOC, mesopores and a negative relationship with BD, indicating the importance of these parameters in explaining bacterial and fungal distribution in soil.

In summary, water availability in the soil, especially the permanent wilting point, affected the abundance of bacteria, but did not affect the fungal biomass, which could be explained by the fact that fungi have specific structures (mycelium) that allow them to explore a larger soil surface and thus reach sites that bacteria cannot explore due to their unicellular structure. Fungi responded positively to TOC, but were negatively affected by soil BD. Considering that most of the plots studied have clay loam or silt loam soils, we believe that increases in soil BD could be related to the continuous and prolonged use of tillage, which can break down the fungal mycelium and, consequently, affect the abundance of this microbial group.

Acknowledgements

This research was funded by ACCION Project in the frame of Measure 16 in the Madrid Region's Rural Development Programme (RDP), European Union (FEADER), Ministry of Agriculture, Fisheries and Food of Spain and Madrid Region through IMIDRA.

References

- Di Rienzo, J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., González L., Tablada M. & Robledo C.W. (2020) InfoStat versión. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina
-
- FAO & ITSPS. (2021). Recarbonizing Global Soils – A technical manual of recommended sustainable soil management. Volume 4: Cropland, grassland, integrated systems and farming approaches – Case studies. <https://doi.org/10.4060/cb6598en>.
- Gómez, J.A., Guzmán, G., Giráldez, J.V., & Fereres, E. (2009). The influence of cover crops and tillage on water and sediment yield, and on nutrient, and organic matter losses in an olive orchard on a sandy loam soil. *Soil and Tillage Research*, 106(1).
- LAKE, G.R. & Hartge, K.H. (1986). Bulk density. Methods of soil analysis: Part 1 Physical and mineralogical methods, 5, 363-375.
- MAPAMA. (2019). Encuesta de Superficies y Rendimientos de Cultivos (ESYRCE). Análisis de las plantaciones de olivar en España [Survey about extensions and yields in crops (ESYRCE)]. Analysis of olive groves in Spain]. Secretaría General Técnica, Subdirección General de Estadística del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- Marques, M. J., García-Muñoz, S., Muñoz-Organero, G., & Bienes, R. (2010). Soil conservation beneath grass cover in hillside vineyards under Mediterranean climatic conditions (Madrid, Spain). *Land Degradation & Development*, 21(2), 122-131.
- Richards, L.A. (1941). A pressure-membrane extraction apparatus for soil solution. *Soil Sci*, 51(5), 377-386.
- Sastre, B., Marques, M.J., García-Díaz, A., & Bienes, R. (2017). Three years of management with cover crops protecting sloping olive groves soils, carbon and water effects on gypsiferous soil. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.07.003](https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.07.003).
- Varghese, N. & Joy, P.P. (2014). Microbiology Laboratory Manual. Pineapple Research Station, Kerala Agricultural University.

Evolución de la glomalina tras la quema prescrita de matorral en suelos de alta montaña (Pirineo Central, NE-España)

Glomalin-related soil protein evolution after prescribed burning of scrub in mountain soils (Central Pyrenees, NE-Spain)

Alfaro-Leranoz, Andoni.^{1*}, Emran, Mohamed.^{1,2}, Badía-Villas, David.¹

¹GEOFOREST, Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural, Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales (IUCA), Escuela Politécnica Superior de Huesca, Universidad de Zaragoza, 22071 Huesca.

² Land and Water Technologies Department, Arid Lands Cultivation Research Institute, City of Scientific Research and Technological Applications (SRTA-City), 21934 New Borg El-Arab City, Alexandria, Egypt

*a.alfaroler@unizar.es

Resumen

Se evalúan los efectos de la quema prescrita de matorral sobre el suelo a corto plazo, a los 5 y a los 9 años usando como indicadores las fracciones de glomalina. Dicha evaluación se efectúa para tres espesores (0-1, 1-2 y 2-3 cm) de suelo y por cuatriplicado en cada momento de muestreo. Los valores de glomalina (total, residual y lábil) aunque son más elevadas, en valor absoluto, en el cm del suelo más superficial, raramente muestra diferencias significativas en profundidad. Inmediatamente tras la quema, los suelos duplican su contenido en glomalina total y residual con respecto a los suelos control o no quemados; dichos valores disminuyen con el tiempo. La glomalina lábil, que no se ve significativamente afectada justo tras la quema, se reduce a la mitad pasados los años. En definitiva, se identifican una serie de cambios en las diferentes fracciones de glomalina, a pesar de la baja severidad de este tipo de quemas.

Palabras clave: Quema prescrita; Proteínas del suelo relacionadas con la glomalina.

Abstract

The effects of prescribed burning of bushes on the soil are evaluated in the short term, at 5 and 9 years, using glomalin fractions as indicators. This evaluation is carried out for three soil thicknesses (0-1, 1-2 and 2-3 cm) and in quadruplicate at each sampling time. The glomalin values (total, residual and labile), although higher, in absolute value, in the shallowest cm of soil, rarely show significant differences in depth. Immediately after burning, soils double their total and residual glomalin content with respect to control or unburned soils; these values decrease with time. Labile glomalin, which is not significantly affected immediately after burning, is reduced by half after a few years. In short, a series of changes in the different glomalin fractions are identified, despite the low severity of this type of burning.

Key words: Prescribed fire, Glomalin-related soil protein.

Introducción

Se denomina glomalina a un conjunto de pequeñas glicoproteínas que se encuentran en abundancia en las esporas e hifas de los hongos micorrícticos arbusculares; por ello, se suele hablar proteínas del suelo relacionadas con la glomalina (PSRG). Su presencia se relaciona con la agregación del suelo (Hontoria et al., 2009; Emran et al., 2012). Una gran parte de la glomalina es de cierta recalcitrancia, por lo que interviene en el secuestro de carbono orgánico y se utiliza como indicador de la calidad del suelo (Rillig et al., 2004; Emran et al., 2020; 2021). La cantidad total de glomalina y sus fracciones se usan como indicadores de perturbaciones en el suelo como el laboreo intenso o los incendios (Lozano et al., 2018; Sharifi et al., 2018).

Por otro lado, las quemas prescritas de matorral en alta montaña tratan de recuperar zonas de pastos de verano para el ganado trashumante sin generar daños en el suelo. Sin embargo, las propiedades edáficas más sensibles, como las biológicas, pueden verse afectadas por dichas quemas (Girona et al., 2018). Por ello, en este trabajo se usa la glomalina, y sus fracciones, como indicador de cambios en suelos sometidos a quemas prescritas de matorral.

Material y métodos

Con el objetivo de valorar si el fuego afecta al suelo se muestrearon zonas control y zonas de matorral recién quemadas (Q0), a medio (Q5, 5 años) y a largo plazo (Q9, 9 años), todas ellas por cuatriplicado ($n=4$). Se muestrearon suelos a diversas profundidades (0-1, 1-2 y 2-3 cm) para detectar qué espesor podía verse afectado por la quema.

Las concentraciones de glomalina (total, residual y fácilmente extraíble o lábil) se determinaron en muestras de suelo, tamizado a 2 mm, según lo descrito por Wright y Upadhyaya (1996). La fracción total de la glomalina se extrajo con citrato de sodio 50 mM, pH 8.0, en ciclos secuenciales de autoclavado a 121°C (250°F) de 60 minutos, hasta que el

sobrenadante no mostró el color característico de la glomalina. La glomalina fácilmente extraíble o lábil, se extrajo usando citrato sódico 20 mM a pH 7.0, tras un solo ciclo de autoclavado a 121 °C de 30 minutos (Wright y Upadhyaya, 1996). Se obtuvo la glomalina residual por diferencia entre la glomalina total y la lábil. La concentración de glomalina en los extractos se determinó mediante el ensayo de proteínas de Bradford, con albúmina de suero bovino como estándar (Bradford, 1976).

Adicionalmente se determinó el carbono orgánico por calcinación de la materia orgánica y aplicación del factor de Van Bemmelen, el flujo de CO₂ por captura en sosa, el C microbiano por fumigación-extracción y la estabilidad de los agregados (1-2 mm) por tamizado en húmedo (Alfaro-Leranoz et al., 2022).

El análisis estadístico se realizó con el programa STATISTICA 10 de StatSoft, Inc. Se realizó un ANOVA de medidas repetidas para analizar la variabilidad de las fracciones de glomalina en función de los dos factores categóricos: tiempo desde la quema prescrita y profundidad del suelo. También se aplicó la prueba HSD de Tukey de comparación de medias.

Área de estudio

La zona de estudio (Asín de Broto) se encuentra en el piso subalpino del Pirineo Central, en el Noreste de España (Tabla 1).

Tabla 1. Características de la zona de estudio.

	Asín de Broto
Coordinadas	42° 31' 12.3" N 0° 06' 02.4" O
Altitud (m)	1650
Orientación	Oeste
Pendiente (%)	35
Temperatura media anual (°C)	8.8
Precipitación (mm/año)	1120
Suelo (WRB)	Calcaric Cambisol

Se trata de una zona de pastos de verano que, ante el progresivo descenso de la carga ganadera de las últimas décadas, se ha visto matorralizada por erizón (*Echinospartium horidum*, (Vahl) Rothm), comunidad vegetal con muy pocas especies ($n=6 \pm 3$) y, por tanto, muy baja diversidad (índice de Shannon de 0,858 ±

0,467) y bajo valor pastoral (Badía et al., 2017). Las quemas prescritas de este matorral espinoso las realizaron los Equipos de Prevención Integral de Incendios Forestales (EPRIF), en época invernal (Tabla 2), realizándose el muestreo de suelos simultáneamente en todas ellas en marzo del año 2021.

Tabla 2. Características de las quemas de matorral

Localidad	Asín de Broto
Cubierta vegetal (%)	95
Biomasa (t/ha)	34,1
Quema 0 años (Q0)	Marzo 2021
Quema 5 años (Q5)	Noviembre 2016
Quema 9 años (Q9)	Enero 2012

Resultados

Los valores de glomalina (total, residual y lóbil) son más elevados, en valor absoluto, en el cm del suelo más superficial y descienden progresivamente en profundidad, si bien las diferencias son raramente significativas (Tabla 3). Inmediatamente tras la quema (Q0), los suelos duplican su contenido en glomalina total y residual con respecto a los suelos control o no quemados (C). Con el tiempo, a los 5 años (Q5), y especialmente a los 9 años (Q9) tras la quema, esos valores disminuyen (Tabla 3). Por otro lado, la glomalina lóbil no se ve significativamente afectada tras la quema (Q0) pero se reduce a la mitad posteriormente (Q5 y Q9 años), a pesar de la recuperación de la cubierta vegetal (Badía et al., 2017).

Tabla 3. Fracciones de glomalina tras la quema prescrita de matorral

		Glomalina			
T	suelo (cm)	Total (mg g ⁻¹)	Residual (mg g ⁻¹)	Lóbil (mg g ⁻¹)	L/Total ratio
C	0-1	3,6ab	2,2a	1,4c	0,39c
	1-2	3,6ab	2,5ab	1,1abc	0,31bc
	2-3	2,9a	2,3a	0,6ab	0,23ab
Q0	0-1	7,8d	6,2e	1,6c	0,20ab
	1-2	6,9cd	5,6de	1,3bc	0,19ab
	2-3	5,6bc	4,5cde	1,2abc	0,21ab
Q5	0-1	5,0abc	4,3bcde	0,7ab	0,14a
	1-2	4,5ab	3,9abcd	0,6a	0,14a
	2-3	4,2ab	3,5abc	0,6ab	0,16ab
Q9	0-1	4,6ab	3,9abcd	0,65ab	0,14a
	1-2	4,3ab	3,7abcd	0,55a	0,13a
	2-3	3,9ab	3,4abc	0,55a	0,14a
F-valor		10,93	9,41	7,32	6,14
P-valor		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Letras distintas dentro de cada columna indican diferencias significativas ($p<0,05$) según el test de Tukey

Existe una correlación positiva y significativa ($p<0,01$) del C orgánico oxidable del suelo con las tres fracciones de glomalina estudiadas, aspecto contrastado en estudios previos (Emran et al., 2012; Lozano et al., 2016; Sharifi et al., 2018). Se ha identificado una significativa correlación de la fracción lóbil de glomalina con la estabilidad estructural de los agregados (Tabla 4).

Tabla 4. Coeficientes de correlación (r) entre las fracciones de glomalina y diferentes propiedades edáficas. n=48.

	GR	GL	Corg	CO ₂	Cmic	EE
GT	0,96**	0,53**	0,55**	0,44**	0,41**	0,64**
GR		0,28	0,40**	0,39**	0,30*	0,60**
GL			0,73**	0,35*	0,54**	0,38*

GT (glomalina total), GR (glomalina residual), GL (glomalina lóbil), Corg (carbono orgánico), CO₂ (respiración basal), Cmic (carbono microbiano), EE (estabilidad estructural). * $p<0,05$; ** $p<0,01$

Lozano et al (2016), en un muestreo en dos localidades (Gorga y Gata) del SE-España, inmediatamente tras un incendio forestal de pino carrasco, tampoco identifican variaciones en el contenido en glomalina lóbil de los suelos, lo que atribuyen a una baja severidad de la quema; los mismos autores muestran como la glomalina lóbil varía estacionalmente en suelos de pinares no quemados.

Sharifi et al. (2018), en bosquetes de *Quercus* recién quemados, observan como, a pesar de no variar el contenido en carbono orgánico del suelo, las fracciones de glomalina lóbil y residual aumentan con la severidad del incendio. También observan un aumento de la relación glomalina/carbono orgánico, al igual que en este trabajo (con valores en suelos control inferiores a 0,7 que aumentan a 1,0 con la quema). Aunque los cambios a largo plazo podrían relacionarse una menor actividad degradativa de la glomalina por parte de los microorganismos o un aumento de la actividad fúngica con la sucesión vegetal, el brusco cambio en la fracción residual post-quema solo parece explicable por la liberación de glomalina oculta en agregados fragmentados tras el paso del fuego (Lozano et al., 2016). Sin embargo, las quemas prescritas no se

caracterizan precisamente por generar un intenso shock térmico, por lo que deben investigarse otras causas para explicar las citadas variaciones. Una posibilidad es que con la extracción de la glomalina se incluyan otros compuestos, incluso no proteicos (Gillespie et al., 2011).

Conclusiones

Se ha observado un aumento significativo de las fracciones de glomalina total y residual inmediatamente después de la quema prescrita de matorral; la fracción lábil, no afectada justo tras la quema, disminuye a los 5 y 9 años. Se postula la hipótesis de que con el calentamiento hay una mayor extracción, aunque este tipo de quemadas es de baja severidad. Se requiere de una mayor investigación para descartar que con la cuantificación de PSRG no se cuantifiquen también otros compuestos.

Agradecimientos

A. Alfaro-Leranoz está contratado como personal investigador predoctoral en formación por el Departamento de Ciencia, Universidad y Sociedad del Conocimiento del Gobierno de Aragón. Por su lado, la estancia del Dr. M. Emran en la EPS de Huesca ha sido financiada por el Ministerio de Educación Superior e Investigación Científica de Egipto. La toma de muestras no habría sido posible sin la colaboración del Equipo de Prevención Integral de Incendios Forestales (EPRIF) de Aragón y de los ganaderos locales.

Referencias

- Alfaro-Leranoz, A., Badía-Villas, D., Luis, R., Martí-Dalmau, C., Ortiz-Perpiñá, O. (2022). Long-term prescribed fires effects on biological properties of a Calcaric Cambisol (Asín de Broto, Central Pyrenees). 22nd World Congress of Soil Science. Glasgow.
- Badía-Villas, D., Armas, C. Mora J.L., Gómez, D., Montserrat, G. Palacios, S. (2017). ¿Podemos controlar la expansión del erizo mediante quemas? Lucas Mallada, 19: 69 - 94.
- Emran, M. Naeim, H., Rashad, M., Gispert, M. (2021). Seasonal changes in soil carbon storage capacity and glomalin-related soil protein under different agricultural activities, abandonment, and wildfire occurrence in Mediterranean region. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2021.10.009>
- Emran, M., Doni, S., Macci, C., Masciandaro, G., Rashad, M., Gispert, M. (2020). Susceptible soil organic matter, SOM, fractions to agricultural management practices in salt-affected soils. Geoderma, 366: 114257.
- Emran, M., Gispert, M., Pardini, G. (2012). Patterns of soil organic carbon, glomalin, and structural stability in the Mediterranean abandoned terraced lands. European Journal of Soil Science, 63: 637-649.
- Gillespie, A.W., Farrell, R. E., Walley, F.L. Ross, A.R.S., Leinweber, P., Kai-Uwe E., Regier, T.Z., Blyth, R.I.R. (2011). Glomalin-related soil protein contains non-mycorrhizal-related heat-stable proteins, lipids and humic materials. Soil Biology & Biochemistry, 43: 766-777.
- Girona-García, A., Badía-Villas, D., Martí-Dalmau, C., Ortiz-Perpiñá, O., Mora, J.L., Armas-Herrera, C.M., (2018). Effects of prescribed fire for pasture management on soil organic matter and biological properties: a 1-year study case in the Central Pyrenees. Science of the Total Environment, 618: 1079-1087.
- Gispert, M., Pardini, G., Emran, M., Doni, S., Masciandaro, G. (2018). Seasonal evolution of soil organic matter, glomalin and enzymes and potential for C storage after land abandonment and renaturalization processes in soils of NE Spain. Catena, 162, 402-413.
- Hontoria, C., Velásquez, R., Benito, M., Almorox, J., Moliner, A. (2009). Bradford-reactive soil proteins and aggregate stability under abandoned versus tilled olive groves in a semi-arid Calcisol. Soil Biology & Biochemistry, 41, 1583-1585.
- Lozano, E., Jiménez-Pinilla, P., Mataix-Solera, J., Arcenegui, V., Mataix-Beneyto, J. (2016). Sensitivity of glomalin-related soil protein to wildfires: Immediate and medium-term changes. Science of the Total Environment. 572, 1238-1243.
- Mora, J.L., Badía-Villas, D., Gómez, D. (in press). Fire does not transform shrublands of *Echinospartum horridum* (Vahl) Rothm. into grasslands in the Pyrenees: development of community structure and nutritive value after prescribed burning. Journal of Environmental Management.
- Sharifi, Z., Azadi, N., Rahimi, S., Certini, G. (2018). The response of glomalin-related soil proteins to fire or tillage. Geoderma, 329, 65-72.
- Rillig, M.C. (2004). Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. Canadian Journal of Soil Science. doi:10.4141/S04-003

Distribuição da biomassa microbiana num solo de vinha na região dos Vinhos Verdes

Distribution of microbial biomass in a vineyard soil in the Vinhos Verdes region

Mendes, Susana^{1,3*}, Lopes, Hugo³, Valín, Isabel^{1,3}, Silva, Simão^{1,3}, Marinho, Maria³, Araújo-Paredes, Cláudio^{2,3}

¹ CISAS – Centro de Investigação e Desenvolvimento em Sistemas Agroalimentares e Sustentabilidade, Rua Escola Industrial e Comercial Nun'Álvares, 34, 4900-347 Viana do Castelo

² proMetheus, Unidade de Investigação & Desenvolvimento em Materiais, Energia e Ambiente para a Sustentabilidade, Rua Escola Industrial e Comercial Nun'Álvares, 34, 4900-347 Viana do Castelo

³ Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Rua D. Mendo Afonso, 147 Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima

*smendes@esa.ipvc.pt

Resumo

A compreensão da distribuição do carbono da biomassa microbiana (CBM) metabolicamente ativa nos solos vitícolas é fundamental para determinar o balanço de carbono em viticultura sustentável e para integrar estas determinações em análises de rotina que permitam avaliar o impacto de práticas de gestão sustentável do solo. O carbono da biomassa microbiana foi determinado em três datas correspondentes aos estados fenológicos de floração, bago de ervilha e maturação, na linha e na entre linha de uma vinha da casta Loureiro sujeita a diferentes estratégias de rega, e num solo natural considerado controlo. Neste trabalho foi possível observar diferenças entre o CBM de um solo vitícola e um solo natural. No solo vitícola, os maiores valores de biomassa microbiana foram registados na fase fenológica de bago de ervilha, coincidente com o início da rega. Em parte, registaram-se maiores valores de biomassa microbiana na linha que na entre-linha.

Palavras-chave: respiração do solo, respiração induzida pelo substrato, fluxo de carbono, biomassa microbiana metabolicamente ativa.

Abstract

Understanding the carbon distribution of metabolically active microbial biomass (MCB) in viticultural soils is essential to determine the carbon balance in sustainable viticulture and to integrate these determinations into routine analyzes that allow assessing the impact of sustainable soil management practices. The microbial biomass carbon was determined on three dates corresponding to the phenological stages of flowering, pea berry and maturation, in and between rows of a Loureiro grapevine subject to different irrigation strategies, and in a natural soil considered as a control. In this work it was possible to observe differences between the MCB of a viticultural soil and a natural soil. In viticultural soil, the highest values of microbial biomass were recorded in the pea berry phenological phase, coinciding with the beginning of irrigation. In part, higher values of microbial biomass were recorded in the row than in the inter-row.

Keywords: soil respiration, substrate-induced respiration, carbon flux, metabolically active microbial biomass.

Introdução

A respiração dos microrganismos heterotróficos, que decompõem o carbono orgânico do solo, contribui com uma fração substancial do fluxo de carbono para a atmosfera, e é muito influenciada pelas condições ambientais (Salazar-Villegas et al., 2016). A quantificação dos fluxos de CO₂ nos solos agrícolas é fundamental e serve igualmente como um indicador de qualidade do solo, pois influência não apenas a fertilidade e estrutura dos solos agrícolas, mas também as funções dos ecossistemas (Min et al., 2021).

Perante o atual cenário de alterações climáticas e dado a importância que a viticultura desempenha na região dos Vinhos Verdes, com 17188 ha de vinha declarada na campanha de 2020/2021, é fundamental compreender de que forma as condições ambientais e as alterações nos sistemas de produção tem impacto nos fluxos de carbono do solo para a atmosfera.

Consoante as condições ambientais são favoráveis ou não, os microrganismos alteram a sua atividade, o que lhes permite minimizar as taxas de metabolismo e respiração. No entanto, a maioria das abordagens atuais para quantificar a produção de CO₂ pelos microrganismos do solo, relacionam as respostas à biomassa total do solo e não diferenciam microrganismos em ativos não ativos. Assim, neste trabalho, pretendeu-se estudar a distribuição do carbono da biomassa microbiana ativa do solo (CBM) numa vinha na região dos Vinhos Verdes, entre a floração e a maturação, sob diferentes estratégias de rega.

Material e métodos

O presente trabalho decorreu numa vinha comercial de *Vitis vinifera*, da casta 'Loureiro', numa parcela com cerca de 5,5 hectares, localizada na freguesia de Calvelo, Ponte de Lima, integrando-se na sub-região do Lima, da Região Demarcada dos Vinhos Verdes (41°40'32.16" N; 8°32'06.21" W, altitude 175 m). A vinha foi plantada em 2001, com um compasso de 3,0 m x 2,0 m. A vinha é orientada norte-sul e a forma de condução é o cordão simples ascendente. A rega é efetuada através de um sistema de rega localizado (gota a gota), com o tubo 40 cm acima do solo e emissores autocompensantes de 4 L h⁻¹. A cobertura do solo é constituída por espécies espontâneas na entrelinha e na linha é efetuada a aplicação de herbicida. A monitorização do teor de humidade no solo, ao longo do ciclo vegetativo, foi realizada com a sonda portátil Diviner 2000®

em oito tubos de acesso por tratamento, previamente instalados.

Como parte de outro trabalho (Silva et al., 2021), foram considerados três tratamentos de rega, rega total (RT) em que se aplicou 100% da ET_c, rega deficitária (RD) onde se aplicou 50% ET_c e sem rega (SR). Nas modalidades de RC e RD a rega foi efetuada quando a humidade volumétrica do solo atingiu 70% da capacidade de campo. A rega teve início no dia 29 de junho e terminou no dia 11 de agosto. Na RC aplicaram-se 94 mm em 10 momentos de rega e na modalidade de rega deficitária aplicaram-se 32 mm em seis momentos de rega.

Em três datas do ciclo cultural da vinha, 22 de maio (D1), 1 de julho (D2) e 10 de setembro (D3), correspondentes às fases fenológicas de floração, bago de ervilha e maturação (Baggiolini et al., 1993), recolheram-se amostras de solo à profundidade de 0-20 cm, em cada estratégia de rega na linha (L) e na entre-linha (EL). Para cada estratégia de rega foram consideradas três repetições separadas na parcela. Na D2 e D3 colheu-se também uma amostra testemunha (T) numa área de floresta autóctone, que distava menos de 250 m da parcela. No mesmo dia da recolha, as amostras foram encaminhadas para o laboratório, foram mantidas à temperatura ambiente ($\pm 18^{\circ}\text{C}$), em sacos abertos até serem analisadas (prazo máximo de cinco dias).

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi avaliado pelo método da respiração induzida pelo substrato. Este método utiliza a resposta fisiológica da respiração dos organismos do solo à alteração do substrato, para fornecer uma estimativa do carbono da biomassa microbiana do solo (Joergensen, 1995). Em todos os tratamentos, aplicou-se glucose, numa razão de 4 mg g⁻¹ de solo, e o CO₂ libertado durante incubação das amostras em sistema fechado, durante quatro horas, a 22°C, foi capturado numa solução de NaOH e posteriormente titulado com HCl (Schinner et al., 1995). Assumindo um quociente respiratório de 1, 1mg CO₂ 100g⁻¹ solo corresponde a 20,6 mg de biomassa-C 100g⁻¹ solo.

Resultados e discussão

As características gerais do solo são apresentadas no quadro 1. O solo é um Regossolo com uma média de 70,2% de areia, 20,3% de limo e 9,5% de argila, a que corresponde uma classe de textura franco arenosa. O teor de matéria orgânica varia de médio a alto, entre a testemunha (5,27%) e o

solo de vinha (Santos, 2015). O pH do solo é muito ácido no controlo (4,37) e ácido nas restantes modalidades do solo de vinha (Santos, 2015).

Quadro 1 – Valores médios ($n=3$) das características do solo, nos 0-20 cm, na linha (L), na entre-linha (EL) nas modalidades de rega completa (RC), rega deficitária (RD), sem rega (SR) e no controlo (C).

Tratam.	pH	MO	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg
	(H ₂ O)	(%)		μg.g ⁻¹		
RC	L	4,90	4,18	16,0	111	48,0
	EL	5,05	3,55	5,50	146	80,0
RD	L	5,33	4,28	33,0	175	257
	EL	5,10	3,60	14,5	69,0	106
SR	L	5,43	3,63	22,5	120	190
	EL	5,15	2,40	2,50	86,0	133
C		4,37	5,27	18,0	61,0	93,7
						76,5

Como se pode observar na figura 1, na primeira data de amostragem o teor de água no solo não difere entre os tratamentos, uma vez que a rega só teve início no dia 30 de junho. Nas restantes datas, há diferenças significativas apenas entre as modalidades sem rega (SR) e rega deficitária (RD) com a rega completa (RC). Contrariamente ao esperado, na segunda e terceira data registou-se maior teor de água no solo na modalidade SR do que na modalidade de RD, que se prendeu com a microtopografia da parcela, em que alguns blocos da modalidade sem rega estavam em posição concava, com a consequente acumulação de água do escoamento superficial.

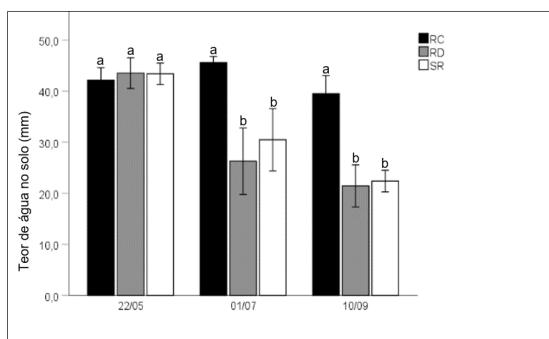


Fig. 1 – Teor médio de água no solo (mm), dos 0 aos 20 cm, na modalidade de rega completa (RC), rega deficitária (RD) e sem rega (SR), a 22 de maio, 01 de julho e 10 de setembro de 2020. Na mesma data, letras iguais não diferem significativamente ($p<0,05$) pelo teste de Tukey.

O CBM da testemunha é muito inferior ao solo de vinha, com diferenças significativas na segunda data (figura 2) mas sem diferenças entre as datas (dados não apresentados).

Relativamente à variabilidade temporal, há diferenças significativas ($p<0,05$) no CBM (figura 2) entre a segunda data e as restantes (tratamento estatístico não apresentado). Estas diferenças poderão estar relacionadas com o inicio da rega imediatamente antes da segunda amostragem (30 de junho) e a paragem a 11 de agosto (cerca de um mês antes da última amostragem). Entre datas, a temperatura do ar variou de 19,0°C, 21,5°C e 22,0°C, respetivamente.

A rega promove uma maior condutância estomática e fotossíntese que devem resultar numa maior alocação de fotoassimilados para as raízes, que poderão ser os responsáveis pelo aumento da BMMA (Hopkins et al., 2013).

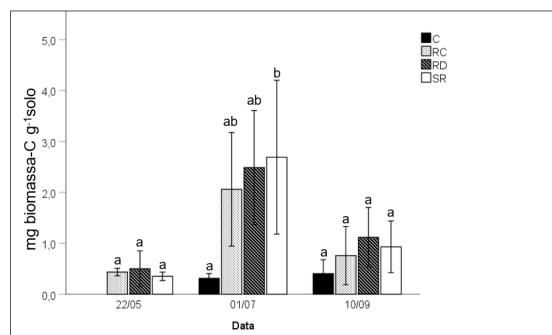


Fig. 2 – Carbono da biomassa microbiana dos 0 aos 20 cm num solo de vinha com rega completa (RC), rega deficitária (RD), sem rega (SR) e na testemunha (T), entre a floração e a maturação. Na mesma data, letras iguais não diferem significativamente ($p<0,05$) pelo teste de Tukey.

Em relação à variabilidade espacial, da primeira data para as restantes observou-se mais CBM na linha que na entre-linha, com um aumento de 0,35 para 2,50 mg biomassa-C g⁻¹ na linha e de 0,61 para 2,17 mg biomassa-C g⁻¹ na entre-linha.

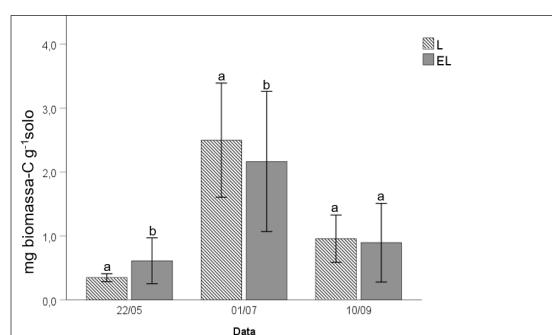


Fig. 3 – Carbono da biomassa microbiana dos 0 aos 20 cm num solo de vinha, na linha (L) e na entre linha (EL), entre a floração e a maturação. Na mesma data, letras iguais não diferem significativamente ($p<0,05$) pelo teste de Tukey.

Na segunda data há uma significativa ($p<0,05$), diminuição do CBM da linha para a entre-linha,

e o mesmo padrão mantém-se na terceira data, apesar de, nesta última, não haver diferenças significativas. Hernández-Montes et al., (2017) reportaram maior atividade respiratória na linha em relação à entre-linha que atribuíram a uma maior concentração de biomassa radicular e de densidade radicular na linha. A concentração, neste período, da passagem das máquinas agrícolas para os diferentes trabalhos na parcela causando elevada compactação também poderá ser responsável por esta alteração no CBM.

Pela análise da figura 1 e da figura 3 percebe-se que o CBM não é influenciado apenas pela disponibilidade hídrica, uma vez que não é na modalidade de rega completa que observamos maior biomassa microbiana.

Efetuaram-se correlações entre as características do solo e os resultados do CBM, não se tendo registado nenhuma correlação estatisticamente significativa.

Conclusões

Neste trabalho preliminar foi possível observar diferenças entre o CBM de um solo vitícola e um solo natural. No solo de vinha salientam-se as diferenças no CBM na fase fenológica bago de ervilha, coincidente com o início da rega. Em parte, registaram-se maiores valores de biomassa microbiana na linha que na entre-linha.

No seguimento deste trabalho será importante determinar o CBM ao longo de todo o ciclo vegetativo da vinha e a relação com outras práticas agrícolas, nomeadamente, com as fertilizações e incorporação de diferentes corretivos orgânicos ao solo.

Uma vez que o método de determinação do CBM é um método sensível a erros, por se tratar de um método que envolve titulações, será importante estudar que outros métodos podem ser aplicados para o estudo dos microrganismos metabolicamente ativos e, para a inclusão deste parâmetro em protocolos de avaliação de práticas de sustentabilidade do solo.

Bibliografia

Hopkins, F., Gonzalez-Meler, M.A., Flower, C.E., Lynch, D.J., Czimczik, C., Tang, J. and Subke, J.A. (2013) Ecosystem-level controls on root-rhizosphere respiration. *New Phytologist* 199, 339–351.

Joergensen, R.G. (1995). Microbial biomass. In Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry (pp. 375-417). Academic Press.

Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E. & Margesin, R. (1995). Methods in soil biology. New York: Springer-Verlag.

Silva, S. P., Valín, M.I., Mendes, S., Araujo-Paredes, C. & Cancela, J.J. (2021). Dual Crop Coefficient Approach in *Vitis vinifera* L. cv. Loureiro. *Agronomy* 11(2062). <https://doi.org/10.3390/agronomy11102062>

Salazar-Villegas, A., Blagodatskaya, E. & Dukes, J.S. (2016). Changes in the Size of the Active Microbial Pool Explain Short-Term Soil Respiratory Responses to Temperature and Moisture. *Front. Microbiol.* 7, 524. doi: 10.3389/fmicb.2016.00524

Baggiolini, M., Lorenz, H., Bleiholder, H., Stauss, R., Weber, E., Witzenberger, A., Hack, H., Bleiholder, H., Buhr, L., & al. (1993). Stades phénologiques repères de la vigne. *Arboric. Hortic.* 44, 7–9.

Hernández-Montes, E., Escalona, J. M., Tomás, M., & Medrano, H. (2017). Influence of water availability and grapevine phenological stage on the spatial variation in soil respiration. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23, 273– 279. doi: 10.1111/ajgw.12279.

Santos, J.Q., (2015). *Fertilização: Fundamentos da utilização dos adubos e corretivos*. Lisboa: Publindústria, Edições Técnicas.

Modelação do índice de fertilidade do 3-PG em função de características físicas e químicas do solo

Modeling the 3-PG fertility rating as a function of soil physical and chemical characteristics

Nunes, Jorge Delgado^{1*}, Oliveira, Tânia Sofia², Cortez, Nuno¹, Tomé, Margarida¹

¹ Centro de Estudos Florestais (CEF), Instituto Superior de Agronomia (ISA), Universidade de Lisboa (UL), Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal)

² RAIZ – Instituto de Investigação da Floresta e Papel, Herdade de Espirra, 2985-270, Pegões, Portugal

*jorgednunes@isa.ulisboa.pt

Resumo

Os modelos de base fisiológica são ferramentas científicas úteis, mas não têm sido usados frequentemente na gestão florestal, pois exigem dados detalhados de entrada e não fornecem os resultados necessários para a gestão. O 3-PG (Physiological Principles in Predicting Growth) é um modelo de base fisiológica desenvolvido com a intenção de fazer a ponte entre os modelos empíricos e os modelos de base fisiológica mais complexos. A fertilidade do solo é considerada por meio de um índice de fertilidade, o chamado FR (fertility rating), valor que varia entre 0 e 1, atribuído empiricamente de acordo com as características do local. Embora haja um conhecimento limitado da relação que existe entre o FR e propriedades do solo, alguns esforços têm sido feitos para desenvolver funções relacionando o FR e as características do solo.

O presente estudo procura desenvolver um modelo geral para prever o FR a partir das características do solo e testar a possibilidade de fazer o modelo 3-PG sensível a fertilizações.

Os resultados preliminares originaram modelos com um bom desempenho ao nível da parcela, mas a primeira tentativa de modelo generalizado não alcançou uma boa capacidade preditiva.

Os testes continuam a decorrer de maneira a melhorar a capacidade preditiva dos diferentes modelos.

Palavras-chave: 3-PG, índice de fertilidade, características do solo, nutrientes, adubação

Abstract

Process based models are useful scientific tools, but they have not been used frequently in forest management, as they require detailed input data with scarce results for management. The 3-PG (Physiological Principles in Predicting Growth) is a process-based model developed with the intention of bridging the gap between the empirical models and the more complex physiologically based models. Soil fertility is considered through a fertility index, the so-called FR (fertility rating), a value that varies between 0 and 1, empirically attributed according to the characteristics of the place. Although there is limited knowledge of the relationship that exists between FR and soil properties, some efforts have been made to develop functions relating FR and soil characteristics.

The present study seeks to develop a general model to predict FR from soil characteristics and to test the possibility of making the 3-PG model sensitive to fertilization.

Preliminary results resulted in models with good performance at the plot level, but the first attempt at a generalized model did not achieve good predictive capacity.

Tests continue to take place to improve the predictive capacity of the different models.

Keywords: 3-PG, fertility rating, soil characteristics, nutrients, fertilization

Introdução

O eucalipto é uma espécie de rápido crescimento, utilizada principalmente pela indústria de celulose. As árvores são plantadas à densidade final, uma vez que durante o primeiro ciclo de corte não se realizam operações de desbaste nem de poda. As parcelas são geridas de forma intensiva, geralmente em talhadia de rotação curta em que, ao primeiro ciclo de plântulas (caule único), se seguem 2 ou 3 cortes, com um intervalo médio de 10 a 12 anos (Soares & Tomé, 2001).

Cenários climáticos futuros, em resultado das previstas alterações climáticas, irão colocar ainda maiores desafios à satisfação da procura desta matéria-prima (Palma et al., 2021). O necessário incremento da produção desta matéria-prima, poderá ser obtido através do aumento da produtividade florestal, quer com recurso ao melhoramento genético, quer com o aperfeiçoamento dos procedimentos de silvicultura (Santos et al., 2013, citado por Oliveira, T:S. 2015).

Nos últimos anos, os modelos de base fisiológica têm vindo a ganhar importância na gestão florestal e, particularmente em Portugal, em povoamentos de eucalipto. De entre este tipo de modelos, a utilização do modelo 3-PG (Physiological Principles in Predicting Growth) em plantações de eucalipto (Elli et al., 2019, Feikema et al., 2010; Sands e Landsberg, 2002) tem tido um crescimento significativo.

O modelo 3-PG utiliza uma forma muito simples para expressar a fertilidade do solo, através de um índice de fertilidade, o chamado FR (Fertility Rating), variando o seu valor entre 0 e 1, avaliado de forma empírica e de acordo com as características do solo do local. O valor 0 corresponde a locais muito pobres e o valor 1 para locais nos quais não existe limitação nutricional ao crescimento. Landsberg et al. (2003) sugerem o uso de estudos dos solos para estimar o FR, mas esta metodologia coloca problemas de execução significativos. Embora haja um conhecimento bastante limitado da relação entre o FR e as propriedades do solo

(Landsberg et al., 2003), têm sido feitos esforços significativos para ligar os ciclos de nutrientes ao 3-PG, bem como no desenvolvimento de funções empíricas entre o FR e as características do solo.

O presente estudo tem como objetivo desenvolver um modelo geral para prever FR a partir das características do solo. Um objetivo adicional é o de tentar descobrir quais os nutrientes mais limitantes para o crescimento do eucalipto em povoamentos portugueses e testar a possibilidade de fazer o modelo 3-PG sensível a fertilizações.

Material e métodos

Os dados utilizados neste trabalho resultaram de um conjunto de ensaios realizados pela empresa ALTRI, para avaliar o efeito de diferentes esquemas de adubação no crescimento do *Eucalyptus globulus*. Os ensaios foram instalados em 5 propriedades diferentes da empresa, com o objectivo de incluir diferentes tipos de solos e regiões climáticas diversas. As propriedades encontram-se espalhadas pela área de distribuição desta espécie em Portugal (Fig. 1).

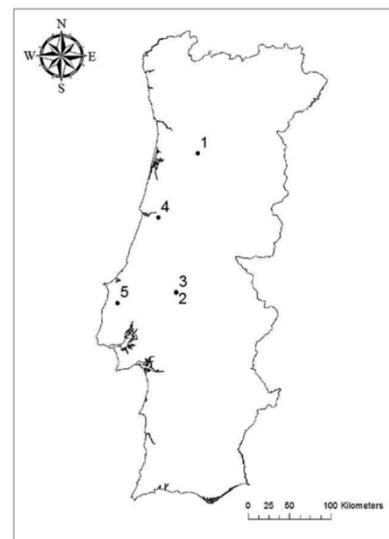


Fig. 1 – Localização dos ensaios da Altri.

Os tratamentos realizados nas diferentes propriedades compreenderam:

uma adubação com Foscamónio 7-21-21, a adubação operacional da empresa e varios testes de fertilização altenativos em função das condições dos diferentes locais.

Para cada tratamento foram feitas 6 repetições, totalizando 18 parcelas com 518,4 m² cada (6 x 12 plantas com compasso de 4 x 1,8 m). As parcelas tinham bordadura dupla e o número de plantas disponíveis para as medições de altura e diâmetro à altura do peito foi de 16 (Fig. 2).

Os ensaios foram instalados em diferentes talhões, com número variável consoante as explorações, com uma área útil por talhão de 9.331,2 m².

Na altura da plantação foi efectuada uma adubação, tendo sido realizadas previamente análises ao solo em cada parcela. Nos segundo e terceiro anos após a plantação, realizaram-se adubações de coberturas conforme os tratamentos descritos anteriormente.

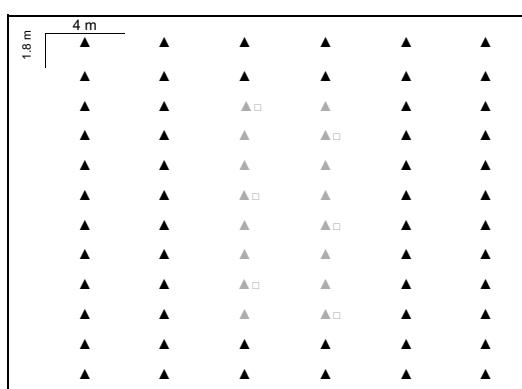


Fig. 2 – Esquema de uma parcela experimental. ▲ – árvores da bordadura; ▲ – árvores úteis; ▲□ – árvores para realização da colheita de folhas e de amostras solos na entrelinha.

A altura e o diâmetro à altura do peito das árvores de cada uma das parcelas foram medidos anualmente dos 2 aos 9 anos. O estado nutricional das plantas foi avaliado anualmente até aos 5 anos de idade das árvores. Simultaneamente com a colheita de folhas, foram retiradas amostras de solo a meio da entrelinha, junto às mesmas árvores. As amostragens foram efectuadas às profundidades 0-15 e 15-30 cm. As amostras simples de solo

foram agrupadas numa amostra composta por parcela, constituída por 2 partes da amostra de 0-15 cm e 1 parte da amostra de 15-30 cm.

Nas amostras de solo efectuadas antes da fertilização, foram determinadas as percentagens de areia, limo e argila para cada amostra, bem como os seguintes parâmetros químicos: pH (H₂O e KCl), % de M. O., P e K pelo método Egner-Riehm, catiões não ácidos (Ca, Mg, K e Na), acidez de troca, Al de troca e a CTC a pH 7. Foram ainda determinados o Cu, o Fe, o Mn, e o Zn, pelo método de Lakanen e o B por extracção com H₂O.

Para o período temporal de crescimento dos diferentes povoamentos objecto do presente estudo, foram utilizados os dados climáticos disponíveis nas diferentes fontes. Com base na rede de estações climatológicas disponíveis seleccionaram-se as situadas o mais próximo possível das 5 explorações e que apresentavam valores de altitude semelhantes.

Para a estimativa e modelação do FR das diferentes parcelas, utilizou-se o 3-PG a correr em Visual Basic para aplicações com o Add-ins para EXCEL, disponível no site <https://3pg.forestry.ubc.ca/software/>, utilizando os valores dos parâmetros para povoamentos de eucalipto em Portugal determinados por Fontes et al. (2006).

Em primeiro lugar ir-se-á estimar os valores de FR correspondentes a cada parcela, por comparação entre os valores de biomassa observados e os estimados, assumindo-se que o FR não varia com o tempo. O valor de FR irá sendo modificado até se chegar a um valor que origine valores de biomassa estimada mais próximos dos valores observados.

Para a modelação do FR pretende-se avaliar o recurso a diferentes técnicas de regressão linear, por forma a tentar modelar o valor deste índice, em função dos diferentes parâmetros físicos e químicos avaliados para os solos das várias parcelas/talhões, que melhor estime os valores de biomassa comparativamente com os valores observados. Adicionalmente, pretende-se modelar o

valor do FR para a totalidade das situações.

Resultados e discussão

Os resultados preliminares dos modelos desenvolvidos para cada um dos 5 sítios apresentaram um bom desempenho (com R^2 entre 0,24 e 0,97, pequeno viés e alta precisão), mas o modelo generalizado não alcançou uma capacidade preditiva tão alta ($R^2=0,34$).

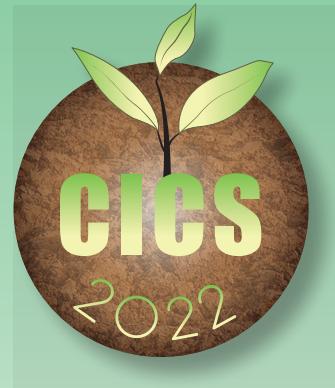
Encontram-se a decorrer diversas avaliações e cooreções com o objectivo de melhorar os resultados obtidos, permitindo uma melhoria significativa dos modelos a desenvolver.

Agradecimentos

A permissão para o uso dos dados da ALTRI Florestal foi fundamental para a realização deste trabalho, bem como todo o apoio dos seus técnicos, nomeadamente o Engº Luis Fontes.

Referências bibliográficas (

- Elli, E.F., Sentelhas, P.C., Freitas, C.H., Carneiro, R.L., Alvares, C.A. (2019). Intercomparison of structural features and performance of *Eucalyptus* simulation models and their ensemble for yield estimations. *Forest Ecology and Management*. 450: 117493.
- Feikema, P.M., Morris, J.D., Beverly, C.R., Collopy, J.J., Baker, T.G., Lane P.N.J. (2010). Validation of plantation transpiration in south-eastern Australia estimated using the 3PG+ forest growth model. *Forest Ecology and Management*. 260: 663-678.
- Landsberg, J.J., Waring, R.H., Coops, N.C. (2003) Performance of the forest productivity model 3-PG applied to a wide range of forest types. *Forest Ecology and Management*. 172: 199–214.
- Oliveira, T.S. (2015). Models to support *eucalyptus* plantations management under a changing environment. Tese de Doutoramento em Engenharia Florestal e dos Recursos naturais, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Palma, J.H.N., Hakamada, R., Moreira, G.G., Nobre, S., Rodriguez, L.C.E. (2021). Using 3PG to assess climate change impacts on management plan optimization of *Eucalyptus* plantations. A case Study in Southern Brazil. *Nature-Scientific Reports*, 11: 2708.
- Sands, P. J., Landsberg, J. J. (2002). Parameterisation of 3-PG for plantation grown *Eucalyptus globulus*. *Forest Ecology and Management*. 163: 273-292.
- Santos, P.M., Soares, P., Mendes, A.M.S.C., Caldeira, B., Praxedes, J., Brígido, S., Pina, J.P., Paulo, J.A., Tomé, M., Barreiro, S., Palma, J.H.N., Borges, J.G.C., Garcia-Gonzalo, J., Sotomayor, M. (2013). Estudo prospectivo para o setor florestal - relatório final. AIFF - Associação para a Competitividade da Indústria da Fileira Floresta
- Soares, P. & Tomé, M. (2003). GLOBTREE: an Individual Tree Growth Model for *Eucalyptus globulus* in Portugal. In: Amaro, A., Reed, D., Soares, P. (Eds.), *Modelling forest systems*. CAB International, pp. 97-110.



Solos e temas ambientais

Comunicações orais

Agricultura de Conservación: Impacto en la Disipación de Herbicidas

Conservation Agriculture: Impact on the Dissipation of Herbicides

Douibi, Marwa¹; Carpio, María José¹; Sánchez-Martín, María Jesús¹; Rodríguez-Cruz, María Sonia¹; Marín-Benito, Jesús María^{1*}

¹ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC), Cordel de Merinas 40-52, 37008 Salamanca, España.

*jesusm.marin@irnasa.csic.es

Resumen

La acumulación de restos vegetales en la superficie de suelo (mantillo) y el no laboreo del suelo representan una práctica agrícola de conservación del suelo frecuente que puede modificar la disipación de los herbicidas que se aplican en estos sistemas agrícolas. El objetivo de este trabajo fue estudiar a escala de campo: i) la disipación de los herbicidas S-metolacloro (SMOC), foramsulfuron (FORAM) y tiencarbazona-metil (TIEN), ii) la formación de metabolitos, y iii) la actividad deshidrogenasa (DHA) del suelo bajo prácticas de laboreo tradicional (LT) y de conservación (NL) en un suelo agrícola con dos contenidos diferentes en carbono orgánico (CO) superficial (S1 y S2). La disipación de los herbicidas fue más rápida en los suelos con NL que en los suelos LT teniendo lugar mayoritariamente en la superficie del mantillo. Los tiempos de vida media (DT_{50}) bajo los diferentes tratamientos variaron entre 1,7-30,2 (SMOC), 3,7-8,8 (FORAM) y 5,2-25,2 (TIEN) días. La menor cantidad de metabolitos observada en los suelos bajo NL coincidió con la menor cantidad de herbicidas que llegó a la superficie de estos suelos resultado de su interceptación parcial por el mantillo. La DHA fue mayor en los suelos no tratados con herbicida y bajo NL.

Palabras clave: disipación, herbicida, suelo, agricultura de conservación, campo.

Abstract

The accumulation of crop residues on the soil surface (mulch) and no-tillage of the soil represent a current agricultural practice for soil conservation that can modify the dissipation of herbicides applied in these agricultural systems. The objective of this work was to study at field scale: i) the dissipation of the herbicides S-metolachlor (SMOC), foramsulfuron (FORAM) and thiencarbazone-methyl (TIEN), ii) the formation of metabolites, and iii) the soil dehydrogenase activity (DHA) under traditional (LT) and conservation (NL) tillage practices in an agricultural soil with two different surface organic carbon (CO) contents (S1 and S2). Herbicide dissipation was faster in NL than in LT soils, taking place mainly on the mulch surface. The half-lives (DT_{50}) under the different treatments varied between 1.7-30.2 (SMOC), 3.7-8.8 (FORAM) and 5.2-25.2 (TIEN) days. The lower amount of metabolites observed in the soils under NL agreed with the lower amount of herbicides that reached the soil surface as a result of their partial interception by the mulch. Soil DHA was higher in soils untreated with herbicide and under NL.

Keywords: dissipation, herbicide, soil, conservation agriculture, field.

Introducción

La aplicación de herbicidas para el control de las malas hierbas en los sistemas de laboreo de conservación del suelo caracterizados por el no laboreo, la siembra directa, el uso de cultivos de cobertura y la acumulación de sus residuos de cosecha en la superficie de suelo (mantillo) es una práctica agrícola frecuente. Los cambios físicos, químicos y biológicos que experimenta el suelo bajo estas prácticas de laboreo de conservación pueden modificar fuertemente la disipación de los herbicidas con respecto a la que experimentan en un sistema de laboreo tradicional con la interceptación de los herbicidas por el mantillo jugando un papel adicional y fundamental en este proceso (Carpio et al., 2022). La influencia de estas prácticas agrícolas de conservación en la disipación de los herbicidas ha sido mayoritariamente evaluada mediante estudios de laboratorio siendo poco frecuentes este tipo de estudios a escala de campo (Cassagneul et al., 2018).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el impacto de prácticas agrícolas de conservación del suelo en la disipación de los herbicidas SMOC, FORAM y TIEN. Se evaluó la cinética de disipación de estos compuestos y la formación de metabolitos en un suelo agrícola a escala de campo bajo prácticas de laboreo tradicionales y de conservación durante un ciclo de maíz. Se determinó también la DHA en cada uno de los tratamientos para analizar el efecto de los herbicidas y el tipo de práctica agrícola en la actividad microbiana del suelo.

Material y métodos

Herbicidas

Los herbicidas estudiados (SMOC, FORAM y TIEN) se consideran no persistentes en el suelo con valores de DT₅₀ inferiores a 23,2 días a escala de campo. Su solubilidad en agua es 0,480, 3,3 y 0,436 g L⁻¹, y el potencial de lixiviación (índice GUS) es 2,32, 2,95 y 2,46 para SMOC, FORAM y TIEN, respectivamente. Los metabolitos analizados fueron los ácidos etanosulfónico (SMOC-ESA) y oxánílico (SMOC-OA) del SMOC, y el 4,6-

dimetoxipirimidin-2-amina (metabolito FORAM). La solubilidad en agua de SMOC-ESA, SMOC-OA y metabolito FORAM es de 212, 360 y 5,5 g L⁻¹, y su índice GUS 7,22, 6,88 y 1,21, respectivamente (PPDB, 2022).

Experimento de campo

El estudio de campo se llevó a cabo en parcelas experimentales de 81 m² ubicadas en la finca experimental Muñovela del IRNASA-CSIC (Salamanca, España). El diseño consistió en un total de 16 parcelas experimentales distribuidas al azar entre 4 tratamientos, resultantes de la combinación de 2 sistemas de laboreo y 2 suelos diferentes, y cada una de ellas con 4 repeticiones. Los suelos corresponden a un único suelo agrícola de textura franco arenosa, pero con distinto contenido en CO superficial (S1, 0,7%, y S2, 1,2%). Los sistemas de laboreo corresponden a un laboreo tradicional con cultivador (25-28 cm) (S1+LT y S2+LT) y al no laboreo del suelo (S1+NL y S2+NL) en un sistema de monocultivo de maíz. La siembra de maíz se realiza mediante siembra directa sobre suelo desnudo en las parcelas S1+LT y S2+LT mientras que en las parcelas S1+NL y S2+NL se realiza sobre los restos vegetales (mantillo) de trigo de invierno que se sembró como cultivo de cobertura durante el período de barbecho y que una vez destruido químicamente con glifosato y cortado se depositó sobre la superficie del suelo cubriendo más del 85% de ésta.

Los herbicidas (formulaciones comerciales) se aplicaron manualmente con un pulverizador acoplado a una mochila de espalda en pre-emergencia del maíz en junio de 2021 a las dosis de 0,993 (SMOC), 0,800 (FORAM) y 0,254 (TIEN) kg i.a. ha⁻¹. La aplicación se realizó en 8 parcelas (2 réplicas por tratamiento) mientras que otras 8 parcelas (2 réplicas por tratamiento) no fueron tratadas con los herbicidas para ser utilizadas como suelos control en el estudio microbiológico.

Estudio de disipación y microbiológico

Se tomaron muestras superficiales de suelo (0-10 cm) a 18 tiempos diferentes entre 1 y 153 días después de la aplicación de los

herbicidas (d.d.a.). Las muestras de cada parcela (10) se mezclaron, tamizaron (< 2 mm) y se congelaron a -18°C hasta la extracción y análisis de los herbicidas.

La extracción y concentración de los herbicidas/metabolitos de las muestras de suelo se realizó siguiendo los métodos descritos por Carpio et al. (2021). La determinación analítica de los herbicidas y metabolitos se llevó a cabo mediante UPLC-QTOF-MS (Agilent Technologies, Avondale, AZ, USA). Se utilizó una columna Zorbax® Eclipse Plus C18 (50 × 2,1 mm, 1,8 µm) de Agilent mantenida a 30°C. El gradiente de trabajo para la separación y cuantificación óptima de todos los compuestos fue: 1) 0 – 0,25 min: 95% de agua + 0,1% de ácido fórmico (A) y 5% de acetonitrilo (B); 2) 0,25 – 2,5 min: 55% A y 45% B; 3) 2,5 – 3,5 min: 100% B; 4) 3,5 – 4 min: 95% A y 5% B. La velocidad de flujo fue 0,4 mL min⁻¹. El espectrómetro de masas operó en modo Dual AJS ESI con ionización en positivo. Se cuantificó el ion molecular positivo [m/z] [M]⁺ 156,08 (metabolito FORAM), 330,14 (SMOC-ESA), 280,15 (SMOC-OA), 284,14 (SMOC), 391,04 (TIEN), y 453,12 (FORAM), y los tiempos de retención fueron 1,45, 2,58, 3,20, 3,81, 3,18 y 2,90 min, respectivamente.

Las cinéticas de disipación de los herbicidas se ajustaron a un modelo cinético de primer orden (SFO) o primer orden multicompartmental (FOMC) y se calcularon los valores de DT₅₀ de los herbicidas para cada uno de los tratamientos ensayados (FOCUS, 2006).

La DHA del suelo en cada uno de los tratamientos ensayados se determinó en muestras de suelo (<2 mm) frescas muestreadas a 0, 34 y 152 días d.d.a. usando el método descrito por Tabatabai (1994).

Resultados y discusión

Las cinéticas de disipación de SMOC se ajustaron mejor a un modelo cinético SFO en el S1 bajo los dos tipos de laboreo ensayados mientras que en el S2 lo hicieron a un modelo cinético FOMC. El modelo cinético SFO describió mejor la cinética de disipación de FORAM y TIEN

en los dos suelos bajo laboreo tradicional, mientras que las cinéticas de disipación de ambos compuestos se ajustaron mejor al modelo cinético FOMC bajo el laboreo de conservación en los dos suelos. En la Tabla 1 se incluyen los valores de DT₅₀ para los 3 herbicidas en ambos suelos bajo laboreo tradicional y de conservación.

Estos valores mostraron el mismo orden de disipación en los dos suelos con laboreo tradicional (SMOC < TIEN < FORAM) con valores de DT₅₀ siempre mayores en S2+LT que en S1+LT. Este orden de disipación está de acuerdo con los valores de los coeficientes de distribución (K_d) determinados en el laboratorio a una concentración de equilibrio (C_e) de 25 mg L⁻¹ mediante la técnica batch en equilibrio (Tabla 1). La mayor adsorción de los herbicidas en el suelo con el mayor contenido en CO (S2) disminuyó su biodisponibilidad para ser degradados y/o movilizados a horizontes más profundos del suelo.

El orden de disipación de los herbicidas en los suelos bajo laboreo de conservación fue más heterogéneo que el observado en los suelos con laboreo tradicional (TIEN < SMOC ≈ FORAM en el S1+NL, y TIEN ≈ FORAM < SMOC en el S2+NL) resultado posiblemente de la alta superficie de suelo cubierta por el mantillo (>85%) y del distinto grado de homogeneidad en la distribución del mantillo en la superficie de estos suelos que condicionó la cantidad de herbicidas que alcanzó la superficie del suelo (13-43%) respecto a la dosis aplicada. La disipación de los 3 herbicidas fue más rápida en S1+NL y S2+NL que en los suelos bajo laboreo tradicional, aunque hay que destacar que más del 56% de la disipación de los compuestos tuvo lugar en el mantillo. Este comportamiento también ha sido observado por otros autores en estudios de laboratorio (Cassagneul, et al., 2018). Los valores de DT₅₀ de los herbicidas disminuyeron entre 5,2-17,8 (SMOC), 1,4-1,7 (FORAM) y 2,8-48 veces en los suelos con mantillo en comparación con el correspondiente suelo sin mantillo.

Tabla 1 – Vidas medias (DT_{50} , días) y coeficientes de distribución (K_d , $mL\ g^{-1}$) de los herbicidas en los suelos bajo laboreo tradicional y de conservación.

Tratamiento	SMOC		FORAM		TIEN	
	DT_{50}	K_d	DT_{50}	K_d	DT_{50}	K_d
S1+LT	20,9	1,34	5,0	-	18,7	0,01
S1+NL	4,0		3,7		6,6	
S2+LT	30,2	2,00	8,8	0,09	25,2	0,40
S2+NL	1,7		5,1		5,2	

Los 3 metabolitos analizados fueron detectados en los extractos de suelo de todos los tratamientos durante el experimento de disipación. Las cantidades de metabolitos detectadas fueron siempre mayores en los suelos bajo laboreo tradicional que en los suelos con laboreo de conservación de acuerdo con la mayor cantidad del correspondiente herbicida aplicado que alcanzó el suelo bajo el tratamiento sin mantillo. El metabolito SMOC-ESA fue detectado siempre en cantidades más altas que el SMOC-OA aunque fue el metabolito FORAM el que se detectó en mayor proporción respecto a la dosis de herbicida añadida.

La DHA disminuyó en los suelos tratados con los herbicidas en comparación con los respectivos controles (sin herbicidas) a los 3 tiempos analizados, aunque esta disminución fue sólo significativa ($p<0.05$) en el S1+NL a $t=0$ y 34 días. La DHA fue mayor en los dos suelos en condiciones de no laboreo que bajo laboreo tradicional a los 3 tiempos de estudio debido posiblemente a la mayor población microbiana del suelo (Gil Ribes, et al., 2017).

Conclusiones

Las cinéticas de disipación de los herbicidas SMOC, FORAM y TIEN en suelos bajo prácticas de laboreo tradicional y de conservación pusieron de manifiesto el fuerte impacto de la presencia del mantillo en la disipación de los herbicidas. El mantillo, donde tuvo lugar más del 50% de la disipación de los herbicidas, aceleró este proceso en comparación con lo observado en los suelos con laboreo tradicional. La aplicación de los herbicidas

disminuyó la DHA de los suelos mientras que se vio potenciada en los suelos bajo condiciones de no laboreo.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por MCIU/AEI/FEDER, UE (Proyecto RTI2018-101587-J-I00). Se agradece al proyecto “CLU-2019-05 – Unidad de Excelencia IRNASA-CSIC”, financiado por la Junta de Castilla y León y cofinanciado por la Unión Europea (FEDER “Europa impulsa nuestro crecimiento”). María José Carpio agradece a la Junta de Castilla y León por su contrato predoctoral cofinanciado por el Fondo Social Europeo. Marwa Douibi agradece al Ministerio de Educación Superior del Gobierno de Argelia por su beca predoctoral.

Referencias

- Carpio, M. J., Douibi, M., Sánchez-Martín, M. J., Rodríguez-Cruz, M. S., & Marín-Benito, J.M. (2021). Disipación de herbicidas en campo: Agricultura conservación vs. agricultura convencional. In: *Solos e Desenvolvimento Sustentável: Desafios e Soluções* (pp. 310-316). Porto: U. Porto Press.
- Carpio, M. J., Rodríguez-Cruz, M. S., Sánchez-Martín, M. J., & Marín-Benito, J. M. (2022). Pesticide fate in soils under different agricultural management practices. In: *Pesticides in soils. Ocurrence, fate, control and remediation* (pp.251-286). The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 113. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Cassagneul, A., Benoit, P., Nobile, C., Bergheaud, V., Dumeny, V., Etiévant, V., Maylin, A., Justes, E., & Allot, L. (2018). Behaviour of S-metolachlor and its oxanilic and ethanesulfonic acids metabolites under fresh vs. partially decomposed cover crop mulches: a laboratory study. *Science Total Environment*, 631–632, 1515–1524.
- FOCUS (2006). Guidance Document on estimating persistence and degradation kinetics from environmental fate studies on pesticides in EU registration. Report of the FOCUS work group on degradation kinetics. EC Documents Reference Sanco/10058/2005 version 2.0.
- Gil Ribes, J. A., Ordóñez Fernández, R., González Sánchez, E. J., Veroz González, O., Gómez Ariza, M. & Sánchez Ruiz, F. (2017). *Beneficios de la agricultura de conservación en un entorno de cambio climático*. Córdoba: AEACSV.
- PPDB (2022). Pesticide Properties Data Base. University of Hertfordshire. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>. [consulta: 15 marzo 2022].
- Tabatabai, M.A. (1994). Soil enzymes. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2-Microbiological and Biochemical Properties* (pp. 903–947). Madison, WI, USA: SSSA.

Rehabilitation of sulfide tailings through designed Technosol and microbial-inoculant

Reabilitação de escombreiras de sulfuretos através de Tecnossolo e inóculo microbiano

Santos, Erika^{1*}, Patrasc-Lungu, Adelaida², Nogales, Amaia¹, Abreu, Maria Manuela¹, Arán, Diego^{1,3}

¹Universidade de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food Research Center, Associated Laboratory TERRA, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal.*erikasantos@isa.ulisboa.pt

²Universidade de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal

³Inproyen Consulting, Lugo 18, 15840 Santa Comba (A Coruña), Spain

Abstract

The implementation of pastures or herbaceous intercropped with non-food autochthonous plants to extract high-added value compounds is a promising option for improving both the environmental and the economic sustainability of the active mining areas. The continuous generation of acid mine drainage and the physico-chemical characteristics of sulfide tailings make impossible the germination and development of plant covers, and therefore, an essential step in the environmental rehabilitation is the physico-chemical improvement of these materials. This study assessed, in a batch assay, the acid neutralization capacity of a designed Technosol applied to sulfide tailings at different applications rates. The best proportion was used subsequently in microcosm assay under greenhouse conditions, where herbaceous species were sown. Three treatments were established: sulfide tailings with a microbial inoculant (MI); Technosol+sulfide tailing with and without MI. The MI included a micorrhizal fungi +Trichoderma. In sulfide tailings with the MI no germination occurred. Significant improvement of physico-chemical properties of the sulfide tailing and their leachates were obtained with Technosol application (e.g. increase of fertility and pH, decrease of the contaminants available fraction). The Technosol also allowed the development of a vigorous herbaceous cover without visual phytotoxic symptoms that can valorize the mining areas through a new land use. The production of herbaceous biomass was similar designed Technosol with or without MI.

Keywords: Herbaceous cover, Land use, Phytostabilization, Trichoderma, Arbuscular mycorrhizal fungi

Resumo

A implementação de pastagens ou intercropping de herbáceas com plantas autóctones não alimentícias para depois extrair compostos de valor acrescentado uma opção promissora para melhorar a sustentabilidade ambiental e económica de áreas mineiras em actividade. A contínua geração de drenagem ácida e as características físico-químicas das escombreiras de sulfuretos impossibilitam a germinação e o desenvolvimento das coberturas vegetais logo, uma etapa essencial na reabilitação ambiental é a melhoria físico-química destes materiais. O presente estudo avaliou, num ensaio de batch, a capacidade de neutralização de ácidos de um Tecnossolo aplicado, a diferentes proporções, a materiais de uma escombreira de sulfuretos. A melhor proporção usou-se posteriormente num ensaio em microcosmo em estufa, onde se semearam espécies herbáceas. Realizaram-se três tratamentos: Escombreira com inóculo microbiano; Tecnossolo+escombreira com e sem inóculo microbiano. O inóculo microbiano incluiu um fungo micorrízico+Trichoderma. Na escombreira com inóculo microbiano não ocorreu germinação. Significativas melhorias nas características físico-químicas da escombreira e seus lixiviados obtiveram-se com a aplicação do Tecnossolo. O Tecnossolo também permitiu o desenvolvimento de uma vigorosa cobertura herbácea sem sinais visíveis de fitotoxicidade, que pode valorizar a área mineira através de um novo uso do solo. A produção de biomassa foi semelhante com e sem inóculo microbiano na Escombreira com Tecnossolo.

Palavras-chave: Cobertura herbácea, Uso do solo, Fitoestabilização, Trichoderma, Fungo micorrízico

Introduction

Nowadays, it is essential that the strategies for closing tailings deposits and recovering of other areas with contaminated soils are based on sustainability, allowing cost reduction during and after the mine closure. Thus, sustainable planning of mining areas must include its rehabilitation to other land uses which promote the regional socio-economic valorisation. The implementation of pasture or intercropping with non-food autochthonous plants with added value is a promising option (Arán et al., 2021, 2020; Santos et al., 2020, 2018).

The inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and other beneficial soil-borne microorganisms (e.g. Trichoderma) has become a popular technique that can improve the fitness of diverse plant species under stress conditions (Coninx et al., 2017; Fernández-Fuego et al., 2017), and consequently, the environmental recovery of degraded areas. Nonetheless, the germination and development of a plant cover, even with autochthonous species, directly on mine tailings generators of acid drainage is impossible (Santos et al., 2016). Therefore, an essential part in environmental rehabilitation plan is the chemical improvement of tailing materials and their leachates in order to support a plant cover which will also contribute to the environmental recovery processes (Arán et al. 2021, Santos et al., 2016).

Previous studies, under greenhouse and field conditions, already explored ways to improve bio-physico-chemical properties of sulfide mine tailings and the biomass yield of several plant species (e.g. Arán et al., 2021, 2020; Santos et al., 2018).

In this context, the current experiments aimed to advance the knowledge about the recovery and valorization of mining areas and agro-industrial wastes by the implementation of productive crops. The current study focuses on the effect of a designed Technosol with/without microbial inoculant (arbuscular mycorrhizal fungus+Trichoderma) on environmental

rehabilitation of sulfide tailings and their leachates as well as herbaceous cover development for pasture or intercropping with aromatic and medicinal plants.

Material and methods

Composite samples of a sulfide tailing with a fine texture were collected, in a deposit from Aznalcollar mining area (Los Frailes Mining Company, S of Spain, Seville province), and analysed chemically in order to evaluate the key needs to be recovered. For the elaboration of the designed Technosol, several agro-industrial wastes, namely from pulp paper industry, were used.

The proportion of Technosol applied to sulfide tailing was evaluated, in batch assay under controlled conditions, through its mixture in increasing doses ($m:m$) and the monitoring of pH and electric conductivity in water (1:20; $m:V$) along the time (from 10 min until 48 h). After selection of the application rate of Technosol, a microcosm assay (≈ 3 kg of material per pot) was carried out, under controlled and greenhouse conditions. Three treatments were established ($n=6$, 18 pots in total): sulfide tailing with MI; Technosol+sulfide tailing with MI, and Technosol+sulfide tailing without MI. The Technosol and the sulfide tailing were mixed manually. One month after incubation of the materials, ≈ 13 g/plot of a commercial mixture of herbaceous species (graminaceous and legumes) were sown and a commercial MI (mixture of mycorrhizal fungus *Rhizoglomus irregularare* and Trichoderma) was applied. All pots were maintained at 70% of water-holding capacity under greenhouse-controlled conditions for eight months. Two rounds of biomass collection were conducted in consecutive order: five and eight months after sowing. During the assay, visual aspects and plant cover development were monitored and, at each sampling, dry shoot biomass of the herbaceous plants was evaluated.

Germination tests in filter paper ($n=6$) for the herbaceous mix used in the pot assay

were conducted in a growth chamber, under the conditions of 16 h of light at 25 ± 1 °C and 8 h of darkness at 20 ± 1 °C. The germination rate was determined for 17 days being the criterion of germination the emergence of a radicle.

The Technosol, sulfide tailing and Technosol+sulfide tailing (fractions <2 mm) were characterized for: pH, Eh and electrical conductivity (1:2.5 m:V); extractable P (Olsen method); total N (LECO analyser), organic C by wet digestion (Springer & Klee, 1954) and cation exchange capacity (Peech et al., 1947). Multielemental concentration was determined by ICP-MS in pseudototal fraction (Aqua regia extraction) and simulated pore water.

Results and discussion

Sulfide tailings presented acid and oxidant conditions ($\text{pH} \approx 2.7$ and 468 mV) and small fertility characterised by very low concentrations of organic C (<2 g/kg), total N (0.2 g/kg) and extractable P (0.4 mg/kg). Furthermore, total concentrations of several potentially hazardous elements (PHE) exceeded the maximum admissible values for distinct land uses (g/kg – S: 60.1, Fe: 54.1, Cu: 0.16, Zn: 1.3, As: 0.63, Sb: 0.04, Pb: 4.1). The high reactivity of these materials contributed to acid leachates ($\text{pH} \approx 2.6$) rich-in sulfates (2.2 g/L) and same PHE.

Taking into account the reactivity and chemical characteristics of sulfide tailings and their leachates as well as the fact that these materials cannot support a productive plant cover, the Technosol was designed, especially, with alkaline ($\text{pH} \approx 9.4$) and eutrophic properties. Through batch assay, it was confirmed the high acid neutralization capacity of the Technosol along the time even with small application rates (Fig. 1).

Based on batch assay, the ratio of 1:2.5 (Technosol:sulfide tailing) was deemed to present stabilized and most suitable pH and electric conductivity levels for the plant species to be used in the crop system (e.g. with medicinal and aromatic

properties) and future valorization of their high-value extracts. This particular ratio presented pH gradually increasing from 5.63 to 6.72 (Fig. 1) and a sudden drop in electric conductivity after one hour followed by its stabilization ≈ 4 dS/m.

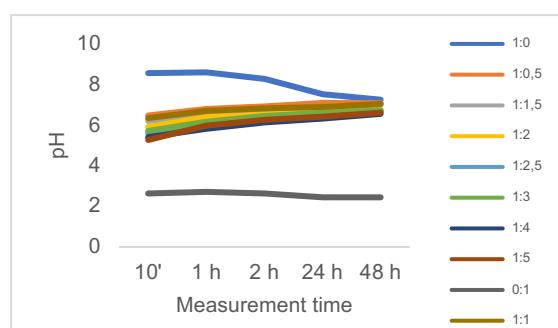


Fig. 1 – Evolution of pH for different proportions Technosol and Sulfide tailings (labels on the right represent the ratios).

The designed Technosol improved chemical characteristics having positive recovery impacts on sulfide tailings. After one month of incubation, this material reached a pH value of 8.30 with Technosol application compared to 2.75 in the Sulfide tailings, indicating the maintenance of acid neutralization capacity of the Technosol. The Technosol also contributed to an improvement in organic C concentration, reaching 18.55 g/kg, and availability of nutrients (e.g. Ca, K, P, N; increases between 1.5 and >10-folds in simulated pore water depending on element and compared to sulfide tailing). Moreover, PHE concentrations, such as As, Fe, Cu, Pb, Zn, in pore waters were largely decreased with Technosol (>19-fold for As and Pb, >71-fold for Cu, >1124-fold for Zn, and >2850-fold for Fe), compared to those from sulfide tailing (mg/L - As: 13.5, Fe: 342, Cu: 38.5, Pb: 19.3, Zn: 506).

After 17 days, the germination rate in filter paper of the commercial herbaceous mixture was small, ranging between 18.9% and 22.6%. These data recommend the use of a greater amount of seeds for obtaining a more or less dense vegetation cover.

The pot assay was crucial in testing whether inoculation applied to the herbaceous cover was sufficient or not. In sulfide tailing, no germination occurred

while in treatments with Technosol application it was similar to the one obtained in germination test with filter paper. Visual observations of the herbaceous biomass indicated no signals of phytotoxicity or nutritional deficiencies such as unusual colors, deformations or irregularities in the leaves' resistance.

No significant differences in the biomass yields, based on inoculation in either of the two growth cycles, were obtained. However, non-inoculated pots presented higher variability in the biomass yield. In the first growth cycle, inoculated plant pots produced 0.66 ± 0.45 g/pot while in non-inoculated plant pots it was 0.87 ± 0.89 g/pot. In the second crop, biomass yields in both treatments increased and intra-variability decreased (g/pot, inoculated: 0.91 ± 0.25 , non-inoculated: 1.07 ± 0.47).

Conclusion

Carefully selecting and combining wastes, which complement each other's properties, for the elaboration of designed Technosols is a valuable and efficient way for the rehabilitation and valorization of sulfide tailing deposits to productive areas, as well as for agro-industrial waste valorization. The designed Technosol contributed to a significant improvement in several physico-chemical properties of sulfide tailings and their leachates, allowing the germination and development of a vigorous herbaceous plant cover without visual symptoms of phytotoxicity and nutritional deficiencies. The obtained data is important since that tailing deposit could be valorized to pasture or herbaceous intercropped with plants with added value.

The influence of the selected microbial-inoculant treatment was not evident on the improvement of the biomass yield in the sulfide tailing recovered in the Technosol. Future analyses are ongoing to also determine the phytostabilization effects and potential impact of the microbial-inoculant on elementar composition of the biomass.

Acknowledgment

The authors thank: Minera Los Frailes for technical cooperation and providing access to the study area and field samples; Navigator Company and Atens for providing the pulp paper wastes and microbial-inoculant, respectively. This research was supported by Fundação para a Ciência e Tecnologia within the scope of the LEAF project UID/AGR/04129/2020 (Project Non-foodCropMine).

References

- Arán, D., Santos, E.S., Abreu, M.M., Antelo, J., & Macías, F. (2021). Use of combined tools for effectiveness evaluation of tailings rehabilitated with designed Technosol. *Environmental Geochemistry and Health*, 1–17. Doi: 10.1007/S10653-021-01118-3
- Arán, D., Santos, E., Abreu, M.M., Antelo, J., & Macías, F. (2020). Pasture species behaviour on sulfide mine tailings rehabilitated with a designed Technosol. *EGU General Assembly 2020*. <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu2020-12598>
- Coninx, L., Martinova, V., & Rineau, F. (2017). Mycorrhiza-Assisted Phytoremediation. *Advances in Botanical Research*, 83, 127–188. Doi: 10.1016/bs.abr.2016.12.005
- Fernández-Fuego, D., Keunen, E., Cuypers, A., Bertrand, A., & González, A. (2017). Mycorrhization protects *Betula pubescens* Ehr. from metal-induced oxidative stress increasing its tolerance to grow in an industrial polluted soil. *Journal of Hazardous Materials*, 336, 119–127. Doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.04.065
- Peech, M., Alexander, L.T., Dean, L.A., & Reed, J.F. (1947). Methods of Soil Analysis for Soil-Fertility Investigations. In *United States Department of Agriculture*.
- Santos, E., Cornejo, M., Arán, D., & Gallardo, A. (2020). Risk assessment of the land recovery to pastures on sulfide tailings closed with different systems: Conventional Vs Technosol. *EGU General Assembly 2020*. <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu2020-12527>.
- Santos, E., Arán, D., Balseiro-Romero, M., Abreu, M.M., & Macías, F. (2018). Exploração de plantas aromáticas e medicinas em sistemas de reabilitação de escombreiras ricas em sulfuretos. In: A Oliveira, A Reis, F Pacheco, J Lourenço, M Costa, M Gomes, R Teixeira (Eds), *Livro de Atas do XIV Congresso de Geoquímica dos Países de Língua Portuguesa* (pp. 503–506).
- Santos, E.S., Arán, D., Abreu, M.M., & de Varennes, A. (2016). Engineered soils using amendments for in situ rehabilitation of mine lands. *Bio-geotechnologies for mine site rehabilitation*, 131–146. Doi: 10.1016/B978-0-12-812986-9.00008-7.
- Springer, U., & Klee, J. (1954). Prüfung der Leistungsfähigkeit von einigen wichtigeren Verfahren zur Bestimmung des Kohlenstoffs mittels Chromschwefelsäure sowie Vorschlag einer neuen Schnellmethode. *Zeitschrift Für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde*, 64(1), 1–26. Doi: 10.1002/JPLN.19540640102.

Soluciones basadas en la naturaleza para la recuperación de suelos en Vitoria-Gasteiz (España). El caso del proyecto Phy2Sudoe.

Nature based solutions for soil restoration in Vitoria-Gasteiz (Spain). The Phy2Sudoe case.

Vilela, Juan^{1*}; Garbisu, Carlos²; Becerril, José María³; Rodríguez, Beatriz⁴; Mench, Michel⁵; Castro, Paula⁶

¹ Centro de Estudios Ambientales de Vitoria-Gasteiz, Pintor Teodoro Dublang 25, 4º 01008 Vitoria-Gasteiz, Spain

² NEIKER-Basque Institute for Agricultural Research and Development, Parque Científico y Tecnológico de Bizkaia, P812, 48160 Derio, Spain

³ Department of Plant Biology and Ecology, University of the Basque Country (UPV/EHU) C/ 3 Barrio Sarriena s/n, E-48940 Leioa, Spain

⁴ Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (IIAG), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) Avda. de Vigo s/n, 15705 Santiago de Compostela, Spain

⁵ Univ. Bordeaux, INRAE, BIOGECO, F-33615, Pessac, France

⁶ Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Rua Diogo Botelho 1327, 4169-005, Porto, Portugal

[*jvilela@vitoria-gasteiz.org](mailto:jvilela@vitoria-gasteiz.org)

Resumen

Al oeste de Vitoria-Gasteiz existen zonas industriales cuyo rápido crecimiento provocó la fragmentación ecológica del territorio circundante. La zona de trabajo (Mendebaldea, 30 ha) se encontraba en estado de abandono y con suelos contaminados antes de la intervención, lo que impedía su uso público y cualquier actividad. Desde el Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz, la Universidad del País Vasco y el Centro de Investigación Neiker-Tecnalia se propuso la restauración del ámbito mediante el empleo de soluciones basadas en la naturaleza para crear una gran infraestructura verde que aportase diversos beneficios ambientales: mitigación del cambio climático, la recuperación de los suelos y la mejora del paisaje.

El proyecto se desarrolló en 6 años (10 hectáreas restauradas cada 2 años) incluyendo: sumideros de carbono en suelo y bosques mediante enmiendas orgánicas y plantaciones, balsas artificiales para la biodiversidad, filtros verdes de aguas y red de caminos. Para la descontaminación de suelos se recurrió a la fitoremedición combinando enmiendas y sistemas agroforestales en el marco de los proyectos europeos PhytoSudoe y Phy2Sudoe. Las parcelas de ensayo ejecutadas en dichos proyectos van siendo monitorizadas a largo plazo con participación del público, ofreciendo así un espacio demostrativo para el aprendizaje de estas técnicas de recuperación de suelos.

Palabras clave: Suelos contaminados, Restauración, Cambio climático, Fitoremedición, Ciencia Ciudadana.

Abstract

Industrial areas located in the west of Vitoria-Gasteiz caused ecological fragmentation in the territory due to their rapid urban growth. The area of work (Mendebaldea 30 ha) had derelict and polluted soils before the intervention, lacking of any public use or activity. The Vitoria-Gasteiz City Council, the University of the Basque Country and the Neiker-Tecnalia Research Center proposed the restoration of the area by using nature-based solutions to create a large green infrastructure that would provide several environmental benefits such as climate change mitigation, soil recovery and landscape restoration.

The project was developed over 6 years (10 hectares restored every 2 years) including: soil and forest carbon sinks through organic amendments and plantings, artificial ponds for biodiversity, green water filters and pathways network. For soil decontamination, phytoremediation was used combining organic amendments and agroforestry systems due to the participation in the European phytoremediation projects PhytoSudoe and Phy2Sudoe. The project test plots are being monitored in the long term with the help of public participation, offering a demonstration space for learning new soil remediation techniques.

Key words: Contaminated soils, Restoration, Climate change, Phytoremediation, Citizen Science.

Introducción

Al Oeste de Vitoria-Gasteiz (248.000 habitantes) se sitúa el mayor polígono industrial de Euskadi (Polígono de Júndiz) colindante con la autovía A-1. Sus áreas verdes fueron rellenadas en los años 90 con tierras y residuos de construcción quedando el suelo degradado.

En el 2015 se inicia un proceso de restauración ejecutando el gran corredor verde de Mendebaldea (Imagen 1) cuyo objetivo es crear un paisaje multifuncional para mitigación del cambio climático (fijación de carbono) y reducción de la contaminación atmosférica y del suelo así como del impacto visual y acústico provocado por las infraestructuras viarias.



Imagen 1 – Corredor verde de Mendebaldea (recuadro blanco) al oeste de Vitoria-Gasteiz (España)

La actuación se ejecuta en fases sucesivas de norte a sur: Lermanda 2016-2017, Mendigurentxo 2018-2019 y Aríñez 2020-2021. En esta última zona, dada la presencia de suelos contaminados contaminados con metales (As y Pb) y orgánicos (PCB y PAH entre otros), se establecen parcelas de ensayos experimentales de fitoremedio (descontaminación con plantas) que se incorporarán a una red de monitorización europea bajo los proyectos PhytoSudeo (VV.AA., 2020) y Phy2Sudeo.

Material y métodos

El proyecto de restauración se apoyó en soluciones basadas en la naturaleza, comenzando por zonificar el ámbito según

la calidad del suelo y proyectando las vegetaciones según la dinámica de los sistemas naturales existentes. Se incluyeron herramientas de monitorización del proceso para controlar la salud de los suelos y las plantas, colaborando con centros locales de investigación y la participación ciudadana.

Zonificación de usos

El ámbito se zonifica como sigue: las zonas contaminadas se sanean y se establecen como parcelas a fitoremediar, aquellas con acopios de inertes (áridos, tierras) se remodelan reutilizando los materiales para crear nueva topografía (diques de tierra como barrera acústica), los suelos pobres reciben enmiendas orgánicas y los suelos en mejor estado se reservan para los usos agrícolas. Las escorrentías se retienen en superficie mediante la creación de charcas temporales.



Imagen 2 – Zona de fitoremedio con chopo incluida en el corredor verde Mendebaldea.

Sobre esto se establece un mosaico de vegetaciones autóctonas según sus querencias ecológicas: bosques de encinar sobre colinas de orientación sur y como pantalla visual frente a viales; quejigales sobre pequeñas ondulaciones del terreno; fresneda-olmeda en la ribera de los arroyos y matorral para los suelos más someros. Los suelos más pobres se tratan con rotación cultivos agrícolas regeneradores y los mejores con praderas rústicas.

Resumen de actuaciones

Tras las limpiezas superficiales se prepara el terreno con desbroces, gradeos y despedregados, siguiendo las las

enmiendas orgánicas ya comentadas. Tras ello los movimientos de tierras y excavación selectiva remodelan el relieve reutilizando los materiales inertes en diques y montículos (su interior con áridos y su exterior con tierra vegetal). Los nuevos caminos se ejecutan materiales reciclados. Finalmente, mediante las plantaciones y siembras se instalan bosques permanentes, setos y praderas.

Objetivos de reducción de impactos

Para maximizar la fijación de carbono se incorporan al suelo grandes cantidades de materia orgánica, bien como enmiendas superficiales (dosis de 50 a 75 Tn/ha de compost municipal) como mediante el enterramiento de troncos y ramas en montículos. En los cultivos agrícolas la cosecha se Tritura e incorpora al suelo y se reducen los laboreos para evitar pérdidas de carbono. De cara a mitigar la contaminación atmosférica, se ubican densas plantaciones junto a los puntos de emisión (fábricas y vías de transporte) y se establece un período mínimo de 40 años para mantener los bosques como sumidero de carbono.

En base a la bibliografía y la calculadora de absorciones exante del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación se calcula la reducción de CO₂ por uso de áridos reciclados (VV.AA., 2006), el almacenaje en planta y suelo por establecer cultivos agroforestales (Raj S. and Rattan L., 2006) y la absorción de contaminación (SO₂, O₃, NO₂, PM10) en las plantaciones forestales (Nowak et al., 2006). Además, se consigue una gran reducción de emisiones al emplear material reutilizado y reciclado en la construcción del parque, evitando el consumo de nuevos materiales (VV.AA., 2006). En concreto, tierras y áridos inertes se reutilizan como material constructivo para diques y montículos, mientras que los nuevos caminos emplean

con áridos y zahorras recicladas de una planta municipal.

Para la contaminación superficial se limpia selectivamente el área retirando residuos peligrosos como HCH o fibrocemento. Para la contaminación remanente en el suelo se investigan las zonas más afectadas mediante muestreos y analíticas de laboratorio. Estas zonas quedan valladas y se someten a tratamientos de fitoremediaciόn: tras las enmiendas de compost citadas, se realiza inoculación de micorrizas y se combinan cultivos forestales (chopos y sauces) con rotaciones agrícolas (colza, alfalfa).

Resultados y discusión

Reducción de CO₂ y otra contaminación

Cuadro 1 — Reducción de CO₂ por uso de árido reciclado

Material reciclado	TOTAL
t de árido empleado	5.561
tCO₂	37,25
t de tierra limpia	47.855
tCO₂	370,89
tCO₂ total	408,14

Cuadro 2 — Reducción de CO₂ por absorción en cultivos energéticos (tiempo = 4 años)

Cultivo	Colza	Sauce	TOTAL
kg producción /año	22.914	1.867	24.781
tCO ₂ /año	19,67	4,16	23,83
tCO₂ total	78,68	16,64	95,32

Cuadro 3 — Reducción de CO₂ por absorción en plantación forestal (tiempo = 40 años)

Plantación forestal	TOTAL
nº pies plantados	27.803
tCO ₂ /año	272,57
tCO₂ total	10.902,80

Cuadro 4 — Reducción de CO₂ por almacenaje de C orgánico en el suelo. Superficie:

Suelo	Forestal	Agrícola	TOTAL
Superficie (ha)	9,47	9,33	18,8
tCO ₂ /año	15,16	21,85	37,01
tCO₂ total	606	874	1480,4

Cuadro 5 — Reducción de contaminación por absorción en plantación forestal. Sup. 9,47 ha. (tiempo = 40 años)

Contaminante	t/año	t TOTAL
SO ₂	0,38	3,52
O ₃	0,17	6,82
PM10	0,28	11,36
NO ₂	0,15	5,87

Los resultados del proyecto muestran el múltiple beneficio de aplicar soluciones basadas en la naturaleza en la restauración de zonas degradadas, en este caso, el secuestro de carbono y la reducción de contaminación mediante el uso de elementos vivos como el suelo y las plantas. No obstante, su empleo debe planificarse adecuadamente acorde a la climatología y condiciones del terreno; por ejemplo, plantas de mayores requerimientos solo podrán incorporarse a medida que la calidad del suelo mejore. La integración del proyecto en los ciclos naturales (plantaciones en otoño, siembras en primavera) permite una evolución más rápida de los ecosistemas instalados, especialmente con presencia de agua.

Frente recuperaciones rápidas de suelos contaminados basados en su excavación para traslado a gestor en otra ubicación, la fitogestión requiere un periodo de tiempo más dilatado (años o decenas de años) para lograr la descontaminación. Sin embargo, el empleo de vegetación y enmiendas orgánicas para descontaminar adquiere todo el sentido en terrenos cuyo uso final será el de parque público, pues a medida que se descontaminan se va instalando la propia infraestructura verde.

Conclusiones

La vegetación es una herramienta idónea para la restauración ecológica de suelos degradados (fitogestión) o contaminados (fitorremediación) y la reducción de impactos asociados. Aunque en este resumen se han cuantificado el secuestro de carbono y otros contaminantes, el proyecto también ha logrado el aumento de la biodiversidad, la reducción del ruido o la mejora del paisaje combinando el uso de la vegetación con la reutilización del propio suelo y materiales (inertes, residuos orgánicos, reciclados)

El empleo de estas soluciones puede ser de gran utilidad para gestores de suelos públicos del sur de Europa donde el suelo fértil tiene grandes amenazas. Su bajo impacto y coste asumible permiten su

aplicación a las grandes superficies degradadas de las periferias urbanas donde la descontaminación tradicional no es viable económicamente.

La implicación de socios expertos permite la validación científica de los proyectos, facilita el acceso a financiación y los pone en red con otras ciudades. En el caso de Vitoria-Gasteiz, la inclusión del proyecto en la red de monitoreo Phy2Sudoe posibilita tener un seguimiento exhaustivo del proceso y demostrar a los órganos ambientales la validez del método.

Agradecimientos

Al Gobierno Vasco por financiar al 50% las actuaciones aquí descritas a través de las ayudas de la Consejería de Medio Ambiente, Planificación Territorial y Vivienda del Gobierno Vasco para ayuntamientos que promuevan acciones para el desarrollo sostenible.

A la Comisión Europea por apoyar el proyecto Phy2SUDOE (SOE4/P5/E1021) financiado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (Comisión Europea) a través del V Programa Interreg Sudoe.

Bibliografía

- Nowak, David J.; Crane, Daniel E.; Stevens, Jack C. (2006). *Air pollution removal by urban trees and shrubs in the United States*. Urban Forestry & Urban Greening. 4(3-4): 115-123.
<https://doi.org/10.1016/j.ufug.2006.01.007>.
- Raj S. and Rattan L. (2006) *Ecosystem Carbon Budgeting and Soil Carbon Sequestration in Reclaimed Mine Soil*. Environment international 32(6):781-96. DOI: 10.1016/j.envint.2006.05.001.
- VV.AA. (2006) *Informe de Análisis del Ciclo de Vida de los productores de reciclados RCD's UTE RCD Gardelegi*. Informe interno de la UTE RCD Gardelegi. No publicado.
- VV.AA. (2020) *Proyecto PhytoSUDOE: Recuperando suelos contaminados en el sudoeste de Europa a través de la fitogestión*. Folleto divulgativo disponible en: <https://www.phyotosude.eu/wp-content/uploads/2019/02/LAYMAN-FINAL.pdf>

Validação da RUSLE em solos com uso de produção pecuária ao ar livre

RUSLE validation in soils with use in outdoor livestock production

Roque, Natália^{1,2,3*}, **Horta, Carmo**^{1,2}, **Duarte, António Canatário**^{1,2,4}

¹Polytechnic Institute of Castelo Branco, School of Agriculture, Quinta da Sra. de Mércoles, 6001-909 Castelo Branco, Portugal,
nroque@ipcb.pt

²CERNAS-IPCB Research Centre for Natural Resources, Environment and Society, Polytechnic Institute of Castelo Branco,
6001-909 Castelo Branco, Portugal.

³Qrural/Polytechnique Institute of Castelo Branco, 6001-909 Castelo Branco, Portugal.

⁴GEOBIOTEC Research Centre GeoBioSciences, GeoTechnologies and GeoEngineering, University of Beira Interior, Rua
Marquês de Ávila e Bolama, 6201-001 Covilhã

Resumo

Os sistemas de produção de suínos ao ar livre são considerados sistemas de produção mais amigos do ambiente e de maior bem-estar animal, relativamente aos sistemas de produção intensiva em ciclo completo confinado. No entanto, o comportamento dos suínos que continuamente fuçam o solo, bem como as características do clima Mediterrâneo, precipitação concentrada no Inverno e a topografia do terreno são factores que influenciam o impacto destes sistemas na erosão hídrica do solo. Este trabalho visou avaliar a adequação da Equação Universal Revista de Perda de Solo (RUSLE) na previsão das perdas de solo, aplicada a uma área com produção de suínos ao ar livre, por comparação com a perda de solo observada após 17 anos de ensaio. A aplicação da RUSLE evidenciou que o risco de erosão do solo variava de muito a extremamente severo em 96,2% da área, originando uma perda solo média de 502,4 t/ha.ano. A aplicação do modelo RUSLE conduziu ao cálculo de uma perda efectiva de solo de 609,7 t/ha.ano, o que se pode considerar uma boa adesão aos valores observados. Os resultados observados evidenciam ainda que em 3,4% da área houve sedimentação, não estando o modelo RUSLE habilitado a simular esta componente do processo.

Palavras-chave: equação RUSLE, erosão do solo, sistema de pecuária intensivo.

Abstract

Outdoor pig production is considered systems more environmentally friendly and with greater animal welfare, compared to intensive indoor production systems. The Mediterranean region offers good weather conditions for this type of production. However, the behavior of swine that continuously forages the soil, as well as the characteristics of the Mediterranean climate, with the precipitation concentrated in winter as well as the topography of the area are factors that influence the soil erosion in these systems. This work aimed to evaluate the adequacy of the Revised Universal Soil Loss Equation (RUSLE) applied to an area with outdoor pig production, compared to the observed soil loss after 17 years of testing. The application of RUSLE showed that the risk of soil erosion varied from very to extremely severe in 96% of the area, resulting in a soil loss of 502.4 t/ha.year. The RUSLE model agreed with field data which indicated an effective soil loss of 609.7 t/ha.year. Field data also showed that in 3.4% of the area there was sedimentation, a feature that is not provided by RUSLE.

Keywords: RUSLE equation, soil erosion, intensive livestock system.

Introdução

A região Mediterrânea apresenta boas condições climáticas para a instalação de sistemas de produção de pecuária ao ar livre, nomeadamente de produção de suínos. Este, é um sistema bem aceite pelo consumidor pois é-lhe atribuído um menor impacto ambiental e condições de maior bem-estar dos animais. Além disso, apresenta baixos custos de investimento para a sua instalação. No entanto, o comportamento dos suínos, fuçando continuamente o solo e mantendo-o nu durante todo o ano, aumentam o potencial de erosão hídrica do solo, em princípio mais profundamente do que outros sistemas praticados relatados na literatura. Além disso, os invernos chuvosos e frios na região mediterrânica favorecem a perda de solo por erosão.

A previsão das perdas de solo por erosão hídrica do solo pela metodologia da Equação Universal Revista de Perda de Solo (RUSLE) (Renard, 1997), tem sido usado para melhorar as práticas de gestão em áreas de produção pecuária. A utilização de parâmetros da RUSLE em conjunto com o mapeamento dos riscos da erosão do solo baseada em SIG permite, além de avaliar o impacto das diferentes utilizações do solo no processo de erosão, ajudar a estabelecer práticas de gestão do solo adequadas a cada situação (Panditharathne et al., 2019).

Assim, neste trabalho, testamos a adequação da RUSLE para avaliar a vulnerabilidade ao risco de erosão hídrica do solo numa área de produção de suínos ao ar livre (PSAR). A previsão do potencial de perdas de solo pelo modelo RUSLE será comparada com a perda de solo observada nesta área sob condições edafo-climáticas mediterrânicas.

Material e métodos

A área de produção de suínos ao ar livre situa-se na região Centro de Portugal. A PSAR tem uma área de 2,24 ha divididos em seis parques (Fig. 1). A área experimental tinha em média uma carga de

um animal adulto por 1,12 m², com 18 fêmeas adultas e dois machos. Verificaram-se dois partos por porca e por ano, com uma média de cinco leitões por parto. Os leitões são vendidos após 60 dias de nascimento. Esta área não foi cultivada durante o período do ensaio. Os pontos de alimentação e os bebedouros são fixos (Figura 1), e localizados em pontos de menor elevação dentro de cada parque. O declive da área varia entre 0,14% e 41,2 %.

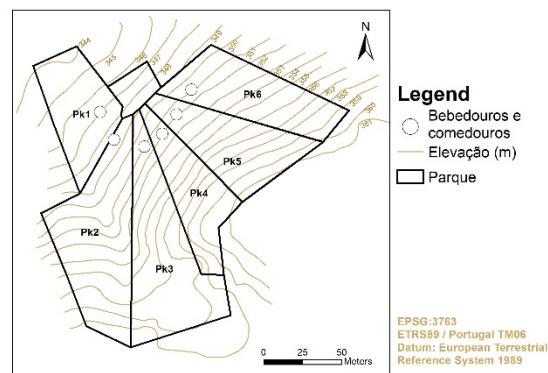


Figura 1. Área de produção de suínos ao ar livre, cercados, comedouros, pontos de alimentação e bebedouros.

A região tem um clima do tipo mediterrânico, com uma temperatura média de 15,0°C e 735 mm de precipitação anual. Há algumas árvores típicas dos montados (*Quercus suber L.*) nos parques 2 e 3, e algumas oliveiras (*Olea europaea L.*) em toda a área.

O solo da área experimental é um Dystric Cambisol de textura franco-arenosa (argila 11,4%, limo 10,3% e areia 78,3%), ácido (pH = 5,1) e relativamente pobre em matéria orgânica (1,4%).

A RUSLE, e a sua versão anterior, USLE (Universal Soil Loss Equation) (Wischmeier & Smith, 1978), calculam a perda média anual de solo através da seguinte expressão multiplicativa:

$$A=R \times K \times L \times S \times C \times P$$
, onde os factores assumiram os seguintes valores neste estudo: A é a perda anual de solo (ton/ha.ano), R é o factor de erosividade da precipitação (1173 MJ.mm/ha.h.ano), K é o factor de erodibilidade do solo (0,042

ton.h/MJ.mm), L é o factor do comprimento de encosta (adimensional; variável dentro da área de estudo), S é o factor do declive do terreno (adimensional; variável dentro da área de estudo), C é o factor das práticas de cultivo e cobertura do solo (0,5; adimensional), P é o factor das práticas de conservação do solo (1,0; adimensional)

A aplicação do modelo RUSLE a esta área de estudo baseou-se nas seguintes simplificações. Uma vez que se trata de uma área pequena e tem a mesma utilização do solo (regime intensivo de porcos) para o período contínuo de análise, os factores R, K, C e P assumem o mesmo valor em todo a área, e para o factor topográfico (LS), a área total é dividida em quatro sub-áreas com comprimento de encosta semelhante, e o declive do terreno é calculado pela ferramenta ArcGis 10.8 dentro de cada célula pela metodologia do modelo RUSLE.

Foi efectuado um Voo com recurso a Drone, em Fevereiro de 2022. Usou-se o software Pix4D, com o qual se caracterizou o SDM (*Superficie Digital Model*), e apartir desse modelo foi criado o STM (*Superfice Terrain Model*), o modelo criado por 3104 imagens com um erro Quadrático médio de (RMSerror) de 0,029 m.

Resultados e discussão

Previsão da erosão do solo através da equação RUSLE

A simulação da erosão do solo pelo modelo RUSLE mostra que a maioria da área de estudo está incluída na classe extremamente severa (79,7 %) [35] e muito severa (16,5 %) (Quadro 1); em conjunto estas percentagens representam 96,2% da área total. A perda média de solo em toda a área é de 502,4 ton/ha.ano, o que representa um valor extremamente elevado, e uma perda média de profundidade efectiva do solo de 0,56 m no período de análise (17 anos). Na PSAR avaliada neste estudo, constata-se que a densidade de carga animal é excessiva para as condições topográficas e climáticas da região (20 adultos ao longo do ano, e uma média de 90 leitões durante dois

meses por cada parição, durante dois meses do ano). Com um encabeçamento mais baixo em regime extensivo de montado, têm-se observado taxas de erosão muito inferiores e dentro do conceito de sustentabilidade (Pulido et al., 2017).

Erosão do solo observada no campo

A perda de solo observada na área de estudo foi avaliada comparando a diferença entre as altitudes de dois Modelos Digitais de Elevação (DEMs), um relativo à topografia de 17 anos atrás e o outro relativo à topografia do presente (fevereiro de 2022). Observou-se que a maioria da área (68,5%) apresenta uma perda de profundidade efectiva entre 0,5 e 0,99 m, mas existem áreas com perda extrema de profundidade efectiva (1,99 - 2,25 m; 0,2%) e outras em que ocorre sedimentação (0,0 - 1,2 m; 2,0%).

Quanto à perda de solo observada na PSAR verifica-se que é também muito elevada, situando-se 95,4% da área total nas classes de risco de erosão muito e extremamente severo (Quadro1). A modelação digital do terreno, permitiu também visualizar além da perda de solo, zonas onde, em 3,4% da área, ocorre sedimentação.

Quadro 1. Previsão da perda de solo obtida pelo modelo RUSLE, perda de solo observada e classes de risco de erosão (Irvem et al., 2007) na OPP.

Erosão do Solo (t /ha.ano)	RUSLE Area (%)	Área (%) Observada em OPP	Classes de risco de erosão
<5	0,2	0,1	Muito baixo
5 – 12	0,2	0	Baixa
12 – 50	0,6	0,5	Moderado
50 – 100	2,8	0,6	Grave
100 – 200	16,5	1,7	Muito severo
>200	79,7	93,7	Extremamente severo

Estas zonas de sedimentação, estão localizadas perto da cabeceira das linhas de água, com um pequeno volume de

escoamento superficial. A perda média de solo observada em toda a área é de 609,7 ton/ha.ano, o que representa um valor extremamente elevado, e uma perda média de profundidade efectiva do solo de 0,68 m no período de análise (17 anos).

Quadro 2. Sedimentação observada na OPP.

Sedimentação do solo (ton/ha.ano)	Area (%) Observada na OPP
<5	0,1
5 – 12	0,4
12 – 50	0,5
50 – 100	0,5
100 – 200	0,7
>200	1,2

Conclusões

Comparando a taxa de erosão, observada e simulada, podemos inferir que o modelo RUSLE pode ser utilizado para prever a perda média de solo em áreas de sistemas de produção de suínos ao ar livre. Observou-se que o sistema de produção avaliado apresentava uma carga animal excessiva, podendo ser, nestas condições, considerado um sistema de produção intensivo, com práticas fortemente degradativas do solo e das massas de água a jusante.

Agradecimentos

Esta investigação foi financiada pelo CERNAS-IPCB [UIDB/00681/2020] apoiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT).

Referências bibliográficas

- Irveli, A., Topaloğlu, F., & Uygur, V. (2007). Estimating spatial distribution of soil loss over Seyhan River Basin in Turkey. *Journal of Hydrology*, 336(1–2), 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2006.12.009>
- Panditharathne, D. L. D., Abeysingha, N. S., Nirmanee, K. G. S., & Mallawatantri, A. (2019). Application of revised universal soil loss equation (Rusle) model to assess soil erosion in “Kalu Ganga” River Basin in Sri Lanka. *Applied and Environmental Soil Science*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4037379>
- Pulido, M., Schnabel, S., Contador, J. F. L., Lozano-Parra, J., & Gómez-Gutiérrez, Á. (2017). Selecting indicators for assessing soil quality and degradation in rangelands of Extremadura (SW Spain). *Ecological Indicators*, 74, 49–61. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.11.016>
- Renard, K. G. (1997). *Predicting soil erosion by water: a guide to conservation planning with the Revised Universal Soil Loss Equation (RUSLE)*. United States Government Printing.
- Wischmeier, W. H., & Smith, D. D. (1978). *Predicting rainfall erosion losses: a guide to conservation planning* (Issue 537). Department of Agriculture, Science and Education Administration.

El nivel de agua modula la respuesta microbiológica del suelo al ozono troposférico elevado en trigo

Water level modulates the soil microbial response to elevated tropospheric ozone in wheat

**González-Canales, Javier^{1*}, Navas, Mariela², Moliner, Ana¹, Mariscal-Sancho, Ignacio¹
Bermejo-Bermejo, Victoria³, González-Fernández, Ignacio³, Hontoria, Chiquinquirá¹**

¹Dpto. Producción Agraria-Unidad de Edafología. E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas (ETSIAAB). Universidad Politécnica de Madrid (UPM)

² Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA).

³Departamento de Medio Ambiente. Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT).

[.javier.gcanales@upm.es](mailto:javier.gcanales@upm.es)

Resumen:

El nivel de agua modula el impacto del ozono troposférico sobre la planta, aunque se desconoce hasta qué punto este efecto se traslada a la microbiota del suelo. Se ha investigado si la disponibilidad de agua puede alterar la respuesta microbiana a elevadas concentraciones de ozono en una variedad de trigo sensible al ozono. Se estableció un ensayo con cámaras de techo descubierto con cuatro niveles de ozono (Preindustrial; Actual; Actual+20 ppb; Actual+40 ppb) y dos niveles del riego (estrés y óptimo). La fracción rizosférica del suelo (0-5 cm) mostró mayor sensibilidad al nivel de ozono y de riego que la fracción de resto ("bulk"). El aire Actual fue el tratamiento menos sensible, y el Actual+20 el más sensible al riego. Independientemente del nivel de riego, el aire Actual y Actual+40 mostraron características microbiológicas bien contrastadas. El estrés hídrico altera el comportamiento intermedio de Actual+20 aumentando su cociente metabólico. El aire Preindustrial tendió a comportarse como Actual+20 en ambos niveles de riego (menor qMic y mayor qCO₂), por lo que cambios de ozono con respecto al Actual provocan una menor eficiencia en el uso del C. El riego modula el efecto del ozono sobre la microbiota del suelo.

Palabras clave: Ozono, OTC, Trigo, APC, qPCR

Abstract:

Water level modulates the tropospheric ozone impact on the plant, although the extent to which this effect is transferred to the soil microbiota is unknown. We investigate whether water availability can alter the microbial response to elevated ozone concentrations in an ozone-sensitive wheat variety. An open-top chamber trial was set up with four ozone levels (Pre-industrial; Ambient; Ambient+20 ppb; Ambient+40 ppb) and two irrigation levels (stress and optimum). The rhizosphere fraction of the soil (0-5 cm) showed higher sensitivity to ozone and irrigation level than the bulk fraction. Ambient air was the least sensitive treatment, and Ambient+20 was the most sensitive to irrigation. Regardless of the irrigation level, Ambient and Ambient+40 air showed contrasting microbiological characteristics. Water stress alters the intermediate behaviour of Ambient+20 by increasing its metabolic quotient. Pre-industrial air tended to behave like Ambient+20 at both irrigation levels (lower qMic and higher qCO₂), so changes in ozone with respect to Ambient lead to lower efficiency of C use. Irrigation modulates the effect of ozone on soil microbiota.

Keywords: Ozono, OTC, wheat, PCA, qPCR

Introducción

Los agrosistemas y los ecosistemas terrestres en general se ven afectados negativamente por elevadas concentraciones de ozono troposférico (Agathokleous, et al., 2020). El ozono es un potente oxidante que causa daños en las plantas y altera la transferencia de recursos a las raíces, causando cambios en su composición y en la de sus exudados. La restricción de recursos puede afectar a la composición, abundancia y metabolismo de los microorganismos heterótrofos de la rizosfera, con efectos potenciales sobre los procesos que llevan a cabo, como los ciclos biogeoquímicos del C y N del suelo (Hu, et al., 2022). Los efectos son muchas veces inconsistentes y dependen de factores como la variedad cultivada, la dosis de ozono, el tipo de suelo, etc. (Agathokleous, et al., 2020). La disponibilidad de agua es también un factor a considerar ya que modula la respuesta de las plantas al ozono. En algunos casos, el estrés hídrico refuerza el efecto adverso del ozono en el cultivo (Ghosh, et al., 2020), mientras que, en otros, el riego deficitario se aplica como estrategia para mitigar el impacto del ozono troposférico en el cultivo (Harmens, et al., 2019). Aunque la humedad del suelo resulta un factor relevante para explicar la composición de la microbiota del suelo bajo condiciones de ozono elevado (Bao, et al., 2015), pocos estudios han investigado hasta qué punto el efecto modulador del riego se traslada a la microbiota del suelo. El objetivo de este trabajo fue evaluar si el nivel de disponibilidad de agua en el suelo podía alterar la respuesta microbiológica del suelo a niveles elevados de ozono troposférico en un cultivar de trigo sensible al ozono.

Material y métodos

Se estableció un ensayo con cámaras de techo descubierto (OTCs) en la finca experimental “La Higueruela” (MNCN-CSIC; Toledo), con un clima

mediterráneo semiárido (Bsk según Köppen) y un suelo Calcic Haploxeralf. Se aplicó un diseño de parcelas divididas en bloques al azar con tres repeticiones. Como factor principal se aplicaron cuatro niveles de ozono: Preindustrial o aire filtrado, Actual o no filtrado, Actual+20 ppb y Actual+40 ppb de ozono, que se distribuyeron al azar en las OTC de cada bloque. Cada OTC se dividió a la mitad y en cada mitad se aplicó aleatoriamente uno de los dos niveles del factor riego, estrés hídrico y nivel óptimo de agua en el suelo. Como cultivo se eligió la variedad de trigo de primavera Califa Sur, sensible al ozono, que se trasplantó a las OTCs en el estadio de 4^a hoja verdadera. Las plantas se expusieron a las diferentes dosis de ozono de febrero a junio de 2020 y se regaron desde la fase de elongación del tallo hasta su madurez. El muestreo del suelo se realizó en mayo de 2020 con el trigo en fase de llenado del grano. En cada tratamiento se seleccionaron dos plantas al azar y, tras separar la parte aérea, se extrajo la parte radical con su suelo con ayuda de un muestreador cilíndrico de 8 cm de diámetro y 20 cm de profundidad. Las muestras se fraccionaron en dos porciones, 0-5 cm y 5-20 cm y se conservaron en frío hasta su traslado al laboratorio. Cada muestra se procesó cuidadosamente para separar las raíces, la rizosfera del suelo (~2 mm en torno a las raíces) y el resto del suelo “bulk”. Las muestras de suelo de las dos extracciones se mezclaron para dar una muestra por tratamiento y se prepararon y conservaron hasta su posterior análisis.

El análisis de suelo se realizó en la capa 0-5 cm, que es donde se encontró la mayoría de la biomasa radical. En cada fracción, rizosfera y “bulk”, se midieron varias propiedades químicas y microbiológicas del suelo, de las que se han seleccionado para este estudio las siguientes: C y N total (TOC y TN) por combustión total, Respiración basal (BR) y Respiración inducida por sustrato (SIR) medidas con trampa alcalina (Alef & Nannipieri, 1995), C y N de la biomasa microbiana (MBC y MBN) por el método

fumigación-extracción (Vance, et al. 1987). Basados en estos parámetros se calcularon dos coeficientes, el coeficiente metabólico qCO_2 (Anderson & Domsch, 1993), y el coeficiente microbiano $qMic$ (Sparling, 1992). La extracción de ADN del suelo se realizó utilizando el kit PowerSoil® DNA isolation kit (Mo-Bio laboratories, Carlsbad, CA, USA). Mediante PCR cuantitativa se estimó la abundancia de hongos, bacterias y arqueas totales utilizando marcadores específicos para cada grupo filogenético: 16rRNA para bacterias y arqueas e ITS para hongos (Ulcuango, et al., 2021).

En este trabajo se presentan los resultados de la aplicación de un análisis de componentes principales (ACP) a las variables seleccionadas. El análisis se realizó por separado en la fracción rizosférica y la fracción “bulk” del suelo, considerando conjuntamente los dos factores de estudio. Los datos se analizaron con el software R (R Core Team, 2021), utilizando los paquetes factoextra corrplot). Elipses separadas en el biplot muestran diferencias entre los tratamientos con un nivel de confianza de 0.95.

Resultados y discusión

La fracción rizosférica del suelo mostró mayor sensibilidad que la fracción “bulk” tanto al nivel de ozono como a la disponibilidad de agua. Lo cual confirma que el efecto del ozono sobre la microbiota del suelo tiene lugar principalmente a través de los efectos

Tabla 1 Varianza que explica cada componente y coeficientes de correlación con las variables. Donde: Respiración basal e inducida por sustrato (BR; SIR), C y N de la masa microbiana (MBC; MBN), coeficiente metabólico (qCO_2), coeficiente microbiano ($qMic$), abundancia de bacterias, hongos y arqueas (BAC; FUN; ARC), Ratio Hongos:Bacterias (F:B).

	CP.1	CP.2	CP.3
Varianza explicada	51,21	16,09	12,04
BR	0.14	0.83	0.46
SIR	0.32	-0.52	0.25
MBC	-0.77	-0.12	0.44
MBN	-0.64	-0.06	0.54
qCO_2	0.70	0.70	0.05
$qMic$	-0.90	-0.06	0.28
BAC	0.83	-0.18	0.03
FUN	0.93	-0.19	0.16
ARC	0.70	-0.22	0.52
F:B	0.80	-0.16	0.27

sufridos por el cultivo (Andersen, 2003). El ACP para la rizosfera muestra que los tres primeros componentes principales (CP) (eigenvalores ≥ 1) explican en conjunto cerca del 80% de la variabilidad en los datos, explicando los dos primeros casi un 68% (Tabla 1). El CP1 presenta una correlación positiva con hongos totales, bacterias totales, el ratio Hongos: Bacterias, arqueas totales y qCO_2 , y una correlación negativa con $qMic$, MBC y MBN. El CP2 muestra una correlación positiva con la respiración basal y qCO_2 y una negativa con SIR (Tabla 1). Atendiendo a ambos CP, el riego modula de manera diferente la respuesta de las variables microbiológicas a los distintos niveles de ozono estudiados. El aire Actual resulta el tratamiento menos sensible al nivel de riego, mientras que el Actual+20 seguido del aire filtrado o Preindustrial serían los más sensibles. La adaptación de la microbiota del suelo a las condiciones meteorológicas cambiantes del clima mediterráneo en los niveles actuales de ozono, explican la menor sensibilidad del aire Actual. Por otra parte, la biomasa radical en Actual+20 tendió a ser más sensible al nivel de riego que en los otros niveles de ozono (datos no mostrados), lo que puede haber trasladado este efecto a la microbiota del suelo.

En el biplot (Fig.1) los tratamientos Actual y Actual+40 producen efectos bien contrastados entre sí en las variables microbiológicas analizadas y estas diferencias se mantienen independientemente del nivel de riego. Mientras que Actual presenta mayores valores de MBC, MBN y $qMic$, Actual+40 destaca por valores más altos de SIR, mayor abundancia de hongos y bacterias totales y mayor qCO_2 . Lo que sugiere cambios en la composición microbiana hacia comunidades jóvenes, estresadas, con alto requerimiento energético para su mantenimiento (Anderson & Domsch, 1993).

El tratamiento Actual+20 tiende a mantener una posición intermedia entre Actual y Actual+40 en el CP1, especialmente en condiciones óptimas de agua, donde se solapa con ambos.

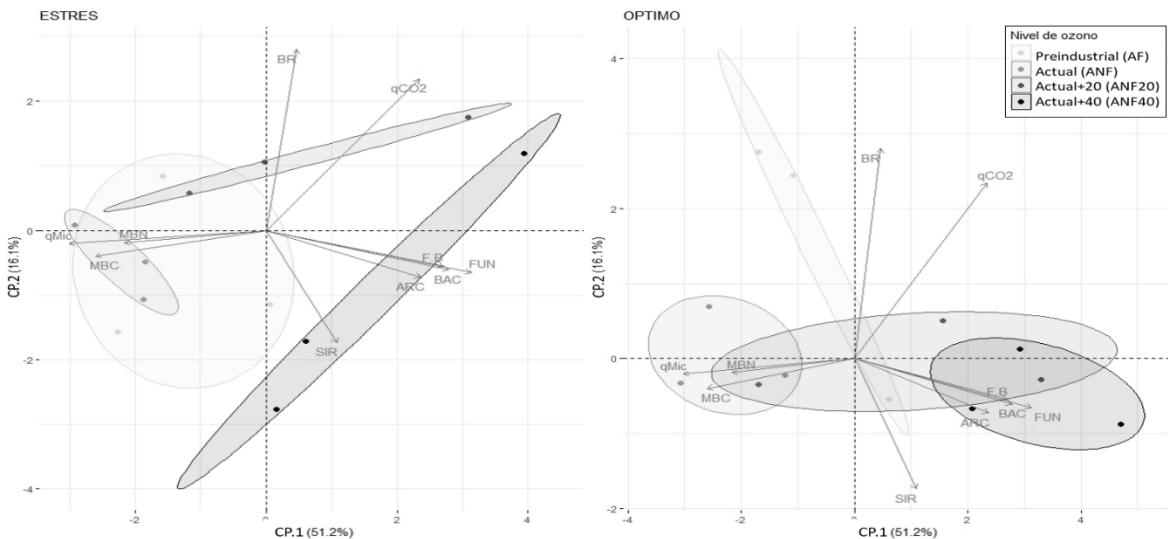


Fig. 1 Análisis de Componentes Principales por dosis de riego (Estrés y Óptimo). Las elipses representan los diferentes tratamientos. Elipses separadas indican diferencias entre tratamientos con un nivel confianza del 95%.

Hu, et al., 2018, también observaron una disminución progresiva del MBC y MBN al aumentar la concentración de ozono. Sin embargo, en estrés hídrico, Actual+20 se diferencia por el aumento en la respiración basal y el qCO₂. El tratamiento Preindustrial no se diferencia del Actual+20 en ningún nivel de riego. Ambos tienden a aumentar qCO₂ y disminuir qMic con respecto al aire Actual. Cambios en el nivel habitual de ozono, independientemente de su sentido, parecen generar un estrés metabólico en los microorganismos con un uso menos eficiente del carbono orgánico del suelo (Dilly, 2005).

Nuestros resultados indican que el nivel de riego modula la respuesta microbiológica del suelo a la contaminación por ozono troposférico en un agrosistema mediterráneo de trigo y que, por tanto, puede plantearse el riego como una estrategia de mitigación.

Agradecimientos

Proyecto OZOCAM (PDR-18OZOCAM); Proyecto AGRISOST (CMS2018/BAA-4330) y Fondos estructurales 2014-2020 (ERDF and ESF); Proyecto SUSCAPPIC2019-103521 (MCIN/AEI/10.1303/501100011033, con apoyo UE)

Referencias bibliográficas

- Alef, K., & Nannipieri, P. (1995). Methods in applied soil microbiology and biochemistry (No. 631.46 M592ma). Academic Press.
- Agathokleous, E., Feng, Z., Oksanen, E., Sicard, P., Wang, Q., Saitanis, C. J., ... & Paoletti, E. (2020).
- Ozone affects plant, insect, and soil microbial communities: A threat to terrestrial ecosystems and biodiversity. *Science Advances*, 6(33), eabc1176.
- Anderesen, C. P. (2003). Source–sink balance and carbon allocation below ground in plants exposed to ozone. *New phytologist*, 157(2), 213-228.
- Anderson, T. H., & Domsch, A. K. (1993). The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) 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(3), 393-395.
- Bao, X., Yu, J., Liang, W., Lu, C., Zhu, J., & Li, Q. (2015). The interactive effects of elevated ozone and wheat cultivars on soil microbial community composition and metabolic diversity. *Applied Soil Ecology*, 87, 11-18.
- Dilly, O. (2005). Microbial energetics in soils. In *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions* (pp. 123-138). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ghosh, A., Agrawal, M., & Agrawal, S. B. (2020). Effect of water deficit stress on an Indian wheat cultivar (*Triticum aestivum* L. HD 2967) under ambient and elevated level of ozone. *Science of The Total Environment*, 714, 136837.
- Harmens, H., Hayes, F., Sharps, K., Radbourne, A., & Mills, G. (2019). Can reduced irrigation mitigate ozone impacts on an ozone-sensitive African wheat variety?. *Plants*, 8(7), 220.
- Hu, E., Yuan, Z., Zhang, H., Zhang, W., Wang, X., Jones, S. B., & Wang, N. (2018). Impact of elevated tropospheric ozone on soil C, N and microbial dynamics of winter wheat. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 253, 166-176.
- Hu, E., Ren, Z., Wang, X., Zhang, H., & Zhang, W. (2022). Effect of elevated tropospheric ozone on soil carbon and nitrogen: a meta-analysis. *Environmental Research Letters*, 17(4), 043001.
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Sparling, G. P. (1992). Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Soil Research*.
- Ulcuango, K., Navas, M., Centurión, N., Ibañez, M. Á., Hontoria, C., & Mariscal-Sancho, I. (2021). Interaction of Inherited Microbiota from Cover Crops with Cash Crops. *Agronomy*, 11(11), 2199.
- Vance, E. D., Brookes, P. C., & Jenkinson, D. S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil biology and Biochemistry*.

InfiAsper: a rainfall simulator with varying precipitation intensity to assess soil erosion

InfiAsper: um simulador de chuva com intensidade de precipitação variável para avaliar a erosão do solo

Wilk Sampaio de Almeida^{1,2*}, Pietro Menezes Sanchez Macedo³, André Geraldo de Lima Moraes⁴, Daniel Fonseca de Carvalho³

¹Agronomy Department, Federal Institute of Education, Science and Technology of Rondônia, Ariquemes, RO, Brazil;

²LEAF - Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food Research Center, Associated Laboratory TERRA, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal;

³Department of Engineering, Institute of Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brazil;

⁴Department of Watershed Sciences, Utah State University, Logan, UT, USA.

*wilksalmeida@isa.ulisboa.pt

Abstract

Research involving the use of rain simulators dates to 1930. Since then, the evolution of this equipment has made it increasingly accessible, practical, and accurate. Its applications include the assessment of the impacts of water erosion on soil degradation as a function of land use and occupation and the rate of water infiltration into the soil. The reproduction of the rainfall pattern by varying the intensity of precipitation is one of the main limitations of the use of simulators. However, the recent modification in *InfiAsper* (Macedo et al., 2021) allows instantaneous varying the intensity of rainfall application and provides high uniformity in rainfall of different patterns.

Keywords: Rainfall simulator, Soil erosion process, Soil water infiltration.

Resumo

As pesquisas envolvendo o uso de simuladores de chuva datam de 1930. Desde então, a evolução desse equipamento o tornou cada vez mais acessível, prático e preciso. Suas aplicações incluem a avaliação dos impactos da erosão hídrica na degradação do solo em função do uso e ocupação do solo e da taxa de infiltração da água no solo. A reprodução do padrão pluviométrico variando a intensidade da precipitação é uma das principais limitações do uso de simuladores. No entanto, a modificação recente no *InfiAsper* (Macedo et al., 2021) permite variar instantaneamente a intensidade de aplicação das chuvas e proporciona alta uniformidade nas chuvas de diferentes padrões.

Palavras-chave: Simulador de chuvas, Processo de erosão do solo, Infiltração de água no solo.

Introduction

The use of rainfall simulators (RS) in the investigation of soil erosion dates to 1930. Since then, the evolution of this equipment has made it increasingly accessible, practical, and precise (Alves Sobrinho et al., 2008; Carvalho et al., 2022). Its applications include assessing the impacts of soil erosion as a function of land use and land cover (Almeida et al., 2016) and soil water infiltration rate (Almeida et al., 2018; Moraes et al., 2020), as well as assisting in the calibration of hydrological models for erosion estimation.

Studies with RS have numerous advantages, such as the reduction of time and costs required to obtain the results and the repeatability of precipitation, the elimination of the erratic and unpredictable variability of natural precipitation, which allows a better evaluation of the factors influencing the process (Alves Sobrinho et al., 2008; Iserloh et al., 2013).

The *InfiAsper* simulator, developed by Alves Sobrinho et al. (2008) is composed of five independent modules, which facilitate transport and operation in the field. It has two fixed spray nozzles (Veejet 80.150 model), which must be positioned 2.30 m above the ground during operation. The nozzles are located above the overlapping shutter disks, whose rotation is set by the input frequency of the shutter motor, using the frequency inverter installed on the panel of the precipitation simulator.

Most RS works with constant rainfall intensity (RI), which does not represent the characteristics of natural precipitation and can lead to differences in soil and water loss studies. However, Macedo et al. (2021) developed an automatic RI control system for *InfiAsper* by adjusting the rotation of the shutter disk to allow for RI variation. The authors created an electronic control system that changes the frequency of the motor power inverter, allowing the user to enter the desired precipitation pattern via a text file, stored on a micro-SD memory card.

Here, we present the innovations of *InfiAsper* in the last 14 years and some results obtained from using it to assess soil

erosion and soil water infiltration under different conditions of land use, land management, and land cover, in the field, in Brazil.

Material and methods

The *InfiAsper* simulator (Fig.1) operates with two Veejet 80.150 nozzles parallel to each other, installed at a height of 2.3 m above the ground and with a service pressure of 35.6 kPa. The micro-plots have an area of 0.7m² and are delimited by galvanized steel plates, with a funnel at the end, which allows collecting the volume of surface runoff (Alves Sobrinho et al., 2008; Almeida et al., 2018; Macedo et al., 2021).

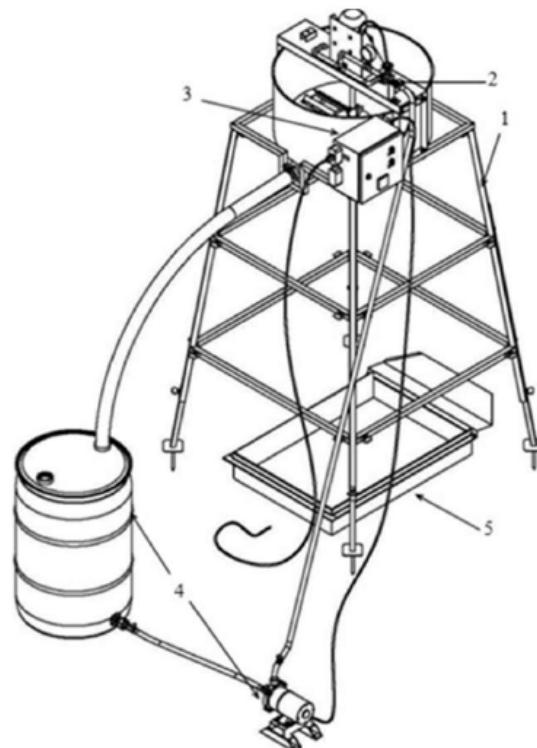


Fig. 1 – Scheme of the components of the *InfiAsper* rainfall simulator (Legend: metallic structure (1); water application unit (2); control panel (3); reservoir and water pump (4); and runoff collector (5). Source: Macedo et al. (2021).

To demonstrate the use of *InfiAsper* in soil erosion assessment, we will present results from two studies done with the equipment in the field. In the first, Almeida et al. (2018) evaluated the effect of soil tillage and soil cover on soil water infiltration by measuring this parameter in

areas under bare soil, soybean (conventional tillage and no-till), and pasture. The experimental design was completely randomized, arranged in subdivided plots (in time – 6 evaluation periods), with four repetitions for treatment. The predominant soil in the area is an *Argissolo Vermelho Distrófico típico* (Santos et al., 2018) (Dystric Acrisol with a sand loam texture, 0.0-0.24 m) (IUSS Working Group WRB, 2015). The depth of water infiltration (DWI) was estimated by the difference between the artificial rain and the surface runoff (SR). The SR was calculated each minute through the relation between the volume of water and the experimental plot area. The infiltration rate was calculated by the relation between the DWI and the considered sampling time. The stable infiltration rate (SIR) of water in the soil was obtained when the SR remained constant (Almeida et al., 2018).

In the study by Carvalho et al. (2022), the authors evaluated the *InfiAsper* operating with a new control panel to program rainfalls with different RI. Infiltration rates and soil and water losses were evaluated in a *Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico* (Santos et al., 2018) (Dystric Acrisol with a clay loam texture) (IUSS Working Group WRB, 2015) with simulated rainfalls of 30 mm and duration of 40 min, considering advanced (AD), intermediate (IN), delayed (DE), and inverted intermediate (II) patterns, all with PI peaks of 110 mm h^{-1} , and a constant (CT) pattern. The experimental design was in randomized blocks with five treatments and five repetition each.

In both studies, we verified the normality and homogeneity of the residuals using the Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965) and Bartlett's (Bartlett, 1937) tests, respectively. When a significant difference was confirmed in the analysis of variance, we compared the means of the treatments using the Scott-Knott (Scott & Knott, 1974) grouping test, considering a significance level of $p < 0.05$. We use R language (R Core Team, 2021) to do all the analysis and data plotting.

Results and discussion

The stable infiltration rate (SIR) in the soybean no-tillage system is higher than in the other systems at 40 days after planting. In addition, SIR values in bare soil and soybean under conventional tillage systems were equal (Tabel 1).

Tabel 1 – Stable infiltration rate (mm h^{-1}) in the systems (BS, SCT, SNT and PA) at six evaluation stages.

Management systems	Stable infiltration rate (mm h^{-1}) in the systems (BS, SNC, SNT and PA) at six evaluation stages					
	0 DAS	20 DAS	40 DAS	60 DAS	80 DAS	100 DAS
BS	26.71 b	16.14 b	14.29 b	22.93 b	14.29 c	5.71 c
SCT	23.43 b	15.29 b	20.14 b	19.07 b	24.00 b	13.42 c
SNT	46.39 a	33.36 a	39.36 a	52.79 a	54.21 a	47.82 a
PA	53.71 a	34.79 a	33.79 a	30.33 b	31.86 b	29.52 b

Stable infiltration rate (mm h^{-1}) in the systems BS = bare soil; SCT = soybeans cultivated in conventional tillage; SNT = soybeans cultivated in no-tillage; and PA = pasture, during the six evaluation stages (0, 20, 40, 60, 80 and 100 days after soybean sowing. (Scott Knott, $p < 0.05$).

According to Almeida et al. (2018), the SIR in the SNT and PA systems did not differ among the stages 0, 20 and 40 days after sowing (DAS). In these two treatments, the SIR is greater than in the other treatments. From 60 DAS on, the no-tillage SIR is significantly greater than in the other treatments. On the other hand, between the two conventional tillage systems, with disturbed soil, (BS and SCT), the SIR differed at 80 DAS when the soybean proportioned greater vegetal cover in the SCT, therefore, favoring water infiltration in the soil. At this stage, the highest percentage of soybean cover in the SCT tend to promote a high soil water infiltration in this system, such as reported by Almeida et al. (2016).

Carvalho et al. (2022) did not verify surface runoff associated with the simulated rainfall under the CT and II patterns. For the other patterns, the time to start runoff (TSR), the runoff ending time (RET), and the maximum runoff rate (MRR) varied with the PI peak, and their values were significantly different from each other (Table 2).

Tabel 2 – Mean values and respective standard deviations of the time to start runoff (TSR), the runoff ending time (RET), and the maximum runoff rate (MRR).

Treatment	TSR (min)	RET (min)	MRR (mm h^{-1})
Advanced	7.40 ± 1.52 c	22.60 ± 5.18 c	24.62 ± 10.83 b
Intermediate	16.40 ± 1.67 b	38.60 ± 4.22 b	46.48 ± 19.97 a
Delayed	23.00 ± 4.69 a	43.40 ± 1.82 a	56.23 ± 13.13 a

Mean values followed by different letters, in the column, represent significant statistical differences between them ($p < 0.05$).

Differences regarding TSR and RET are associated with the PI peaks that characterize the precipitation patterns. On the other hand, MRR values vary according to surface conditions and soil moisture in the superficial layers. The MRR in DE pattern was 2.28 times higher than in the AD pattern.

For Macedo et al. (2021) and Carvalho et al. (2022), the new modified simulator panel, built with a friendly interface, allows the selection of the desired rainfall pattern and operating mode (manual or automatic). After modification of *InfiAsper*, the simulated precipitation had an application uniformity higher than 75%, used as a prerequisite in field-generated soil erosion, infiltration, and runoff studies.

Conclusions

Regardless of the soil tillage, soil ground cover, or rainfall intensity used (considering the efficiency range that the equipment works properly), *InfiAsper* performs very well in assessing soil water infiltration and soil erosion.

With the modification made by Macedo et al. (2021), *InfiAsper* can be used in various applications to fill many old gaps in the comparison of simulated rainfall with natural rainfall through the instantaneous variation of rainfall intensity and the reproduction of natural rainfall.

References

- Almeida, W.S., Carvalho, D.F., Panachuki, E., Valim, W.C., Rodrigues, S.A., Varella, C.A., (2016). Hydraulic erosion in different tillage systems and soil cover. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51 (9), 1110–1119 (in Portuguese).
- Almeida, W.S., Panachuki, E., Oliveira, P.T.S., Silva Menezes, R., Sobrinho, T.A., Carvalho, D.F. (2018). Effect of soil tillage and vegetal cover on soil water infiltration. *Soil & Tillage Research*, 175, 130–138.
- Alves Sobrinho, T., Macpherson, H.G., Gómez, J.A., (2008). A portable integrated rainfall and overland flow simulator. *Soil Use Management*, 24, 163–170.
- Bartlett, M. S. (1937). Properties of sufficiency and statistical tests. *Proceedings of the Royal Society of London*, 160, 268e282. <https://doi.org/10.1098/rspa.1937.0109>.
- Carvalho, D.F., Macedo, P.M.S., Pinto, M.F., Almeida, W.S., Schultz, N. (2022). Soil loss and runoff obtained with customized precipitation patterns simulated by *InfiAsper*. *International Soil and Water Conservation Research*, <https://doi.org/10.1016/j.iswcr.2021.12.003>
- Iserloh, T., Ries, J.B., Arn'aez, J., Boix-Fayos, C., Butzen, V., Cerd'a, A., Echeverría, M.T., Fernández-Gálvez, J., Fister, W., Geißler, C., Gómez, J.A., Gómez-Macpherson, H., Kuhn, N.J., Lázaro, R., León, F.J., Martínez-Mena, M., Martínez-Murillo, J.F., Marzen, M., Mingorance, M.D., Ortigosa, L., Peters, P., Regués, D., Ruiz-Sinoga, J.D., Scholten, T., Seeger, M., Solé-Benet, A., Wengel, R., Wirtz, S., (2013). European small portable rainfall simulators: A comparison of rainfall characteristics. *Catena*. 110, 100–112.
- IUSS Working Group WRB (World Reference Base). 2015. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. In: *World Soil Resources Reports No. 106*. Rome, Italy.
- Macedo, P.M.S., Pinto, M.F., Alves Sobrinho, T., Schultz, N., Coutinho, T.H.R., Carvalho, D.F. (2021). A modified portable rainfall simulator for soil erosion assessment under different rainfall patterns. *Journal of Hydrology*, 596, 126052.
- Moraes, A.G.L., Carvalho, D.F., Antunes, M.A.H., Ceddia, M.B., & Flanagan, D.F. (2020). Steady infiltration rate spatial modeling from remote sensing data and terrain attributes in Southeast Brazil. *Geoderma Regional*, 20, e00242.
- R Core Team. (2021). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>.
- Santos, H.G., Jacomine, P.K.T., Anjos, L.H.C., Oliveira, V.A., Lumbrales, J.F., Coelho, M.R., Almeida, J.A., Cunha, T.J.F., Oliveira, J.B. (eds.). (2018). Brazilian Soil Classification System (5th ed.). Rio de Janeiro: National Center for Soil Research, 287-306. (in Portuguese)
- Scott, A. J., & Knott, M. (1974). A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, 30, 507e512. <https://doi.org/10.2307/2529204>
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52, 591e611. <https://doi.org/10.2307/2333709>

Estepas salinas mediterráneas de interior en Alentejo y Extremadura: Medio ambiente, amenazas y conservación

Mediterranean salt steppes in Alentejo and Extremadura: Environment, threats and conservation

Fernández-Pozo, L.*; González-Morales, M.; Ramírez, B.; Martín, M.; Rodríguez, MªA.

Grupo de Investigación Análisis de Recursos Ambientales. Universidad de Extremadura. Avda. de Elvas s/n. 06006.
Badajoz. España.

*lufepo@unex.es

Resumen

La protección de los ecosistemas es garantía de la sostenibilidad de las actividades humanas. La presencia de hábitats excepcionales en el suroeste de la península Ibérica es frecuente, resultando imprescindible su estudio y conservación. Este es el caso de las estepas salinas mediterráneas de interior, siendo descritas en pequeñas extensiones de Alentejo y Extremadura. Su estudio, correcta interpretación y conservación deben ser prioritarios, como así es considerado este hábitat en la Lista Roja de Hábitat de la Unión Europea. Caracterizaremos dos áreas, en Alentejo y Extremadura, en las que se presenta vegetación resistente a condiciones salinas, estudiando la parte superficial del suelo, las aguas del nivel freático y el clima. Los resultados iniciales sugieren la presencia de: suelos sódicos ($ECe < 2 \text{ dS/m}$ y $PSI > 15$); vegetación halófila; agua alcalina y elevada concentración de sales y disminución de precipitación con aumento de la Evapotranspiración potencial (ETo). El deterioro ambiental como consecuencia del cambio de uso de los terrenos circundantes, así como la tendencia a la aridización ponen en peligro la singular presencia de este hábitat.

Palabras clave: Estepas salinas mediterránea, Península Ibérica, Degradación, Conservación.

Abstract

The protection of ecosystems is a guarantee of the sustainability of human activities. The presence of exceptional habitats in the southwest of the Iberian Peninsula is frequent, making their study and conservation essential. This is the case of the inland Mediterranean salt steppes, being described in small extensions of Alentejo and Extremadura. Their study, correct interpretation and conservation should be a priority, as this habitat is considered in the Red List of Habitats of the European Union. We will characterize two areas, in Alentejo and Extremadura, where vegetation resistant to saline conditions is present, studying the topsoil, water table and climate. Initial results suggest the presence of: sodic soils ($ECe < 2 \text{ dS/m}$ and $PSI > 15$); halophilic vegetation; alkaline water with high salt concentration, and decreased precipitation with increased potential Evapotranspiration (ETo). Environmental deterioration due to land use change, as well as the trend towards aridity, threaten the unique presence of this habitat.

Keywords: Mediterranean salt steppes, Iberian Peninsula, Degradation, Conservation.

Introducción

Las estepas salinas mediterráneas (1510) son un hábitat prioritario dentro de la Red Natura 2000. Están constituidas por formaciones ricas en plantas perennes que suelen presentarse sobre suelos temporalmente húmedos por agua salina. Aparecen con frecuencia en cuencas endorreicas, donde ocupan las partes más secas del gradiente de humedad edáfica. En la lista roja de hábitats europeos (European Union, 2016) se incluye como estepas salinas mediterráneas de interior (E6.1).

En Alentejo y Extremadura, se localizan pequeñas extensiones muy afectadas por actividades antrópicas: pastoreo, transformación en terrenos agrícolas o repoblaciones forestales. Se ha estudiado el estado de este hábitat, así como los impactos a que está sometido. En este trabajo presentamos los primeros resultados en cuanto a características edáficas, hídricas, clima y vegetación.

Material y métodos

En la figura 1 se muestran los puntos de muestreo. Al tratarse de áreas protegidas se necesita autorización para el acceso y toma de muestras, tanto de suelo como de vegetación, y en una primera fase solo se permitió la toma de muestras superficiales de suelo con barrena.

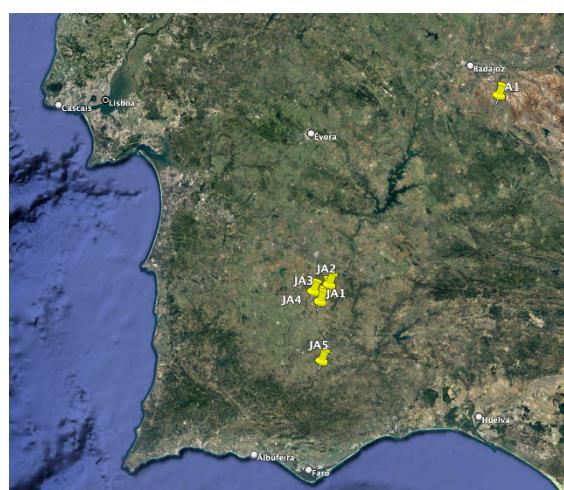


Fig. 1 – Puntos de muestreo.

Se han recolectado 7 muestras de suelos de los primeros 30 cm; de agua del nivel freático y se ha muestreado la vegetación de hábito herbáceo y arbustivo.

En las muestras de suelo se determinó pH, EC, cationes, granulometría, CIC, densidad aparente y materia orgánica (SSS, 2014). En el extracto de saturación se determinó pH, EC, cationes, aniones y SAR (USSL, 1954). En las muestras de agua se determinó pH, EC, aniones y cationes (USSL, 1954).

En cuanto al clima, se ha analizado temperatura y precipitación de los últimos 60 años, con el objetivo de estudiar ETP, precipitación y el índice de aridez de Thornthwaite (Cherlet, 2018).

Resultados y discusión

Las áreas de estudio se ubican en superficies llanas de material aluvial y/o coluvial e incluso ligeramente inclinadas de cuarcitas (Ramírez, 2018).

Según el mapa de suelos elaborado por la Unión Europea (EC, 2005), el hábitat 1510 está dominado por Regosoles, Cambisoles y Luvisoles, aunque es de esperar que una cartografía edáfica más detallada establezca otros tipos de suelos como pueden Solonchaks y/o Solonetz (De la Cruz, 2009).

Como se observa en los cuadros 1 y 2, hay una gran diferencia entre las características químicas de los suelos de Alentejo y Extremadura. Estos son extremadamente básicos (pH superior a 9), mientras que los de Alentejo son neutros. En ningún caso la conductividad eléctrica (EC) alcanza valores superiores a 2 dS/m, lo que, unido al elevado porcentaje de sodio intercambiable, posibilita que se trate de zonas sódicas antes que salinas, observándose un predominio de Mg sobre el resto de los cationes.

Cuadro 1 – Parámetros físico-químicos I.

	pH	ECe (dS m ⁻¹)	Na	K	Ca	Mg (cmolc kg ⁻¹)	PSI (%)
J1S	7.0	0.68	1.3	n.d.	3.7	5.0	15
J2S	5.8	1.74	2.5	0.3	1.4	2.8	56
J3S	6.9	0.26	0.4	n.d.	2.7	2.2	8
J4S	6.7	1.28	2.1	0.2	4.9	4.6	22
J5S	6.7	1.55	3.1	0.2	2.2	3.1	56
A1S	9.2	0.95	10.8	0.5	14.9	4.6	54

n.d.: despreciable.

Cuadro 2 - Parámetros físico-químicos II.

	CIC (cmolc kg ⁻¹)	CO ₃ (%)	Ac (%)	L (%)	Ar (%)	MO (%)	Nt (%)	Da (Mg m ⁻³)
J1S	10.5	n.d.	10.4	35.1	54.5	1.6	0.1	1.4
J2S	6.7	n.d.	9.6	36.8	53.6	1.8	0.1	1.5
J3S	6.4	n.d.	11.5	33.4	55.1	2.1	0.1	1.4
J4S	10.4	n.d.	10.7	35.3	54.0	1.6	0.1	1.7
J5S	8.5	n.d.	3.2	11.5	85.3	0.5	0.0	1.4
AS	14.3	11.3	24.7	30.8	44.5	3.3	0.1	1.8

n.d. despreciable.

Sin embargo, el análisis del agua freática en Extremadura indica una elevada EC así como de cloruros, bicarbonato y sodio (cuadro 3). Es muy necesaria la realización de un estudio del perfil del suelo en ambas localizaciones.

Cuadro 3 - Análisis de agua.

	EC (dS m ⁻¹)	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	CO ₃ H ⁻	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na	K (mg L ⁻¹)
AA	5.5	815	114	3850	10	144	740	<1.0

La vegetación presente está compuesta principalmente por *Juncus acutus*, *Scirpoides holoschoenus*, *Dittrichia viscosa*, *Retama sphaerocarpa*, *Epilobium hirsutum*, *Atriplex hastata*, *Limonium echioïdes* y *Limonium sinuatum*. Durante la próxima campaña de campo uno de nuestros objetivos es el estudio en detalle de las comunidades vegetales presentes.

La presencia del hábitat estepa salina mediterránea continental (1510) en Alentejo y en Extremadura es muy escasa, menos de 10 ha, lo cual hace que esta singularidad ambiental esté escasamente documentada y estudiada (correcta clasificación de sus suelos y establecimiento de comunidades vegetales asociadas).

Los resultados obtenidos indican la presencia de suelos alcalinos no salinos, puesto de manifiesto por el elevado PSI, alcanzándose valores superiores al 50% en muestras tanto de Alentejo como de Extremadura.

Las principales amenazas que tienen lugar sobre este hábitat son antrópicas, derivadas de modificaciones en el uso del suelo, más concretamente la urbanización y transformación en áreas de cultivo, situaciones que se presentan en las localizaciones estudiadas.

En cuanto al clima (cuadro 4), nos encontramos que en el periodo (1961/2020), la precipitación ha disminuido en torno al 15% y la ETo ha aumentado un 7%. Estas variaciones han supuesto que el índice de aridez (P/ETo) pase de Subhúmedo seco a Semiárido y posibilita que la degradación de los suelos de lugar a procesos de desertificación. Esta situación puede conducir a la transformación del hábitat y, como señala De la Cruz (2009), en el desarrollo de matorrales halonitrófilos.

Cuadro 4 – Datos climáticos. P.- Precipitación (mm); ETo.- Evapotranspiración potencial (Thornthwaite); R.- Erosividad de la lluvia (MJ mm Ha⁻¹ h⁻¹ año⁻¹).- IA.- Índice de Aridez (Cherlet, 2018).

Periodo	P	ETo	R	IA
1961/1990	493	850	149	0.58
1971/2000	463	863	147	0.54
1981/2010	447	887	142	0.50
1991/2020	428	907	97	0.47

Conclusiones

Sería necesario la realización de estudios más detallados que confirmen la presencia del habitat 1510 en Alentejo y Extremadura, pues a tenor de los resultados obtenidos, los suelos serían alcalinos no salinos. En caso de confirmarse esta hipótesis, se debería reconsiderar la categorización de estos singulares hábitats e incluirlos en los correspondientes de la Red Natura 2000.

No obstante, deben tomarse las decisiones oportunas para la conservación de este particular hábitat, cuyas

principales amenazas, como ya se establecen en la Lista Roja de Hábitat de la Unión Europea, se derivan de acciones antrópicas: cambios de uso, alteración de propiedades hídricas y químicas y alteraciones climáticas.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el gobierno Regional de Extremadura/ FEDER a través del proyecto IGR18054. Los autores agradecen a la Dirección General de Sostenibilidad las facilidades prestadas para el acceso a las áreas de estudio en la Comunidad de Extremadura y al Dr. Francisco María Vázquez (*Departamento de Producción Forestal y Biodiversidad, CICYTEX, Badajoz, España*) su ayuda en la clasificación de las plantas.

Referencias bibliográficas

- Cherlet, M., Hutchinson, C., Reynolds, J., Hill, J., Sommer, S., von Maltitz, G. (2018). (Eds.), World Atlas of Desertification. Luxembourg: Publication Office of the European Union.
- De la Cruz, M., 2009. 1510 Estepas salinas mediterráneas (Limonietalia) (*). En: VV.AA., Bases ecológicas preliminares para la conservación de los tipos de hábitat de interés comunitario en España. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. 78 p.
- EC. 2005. Soil Atlas of Europe. Luxembourg, Luxembourg: Publication Office of the European Union.
- European Union. 2016. European Red List of Habitats. Part 2. Terrestrial and freshwater habitats. Luxembourg: Publication Office of the European Union. doi: 10.2779/091372
- Ramírez, B. 2018. Edafodiversidad y variabilidad espacial de carbono orgánico en suelos del suroeste de la Península Ibérica. PhD thesis. Badajoz, Spain: Universidad de Extremadura (UNEX). <http://hdl.handle.net/10662/8456>
- Soil Survey Staff. 2014. Soil Survey Field and Laboratory Methods Manual. Soil Survey Investigations Report No. 51, Version 2.0. R. Burt and Soil Survey Staff (ed.). U.S. Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service.
- US Salinity Laboratory Staff. 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Handbook No. 60. USDA. US Government Printing Office. Washington D.C.

USO DE LOS ESPECTROS FTIR-ATR COMO HUELLAS DACTILARES DE LA COMPOSICIÓN DEL SUELO FORESTAL

FTIR-ATR SPECTRA AS FINGERPRINTS OF FOREST FLOOR COMPOSITION

Getino-Álvarez, M^{1,3*}; San-Martin, R^{2,3}; Turrión, M.B^{1,3}.

¹ Dpto. Ciencias Agroforestales, ETSIIAA Palencia, Universidad de Valladolid (España)

² Dpto. Estadística e Investigación Operativa, ETSIIAA Palencia, Universidad de Valladolid (España)

³ Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible, UVa-INIA. ETSIIAA Palencia (España)

*marina.getino@uva.es

Resumen

Los ecosistemas forestales tienen un gran potencial para la captura de C, contribuyendo de a mitigar el calentamiento global. En las últimas décadas, los bosques mixtos han despertado gran interés en la investigación forestal. Sin embargo, es necesario incrementar el conocimiento sobre la cantidad y calidad de su MOS, y el efecto de la mezcla de especies sobre la dinámica de descomposición de la hojarasca. La reflectancia total atenuada por espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR-ATR) es una poderosa herramienta analítica para la caracterización molecular de materiales vegetales. Su uso con muestras de hojarasca puede simplificar su procesamiento. Este estudio analiza la hojarasca de rodales puros y mixtos de pino silvestre (*Pinus sylvestris*) y roble albar (*Quercus sp.*) con FTIR-ATR, para comprobar si permite: separar las muestras por especie, por estado de descomposición, y determinar si la dinámica de descomposición se ve afectada por el tipo de rodal. Los resultados mostraron que el análisis FTIR-ATR es una herramienta útil en el estudio de la composición de la hojarasca. Este rápido y económico análisis permite diferenciar ($p<0.01$) entre especies, así como el estado de humificación de la hojarasca. Finalmente, los resultados mostraron que la dinámica de descomposición de la hojarasca si se ve afectada por el tipo de masa ($p<0.01$).

Palabras clave: FTIR-ATR, MOS, bosques mixtos, descomposición de la hojarasca

Abstract

It's known that soil has a great potential for C sequestration, but it is also important to point out the contribution of forest ecosystems to the mitigation of global warming. Mixed forest stands has arouse great relevance in forestry research. However, it is necessary to increase the knowledge about quantity and quality of its soil organic matter (SOM), and species mixture effect on its decomposition dynamics. Fourier transform infrared spectroscopy-attenuated total reflectance (FTIR-ATR) is a powerful analytical tool for molecular characterization of plant materials. Its use with litter samples may simplify its processing and characterization. This study analyzes forest floor of mixed and pure stands of Scots pine (*Pinus sylvestris*) and Sessile oak (*Quercus sp.*) with FTIR-ATR, to see if this analysis allows us to: separate litter samples by species, decomposition state, and determine if decomposition dynamics are affected by the stand type. A principal component analysis and Linear mixed models were applied. Results showed that FTIR-ATR analysis is a useful tool in the study of litter composition. This fast and economic analysis allows to differentiate ($p<0.01$) between species, as well as litter humification state. Finally, results showed that litter decomposition dynamics are affected by the type of mass ($p<0.01$).

Keywords: FTIR-ATR, SOM, mixed forests, litter decomposition dynamics

Introduction

Within the framework of a global climate crisis soils constitute a valuable tool to combat climate change due to its great potential for C sequestration. Soils store two-thirds of the total carbon in terrestrial ecosystems and contain more C than vegetation and the atmosphere combined. Therefore, changes in the loss-gain dynamics of soil organic carbon (SOC) can lead to large changes in the carbon balance at a regional scale (Schlesinger & Andrews, 2000).

Apart from the role of soils, it is also important to point out the contribution of forest ecosystems to the mitigation of global warming. The main inputs of C in forest ecosystems came from litter and the decomposition of plant roots. Depending on tree species composition the leaf litter production will be different and so quantity and quality (chemical composition) of the soil organic matter (SOM) inputs (Román Dobarco et al., 2021). Thus, it is reasonable to believe that C accumulation and decomposition dynamics may vary depending on tree species composition.

In the last decades, mixed stands have aroused great relevance in forestry research, due to the evidence that mixed forests can supply numerous ecosystem services more efficiently (Pretzsch et al., 2015; Bravo-Oviedo et al., 2014). Depending on the management applied, forests may increase considerably their capacity to accumulate SOC, or become sources of CO₂ that returns to the atmosphere. The SOC changes in forest floor (organic horizons) are highly relevant for C sequestration, since these horizons are more sensitive to changes in plant cover and management (Stockmann et al., 2013). In order to propose management alternatives considering the soil as a carbon sink, it is necessary to increase the knowledge about quantity and quality of its SOM, and the effect of species mixture on its decomposition dynamics, an aspect that has been poorly studied.

Traditional processing of litter samples, involving separating them into three groups according to their decomposition state

(fresh, fragmented and humified), requires a tedious manual sorting and large amounts of time. Furthermore, when working in mixed forests, it is also necessary to separate litterfall by species, which makes laboratory work even more difficult.

Fourier transform infrared spectroscopy-attenuated total reflectance (FTIR-ATR) is a powerful analytical tool for identifying organic and inorganic compounds (Lammers, 2008). It allows molecular characterization of plant materials in a fast, sensitive, economical way and only requires a small amount of sample (Román Dobarco et al., 2021).

The present study aims to determine if the FTIR-ATR spectra are fingerprints of the information existing in the litter. Specifically, knowing if the FTIR-ATR spectra allow us to: (1) separate litter samples according to species, (2) separate litter samples according to decomposition status, and (3) determine if decomposition dynamics are affected by the stand type (pure or mixed).

Materials and methods

Study site

For this study, two triplets (six forest plots) of mixed and pure stands of Scots pine (*Pinus sylvestris*) and Sessile oak (*Quercus sp.*) were selected. These belong to a European network of triplets (COST Action FP 1206 EuMiXFOR). Each triplet with pure and mixed plots (one per stand type; pine, oak, mixed) of the species under study (*Pinus sylvestris* and *Quercus sp.*). Plots within a triplet present similar site conditions (soil, climate, relief), age, density and management.

The triplets studied were located in Aguilar de Campoo (Castilla y León), North Spain (Fig. 1). It has an oceanic-continental climate (Cfb) according to Köppen (1936) classification, with a mean annual temperature of 9.4 °C and annual precipitation of 782 mm. Plots are located at an altitude of 1193–1239 meters above sea level. Soils are Cambisols developed on sandstones, conglomerates and lutites, with sandy-loam texture and acid pH (4.1 - 5.2).

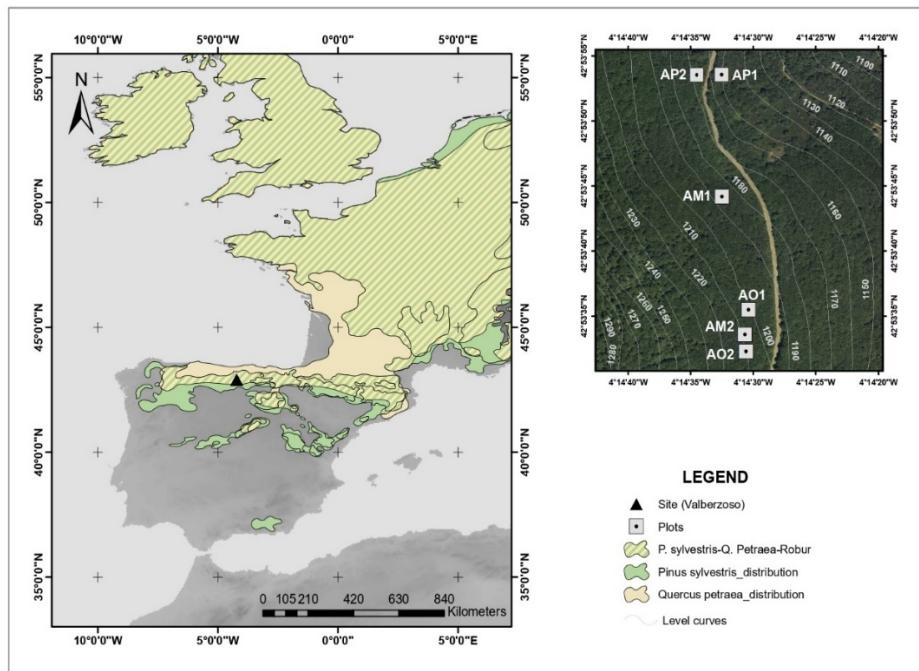


Fig 1. Study site location, Aguilar de Campoo, Palencia (Spain)

Stand characteristics of the studied plots are the following: stand age between 50 years, basal area between 42 and 66.2 m² ha⁻¹, stand density between 846.9 and 1426.6 trees ha⁻¹, dominant height between 20.3 and 21.7 m. No silvicultural intervention has been done in the stands in the last ten years.

Experimental design and litter sampling

In order to cover spatial variability, 26 circular subplots of 5 m radius were established within the previously described plots avoiding overlapping between subplots. In general, four subplots were established in pure stands and five in mixed stands. To provide a representative forest floor (organic horizon) sample of the area, samples were taken at three points 1 m apart from the center of each subplot, and then mixed creating one composite sample per subplot. Forest floor (FF) was collected using a 25x25 cm wooden frame as a reference area.

Laboratory analysis

Forest floor samples were separated into three fractions according to decomposition state as in López-Marcos et al., 2018: almost undecomposed litter or fresh fraction (FsL), partially decomposed litter or

fragmented fraction (FgL) and mostly decomposed organic matter or humified fraction (HmL).

Litterfall fractions were dried, finely grounded and scanned with FTIR-ATR (Nicolet iS50 FT-IR-ATR). The reflectance of the sample was recorded at a resolution of 4 cm⁻¹ and 64 scans per spectrum. All spectra were visualized, processed and analysed using OMNIC software.

Data analysis

A principal component analysis (PCA) was performed on 17 variables; FTIR-ATR absorbance bands (A1031, A1154, A1204, A1233, A1259, A1317, A1370, A1418, A1445, A1512, A1539, A1559, A1614, A1711, A1729, A2838, A2919). In order to check significant differences between cases Linear mixed models were applied.

Results and Discussion

Principal component axes one and two accounted for 78.47% of the data set variance (Fig. 2). The PC2 explains 21.16% of the variance and seems to be related to a higher absorbance of aromatic compounds such as lignin (A1500-A1539). The remaining absorbance bands are correlated with PC1, which explains the 57.31% of the data set variance.

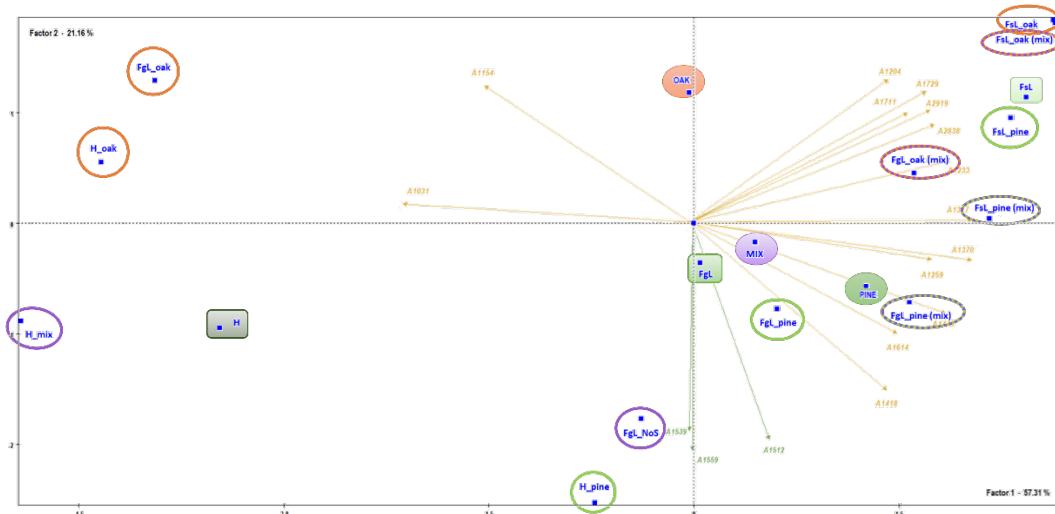


Fig 2. Plot of variables and centroids of cases on the two-first PCA axes, gathering 78.47% of dataset variation. Green circles: pine litter; orange circles: oak litter; purple circles: litter in mixed stands. Squares: litter decomposition state.

Regarding the first objective, this analysis does allow us to differentiate between litter types (species) and decomposition states of this litter. We can differentiate the litter of the two species through PC2: oak litter samples showed positive values and significantly different ($p<0.01$) from pine litter, which showed negative values. Pine litter spectra have a higher absorbance in the band from 1500 to 1559 cm⁻¹ indicating a higher lignin content. Second objective was also reached, being able to separate litter samples according to decomposition state. The fresh litter spectra presented positive values for both principal components (upper-right quadrant). The fragmented litter was distributed in the intermediate zone, with positive values for PC1 and negative values for PC2, except for the oak (upper-left quadrant). All humified fractions showed negative values for PC1 (left quadrant). Finally, significant differences ($p<0.01$) were observed in litter fractions (FsL, FgL and HmL) depending on the stand type. So, litter decomposition dynamics are affected by the type of mass (pure or mixed).

Conclusions

The FTIR-ATR analysis seems to be a useful tool in the study of litter composition in mixed stands. This fast and economic analysis allows to differentiate between species, as well as between the different stages of decomposition, and see the effect of species mixture on litter decomposition dynamics.

References

- Bravo-Oviedo, A., Pretzsch, H., Ammer, C., Andenmatten, E., Barbat, A., Barreiro, S., Brang, P., Bravo, F., Coll, L., Corona, P., Den Ouden, J., Ducey, M. J., Forrester, D. I., Giergiczny, M., Jacobsen, J. B., Lesinski, J., Löf, M., Mason, W. L., Matovic, B., ... Zlatanov, T. (2014). European Mixed Forests: definition and research perspectives. *Forest Systems*, 23(3), 518. <https://doi.org/10.5424/fs/2014233-06256>
- Lammers, K. (2008). Infrared Spectral and Statistical Analysis of Leaf Litter Decomposition from the New Jersey Pine Barrens. <https://publications.rutgers.edu/papers2//publication/uuid/EAA86011-A171-4434-BA83-2AAC9A87F708>
- López-Marcos, D., Martínez-Ruiz, C., Turrión, M.-B., Jonard, M., Titeux, H., Ponette, Q., & Bravo, F. (2018). Soil carbon stocks and exchangeable cations in monospecific and mixed pine forests. *European Journal of Forest Research*, 137(6), 831–847. <https://doi.org/10.1007/s10342-018-1143-y>
- Pretzsch, H., del Río, M., Ammer, C., Avdagic, A., Barbeito, I., Bielak, K., Brazaitis, G., Coll, L., Dirnberger, G., Drössler, L., Fabrika, M., Forrester, D. I., Godvod, K., Heym, M., Hurt, V., Kurylyak, V., Löf, M., Lombardi, F., Matović, B., ... Bravo-Oviedo, A. (2015). Growth and yield of mixed versus pure stands of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) analysed along a productivity gradient through Europe. *European Journal of Forest Research*, 134(5), 927–947. <https://doi.org/10.1007/s10342-015-0900-4>
- Román Dobarco, M., Jacobson, A. R., & Van Miegroet, H. (2021). Chemical composition of soil organic carbon from mixed aspen-conifer forests characterized with Fourier transform infrared spectroscopy. *European Journal of Soil Science*, 72(3), 1410–1430. <https://doi.org/10.1111/ejss.13065>
- Schlesinger, W. H., & Andrews, J. A. (2000). Soil respiration and the global carbon cycle. *Biogeochemistry*, 48, 7–20.
- Stockmann, U., Adams, M. A., Crawford, J. W., Field, D. J., Henakaarchchi, N., Jenkins, M., Minasny, B., McBratney, A. B., Courcelles, V. de R. de, Singh, K., Wheeler, I., Abbott, L., Angers, D. A., Baldock, J., Bird, M., Brookes, P. C., Chenu, C., Jastrow, J. D., Lal, R., ... Zimmermann, M. (2013). The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 164(2013), 80–99. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.10.001>

How does climate change affects soil salinity? The case study of a Mediterranean pasture with saline groundwater

O impacto das alterações climáticas na salinidade do solo: caso de estudo de uma pastagem mediterrânea com água subterrânea salina

Paz, A.^{1*}, Castanheira, N.¹, Matos Soares, P.², Farzamian, M.¹, Paz, M.C.³, Gonçalves, M.C¹.

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV), Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal
*ana.paz@iniav.pt

² Instituto Dom Luiz (IDL), Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande, Ed. C1, Piso 1, 1749-016 Lisbon, Portugal

³ ESTBarreiro and CIQuiBio, Polytechnic Institute of Setúbal, Rua Américo da Silva Marinho, 2839-001 Lavradio, Portugal

Abstract

The case study is located in an agricultural area of alluvial origin, approximately 10 km northeast of Lisbon (Portugal). The area is a peninsula surrounded by River Tejo, its estuary, and by River Sorraia. The peninsula lies 1 to 2 m above sea level, with saline groundwater arising from the estuarine tides. The soil is typically clayey and homogeneous. The future climate projections for the Mediterranean region show a decrease in precipitation, increase in mean temperature, and increase in sea water level. These conditions aggravate the processes leading to salt-affected soils (increased evapotranspiration, decrease in salt leaching during the rainy season, and increase of the groundwater salinity). This work evaluates the influence of climate change on soil salinity and water content in a rainfed spontaneous pasture, using *Hydrus-1D*. Three climate scenarios, comprising series of 30 years obtained with a regional climate model, were used: reference scenario (referent to 1971-2000), RCP4.5, and RCP 8.5 (both for 2011-2040). The results show an increase in the soil salinity in the RCP scenarios compared to the reference and a decrease in the mean yearly water content of the topsoil. Both effects limit the productivity of the pasture and even compromise the plants' growth.

Keywords: soil salinity, soil water, soil modelling, climate change.

Resumo

O caso de estudo situa-se na Lezíria de Vila Franca de Xira, uma zona agrícola de origem aluvial, a cerca de 10 km a nordeste de Lisboa. A Lezíria é uma península rodeada pelo rio Tejo, pelo seu estuário e pelo rio Sorraia, entre 1 a 2 m acima do nível do mar, com água subterrânea salina resultante da influência marinha no estuário. As projeções climáticas para a região indicam uma diminuição da precipitação, aumento da temperatura média e aumento do nível da água do mar. Estas condições agravam os processos de salinização do solo (aumento da evapotranspiração, diminuição da lixiviação dos sais pela chuva e aumento da salinidade das águas subterrâneas). Este trabalho pretende analisar a influência das alterações climáticas na salinidade do solo e teor de água numa pastagem espontânea de sequeiro, utilizando *Hydrus-1D*. Foram simulados três cenários climáticos, compreendendo séries de 30 anos obtidas a partir de um modelo climático regional: cenário de referência (referente a 1971-2000), RCP4.5 e RCP 8.5 (ambos para 2011-2040). Os resultados mostram um aumento da salinidade do solo nos cenários RCP em relação à referência e uma diminuição no teor de água médio anual na camada superficial do solo. Ambos os efeitos limitam a produtividade da pastagem, podendo comprometer totalmente o crescimento das plantas.

Palavras-chave: salinidade do solo, água do solo, modelação, alterações climáticas.

Introduction

The peninsula of Lezíria de Vila Franca de Xira is an agricultural area of alluvial origin, approximately 10 km northeast of Lisbon (Portugal). It is surrounded by River Tejo, its estuary, and by River Sorraia. The peninsula lies 1 to 2 m above sea level, with saline groundwater arising from the estuarine tides, which salinity is close to that of the sea, with an electrical conductivity (EC) of 40-50 dSm⁻¹ (Rodrigues et al., 2019). Climate projections for the Mediterranean region show a decrease in precipitation, increase in mean temperature, and increase in sea water level. These conditions potentiate the accumulation of salts in the soil profile, which may compromise its agricultural use.

Hydrus-1D is a modelling tool which has been found to accurately model the soil water and salts dynamics (Kanzari et al., 2018; Ramos et al., 2011). In this study, *Hydrus-1D* was used to evaluate the influence of climate change projections on soil salinity and water content, in a rainfed spontaneous pasture in the south of Lezíria.

Material and methods

Study site

The site is a rainfed spontaneous pasture dominated by *Poacea* spp. The soil is classified as a Solonchak, according to the Harmonized World Soil Database (Fischer et al., 2012). The soil texture is relatively uniform along the soil profile and is classified as silty-clay. The site is located 2 m above the sea and at about 2.5 km from the estuary of the River Tejo. Primary salinization occurs due to the influence of the marine water from the estuary in groundwater.

Calibration of the *Hydrus-1D* model

Hydrus-1D is a public domain modelling tool for analysis of one dimensional water flow and solute transport in variably saturated porous media (Simunek et al., 2018).

Five soil layers to a depth of 1.5 m were considered (average depths of 0.15, 0.45, 0.75, 1.05, and 1.35 m). For the model calibration, soil samples were collected from the five soil layers, between May 2017 and October 2018, in a total of 20 samples. The soil volumetric water content (θ) was determined from the soil gravimetric water content (θ_w) and the dry bulk density. The electrical conductivity of the soil saturated paste (EC_e) was determined with a conductivity meter in the extract collected with suction filters from the saturated soil paste. The electrical conductivity of the soil solution, EC_{sw} , was calculated according to the following equation,

$$EC_{sw} = EC_e \frac{SP}{\theta_w} \quad (1)$$

where SP , is the gravimetric water content of the saturated soil paste (Rhoades et al., 1989). In *Hydrus-1D* the van Genuchten-Mualem model was selected to calculate the water transport, using the saturated and residual water content (θ_s and θ_r), the saturated hydraulic conductivity (K_s), the inverse of the air-entry value (α), the pore-size distribution index (n), and the pore connectivity (I). θ_s and θ_r were obtained from the particle size distribution using pedotransfer functions developed by (Ramos et al., 2014), which were found to be well-suited for the soils in this region. The equilibrium model was used for determination of the solute transport. The inverse modelling tool was used to calibrate K_s , α and n , and the solute transport parameter, dispersivity (D). The final soil parameters used in *Hydrus-1D* are presented in Table 1.

Table 1 – Soil parameters used in *Hydrus-1D*.

Avg. depth	θ_r	θ_s	α	n	K_s	I	D
0.15 m	0.09	0.57	0.03	1.53	17	0.5	15
0.45 m	0.09	0.57	0.02	1.4	65	0.5	14
0.75 m	0.08	0.56	0.015	1.3	10	0.5	14
1.05 m	0.08	0.55	0.01	1.1	65	0.5	25
1.35 m	0.08	0.55	0.01	1.1	25	0.5	25

The crop evapotranspiration (ET_c) was calculated according to the single crop coefficient approach proposed by (Allen et al., 1998), in which ET_c , is calculated by multiplying the reference crop

evapotranspiration (ET_o), by a crop coefficient, K_c . ET_o was calculated using the Penman-Monteith equation with data from a nearby meteorological station. The K_c was set to 0.4 for the initial development and 0.85 in the developed phase, with the cycle length adapted to site conditions. As required by *Hydrus-1D*, ET_c was fractioned in the components of soil evaporation and potential crop transpiration, which were estimated as a function of the Leaf Area Index (LAI) and the corresponding Soil Cover Factor, according to the approach proposed by (Ritchie, 1972). The LAI of the developed pasture was 3.5. In *Hydrus-1D*, T was integrated over the root domain using the Feddes model for root water uptake with the parameters for pasture proposed by (Wesseling et al., 1991) and the solute stress was considered using the multiplicative threshold model.

The calibration of the model with the field data resulted in a RMSE of calibration of 0.064 for a θ range between 0.2 and 0.55 and a RMSE of 6.5 for a EC_{sw} range between 5 and 70 dSm⁻¹.

Simulation of the climate scenarios

Hydrus-1D was also used to simulate θ and EC_{sw} for three scenarios comprised by 30-years periods: reference, RCP 4.5, and RCP 8.5. The reference scenario corresponds to the model data for the historical period of 1971-2000. RCP 4.5 and RCP 8.5 represent different levels of greenhouse gas concentration in the atmosphere during the period 2041-70, corresponding to an intermediate and a severe scenario, respectively. The climate data was obtained from the CORDEX experiment, with the Regional Climate Model, RACMO22E (Meijgaard et al., 2008), forced by the Global Climate Model, MOHC-HadGEM2-ES. This combination was found to have better results in climate description for this region of Portugal (Soares et al., 2017).

ET_c was calculated as described for the calibration process, but ET_o was now calculated using the climate data from the projection model, using the Hargreaves-

Samani equation (H. Hargreaves & A. Samani, 1985):

$$ET_0 = C \frac{Ra}{\lambda} (t_{avg} + 17.8)^2 \sqrt{(t_{max} - t_{min})} \quad (2)$$

where C is the radiation adjustment coefficient [$^{\circ}\text{C}^{-0.5}$], Ra is extraterrestrial solar radiation [MJ], λ is the latent heat of vaporization equal to 2.45 MJkg⁻¹, t_{avg} is the average daily temperature, and t_{min} and t_{max} are respectively, the minimum and maximum daily temperatures [$^{\circ}\text{C}$]. For ‘interior’ locations, where land mass dominates and air masses are not strongly influenced by a large water body (Allen et al., 1998) proposed $C=0.16$. t_{min} , t_{max} , and the precipitation, were obtained from the climate projections. The depth and EC of ground water was considered constant during the simulations (1.2 m), which is an approximation, as its depth varies during the year and is also likely to rise as a consequence of the projected increase in sea water level.

Results

Because EC_e allows the analysis of the soil salinity independently of its actual θ , it was calculated using EC_{sw} and θ simulated with *Hydrus-1D* in eq. (1), where SP is θ_s . Figures 1 and 2 show that the median of EC_e increases in both RCP scenarios, when compared to the reference scenario. Furthermore, there is a very large increment in the maximum EC_e in RCP scenarios, reaching values only tolerable to few plants. EC_e shows a similar increase for the deeper soil layers. Figure 3 show the yearly average θ at 15 cm. In the topsoil a decrease in average θ in the RCP scenarios compared to the reference scenario is evident. The decrease in θ does not occur at the layers below, which is likely due to the effect of capillary rise of the groundwater to these layers.

Conclusions

The simulations show that soil salinity increases (median and maximum of daily EC_e) for all soil layers, in the future climate scenarios comparatively to the reference scenario. Also, the average yearly θ of the

topsoil decreases in the future scenarios, compared to the reference. Both changes in salinity and water content may limit the productivity of the pasture and even compromise the ability of plants to grow. This evidences the need for adaptation strategies to avoid degradation of these soils due to salinity.

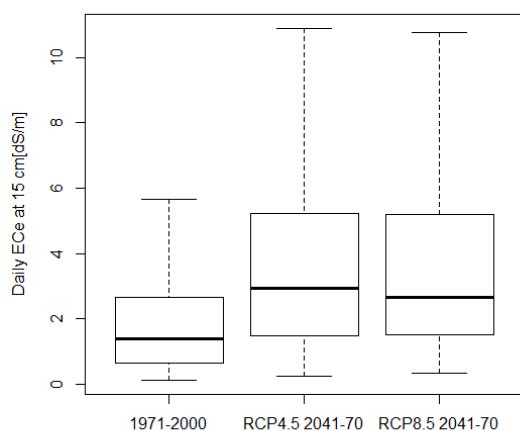


Fig. 1 – Daily EC_e at the average soil depth of 15 cm.

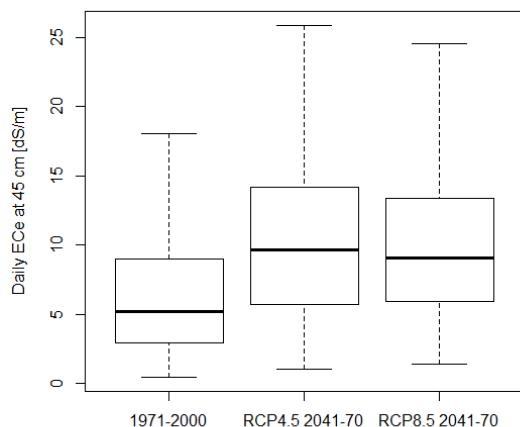


Fig. 2 – Daily EC_e at the average soil depth of 45 cm.

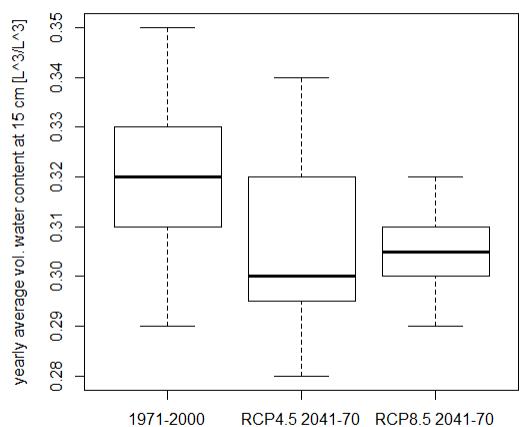


Fig. 3 – Yearly average θ at the average soil depth of 15 cm.

Acknowledgements

This work was carried out with support from the projects *Saltfree* (ARIMNET 2/000572015) and *Soil4Ever* (PTDC/ASP-SOL/28796/2017), both financed by FCT.

Bibliography

- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D., Smith, M., & Organization, (FAO) Food and Agriculture. (1998). *Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop water requirements*. FAO.
- Fischer, G., Nachtergaele, F. O., Prieler, S., Teixeira, E., Toth, G., van Velthuizen, H., Verelst, L., & Wiberg, D. (2012). *Global Agro-ecological Zones (GAEZ v3.0)- Model Documentation*. <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/soil-maps-and-databases/harmonized-world-soil-database-v12/en/>
- H. Hargreaves, G., & A. Samani, Z. (1985). Reference Crop Evapotranspiration from Temperature. *Applied Engineering in Agriculture*, 1(2), 96–99. <https://doi.org/10.13031/2013.26773>
- Kanzari, S., Ben Nouna, B., Ben Mariem, S., & Rezig, M. (2018). Hydrus-1D model calibration and validation in various field conditions for simulating water flow and salts transport in a semi-arid region of Tunisia. *Sustainable Environment Research*, 28(6), 350–356. <https://doi.org/10.1016/j.serj.2018.10.001>
- Meijgaard, E., Bosveld, F., & Lenderink, G. (2008). The KNMI regional atmospheric climate model RACMO version 2.1. *Undefined*.
- Ramos, T., Gonçalves, M., Martins, J., & Pereira, L. (2014). Comparison of different pedotransfer function for estimating soil hydraulic properties in Portugal.
- Ramos, T., Šimunek, J., Gonçalves, M. C., Martins, J. C., Prazeres, A., Castanheira, N. L., & Pereira, L. S. (2011). Field evaluation of a multicomponent solute transport model in soils irrigated with saline waters. *Journal of Hydrology*, 407(1), 129–144. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2011.07.016>
- Rhoades, J. D., Manteghi, N. A., Shouse, P. J., & Alves, W. J. (1989). Estimating Soil Salinity from Saturated Soil-Paste Electrical Conductivity. *SOIL SCI. SOC. AM. J.*, 53, 6.
- Ritchie, J. T. (1972). Model for predicting evaporation from a row crop with incomplete cover. *Water Resources Research*, 8(5), 1204–1213. <https://doi.org/10.1029/WR008i005p01204>
- Rodrigues, M., Fortunato, A. B., & Freire, P. (2019). Saltwater Intrusion in the Upper Tagus Estuary during Droughts. *Geosciences*, 9(9), 400. <https://doi.org/10.3390/geosciences9090400>
- Simunek, J., Sejna, M., & van Genuchten, M. Th. (2018). *Hydrus 1D* (4.17.0140) [Computer software]. PC-Progress.
- Soares, P. M. M., Cardoso, R. M., Lima, D. C. A., & Miranda, P. M. A. (2017). Future precipitation in Portugal: High-resolution projections using WRF model and EURO-CORDEX multi-model ensembles. *Climate Dynamics*, 49, 2503–2530. <https://doi.org/10.1007/s00382-016-3455-2>
- Wesseling, J. G., Elbers, J. A., Kabat, P., & Van den Broek, B. J. (1991). SWATRE: Instructions for input. *Internal Note, Winand Staring Centre, Wageningen, the Netherlands*, 1991.

Estrategia de cierre con Tecnosoles para la recuperación ambiental de la Mina de São Domingos

Closure strategy with Technosols for the environmental recovery of São Domingos mining area

Arán, Diego^{1,2*}, Abreu, Maria Manuela², Diamantino, Catarina³, Carvalho, Edgar³, Santos, Erika²

¹Iniproen Consulting, C/ Lugo 18, 15840 Santa Comba, A Coruña, España.

²LEAF—Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food—Research Center, Associated Laboratory TERRA, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal.

³EDM - Empresa de Desenvolvimento Mineiro, R. Sampaio e Pina 1, 1070-248 Lisboa, Portugal

*diegoaran@iniproen.com

Resumen

La existencia de minas abandonadas sin gestión ni responsabilidad ambiental, principalmente explotadas antes de los años 80, son un gran problema para las administraciones públicas, cuya prioridad estratégica es minimizar los impactos generados. Bajo este contexto, en la mina de São Domingos (Portugal), la EDM - Empresa de Desenvolvimento Mineiro (EDM) desarrolló un proyecto de recuperación ambiental con aplicación de Tecnosoles, integrando las intervenciones de rehabilitación ambiental definidas en el Plan Director para esta área. Este proyecto permitió evaluar, en un ensayo piloto de 1,5 ha en condiciones de campo, la efectividad a largo plazo (tras 12 meses) de esta tecnología en la mejora de materiales sujetos al lavado continuo por drenaje ácido. Se implementó una cobertura de 35 cm de Tecnosol, el cual fue diseñado con las propiedades alcalinas y eutróficas en respuesta de la necesidad determinada de los materiales en estudios previos. Tras la aplicación del Tecnosol y siembra de una cobertura de herbáceas, se evaluó la mejora de la calidad físico-química de los Tecnosoles, material de una área control (sin aplicación de Tecnosol) y material subyacente al Tecnosol. También la cobertura vegetal fue evaluada a lo largo del tiempo. Los resultados mostraron que los Tecnosoles son una alternativa eficaz que permite aumentar el pH y la fertilidad, soportar una cobertura vegetal estable y densa, así como reducir en más del 80% la disponibilidad de contaminantes de los materiales contaminados permitiendo obtener zonas para futuros aprovechamientos sin riesgos para el ambiente.

Palabras clave: Propiedades alcalinas y eutróficas, Mina de São Domingos, Faja Piritica Ibérica, Recuperación ambiental

Abstract

The existence of abandoned mines without management or environmental responsibility, mainly exploited before the 1980s, is an important problem for public administrations, whose strategic priority is to minimize the impacts generated. In this context, in the São Domingos mining area (Portugal), the EDM - Empresa de Desenvolvimento Mineiro developed a project of environmental rehabilitation with Technosols integrating the environmental rehabilitation interventions defined in the Master Plan for this large area. This project allowed the evaluation, in pilot assay with 1.5 ha and under field conditions, the long-term effectiveness (after 12 months) of this technology. A layer with 35 cm of Technosol, which was designed with alkaline and eutrophic properties due to the needs of the materials, was applied. After the Technosol application and herbaceous sowing, the physical-chemical quality of the Technosols, material from a control area (without Technosol application) and contaminated material located below the Technosol was evaluated. The results showed that Technosols are an effective alternative that allows the increasing of the pH and fertility, support a dense and stable plant cover as well as the diminution (more than 80 %) of the availability of contaminants from the contaminated materials, allowing future land uses (agricultural, forestry, etc.) without environmental risk.

Keywords: Alkaline and eutrophic properties, São Domingos Mine, Iberian Pyrite Belt, Environmental recovery

Introducción

En Portugal, así como en otros lugares del mundo, existen numerosas minas que han sido abandonadas y no presentan una adecuada gestión ambiental. En estas minas, la presencia de sulfuros metálicos y condiciones extremas del estado de los residuos mineros conllevan a la generación de drenajes ácidos ricos en elementos potencialmente tóxicos (EPT) cuya dispersión no controlada contribuye a grandes problemas ambientales (Lottermoser, 2010).

En la actualidad, las estrategias de rehabilitación implementadas en las áreas mineras abandonadas enfocan, principalmente, la seguridad y contención de la dispersión del drenaje ácido. Además, pocos son los proyectos que presentan estrategias de una recuperación ambiental que permita trazar objetivos de sostenibilidad para estos espacios, siendo uno de los principales desafíos para el cierre de este tipo de minas la disponibilidad de coberturas edáficas.

En este contexto surje la idea de evaluar, en áreas mineras abandonadas de la parte Portuguesa de la Faja Piritica Ibérica, la aplicación de tecnologías de remediación innovadoras, sostenibles y que promuevan la economía circular, como son los Tecnosoles.

La aplicación de Tecnosoles diseñados es una tecnología que ya ha sido evaluada en diferentes condiciones ambientales y escalas que van desde ensayos de micro- y meso-cosmos con residuos mineros ricos en sulfuros de la Península Ibérica hasta ensayos a gran escala para el cierre de depósitos en Perú. Los resultados en todos los casos demuestran mejoras significativas de las características físic-químicas y biológicas de los materiales degradados y sus lixiviados (ej. Arán et al., 2016, 2021; Macías et al., 2011; Monterroso et al., 1998; Santos et al., 2016, 2020).

Dependiendo de las características de diseño, los Tecnosoles pueden promover el establecimiento de una cobertura vegetal diversa y productiva, al mismo

tiempo que estimulan los procesos biogeoquímicos y edáficos (ej. neutralizar ácidos, disminuir la oxidación de sulfuros y dispersión de sulfatos y EPT, incrementar la fertilidad) y los servicios ecosistémicos, generando una mejora integral del sistema (ej. Arán et al., 2016, 2021; Rodríguez-Vila et al., 2016; Santos et al., 2016, 2020).

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar, a largo plazo, la eficiencia de la aplicación superficial de un Tecnosol en la mejora físico-química de los materiales presentes en las áreas de lavado con drenajes ácidos.

Material y métodos

La mina São Domingos, ubicada en la Faja Piritica Ibérica, SE de Portugal, presenta un nivel máximo de riesgo ambiental (Matos y Martins, 2006). Durante el período de explotación se generó una acumulación dispersa de residuos mineros en diferentes escombreras, así como se construyeron canales perimetrales cuya función era conducir el agua ácida generada y descargarla por los taludes con el objetivo de promover los procesos de evaporación disminuyendo el aporte de lixiviados y carga de EPT a los cuerpos de agua (Quental et al., 2002).

Estas áreas, que estuvieron sujetas a condiciones de lavado continuo con drenajes ácidos de mina, además de su gran extensión, representan zonas de enriquecimiento multielemental y de mayor movilidad de EPT al medio. En una de estas zonas fué donde se implementó un ensayo piloto ($\approx 1,5$ ha) con la aplicación superficial de un Tecnosol con propiedades alcalinas y eutróficas (espesor de ~40 cm). El Tecnosol se elaboró a partir de residuos agroindustriales y urbanos que permitieron obtener las propiedades de diseño requeridas. Un área adyacente sin aplicación del Tecnosol fue usada como control.

En las áreas con aplicación de Tecnosol y Control fueron sembradas una mezcla comercial de herbáceas. El porcentaje de

cobertura fue evaluado al largo del tiempo (15 días, 1, 3, 6 y 12 meses).

Tras 6 y 12 meses de la aplicación, muestras compuestas del Tecnosol (TEC, n=60, 0-40 cm de profundidad), Material contaminado localizado abajo del Tecnosol (EscR, n=8, sólo a los 12 meses) y Material sin recuperar (Esc, n=24; 0-20 cm de profundidad) fueron recogidas para la evaluación de su calidad físico-química. Los materiales (fracción <2 mm) se caracterizaron para: pH, potencial redox y conductividad eléctrica (1:2,5 m:V); P disponible (método Olsen); N total (analizador LECO), C orgánico (digestión por vía húmeda) y capacidad de intercambio catiónico (Peech et al., 1947). La concentración multielementar en la fracción total (extracción aqua regia) y en la disolución de equilibrio que simula el agua de poro se determinaron por ICP-MS.

Resultados y discusión

El área Control presentó una importante degradación ambiental caracterizada por la pérdida total de la cubierta edáfica, y alteración del material geológico presente por la acción continuada de las aguas ácidas que provocaron intensos procesos de hidrolisis ácida y conllevaron a que, actualmente, el material se encuentre completamente meteorizado y degradado.

Los materiales del área Control presentaron pH ácidos, oxidantes, muy baja fertilidad (Tabla 1), así como elevada tendencia oxidativa. Las concentraciones totales de varios EPT (ej. - mg/kg; As: 403-1720; Cu: 100-473; Pb: 174-1080; Sb: 1,9-26,4) exceden los valores de referencia establecidos por la legislación portuguesa de suelos para diferentes usos (APA, 2021). Bajo estas condiciones pH-Eh, las áreas Control contribuyen para la dispersión de varios EPT (Ej. Al, As, Cu, Fe, Mn, Pb, Sb y Zn), principalmente en sus formas catiónicas libres.

Después de 12 meses de la aplicación del Tecnosol y siembra del estrato herbáceo, los materiales contaminados situados por debajo del Tecnosol presentaron

significativas mejoras caracterizadas por el aumento del pH y disminución del Eh, incremento de la fertilidad y reducción de la disponibilidad de los EPT (80 % para As y Fe, 87 % para Al y >95% para Cu, Pb y Sb) comparativamente al Control.

Por ultimo, las muestras de Tecnosol presentaron durante todo el período de monitorización (hasta 12 meses) condiciones de reacción neutra a alcalina con potenciales redox bajos y una elevada fertilidad (Tabla 1). Su textura, franca a franco-arenosa, y elevada capacidad de neutralización de ácidos permitió modificar las condiciones de los materiales subyacentes, tanto en la reducción de movilidad de los contaminantes como incremento de la fertilidad. Estos cambios permiten a las plantas profundizar su enraizamiento.

Tabla 1 – Características químicas de los materiales (media±DP) recogidos a los 12 meses.

	Esc	EscR	TEC
pH _(H₂O)	3,5 – 4,5	4,7 – 8,2	7,6 – 8,4
Eh (mV)	363 – 478	190 – 378	193 - 293
C _{Organico} (g/kg)	1,2 – 3,6	2,5 – 20,0	57,8 – 116,2
N _{Total} (g/kg)	0,7 – 1,1	0,7 – 2,3	4,7 – 8,8
P _{Extraible} (mg/kg)	0,8 – 3,5	0,6 – 82,3	141 – 285
CIC (cmol _c /kg)	4,4 – 9,6	13,6 – 32,5	30,0 – 56,9

Esc: Material sin recuperar (control); EscR: Material contaminado localizada abajo del Tecnosol; TEC: Tecnosol; CIC: Capacidad de intercambio catiónico.

La cobertura de herbáceas en las áreas Control fue muy baja (<10 %), a pesar de la mayor cantidad de semillas aplicadas (10 veces más que para las áreas con Tecnosol). Además, las especies que lograron estar presentes durante todo el período evaluado fueron siempre las naturales espontáneas, principalmente, la especie *Spergularia purpurea*. La contribución del estrato sembrado fue prácticamente nula.

En las áreas con aplicación de Tecnosol, la germinación fue rápida obteniéndose una cobertura densa (>90 %) y estable

(Fig. 1) que tras completar su ciclo vegetativo volvió a germinar.



Fig. 1 – Área con aplicación de Tecnosoles (con vegetación) y Control (sin vegetación) al tercer mes de la aplicación.

Conclusiones

La aplicación del Tecnosol diseñado con propiedades alcalinas y eutróficas contribuyó a la recuperación ambiental del espacio minero a largo plazo, reduciendo la generación de drenaje ácido y minimizando la dispersión de los contaminantes. Esta tecnología permitió implantar nuevamente un sistema edáfico con todas las propiedades y funciones de los suelos, generando un espacio productivo con valor para otros usos. Además, permitió el establecimiento de una cobertura vegetal densa y vigorosa que contribuye para la disminución de los procesos erosivos.

Esta tecnología verde es una solución efectiva para la conversión de áreas no productivas en áreas productivas.

Agradecimientos

Este trabajo fue ejecutado para la Empresa de Desenvolvimento Mineiro (EDM) mediante el contrato de concesión para la remediación ambiental de minas abandonadas en Portugal, por el ISA-ULisboa, LEAF y Inprojen, siendo financiado por los Fondos de Cohesión de la Comunidad Europea POSEUR (145/POSEUR/2020). Este trabajo está

dentro de los alcances del proyecto LEAF (UID/AGR/04129/2020) financiado por fondos nacionales de la Fundação para a Ciência e Tecnologia.

Referências bibliográficas

- Arán, D., Antelo, J. & Macías, F. (2016). Uso de Tecnosuelos para la mejora en la calidad química de aguas de escorrentía de la mina Fé (Cuidad Rodrigo, Salamanca). In *Livro de Actas do VII Congresso Ibérico das Ciências do Solo* (pp. 337–340). Beja: Sociedade Portuguesa de Ciência do Solo.
- Arán, D., Santos, E.S., Abreu, M.M., Antelo, J., & Macías, F. (2021). Use of combined tools for effectiveness evaluation of tailings rehabilitated with designed Technosol. *Environmental Geochemistry and Health*, 1–17. Doi: 10.1007/S10653-021-01118-3
- Lottermoser, B.G. (2010). *Mine Wastes: Characterization, Treatment and Environmental Impacts*. Berlin Heidelberg: Springer.
- Macías, F., Macias-García, F., Nieto, C., Verde, J.R., Pérez, C., Bao, M. & Camps-Arbestain, M., (2011). Gestión de residuos y cambio climático. In Mosquera, M.E.L., Osés, M.J.S. (Eds.), Gestión de residuos orgánicos de uso agrícola (pp. 11-24). Santiago de Compostela: Servizo de Publicacións e Intercambio Científico de la Universidad de Santiago de Compostela.
- Matos, J.X. & Martins, L.P. (2006). Reabilitação ambiental de áreas mineiras do sector português da Faixa Piritosa Ibérica: Estado da Arte e Perspectivas Futuras. *Boletin Geológico Minero* 117, 289–304.
- Monterroso, C., Macías, F., Gil Bueno, A. & Val Caballero, C. (1998). Evaluation of the land reclamation project at the As Pontes Mine (NW Spain) in relation to the suitability of the soil for plant growth. *Land Degradation & Development*, 9, 441-451.
- Peech, M., Alexander, L.T., Dean, L.A. & Reed, J.F., (1947). Methods of soil analysis for soil fertility investigations. USDA 575. Washington: U.S.Gov. Print. Office.
- Quental, L., Bourguignon, A., Sousa, A.J., Batista, M.J., Brito, M.G., Tavares, T., Abreu, M.M., Vairinho, M. & Cottard, F. (2002). MINEO Southern Europe environment testsite. Contamination impact mapping and modelling—Final Report. Assessing and monitoring the environmental impact of mining activities in Europe using advanced Earth Observation Techniques (MINEO) 5th FP-IST-1999-10337.
- Rodríguez-Vila, A., Asensio, V., Forján, R. & Covelo, E.F. (2016). Assessing the influence of Technosol and biochar amendments combined with *Brassica juncea* L. on the fractionation of Cu, Ni, Pb and Zn in a polluted mine soil. *Journal of Soils and Sediments* 16(2), 339-348.
- Santos, E.S., Abreu, M.M., Macías, F. & de Varennes, A., (2016). Chemical quality of leachates and enzymatic activities in Technosols with gossan and sulfide wastes from the São Domingos mine. *Jounal of Soils and Sediments* 16(4), 1366–1382.
- Santos, E., Cornejo, M., Arán, D., & Gallardo, A. (2020). Risk assessment of the land recovery to pastures on sulfide tailings closed with different systems: Conventional Vs Technosol. *EGU General Assembly 2020*. <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu2020-12527>.

Erosão do solo em áreas de matos de montanha: efeito do fogo controlado

Soil erosion in mountain shrub areas: effect of prescribed fire

Kipper Alves, Leonardo^{1*}; Figueiredo, Tomás¹; Royer, Ana Caroline¹; Nóvoa-Muñoz, J.C², Méndez-López, M², Fonseca, Felícia¹

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

²Universidade de Vigo, Departamento de Bioloxía Vexetal e Ciencia do Solo, Área de Edafoloxía e Química Agrícola, Facultade de Ciencias, As Lagoas s/n, 32004 Ourense, Spain

* leokipperalves@hotmail.com

Resumo

Atualmente, um dos maiores problemas ambientais ao nível do globo é a perda de solo por erosão hídrica. O agente erosivo pode provocar perdas significativas de nutrientes e matéria orgânica, principalmente quando a superfície do solo suporta um reduzido coberto vegetal. Em Portugal, o fogo controlado é uma prática comumente utilizada no controlo da disponibilidade de combustível e consequente redução do risco de incêndio. Contudo, esta prática remove em grande parte a cobertura vegetal, deixando o solo mais exposto aos processos erosivos. Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do fogo controlado na erosão hídrica em áreas de matos do Parque Natural de Montesinho, NE Portugal. Após o fogo, foram instaladas 6 parcelas de erosão de 4 m² cada (4 × 1 m), para avaliação da perda de solo e do escoamento superficial na área queimada. Os resultados englobam 8 meses de ensaio (março a dezembro de 2021), e as colheitas foram realizadas por cada evento de precipitação, perfazendo um total de 6 avaliações. O volume de água de escoamento e a perda de solo (massa de sedimentos) foram obtidos através de cálculos que englobaram o escoamento, os sedimentos transportados para o interior dos reservatórios de colheita do escoamento e os sedimentos depositados na parte frontal das parcelas de erosão (colocação de um dispositivo que permite a recolha dos sedimentos transportados). A quantidade média de perda de solo foi de 15,4 g m⁻², o escoamento superficial médio foi de 1,4 mm, traduzindo-se num coeficiente de escoamento de 4,2%. Para avaliação das perdas de C e N, os sedimentos foram separados em 4 classes de tamanho (<0,2mm, 0,2-0,5mm, 0,5-2mm, >2mm) e analisadas em laboratórios as concentrações de C e N. A baixa precipitação total, durante o período de ensaio, ocasionou baixos valores de escoamento e, portanto, baixos valores de perda de solo, de C e de N.

Palavras-chave: Perda de solo, escoamento superficial, nutrientes, Portugal

Abstract

Currently, one of the biggest environmental problems at the global level is the soil loss by water erosion. The erosive agent can cause significant losses of nutrients and organic matter, especially when the soil surface supports a reduced vegetation cover. In Portugal, prescribed fire is a commonly used practice to control the fuel availability and consequently reduce the wildfires risk. However, this practice removes the vegetation cover, leaving the soil more exposed to erosive processes. In this sense, the present work aims to evaluate the effect of prescribed fire on water erosion in shrub areas of the Montesinho Natural Park, NE Portugal. After the fire, 6 erosion plots of 4 m² each (4 × 1 m) were installed to assess soil loss and runoff in the burned area. The results encompass 8 months (March to December 2021), and samples were collected for each rainfall event, making a total of 6 evaluations. The runoff and soil loss (sediment mass) were obtained through calculations that encompassed the runoff, the sediments transported into the runoff collection reservoirs and the sediments deposited on the front of the erosion plots (placement of a device that allows the collection of transported sediments). The average of soil loss was 15.4 g m⁻², the average of runoff was 1.4 mm, corresponding to a runoff coefficient of 4.2%. To evaluate C and N losses, the sediments were separated into 4 size classes (<0.2mm, 0.2-0.5mm, 0.5-2mm, >2mm) and analyzed in laboratory the C and N concentrations. The low total precipitation, during the test period, caused low runoff values and, therefore, low losses of soil, C and N.

Keywords: Soil loss, runoff, nutrients, Portugal

Introdução

Atualmente, um dos maiores problemas ambientais ao nível do globo é a perda de solo por erosão (Wang et al., 2016) e a consequente perda de matéria orgânica (Fonseca et al., 2017; Fonseca et al., 2022).

Em locais onde a erosividade da precipitação é elevada e a superfície do solo está desprovida de uma cobertura vegetal adequada, pode ocorrer grande degradação do solo associada a significativas perdas de solo, água e nutrientes, fatores essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas. A perda de solo e os elementos químicos que lhe estão associados, causam relevantes danos ambientais, como o assoreamento e a eutrofização de cursos de água (Cardoso et al., 2012).

Neste sentido, a cobertura vegetal é uma grande aliada na prevenção do processo erosivo. Contudo, Portugal tem sido constantemente afetado por incêndios florestais desde a década de 80 (AFN, 2012), e o fogo é responsável por remover a cobertura vegetal viva e morta que recobre o solo, facilitando a perda de solo por erosão (Bertol et al., 1997; Fonseca et al., 2017).

O solo no NE de Portugal, onde está localizado o Parque Natural de Montesinho (PNM), é um recurso qualitativamente escasso, pelo que impõe-se como prioridade a proteção desse recurso (Figueiredo, 2012). Os solos do PNM são predominantemente incipientes, classificados como Leptossolos.

No PNM as comunidades arbustivas apresentam notável interesse do ponto de vista pedológico e hidrológico, uma vez que se situam nas áreas marginais de relevo mais ondulado ou acidentado, onde predominam também os solos mais delgados, condições que podem gerar risco severo de erosão (IPB/ICN, 2007; Bompastor et al., 2009).

O presente trabalho tem como principal objetivo apresentar e discutir resultados de experimentação no terreno, com vista a avaliar o efeito do fogo controlado na erosão hídrica em áreas de matos no PNM.

Material e métodos

A área de estudo localiza-se no Parque Natural de Montesinho (PNM), NE Portugal ($41^{\circ}53'57.06''N$, $6^{\circ}40'55.39''W$) (Fig. 1). Apresenta relevo ondulado, declive suave e cotas superiores a 800 m. Assenta sobre uma litologia de xistos, com predomínio dos Leptossolos úmbricos, de textura média, ácidos, pedregosos, com teores médios a elevados de matéria orgânica no horizonte superficial (Agroconsultores & Coba, 1991).

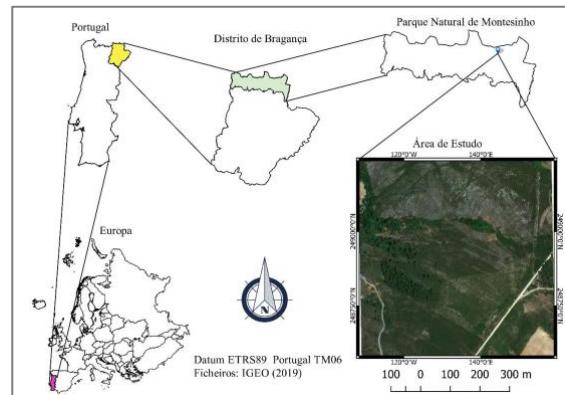


Fig. 1 – Localização da área de estudo no Parque Natural de Montesinho, NE de Portugal.

A área de estudo corresponde a um antigo povoamento de *Pinus pinaster*, que em agosto de 1998 sofreu um incêndio, destruindo boa parte da floresta. Desde então, a área foi invadida por vegetação arbustiva espontânea. Em março de 2011, foi realizado um fogo controlado, com o objetivo de diminuir a quantidade de combustível disponível e reduzir o risco de incêndio (Fonseca et al., 2017). Após 10 anos, em março de 2021, foi aplicado um novo fogo controlado na mesma área com o mesmo objetivo.

Após o fogo controlado, foram instaladas 6 parcelas de erosão de 4 metros de comprimento por 1 metro de largura (4 m^2 de área), para quantificar a perda de solo e o escoamento superficial na área queimada (Fig. 2). Os valores referentes à precipitação (mm), ao escoamento superficial (mm) e à perda de solo (g m^{-2}) foram determinados para cada evento de precipitação, totalizando 6 avaliações (colhetas) num período de 8 meses (março a dezembro de 2021).



Fig. 2 – Instalação de parcelas de erosão

Em cada colheita procedeu-se à troca dos reservatórios de recolha do escoamento superficial e sedimento em suspensão e à recolha do solo acumulado no dispositivo colocado na frente das parcelas (Fig. 3).



Fig. 3 – Acumulação de sedimento no dispositivo colocado na frente das parcelas de erosão

Nos cálculos da perda de sedimento e água de escoamento por parcela e evento utilizaram-se as seguintes expressões:

Produção de sedimento

$$PS = ((C_{sa} \times V_{ae}) + P_{sf}) / A \text{ (g m}^{-2}\text{)} \quad (1)$$

Escoamento superficial

$$ES = V_{ae} / A \text{ (mm)} \quad (2)$$

C_{sa} - concentração de sedimento em 100 ml de água de escoamento (g L^{-1}); V_{ae} - volume de água de escoamento (L); P_{sf} - peso de sedimento colhido na frente da parcela (g); A - área da parcela (m^2).

Também foram quantificadas, para os dois primeiros eventos de precipitação após o fogo, as perdas de C e N nos sedimentos. Os sedimentos foram separados em 4 classes de tamanho: <0,2 mm, 0,2-0,5 mm, 0,5-2 mm e >2 mm e analisados para as concentrações de C e N em autoanalizador por combustão.

Resultados e discussão

No período de 8 meses do ensaio foram registados 231,7 mm de precipitação total, a perda de solo média foi de $15,4 \text{ g m}^{-2}$ e o escoamento médio de 1,4 mm (Quadro 1).

O coeficiente de escoamento foi de 4,2%, ocorrendo um ligeiro aumento quando comparado ao valor de 2,4% encontrado quando da aplicação do primeiro fogo controlado na mesma área em 2011 (Figueiredo et al., 2012).

Quadro 1 – Perda de solo (PS) Escoamento superficial (ES) e Precipitação total (PT) por colheita (evento de precipitação)

Colheita	PS (g m^{-2})	ES (mm)	PT (mm)
1 ^a	4,5	0,4	32,8
2 ^a	18,5	1,2	47,4
3 ^a	31,7	1,3	56,6
4 ^a	18,1	1,5	30,9
5 ^a	13,4	2,1	43,9
6 ^a	5,9	1,9	20,1
Média/Total	15,4	1,4	231,7

A reduzida perda de solo, em primeira aproximação, será justificada pela baixa quantidade e intensidade da precipitação, uma vez que o escoamento superficial que é responsável pelo deslocamento das partículas de solo tem grande correlação com a precipitação (Lorenzon et al., 2015).

Outros fatores, ainda inexplorados na análise dos resultados, podem estar na origem do baixo potencial de perda de solo nas condições do ensaio. Destaca-se a elevada pedregosidade na superfície do solo, situação semelhante à de outras áreas estudadas no NE de Portugal (Figueiredo, 2001; Figueiredo et al., 2012; Fonseca et al., 2017).

Comparando a perda de solo com o escoamento, nota-se que na primeira colheita ocorreram baixos valores de escoamento e consequentemente baixos valores de perda de solo, uma vez que o escoamento superficial é a etapa do ciclo hidrológico mais associada ao desenvolvimento do processo erosivo (Pruski & Silva, 1997).

A evolução temporal da perda de solo e do escoamento superficial (Fig. 4) segue um

padrão já observado experimentalmente em áreas de solo nu ou de reduzido coberto vegetal (Figueiredo et al., 2012; Fonseca et al., 2017). As perdas de solo tendem a diminuir ao longo do tempo.

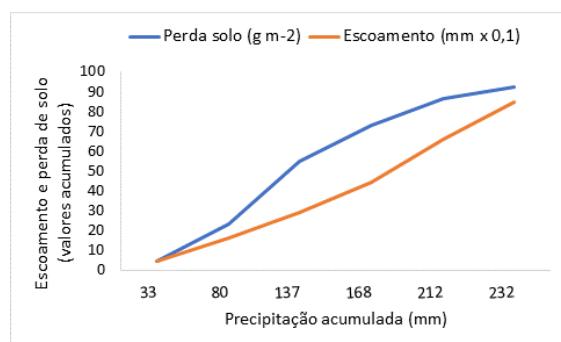


Fig. 4 – Evolução temporal da perda de solo e de escoamento num período de 8 meses: média das 6 parcelas de erosão

A quantidade média de C perdido no sedimento é de 32 kg ha^{-1} , apresentando, as classes de sedimento de maiores dimensões os valores mais elevados. O N, com uma perda média de $0,75 \text{ kg ha}^{-1}$, segue um padrão de distribuição pelas diferentes classes de sedimento idêntico ao do C. Estas perdas podem ser consideradas baixas, o que é principalmente explicado pelos baixos valores de perda de sedimento (Quadro 1).

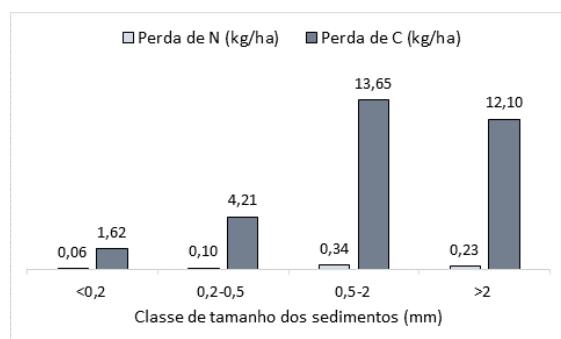


Fig. 5 – Perda de C e N por classe de tamanho dos sedimentos produzidos nos dois primeiros eventos de precipitação após o fogo controlado

Apesar dos valores baixos registados para as perdas de solo, C e N, trata-se de solos delgados (Leptossolos), com deficientes condições produtivas e consequentemente incapazes de suportar um coberto vegetal que permita a conservação do solo (Fonseca et al., 2017; Fonseca et al., 2022).

Conclusões

A perda média de solo foi de $15,4 \text{ g m}^{-2}$. O escoamento superficial médio foi de $1,4 \text{ mm}$, correspondendo a um coeficiente de escoamento de 4,2%. A baixa precipitação total ocasionou baixos valores de escoamento e portanto, baixos valores de perda de solo. As perdas de C e N durante as primeiras chuvas após o fogo ($32 \text{ e } 0,75 \text{ kg ha}^{-1}$, respectivamente), são relativamente reduzidas, estando estritamente relacionadas com a produção de sedimentos.

Agradecimentos

TERRAMATER- Innovative preventive recovery measures in burnt areas, 0701_TERRAMATER_1_E, co-funded by FEDER through Interreg V-A Espanha-Portugal (POCTEP) 2014–2022.

Referências bibliográficas

- Agroconsultores & Coba (1991). *Carta dos Solos do Nordeste de Portugal*. UTAD, Vila Real.
- Autoridade Florestal Nacional (2012). *Plano Municipal de Defesa da Floresta contra Incêndios (PMDFCI) - Guia Técnico*.
- Bertol, I., Cogo, N.P., & Levien, R. (1997). Erosão hídrica em diferentes preparos do solo após as colheitas de milho e trigo, na presença e ausência dos resíduos culturais. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, 21 (3), 409-418.
- Bompastor, A., Figueiredo, T., & Fonseca, F. (2009). Matos do Parque Natural de Montesinho, NE de Portugal – produção de serviços ecossistémicos. Proceedings 15º Congresso da APDR, Cabo Verde, p. 339-364.
- Figueiredo, T., Fonseca, F. & Martins, A. (2012). Soil loss and runoff in young forest stands as affected by site preparation technique: a study in NE Portugal. *Eur J For Res.* 131, 1747-1760.
- Figueiredo, T.F.R. (2001). *Pedregosidade e erosão hídrica dos solos em Trás-os-Montes: Contributo para a interpretação de registos em vinhas ao alto na região do Douro*. Dissertação de Doutoramento. UTAD, Vila Real.
- Fonseca, F., Figueiredo, T., Nogueira, C., Queirós, A. (2017). *Effect of prescribed fire on soil properties and soil erosion in a Mediterranean mountain area*. *Geoderma* 307, 172-180.
- Fonseca, F., Silva, D., Bueno, P., Hernández, Z., Royer, A.C., & Figueiredo, T. (2022). *Temporal dynamics of carbon storage in mountains shrub areas managed by prescribed fire*. *Catena* 212, 106107.
- IPB/ICN (2007). Plano de Ordenamento do Parque Natural de Montesinho – Caracterização. Bragança.
- Lorenzon, A.S., Dias, H.C.T., & Tonello, K.C. (2015). Escoamento superficial da água da chuva em um fragmento florestal de mata atlântica, Viçosa-MG. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável* 5 (1), 50-58.
- Pruski, F.F., & Silva, D.D. (1997). *Escoamento superficial*. Viçosa, MG: DEA/UFV, 33 p.
- Wang, X., Zhao, X., Zhang, Z., Yi, L., Zuo, L., Wen, Q., Liu, F., Xu, J., Hu, S., & Liu, B. (2016). Assessment of soil erosion change and its relationships with land use/cover change in China from the end of the 1980s to 2010. *Catena* 137, 256-268.

Marcadores moleculares subrogados a la repelencia al agua en suelos afectados por el fuego

Molecular markers surrogated to water repellency in fire-affected soils

Jiménez-Morillo, Nicasio T.^{1*}, Almendros, Gonzalo², Guiomar, Nuno¹, Miller, Ana Z.^{3,4}, Barrocas-Dias, Cristina⁴, De la Rosa, José M.³, Hatcher, Patrick G.⁵, González-Pérez, José A.³

¹ Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento (MED), University of Évora, Núcleo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora (Portugal).

² Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN-CSIC). Serrano 115 B, 28006 Madrid (España).

³ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC), Grupo MOSS. Avda. Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla (España)

⁴ Laboratório Hercules, University of Évora, Largo Marquês de Marialva, 8, 7000-809 Évora (Portugal).

⁵ Department of Chemistry and Biochemistry, Old Dominion University, Norfolk, VA 23529, (USA).

*ntjm@uevora.pt

Resumen

La repelencia al agua del suelo (RAS) se atribuye a la acumulación de compuestos hidrofóbicos (lípidos), pero su extracción no siempre elimina la RAS, lo que sugiere que componentes macromoleculares no extraíbles también pueden estar relacionados con una RAS. Se han estudiado suelos quemados (B) y control (UB) del Parque Nacional de Doñana (Huelva, España) bajo dos tipos de vegetación (alcornoque y brezo) y fracciones de suelo: gruesa (1–2 mm) y fina (<0.05 mm). La composición molecular de la materia orgánica del suelo (MOS) se analizó mediante espectrometría de masas de ultra-alta resolución. Además, se empleó la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) para explorar la relación entre la RAS y la MOS definida por la abundancia de los 1221 compuestos orgánicos comunes. También se utilizaron índices para obtener gráficas que faciliten la identificación de biomarcadores de la RAS. En los suelos quemados, la RAS estaba significativamente relacionada ($P<0.05$) con compuestos aromáticos y condensados, mientras que, en los suelos control, la MOS incluía compuestos aromáticos y ligninas. En las fracciones finas, la RAS estuvo relacionada principalmente con lípidos, pero, no se encontró correlación en las fracciones gruesas. Los resultados permiten concluir que la hidrofobicidad depende de varias familias de compuestos orgánicos. La combinación de la FT-ICR/MS con herramientas estadísticas ha facilitado la obtención de nuevos biomarcadores de RAS.

Palabras clave: Hidrofobicidad, incendios forestales, espectrometría de masas, quimiometría, diagrama de van Krevelen

Abstract

Soil water repellency (SWR) is often attributed to the accumulation of hydrophobic organic compounds, mainly lipids. Nonetheless, lipid extraction not always suppress SWR and unextractable soil constituents may be related with residual SWR. Burnt (B) and unburnt (UB) soils (Doñana National Park, Huelva) under two vegetations (cork oak and heather) and two soil fractions, coarse (1–2 mm) and fine (<0.05 mm) were studied. Soil organic matter (SOM) molecular composition was studied by ultra-high resolution mass spectrometry. Partial least squares regression (PLS) was employed to explore SWR in function the abundance of the 1221 common compounds found. An omic approach using various indices (e.g., factor loadings of PLS models, etc.) was applied to identify compounds which could be used as proxies for SWR. In the case of B soils, SWR was related ($P<0.05$) to aromatic and condensed compounds, while in UB soils it relied mainly on aromatics and lignins. In the fine fractions, lipids were associated with SWR, and no correlation was found in the coarse fractions. In conclusion, hydrophobicity was related to lipids as expected, but also to lignin and aromatic components. The combination of FT-ICR/MS with graphical statistical approach was effective in finding molecular predictors of SWR.

Keywords: Chemometrics, forest fires, hydrophobicity, mass spectrometry, van Krevelen diagram

Introducción

La repelencia al agua en el suelo (RAS) es una propiedad física que dificulta la infiltración del agua y en la que influye un considerable número de factores medioambientales, en general poco conocidos, con una fuerte dependencia de las características y tipo de suelo. Esta propiedad del suelo tiene una importante influencia sobre el funcionamiento de los ecosistemas a nivel hidrológico, geomorfológico y ecológico. La RAS determina el aumento del flujo superficial, lo que se traduce en una erosión acelerada y por tanto en la pérdida de nutrientes, así como la alteración de la dinámica de humectación del suelo (flujos preferentes de infiltración), lo que afecta directamente al desarrollo de la vegetación. Sin embargo, la RAS también confiere propiedades positivas al suelo, como es el incremento de estabilidad de agregados y el secuestro de C.

Tradicionalmente, la RAS se ha explicado a partir de la translocación y acumulación de compuestos orgánicos de carácter hidrofóbico, principalmente sustancias de naturaleza lipídica (ceras, ácidos grasos, etc.) a lo largo del perfil del suelo (Jiménez-Morillo et al., 2017). Sin embargo, experimentos basados en extracción secuencial de todas las formas libres e hidrolizables de lípidos del suelo, utilizando disolventes orgánicos de diversa polaridad, demuestran que la RAS disminuye, pero no desaparece totalmente. Por tanto, se puede pensar en la contribución de factores adicionales, como pueden ser cambios en la naturaleza y composición de la fracción orgánica recalcitrante, insoluble, de la MOS, que incluye las denominadas sustancias húmicas y en particular la fracción no-extractable o humina (De Blas et al., 2010).

En efecto, estos constituyentes de la MOS también pueden desempeñar un importante papel en la hidrofobicidad que presente el suelo. Éste es el caso de los suelos afectados por incendios, donde el fuego puede inducir, incrementar o incluso destruir la RAS. Esta alteración está directamente relacionada con los cambios producidos en la composición molecular de la MOS. Jiménez-Morillo et al. (2017) demostraron que existe una relación directa entre

el grado de alteración de los compuestos lipídicos y la RAS. Sin embargo, otros estudios han mostrado como otras familias de compuestos orgánicos también influyen en la hidrofobicidad (Deus et al., 2021).

El objetivo principal de este trabajo fue la identificación de marcadores moleculares de la RAS. Para ello combinamos técnicas avanzadas de espectrometría de masas de ultra-alta resolución con tratamientos estadísticos.

Material y métodos

Para facilitar la identificación de los constituyentes moleculares de la MOS involucrados en la RAS, se llevó a cabo el estudio comparado de muestras de suelos quemados y control bajo dos tipos de cubiertas vegetales, arbórea (*Quercus suber* L.) y arbustiva (*Erico scopariae-Ulicetum australis*) en el Parque Nacional de Doñana (Huelva, España). Las muestras quemadas fueron producto de los incendios que tuvieron lugar durante el verano de 2014 y que afectaron >300 ha, siendo la intensidad alta. El test de hidrofobicidad basado en el tiempo de penetración de una gota de agua (WDPT) se empleó para evaluar el grado de la RAS en dos fracciones de tamaño de partícula: gruesa (1–2 mm) y fina (<0,05 mm).

La composición molecular de la MOS fue analizada mediante espectrometría de masas por resonancia de ión ciclotrón con transformada de Fourier (FT-ICR/MS) y los resultados fueron analizados mediante regresión por PLS. Este tratamiento estadístico permite construir modelos de predicción y comprobar si los valores de la RAS (variable dependiente) pueden explicarse a partir de las proporciones de los constituyentes orgánicos de las muestras analizadas (variables independientes).

Por otro lado, se obtuvieron diversos índices para ilustrar el grado en que los compuestos orgánicos pueden emplearse como variables predictoras de la RAS: a) los factores de carga de las variables latentes de los modelos de PLS, b) los coeficientes de correlación de Pearson entre la variable dependiente y cada una de las variables independientes, y c) las diferencias

entre valores promedio de la composición molecular de grupos de suelos con valores extremos de WDPT. En todos los casos, los valores se presentan gráficamente en forma de superficies de densidad sobre el plano definido por las relaciones atómicas H/C y O/C de los compuestos orgánicos comunes detectados por FT-ICR/MS; se trata de diagramas de van Krevelen clásicos, introduciendo una tercera dimensión para representar dichos índices que expresan la influencia diferencial de los distintos compuestos en la RAS observada (Jiménez-Morillo et al., 2022).

Resultados y discusión

El análisis comparativo de los valores de WDPT indicó la existencia de 4 grupos independientes de muestras con diferentes grados de RAS. Cabe destacar que las muestras de suelos bajo cubierta arbustiva presentaron un bajo grado de repelencia respecto a las muestras bajo cubierta arbórea.

El empleo de la espectrometría de masas de alta resolución ha permitido identificar más de 7000 compuestos orgánicos diferentes para cada muestra de MOS analizada. Sin embargo, en esta investigación sólo se han considerado las 1221 moléculas orgánicas comunes en todas las muestras analizadas, principalmente moléculas constituidas por C, H y O. Estos compuestos presentaban valores de H/C y O/C comprendidos entre 0.4–2.0 y 0.1–1.2, respectivamente. Ello sugiere que la MOS está constituida por compuestos derivados de lignina, taninos, carbohidratos, proteínas, lípidos, compuestos aromáticos y aromáticos condensados (Jiménez-Morillo et al., 2018).

El empleo de análisis estadísticos multivariante, y más concretamente la regresión por PLS nos permite generar un modelo predictivo del grado de RAS (Fig. 1) a partir de los 1221 compuestos orgánicos comunes a las 8 muestras analizadas mediante FT-ICR/MS.

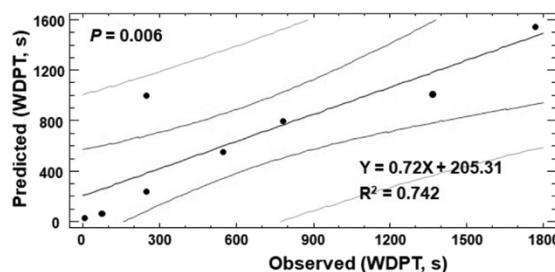


Fig. 1 – Representación gráfica de la validación cruzada de valores observados frente a los predichos de la WDPT, obtenidos mediante el modelo de predicción para la WDPT generado por PLS ($R^2 = 0.742$), utilizando 6 variables latentes sugeridas por los valores de error cuadrático medio (RMSE) y el criterio de información de Akaike (AIC).

El siguiente paso fue la identificación de los principales marcadores moleculares asociados a los diferentes grados de RAS. Para ello, se construyeron mapas de densidad a partir de valores de sustracción entre abundancias de compuestos en muestras con diferentes niveles de RAS, que ilustran los compuestos orgánicos cuya proporción aumenta o disminuye a consecuencia del incendio (Fig. 2A), el tamaño de partícula (Fig. 2B), y el grado de hidrofobicidad (Fig. 2C). Esta aproximación metodológica ha sido empleada recientemente para la identificación de biomarcadores en matrices complejas (Jiménez-Morillo et al., 2022). En el caso de las muestras de suelos afectados por el incendio, frente a las tomadas en zonas inalteradas, se ha observado que la proporción de compuestos aromáticos y condensados están significativamente correlacionada con la RAS, mientras que las muestras control presentan una fuerte relación con compuestos derivados de lignina y taninos. Estos resultados sugieren que el fuego produjo una alteración de las propiedades coloidales del conjunto de constituyentes de la MOS, lo que aumenta el grado de RAS en los suelos afectados por el fuego. La comparación respecto al tamaño de partícula mostró la existencia de una fuerte correlación entre la RAS y los compuestos derivados de tipo lipídico y aromático fuertemente condensados para el caso de la fracción fina (<0,05 mm). Recientemente, Jiménez-Morillo et al. (2018) han demostrado que la MOS presente en la fracción más fina del suelo está principalmente

constituida por material fuertemente humificado, mientras que la MOS en la fracción más gruesa está dominada por biomasa vegetal relativamente menos transformada. Por último, la comparación con respecto al nivel de RAS muestra que las principales diferencias entre la concentración de constituyentes de la MOS se encuentran en los compuestos lipídicos y los derivados de lignina. Por el contrario, las muestras procedentes de suelos menos hidrofóbicos presentan mayores proporciones de compuestos aromáticos, con un valor O/C > 0.7, lo que indica un elevado número de grupos polares.

La comparación del conjunto de los tres gráficos de la Fig. 2A-C ilustra que el grado de RAS puede estar significativamente relacionado con diferentes aspectos estructurales, de la MOS, dependiendo de la fracción o tipo de suelo, así como del tipo de recubrimiento hidrofóbicos, o el grado de desfuncionalización de los compuestos orgánicos con grupos polares, principalmente taninos y ligninas oxidadas.

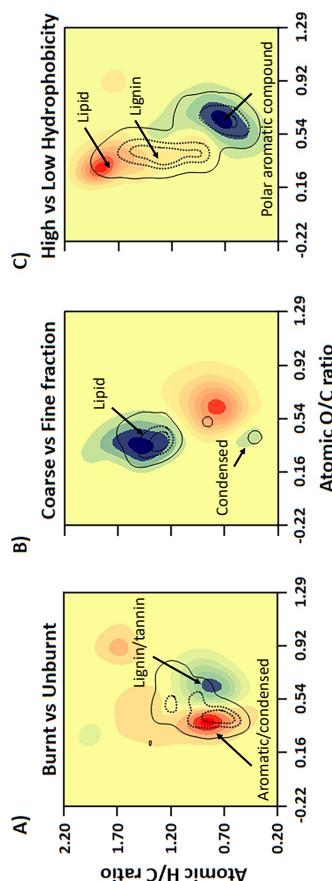


Fig. 2 – Gráficos de densidad obtenidos a partir de los valores sustracción de las proporciones de las 1221 moléculas orgánicas comunes en muestras agrupadas en función de diferentes criterios: A) muestras afectadas por el fuego (rojo) frente a no afectadas (azul), B) fracciones gruesas (rojo) frente a fracciones finas (azul), y C) alta hidrofobicidad (rojo) frente a baja (azul). Los valores se representaron en el espacio definido por las relaciones atómicas H/C y O/C de los correspondientes compuestos (diagrama de Van Krevelen). Las diferencias más significativas entre los grupos de muestras se representan mediante un gráfico de contorno ($P<0.1$ en contorno externo, $P<0.01$ en el interno).

Conclusiones

La combinación de la espectrometría de masa de ultra-alta resolución con tratamientos gráfico-estadísticos constituye una estrategia ómica con gran potencial para el análisis exploratorio de los complejos factores responsables de cambios en la RAS tras un incendio forestal. De hecho, los resultados ilustran que esta aproximación metodológica puede ser de gran interés en investigaciones con elevado número de muestras, por cuanto facilita en gran medida la reducción de datos y su interpretación.

Además, la aproximación analítica propuesta puede ser útil para evaluar la calidad de la MOS lo que ofrece una información valiosa sobre la alteración molecular de la MOS inducida por efecto de factores naturales y antropogénicos, y su impacto en el ecosistema.

Agradecimientos

Trabajo parcialmente financiado por los proyectos EROFIRE (PCIF/RPG/0079/2018 y MICROCENO (PTDC/CTA-AMB/ 0608/2020) de la Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) y MarkFire (PAIDI2020, PY20_01073) de la Junta de Andalucía con fondos EU FEDER e INTERCARBON (2017/19) del Espacio Natural de Doñana y la EBD-CSIC. Además, NTJM y AZM agradecen los contratos CEECs (2021/00711/CEECIND y CEECIND/01147/2017, respectivamente, de la FCT) y el contrato Ramón y Cajal (ref. RYC2019-026885-I) del Ministerio de Ciencia e Innovación.

Referencias bibliográficas

- Jiménez-Morillo, N.T., Spangenberg, J.E., Miller, A.Z., et al. (2017). Wildfire effects on lipid composition and hydrophobicity of bulk soil and soil size fractions under *Quercus suber* cover (SW-Spain). *Environ. Res.* 159, 394–405.
- De Blas, E., Rodríguez-Alleres, M. & Almendros, G. (2010). Speciation of lipid and humic fractions in soils under pine and eucalyptus forest in northwest Spain and its effect on water repellency. *Geoderma* 155, 242–248.
- Deus, M., Miller, A.Z., Jiménez-Morillo, N.T. (2021). Molecular Characterization of Burned Organic Matter at Different Soil Depths and Its Relationship with Soil Water Repellency: A Preliminary Result. *Agronomy*, 11, 2560.
- Jiménez-Morillo, N.T., Almendros, G., et al. (2022). Hydrophobicity of soils affected by fires: An assessment using molecular markers from ultra-high resolution mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* 817, 152957.
- Jiménez-Morillo, N.T., González-Pérez, J.A., Almendros, G., et al. (2018). Ultra-high resolution mass spectrometry of physical speciation patterns of organic matter in fire-affected soils. *J. Environ. Manage.* 225, 139–147.

Avaliação do balanço de água e de sais no solo em três culturas permanentes do perímetro de rega do Roxo

Water and salt budgets in three permanent tree crops in Roxo's irrigation district

Monteiro, T.^{1*}; Ramos, T.B.²; Darouich, H.³; Oliveira, A.R.²; Farzamian, M.⁴; Castanheira, N.⁴; Paz, A.M.⁴; Alexandre, C.¹; Gonçalves, M.C.⁴;

¹ Dept. de Geociências e MED, Universidade de Évora, apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal

² MARETEC-LARSyS, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, Portugal

³ LEAF – Landscape, Environment, Agricultural and Food, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Portugal

⁴ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), Oeiras, Portugal

* m47237@alunos.uevora.pt

Resumo

O regadio é fundamental para a produção agrícola em Portugal. As previsões de alterações climáticas mostram uma tendência para verões mais quentes e secos, e precipitação com uma maior irregularidade na sua distribuição. O aumento de evapotranspiração associado à rega poderá levar a uma maior concentração de sais no solo e por consequência, a um aumento do risco de salinização e da perda de produção das culturas. Por estas razões, a monitorização e controlo da salinização do solo são fundamentais para a sustentabilidade do regadio. Este trabalho teve como objetivo avaliar o balanço de água e sais no solo de três culturas permanentes (olival, amendoal, clementinas) situadas no perímetro de rega do Roxo, em Aljustrel, nos anos de 2019 e 2020. Foram monitorizados os teores de água e a condutividade elétrica do extrato de saturação do solo a diferentes profundidades. Foi depois utilizado o modelo HYDRUS-1D para simular a dinâmica da água e sais no solo e avaliar a sustentabilidade das práticas agrícolas existentes. Os resultados demonstraram que não há um aumento da salinidade no solo nos três locais monitorizados, embora seja importante melhorar as práticas de rega para maximizar a eficiência do uso da água aplicada.

Palavras-chave: Salinização do solo, balanço hídrico, lixiviação, Hydrus-1D, regagota-a-gota

Abstract

Irrigation is fundamental for agricultural production in Portugal. Climate change forecasts show a tendency towards warmer, drier summers, and a reduction in precipitation depths and frequency. The increase in evapotranspiration associated with irrigation mal practices may lead to a higher concentration of salts in the soil, and consequently to an increased salinization risk and loss of crop production. For these reasons, the monitoring and control of soil salinization are essential for the sustainability of irrigated agriculture. This study aimed to evaluate the water and salts budgets in three permanent crops (olive grove, almond, clementines) located in Roxo's irrigation district, in Aljustrel, during the 2019 and 2020 growing seasons. The soil water content and the electrical conductivity of the soil saturation extract were monitored at different depths. The HYDRUS-1D model was then used to simulate the dynamics of water and salts in the soil profile and to evaluate the sustainability of existing agricultural practices. The results of this research showed that there is no increased risk of soil salinization in the three monitored sites, although it is important to improve irrigation practices to maximize the use efficiency of irrigation water.

Keywords: Soil salinization, water budget, leaching, Hydrus-1D, drip irrigation

Introdução

O solo é responsável, de forma direta ou indireta, pela produção da maioria dos alimentos consumidos e, por essa razão, tem de ser explorado com recurso a práticas agrícolas sustentáveis. A salinização é uma das principais causas da degradação do solo, com particular incidência nos climas áridos e semiáridos onde a agricultura de regadio é fundamental para o desenvolvimento socioeconómico e sobrevivência das populações.

No entanto, práticas de rega desajustadas das condições edafoclimáticas podem levar à acumulação de sais no perfil do solo, ao aumento do potencial osmótico e a quebras nas taxas de transpiração e da fotossíntese das culturas (Minhas et al., 2020). As consequências são a perda de produção das culturas, degradação do solo e desertificação do território.

As alterações climáticas têm afetado Portugal de Norte a Sul, com tendências para temperaturas mais elevadas, que levam a uma maior evapotranspiração, e a precipitação mais irregular no tempo. No Alentejo, mais especificamente no perímetro de rega do Roxo, é praticada agricultura intensiva em solos muitas vezes com problemas estruturais, com capacidade de potenciar os riscos de salinização (Alexandre et al., 2008). É, por isso, importante conhecer e monitorizar a presença de sais no solo de modo a minimizar estes riscos com a adoção de práticas de rega mais sustentáveis.

Para tal, devem ser utilizados modelos capazes de simular a dinâmica da água e o transporte de sais no solo e ajudar assim a prever o efeito das práticas agrícolas na qualidade do solo. No entanto, a utilização destes modelos necessita de um cuidadoso processo de calibração e validação para que as suas previsões sejam minimamente realistas, mas que geralmente está limitado pela falta de informação ao nível da parcela.

Assim, o objetivo principal deste estudo é (i) monitorizar a evolução do teor de água e da salinidade do solo em três culturas

permanentes regadas do perímetro de rega do Roxo durante os anos de 2019 e 2020; (ii) simular a dinâmica da água e sais nos três locais de estudo com o modelo HYDRUS-1D (Šimunek et al., 2008); e (iii) conhecer o balanço de água e sais no solo de modo a prever e prevenir os riscos de salinização do solo resultantes das práticas de rega atuais.

Material e métodos

Este trabalho foi realizado em três campos experimentais localizados no perímetro de rega do Roxo, Aljustrel, entre 2019 e 2020. As culturas selecionadas foram um olival intensivo da variedade 'Picual', instalado num solo Vc (Calcário Vermelho); um amendoal da variedade 'Monterey', num solo Sr* (Mediterrâneo Vermelho, com materiais lateríticos, pedregoso); e um pomar de clementinas da variedade 'Oronules', num solo Pag (Mediterrâneo Pardo, para-hidromórfico) (SROA, 1970).

Todas as culturas foram regadas através de um sistemagota-a-gota. O teor de água do solo foi monitorizado de forma contínua com recurso a sondas capacitivas (EnviroPro MT, MAIT Industries, Austrália), colocadas na linha da cultura às profundidades de 0.1, 0.3, 0.5 e 0.7 m. O teor de sais dissolvido no solo (TDS) foi determinado em amostras perturbadas colhidas periodicamente às mesmas profundidades. A condutividade elétrica do extrato de saturação do solo (EC_e) foi primeiramente determinada nessas amostras e posteriormente convertida para TDS através da seguinte relação:

$$TDS \text{ (g/l)} = 0.64 \times EC_e \text{ (dS/m)}$$

A condutividade elétrica da água de rega ($EC_{água}$) foi medida com um condutímetro, sendo o valor médio das amostras 0.72 dS/m.

O modelo HYDRUS-1D foi utilizado para simular o movimento vertical de água e o transporte de sais na região vadosa do solo. Este modelo utiliza a equação de Richards para o cálculo do movimento da água no solo e a equação de convecção-dispersão para o transporte de sais. As propriedades hidráulicas do solo foram

descritas com as funções propostas por van Genuchten (1978). A salinidade do solo foi simulada através de um traçador não reativo representando a condutividade elétrica da solução do solo (EC_{ss}).

A calibração do modelo foi realizada por modelação inversa dos teores de água do solo medidos às diferentes profundidades, em cada cultura, em 2019. As condições de fronteira superior foram definidas segundo a metodologia dos coeficientes culturais (K_c) duais (Allen et al., 1998), que calcula separadamente a transpiração da cultura da evaporação do solo. As previsões do modelo foram depois validadas com os dados medidos em 2020.

Resultados e discussão

O Quadro 1 apresenta o balanço de água para as três culturas monitorizadas para o ano civil de 2019 e 2020. Destacam-se, a título de exemplo, as elevadas dotações anuais de rega aplicadas no amendoal e nas clementinas bem como as perdas por percolação.

Quadro 1 – Balanço hídrico no solo referente às três culturas permanentes nos anos 2019 e 2020.

Ano	R mm	P mm	$\Delta\theta$ mm	T_p mm	T_r mm	E_r mm	DP mm
Clementinas							
2019	635	326	7	505	473	217	288
2020	858	484	4	499	482	219	661
Amendoal							
2019	649	326	-10	697	650	219	117
2020	772	484	-8	543	540	306	444
Olival							
2019	356	326	50	418	274	216	161
2020	323	484	5	413	337	241	282

Nota: R, rega; P, precipitação; $\Delta\theta$, variação do armazenamento de água no solo; T_p , transpiração potencial; T_r , transpiração real; E_r , evaporação do solo; DP, perdas por percolação.

O Quadro 2 apresenta o balanço de sais nos três locais monitorizados durante os anos de 2019 e 2020. As entradas correspondem aos sais adicionados pela rega e pela chuva, sendo naturalmente

mais elevados nos casos onde as dotações de rega foram maiores. As saídas correspondem aos sais lixiviados da zona da raiz (profundidade de 1.2 m), calculados pelo modelo HYDRUS-1D. Por último, a componente solo representa o armazenamento de sais no solo, correspondendo à diferença entre as entradas e saídas.

Quadro 2 – Balanço de sais de três culturas permanentes diferentes para os anos 2019 e 2020.

Ano	Entradas (ton/ha)	Saídas (ton/ha)	Solo (ton/ha)
Clementinas			
2019	3.2	5.3	-2.0
2020	4.3	7.5	-3.2
Amendoal			
2019	3.2	2.7	0.5
2020	3.9	7.7	-3.7
Olival			
2019	1.8	2.5	-0.6
2020	1.8	4.8	-3.0

Olhando para os resultados é fácil perceber que, face às práticas de gestão atuais, os riscos de salinização nos três locais monitorizados são muito reduzidos, uma vez que a maior parte dos sais adicionados com a rega acabam por ser lixiviados para fora da zona das raízes.

Havendo apenas uma exceção na cultura do amendoal no ano de 2019, onde houve um aumento de 0.5 ton/ha no teor de sais presentes no solo. Uma explicação possível desse valor é ter havido uma transpiração real elevada num ano onde a precipitação foi baixa, o que obrigou a que fossem aplicadas dotações de rega mais elevadas feitas com água mais salina que a da chuva, isso conjugado com perdas por percolação baixas, como se pode ver no Quadro 1, propicia o aumento de sais no solo. O facto do solo sobre o qual a cultura está instalada ser um solo mediterrâneo (Sr^*) com teor de argila superior a 40% no horizonte B, pode também levar a uma maior dificuldade na lixiviação dos sais e à acumulação dos mesmos nesse horizonte.

Conclusão

Os resultados deste estudo dão a entender que os riscos de salinização nos três locais monitorizados são muito reduzidos, pelo menos a curto prazo, visto que a lixiviação de sais supera quase sempre as quantidades adicionadas na rega. O problema que advém destes valores elevados de lixiviação é a contaminação das águas subterrâneas, não só pelos sais da rega, mas também por outros contaminantes que serão eventualmente arrastados no processo.

No futuro, pretende-se avaliar os riscos de salinização nestes locais tendo em conta diferentes cenários de alterações climáticas.

Agradecimentos

Trabalho realizado no âmbito do projeto PTDC/ASP-SOL/28796/2017 “Aumento da produtividade do regadio através do uso sustentado do solo, SOIL4EVER” financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia. As equipas têm o apoio da Associação de Beneficiários do Roxo.

Referências bibliográficas

- Alexandre, C., Borralho, T., & Durão, A. (2018). Evaluation of salinization and sodification in irrigated areas with limited soil data: Case study in southern Portugal. Spanish J. Soil Sci. 8, 102-120.
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., & Smith, M. (1998). Crop Evapotranspiration – Guidelines for Computing Crop Water Requirements. Irrig. Drain. Paper 56. FAO, Rome, Italy.
- Minhas, P.S., Ramos, T.B., Ben-Gal, A., & Pereira, L.S. (2020). Coping with salinity in irrigated agriculture: Crop evapotranspiration and water management issues. Agric. Water Manage. 227, 105832.
- van Genuchten, M.Th. (1980). A closed form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 44, 892-898.
- Šimůnek, J., van Genuchten, M.Th., & Šejna, M. (2008). Development and applications of the HYDRUS and STANMOD software packages and related codes. Vadose Z. J. 7(2), 587-600.
- SROA. (1970). *Carta dos Solos de Portugal (Esc. 1:50.000)*. 6^a Ed., Vol. I: Classificação e caracterização morfológica dos solos. Secretaria de Estado da Agricultura. Lisboa, 162 pp..

Efeito do fogo na qualidade dos solos de florestas de Quercus suber: uma avaliação a longo prazo

Fire effects on soil quality in Quercus suber forests: a long-term assessment

Benhalima, Yacine^{1,2*}, Santos, Erika¹, Arán, Diego^{1,3}, Fonseca, Madalena⁴, Abreu, Maria Manuela¹, Duarte, Inês², Acacio, Vanda², Nunes, Leónia², Lerma, Victoria⁵, Rego, Francisco²

¹LEAF—Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food—Research Center, Associated Laboratory TERRA, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal.

²Centro de Ecologia Aplicada "Professor Baeta Neves", InBio, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal

³Iniproen Consulting, C/ Lugo 18, 15840 Santa Comba, A Coruña, Spain

⁴Centro de Estudo Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal

⁵Universitat Politècnica de València, Institute of Information and Communication Technologies, Valencia, Spain

*yacinebenhalima@isa.ulisboa.pt

Resumo

Os incêndios, embora devastadores, são parte essencial na formação da paisagem mediterrânea e de alguns processos ecológicos que aí ocorrem. Dependendo das características do fogo, as propriedades do solo podem alterar-se significativamente. Os efeitos do fogo a longo prazo ainda não são bem compreendidos, principalmente na região mediterrânea e em particular em sistemas florestais de sobreiro. Este estudo teve como objetivo avaliar, a longo prazo e a diferentes profundidades, as características químicas dos solos de sobreira 16 anos após um incêndio, bem como a sua resiliência a esta perturbação. Este estudo realizou-se na Serra do Caldeirão (Sul de Portugal, Algarve). A amostragem de solos decorreu em 2020 e realizou-se principalmente em Leptossolos e em duas profundidades (0-5cm e 5cm – máxima profundidade) em parcelas ardidas em 2004 ($n=25$) e não queimadas ($n=12$). As amostras de solos foram caracterizadas quimicamente. Para a maioria dos parâmetros (excepto P extraível e C orgânico) não se verificaram diferenças significativas entre os dois cenários. As concentrações de P extraível (apenas para a camada superficial) e C orgânico (ambas profundidades) foram significativamente maiores nas parcelas queimadas. Os resultados evidenciam a recuperação natural das características químicas dos solos após o fogo e, consequentemente, uma considerável resiliência desses solos, bem como o papel da vegetação na dinâmica de recuperação do solo.

Palavras-chave: Pós-fogo, Resiliência, Leptossolos, Sobreiral, Serra do Caldeirão

Abstract

Wildfires, despite being a major disturbance factor, have also an essential role in shaping the Mediterranean landscape and its ecological processes. Post-fire soil properties can change significantly, depending on fire characteristics. However, long term fire effects on soil are still not well understood, particularly in the Mediterranean region and in cork oak forest systems. This study aimed to provide a long-term assessment of soil chemical characteristics in cork oak forests 16 years after a wildfire, at different depths, and of soil resilience to wildfire. The study was conducted in 2020 at Serra do Caldeirão (southern Portugal, Algarve), mainly in Leptosols. Soil sampling was carried out at two depths (0–5 cm and 5 cm–to maximum depth) in plots burned in 2004 ($n=25$) and unburned plots ($n=12$), which were used as control. Soil samples were chemically analysed in the laboratory. Similar results were obtained for burned and unburned plots, for most of the parameters. The exceptions were extractable P (0–5 cm depth) and organic C (both depths), which were significantly higher in burned plots. The results show a natural recovery of soil characteristics after wildfire and, consequently, indicate a considerable soil resilience and the important role of vegetation on the dynamics of post-fire soil recovery.

Keywords: Post fire, Resillience, Leptosols, Coark oak forest, Serra do Caldeirão

Introduction

Wildfires are affecting large areas of forests and shrublands in the Mediterranean region every year, with large economic and ecological impacts. In the past years, fire regimes have been shifting to large devastating fires, with higher intensity and frequency (Pausas 2015). Nonetheless, wildfires are an intrinsic process of the mediterranean landscape and vegetation dynamics.

Soil is considered as the largest carbon terrestrial pool (Lal 2004). Previous studies carried out in Mediterranean ecosystems highlighted a wide variability of the fire effects on soil properties and hydrological processes (Certini 2005), contributing to soil degradation, including carbon loss.

Fire effects on soils depend on many factors such as fire severity and duration, vegetation type, soil type and pre-fire status, with the strongest impacts on the superficial layer (0-5 cm) (Hrelj et al. 2020). However, the fire can reach beyond this superficial layer and affect the deeper soil layers (Úbeda and Outeiro 2009). For example, a soil layer of up to 30 cm is used to estimate soil carbon stock (FAO 2019), indicating the importance of knowing fire effects and post fire recovery of soils beyond the superficial layer. Furthermore, there is little knowledge of fire effects on cork oak forests, despite the high ecological and economic importance of these ecosystems.

This study aimed to asses the long-term effect of wildfires in the soil chemical characteristics of cork oak forests and post-fire soil resilience.

Material and methods

Study area

The study was conducted in Serra do Caldeirão (Algarve, southern Portugal). Serra do Caldeirão is a mountainous region, with a hilly landscape dominated by cork oak forests and shrublands of the *Cistaceae* and *Ericacea* families. The climate is Mediterranean, classified as Csa

according to the Köppen classification (Köppen 1936). The soils were developed on schist and greywackes, included in the Mira Formation (Oliveira 1982), being classified mainly as Leptosols (WRB 2014) although some Cambisols can also occur.

The area was affected by an extreme wildfire in 2004, which caused a severe loss of forest area (≈ 13600 ha). In the study area 37 plots were selected (each plot with a total area of approximately 441 m²), based on forest inventory, for soil sampling: 12 plots located in unburned area and 25 plots located in the area burned in 2004 (hereafter named as scenarios). In November of 2020, three soil samples were collected at two depths (0-5 cm and 5 cm to the maximum depth), at each plot.

After air-drying and homogeneization, soil samples (fraction <2 mm) were analysed for: pH and electrical conductivity (1:2.5 m:V), cation exchange capacity (extraction with ammonium acetate 1 mol/dm³), extractable P (Olsen and Sommers 1982), total N (Kjeldahl method) and organic C by wet digestion method (Springer and Klee 1954).

A T-test was performed to evaluate significant differences of soil chemical characteristics analysed (separately for each depth) between burned and unburned plots.

Results and discussion

Most of the soils presented a maximum depth up to 47 cm. Soil pH values were slightly acid to neutral, while electrical conductivities (EC) were low (Table 1), independently of the scenario and depth. There were no significant differences between burned and unburned areas for these parameters. Although the increase of soil pH after fire is reported due to ash-bed deposits on the surface (Chambers and Attiwill 1994), this effect was not detected in the study area, 16 years after the fire.

Similar results for pH and EC between burned and unburned areas were reported by Fonseca (2017) in Umbric Leptosols

from *Pinus pinaster* forests, three years after fire. For soil developed on limestone of *Quercus coccifera* forests, pH values for the superficial layer (0-5 cm) also showed no significant differences between burned and unburned areas, nine years after fire, and regardless of fire severity, but EC increased (Alcañiz et al. 2016).

Table 1 - Chemical characteristics of soils collected, at different depths, in unburned and burned areas (mean \pm SD). Values with * and ** indicate significant differences in soil parameters for the same depth at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

Scenarios	Unburned	Burned
0-5 cm of depth		
pH	6.07 \pm 0.44	6.02 \pm 0.41
EC (ds/m)	0.09 \pm 0.04	0.08 \pm 0.03
N _{total} (g/kg)	1.84 \pm 0.49**	2.19 \pm 0.67**
P _{extractable} (mg/kg)	3.74 \pm 2.27*	5.00 \pm 2.34*
C _{organic} (g/kg)	27.68 \pm 10.95 **	40.12 \pm 13.71*
CEC (cmol _c /kg)	6.51 \pm 2.70	7.51 \pm 2.77
5 cm – maximum depth		
pH	5.74 \pm 0.30	5.69 \pm 0.36
EC (ds/m)	0.04 \pm 0.01	0.05 \pm 0.02
P _{extractable} (mg/kg)	2.14 \pm 1.15	2.40 \pm 0.18
N _{total} (g/kg)	1.28 \pm 0.40	1.38 \pm 0.31
C _{organic} (g/kg)	11.53 \pm 6.00**	18.12 \pm 6.54**
CEC (cmol _c /kg)	3.53 \pm 1.37	3.89 \pm 1.78

Cation exchange capacity (CEC) varied from low to very low (5-10 and <5 cmol_c/kg) with the depth, being Ca the dominant cation in the exchangeable complex. No significant differences were obtained in CEC values for both scenarios and depths (Table 1). CEC can decrease after fire due to the loss of organic matter (Badia and Martí 2003). Nonetheless, the significantly different organic C concentrations found between burned and unburned areas did not match with obtained values for CEC, suggesting a significant contribution of clays fraction

to the CEC.

Contrarily to all other parameters analyzed, organic C and extractable P concentrations

were significantly different between burned and unburned plots at the study area.

Organic C concentrations decreased with depth, reaching always higher values in burned areas. This can be explained by the higher plant development of autochthonous species in burned areas in Serra do Caldeirão, such as *Cistus*, *Erica* and *Ulex* genus (data not shown). In fact, it was shown that frequent fires in the study area lead to the encroachment of persistent shrublands (dominated by *Cistus ladanifer*) (Acácio 2009). High organic C amounts were also obtained in soils collected in *Pinus halepensis* and *Pinus pinaster* forests burned three years after fire, indicating that postfire recovery of soil organic C depends on the interaction among plant recovery, fire severity and years after fire (Moya et al. 2019). Thus, the pattern of organic C recovery in the study area seems to be influenced by the soil-plant interaction.

Extractable P concentrations were very low, independently of the scenario, and showed a similar tendency to organic C concentration only the superficial layer, (higher in the burned areas; Table 1). These results are in concordance with the data obtained for a *Quercus coccifera* forest with similar shrub composition, where significant increases of extractable P in burned areas were identified nine years after fire (Alcañiz et al. 2016).

On the other hand, similar extractable P concentrations from superficial soil layer (0-5 cm) were obtained for burned and unburned areas, three years after fire on shrublands dominated by *Cistus*, while P increased on deeper layers (5-20 cm) of burned areas (Fonseca 2017). The plant colonization of the burned area and consequent input of litter can be a possible explanation for P increase, as well as the effect of root systems on deeper levels leading to more plant uptake (Guerrero et al. 2005). Plant-soil interaction also plays a major role in the recovery of this soil parameter after fire. Moreover, Moya et al. (2019) showed that P can be affected by the interaction between fire severity and fire year but concentrations can increase three years after fire.

Conclusions

Sixteen years after the wildfire, soils in burned cork oak forests showed similar chemical characteristics to the unburned areas, independently of the soil depth. Important exceptions were obtained for organic C concentrations for all depths and extractable P only for superficial layer and can be related to the high plant development in burned areas. In fact, plant-soil interaction plays an important role in the soil recovery after fire.

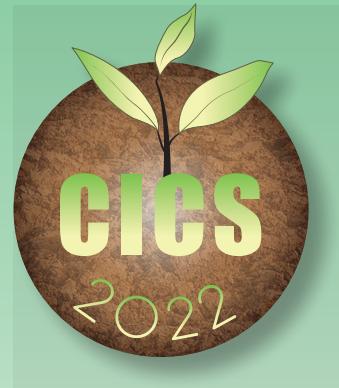
In general, the edaphic processes in the burned cork oak forests from Serra do Caldeirão seem to be relatively dynamic, allowing the natural recovery of the system. The high resilience of this ecosystem and the consequent stimulation of post-fire plant development contributed to the increase of organic matter and its decomposition in soils from burned areas.

Acknowledgements

This work was co-financed by REMAS project (SOE3/P4/E0954) from Interreg SUDOE 2014-2020 program (FEDER Funds) and national funds through Fundação para a Ciência e Tecnologia within the scope of the projects UID/AGR/04129/2020 and UID/BIA/50027/2019.

References

- Acácio, V., Holmgren, M., Rego, F., Moreira, Mohren, G.M.J. 2009. "Are drought and wildfires turning Mediterranean cork oak forests into persistent shrublands?". *Agroforestry Systems* 76:389-400. doi: 10.1007/s10457-008-9165-y
- Alcañiz, M., Outeiro, L., Francos, M., Farguell, J., and. Úbeda, X. 2016. "Long-Term Dynamics of Soil Chemical Properties after a Prescribed Fire in a Mediterranean Forest (Montgrí Massif, Catalonia, Spain)." *Science of The Total Environment* 572:1329–35. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.01.115.
- Certini, G. 2005. "Effects of Fire on Properties of Forest Soils: A Review." *Oecologia* 143:10. doi: 10.1007/s00442-004-1788-8.
- Chambers, D.P., and Attiwill P.M. 1994. "The Ash-Bed Effect in Eucalyptus Regnans Forest: Chemical, Physical and Microbiological Changes in Soil After Heating or Partial Sterilisation." *Australian Journal of Botany* 42(6):739. doi: 10.1071/BT9940739.
- FAO. 2019. "Measuring and Modelling Soil Carbon Stocks and Stock Changes in Livestock Production Systems Guidelines for Assessment." FAO. Retrieved March 24, 2022 (<https://www.fao.org/3/ca2934en/ca2934en.pdf>).
- Fonseca, Felícia, Tomás de Figueiredo, Clotilde Nogueira, and Anabela Queirós. 2017. "Effect of Prescribed Fire on Soil Properties and Soil Erosion in a Mediterranean Mountain Area." *Geoderma* 307:(172–80).doi: 10.1016/j.geoderma.2017.06.018.
- WRB. 2014. *World Reference Base for Soil Resources 2014: International Soil Classification System for Naming Soils and Creating Legends for Soil Maps*. Rome: FAO.
- Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Gómez, I., García-Orenes, F., and Jordán, M.M.. 2005. "Microbial Recolonization and Chemical Changes in a Soil Heated at Different Temperatures." *International Journal of Wildland Fire* 14(4):385. doi: 10.1071/WF05039.
- Hrelja, I., Šestak, I. and Bogunović, I.. 2020. "Wildfire Impacts on Soil Physical and Chemical Properties - A Short Review of Recent Studies." 85(4):9.
- Köppen, W. 1936. "Das Geographische System Der Klimate." *Gebrüder Borntraeger: Berlin Germany* 1–44.
- Lal, R. 2004. "Soil Carbon Sequestration to Mitigate Climate Change." *Geoderma* 123:1–22. doi: 10.1016/j.geoderma.2004.01.032.
- Moya, D., S. González-De Vega, E. Lozano, F. García-Orenes, J. Mataix-Solera, M. E. Lucas-Borja, and J. de las Heras. 2019. "The Burn Severity and Plant Recovery Relationship Affect the Biological and Chemical Soil Properties of *Pinus Halepensis* Mill. Stands in the Short and Mid-Terms after Wildfire." *Journal of Environmental Management* 235:250–256. doi: 10.1016/j.jenvman.2019.01.029
- Oliveira, J. T. 1982. "Carta Geológica de Portugal, Escala 1_200000." *Notícia Explicativa* 8.
- Olsen, S. R., and L. E. Sommers. 1982. "Olsen, S.R. and Sommers, L.E. (1982) Phosphorus. In: Page, A.L., Ed., Methods of Soil Analysis Part 2 Chemical and Microbiological Properties, American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, 403-430." Pp. 403–30 in *Methods of Soil Analysis Part 2 Chemical and Microbiological Properties*,. oil Science Society of America.
- Pausas, Juli G. 2015. "Alternative Fire-Driven Vegetation States." *Journal of Vegetation Science* 26(1):4–6. doi: 10.1111/jvs.12237.
- Springer, U., and J. Klee. 1954. "Prufung Der Leistungsfähigkeit von Einigen Wichtigen Verfahren Zur Bestimmung Des Kohlenstoffs Mittels Chromschwefelsaure Sowie Vorschlag Einer Neuen Schnellmethode. J." 64:1–26.
- Úbeda, Xavier, and Luís R. Outeiro. 2009. "Physical and Chemical Effects of Fire on Soil." P. 28 in *Fire Effects on Soils and Restoration Strategies*. CRC Press.



Solos e temas ambientais

Posters

The role of mosses in soil physico-chemical properties under two contrasting post-fire managements in Central Portugal

El papel de los musgos en las propiedades físicoquímicas de suelos afectados por dos manejos postincendio en la región centro de Portugal

García-Carmona, Minerva^{1*}; Girona-García, Antonio²; Oliveira, Bruna R.F.²; Keizer, Jan Jacob²; García-Orenes, Fuensanta¹; Mataix-Solera, Jorge¹

¹ GEA – Environmental Soil Science Group, Department of Agrochemistry and Environment, Universidad Miguel Hernández, Avda. de la Universidad s/n., 03202 Elche, Alicante, Spain

² Centre for Environmental and Marine Studies (CESAM), Department of Environment and Planning, University of Aveiro, Aveiro 3810-193, Portugal.

* minerva.garciac@umh.es

Abstract

Mosses play an important role after wildfires, acting as early colonizers before the establishment of vascular vegetation, thus stabilizing, and protecting soil against erosion. However, little is known about the effect of moss development on soil recovery after wildfires.

In this work, we studied effects of mosses on soil physico-chemical properties in a burned eucalyptus plantation under two contrasting post-fire managements in Central Portugal, six years after wildfire. Post-fire managements were applied in two separate areas from the same wildfire and consisted of salvage logging vs. mulching with standard and low application rates (8 and 2.6 Mg ha⁻¹, respectively).

Six years after fire, for each area and management type (untreated, logged, mulched standard/low), we collected five soil samples at 0-2.5 depth with and without moss biocrusts (n=50). Soils were analysed for pH, electrical conductivity, oxidizable organic C, total N, available P, aggregate stability, macro-aggregate content, and wettability.

The studied post-fire managements showed contrasting effects on soil properties in the medium-term. Whereas salvage logging did not negatively affect soils, the mulching at a standard rate increased soil fertility six years after the fire. The moss biocrust emerged after the wildfire preserved soil structure, thus decreasing the risk of soil erosion.

Keywords: Mosses, mulch, salvage logging, post-fire management.

Resumen

Los musgos juegan un papel importante tras los incendios forestales actuando como colonizadores tempranos, estabilizando y protegiendo así el suelo frente a la erosión. Sin embargo, se desconoce el efecto de los musgos sobre la recuperación del suelo post-incendio.

En este trabajo estudiamos los efectos a medio plazo del musgo sobre las propiedades físicoquímicas del suelo en una plantación de eucalipto de la región Centro de Portugal, afectada por un incendio forestal y con diferente gestión post-fuego. Dicha gestión consistió en saca de madera vs. aplicación de mulch estándar y reducida (8 y 2.6 Mg ha⁻¹, respectivamente).

Seis años después del incendio, para cada zona y tipo de gestión (sin tratar, saca de madera, mulch estándar/reducido), se muestrearon 5 réplicas de suelo a 0-2,5 cm de profundidad con y sin musgo (n=50). Se analizó pH, conductividad eléctrica, C orgánico oxidable, N total, P disponible, estabilidad de agregados, contenido en macroagregados y repelencia al agua.

Los tratamientos post-incendio estudiados mostraron efectos contrastados sobre las propiedades del suelo a medio plazo. La saca de madera no afectó negativamente al suelo, mientras que la aplicación estándar de mulch aumentó la fertilidad edáfica. Los musgos desarrollados tras el incendio preservaron la estructura del suelo, reduciendo así el riesgo de erosión.

Palabras clave: musgos, mulch, saca de madera, gestión post-incendio.

Introduction

Biological soil crusts are a community of organisms living in the soil surface composed mainly of cyanobacteria, lichens, and/or mosses, which have key roles for the health and functionality of the ecosystems, improving soil structure and stability, influencing the local hydrologic cycles, enhancing soil fertility, or increasing the biodiversity of soil microbial community (Belnap and Lange, 2013). After a wildfire, mosses are described as fast colonizers before the establishment of vascular vegetation (Esposito, 1999), suggesting a positive role in early post-fire stages. In the absence of vegetation after a wildfire, the presence of a moss biocrust stabilizes the soil surface protecting it effectively against water erosion (Silva et al., 2019). After wildfires in semi-arid conditions, soils covered by mosses reach higher soil fertility, boosting the ecosystem recovery (García-Carmona et al., 2020). However, apart from erosion control, little is known about the role for soil recovery of the early emergence of mosses, even less in climates under oceanic influence as in Portugal.

Post-fire management is an important factor that will determine the capacity of soil to recover from degradation. Salvage logging, the most common practice in Portugal, under certain circumstances can trigger erosion processes (Malvar et al., 2017), alter nutrient cycling (Peregr et al., 2018), and induce detrimental consequences for microbial diversity (García-Carmona et al., 2021). On the other hand, effective mitigation measures such as mulching reduce the negative impacts of post-fire erosion providing a surface cover to soils before the vegetation regrowth (Girona-García et al., 2021). Although the treatments' effectiveness at mitigating soil erosion is widely documented, their medium-term implications on soil physico-chemical properties recovery is partially unknown.

In this work, we studied soils under two contrasting forest managements, salvage logging and mulch application, six years after a wildfire in eucalypt plantations. Our aim was to determine the medium-term

effects of fire and forest management on soil physico-chemical properties in combination with the presence of burgeoning moss biocrust patches that emerged after the fire.

Material and methods

The study area is located in Miranda do Corvo, central Portugal, affected by a moderate severity wildfire during August 2015 that burned 715 ha mainly of *Eucalyptus globulus* Labill. plantations. The climate is Mediterranean with oceanic influence characterized by mild winters and warm, dry summers, with mean annual temperatures of 12°C and 851 mm of precipitation. Soils were characterized as an association of Epileptic Umbrisol and Cambic Umbrisol with a depth of 30 cm and loam texture. Six years after the wildfire, a developed moss biocrust covered the topsoil at several patches in the fire-affected area.

After the wildfire, two contrasting post-fire managements were applied in separate areas. One was salvage logging, without slash treatment or removal, for which a forwarder tractor made two passes, causing skid trails. The other was mulching, performed by homogeneously applying chopped eucalypt residues from the logging operations. Mulch was applied at a "standard" rate of 8.0 Mg ha⁻¹, effective in earlier field studies in the region (Keizer et al., 2018), and a "low rate" of 2.6 Mg ha⁻¹, effective under laboratory conditions of simulated rainfall (Prats et al., 2017).

Soil sampling was conducted in July 2021. For each treatment, 10 samples were collected from 0-2.5 cm depth, five replicates in soils underneath moss biocrusts and five in uncrusted soils (n=50).

Soil pH and electrical conductivity were measured in 1:2.5 and 1:5 (w/v) aqueous extracts. Soil organic carbon was determined by the potassium dichromate oxidation following the Walkley-Black method; nitrogen was analyzed following the Kjeldahl method; and available phosphorus was extracted and measured following the Olsen method. The aggregate stability and the total content of macro-

aggregates were examined after an artificial rainfall of known energy ($279 \text{ J min}^{-1} \text{ m}^{-1}$) (Roldán et al., 1994). Soil water repellency was assessed by the Water Drop Penetration Time (WDPT) test.

Results and discussion

Six years after the wildfire, contrasting effects were found in relation to post-fire management and the presence of mosses in soils. Soils affected by salvage logging did not reflect negative consequences due to the management; indeed, an increment in available P was registered. Those results suggest the way the management was performed had no long-lasting effects on soil properties, results that are in accordance with Fernández and Vega (2016), who did not find detrimental effects after logging under similar climate conditions and organic carbon content. On the other hand, the lower organic carbon and nitrogen content in soils underneath mosses show the opposite trend than in drylands, where an improvement in soil fertility and nutrient cycling is expected with the presence of a moss-biocrust (Ferrenberg et al., 2022), even in post-fire environments, creating fertility islands (Muñoz-Rojas et al., 2021). A possible hypothesis may be mosses preferred to avoid establishing where the most recalcitrant organic matter concentrates after the wildfire, which would be in accordance with the higher soil hydrophobicity registered in the uncrusted soils (Doerr et al., 2009). The rapid recovery of vascular vegetation in the area together with the naturally high levels of organic matter apparently counteracts the effects of a moss biocrust on soil fertility in a medium-term. Nevertheless, the presence of mosses preserved soils, with a higher total content of macro-aggregates in all cases, providing better conditions to soils compared to the uncrusted ones, more exposed to degradation (Chamizo et al., 2012).

Mulching increased nutrients and soil organic carbon contents, although the increment was detected only in soils under the highest rate of mulch and without moss development. The direct contact of the

mulch residues with the topsoil may have accelerated its decomposition, thus the increment in soil fertility, while mosses could be slowing down the decomposition process.

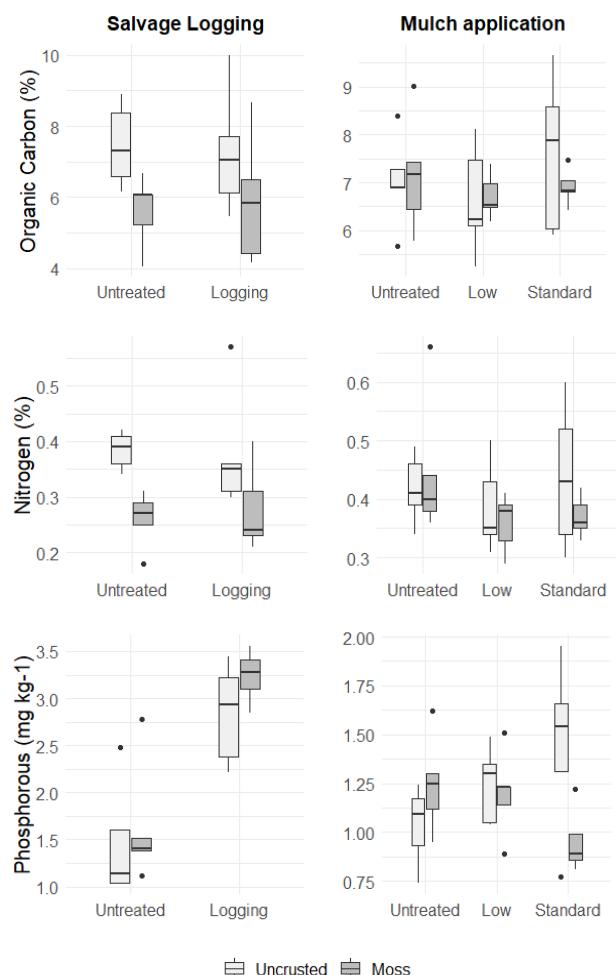


Fig. 1 – Soil organic carbon, nitrogen and available phosphorous measured in the two contrasting forest managements, salvage logging (untreated and logging) and mulch application (untreated, low rate and standard rate), in soils under mosses and uncrusted soils.

Table 1 – Water repellency and total content of macro-aggregates measured in the two contrasting forest managements, salvage logging (untreated and logging) and mulch application (untreated, low rate and standard rate), in soils under mosses and uncrusted soils. Lowercase letters represent significant differences among treatments and moss crust (Tukey test, p-value<0.05). P-values after 3-way ANOVA: *** = <0.001; ** = <0.01; * = <0.05.

Treatment	Moss	Water Repellency	Macro-Aggregates
Untreated	Uncrusted	10652a ± 5915	55.0 ± 9.7
	Moss	502b ± 758	59.7 ± 8.6
Logging	Uncrusted	8146a ± 6178	53.2 ± 4.6
	Moss	533b ± 605	59.0 ± 6.8
Untreated	Uncrusted	345b ± 282	53.5 ± 10
	Moss	647b ± 519	63.5 ± 6.1
Low rate	Uncrusted	372b ± 481	52.5 ± 9.1
	Moss	536b ± 1036	64.9 ± 6.9
Standard rate	Uncrusted	941b ± 1253	54.1 ± 10.2
	Moss	251b ± 373	60.2 ± 14.4
<i>3-way ANOVA:</i>			
Management		<0.001***	0.604
Treatment		0.779	0.966
Moss		<0.001***	0.004**
Manag: Treat: Moss		<0.001***	0.857

Conclusions

The studied post-fire forest managements showed contrasting effects on soil properties in the medium-term. Whereas salvage logging did not negatively affect soils, the mulching at a standard rate increased soil fertility six years after the fire. The moss biocrust emerged after the wildfire preserved soil structure, thus decreasing the risk of soil erosion.

Acknowledgements

Thanks to the “POSTFIRE_CARE” project of the Spanish Research Agency (AIE) and the European Union through European Funding for Regional Development (FEDER) [Ref.: CGL2016-75178-C2-1-R], and the grant FPI-MINECO BES-2017-081283 supporting M.G-C. We also acknowledge financial support to CESAM by FCT/MCTES (UIDP/50017/2020+UIDB/50017/2020+LA/P/0094/2020), through national funds.

References

- Belnap, J., and Lange, O.L. (Eds.), Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management, vol. 150, Springer Science & Business Media (2013).
- Doerr, S. H., Shakesby, R. A., & MacDonald, L. H. (2009). Soil water repellency: a key factor in post-fire erosion. In Fire effects on soils and restoration strategies (pp. 213-240). CRC Press.
- Chamizo, S., Canton, Y., Lázaro, R., Solé-Benet, A., & Domingo, F. (2012). Crust composition and disturbance drive infiltration through biological soil crusts in semiarid ecosystems. *Ecosystems*, 15(1), 148-161.
- Esposito, A., Mazzoleni, S., & Strumia, S. (1999). Post-fire bryophyte dynamics in Mediterranean vegetation. *Journal of Vegetation Science*, 10(2), 261-268.
- Ferrenberg, S., Tucker, C. L., Reibold, R., Howell, A., & Reed, S. C. (2022). Quantifying the influence of different biocrust community states and their responses to warming temperatures on soil biogeochemistry in field and mesocosm studies. *Geoderma*, 409, 115633.
- Keizer, J. J., Silva, F. C., Vieira, D. C., González-Pelayo, O., Campos, I. M. A. N., Vieira, A. M. D., ... & Prats, S. A. (2018). The effectiveness of two contrasting mulch application rates to reduce post-fire erosion in a Portuguese eucalypt plantation. *Catena*, 169, 21-30.
- García-Carmona, M., Arcenegui, V., García-Orenes, F., & Mataix-Solera, J. (2020). The role of mosses in soil stability, fertility and microbiology six years after a post-fire salvage logging management. *Journal of Environmental Management*, 262, 110287.
- García-Carmona, M., García-Orenes, F., Mataix-Solera, J., Roldán, A., Pereg, L., & Caravaca, F. (2021). Salvage logging alters microbial community structure and functioning after a wildfire in a Mediterranean forest. *Applied Soil Ecology*, 168, 104130.
- Girona-García, A., Vieira, D. C., Silva, J., Fernández, C., Robichaud, P. R., & Keizer, J. J. (2021). Effectiveness of post-fire soil erosion mitigation treatments: A systematic review and meta-analysis. *Earth-Science Reviews*, 217, 103611.
- Malvar, M. C., Silva, F. C., Prats, S. A., Vieira, D. C., Coelho, C. O., & Keizer, J. J. (2017). Short-term effects of post-fire salvage logging on runoff and soil erosion. *Forest ecology and management*, 400, 555-567.
- Muñoz-Rojas, M., de Lima, N. M. M., Chamizo, S., & Bowker, M. A. (2021). Restoring post-fire ecosystems with biocrusts: living, photosynthetic soil surfaces. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 23, 100273.
- Pereg, L., Mataix-Solera, J., McMillan, M., & García-Orenes, F. (2018). The impact of post-fire salvage logging on microbial nitrogen cyclers in Mediterranean forest soil. *Science of the Total Environment*, 619, 1079-1087.
- Prats, S. A., Abrantes, J. R., Crema, I. P., Keizer, J. J., & de Lima, J. L. (2017). Runoff and soil erosion mitigation with sieved forest residue mulch strips under controlled laboratory conditions. *Forest Ecology and Management*, 396, 102-112.
- Roldán, A., García-Orenes, F., & Lax, A. (1994). An incubation experiment to determine factors involving aggregation changes in an arid soil receiving urban refuse. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(12), 1699-1707.
- Silva, F. C., Vieira, D. C., van der Spek, E., & Keizer, J. J. (2019). Effect of moss crusts on mitigation of post-fire soil erosion. *Ecological Engineering*, 128, 9-17.

Contenido y distribución de mercurio y metilmercurio en horizontes orgánicos de bosques caducifolios

Content and distribution of mercury and methylmercury in organic horizons of deciduous forests

Calvo-Portela, Noemi^{1,2}, Méndez-López, Melissa^{1,2}, Parente-Sendín, Andrea^{1,2}, Gómez-Arnesto, Antía^{1,2}, Nóvoa-Muñoz, Juan Carlos^{1,2*}, Alonso-Vega, Flora^{1,2}

¹ Universidade de Vigo, Departamento de Biología Vegetal e Ciencia do Solo, Área de Edafología e Química Agrícola, Facultade de Ciencias. As Lagoas s/n, 32004 Ourense, España.

² Campus da Auga, Universidade de Vigo, Laboratorio de Tecnología e Diagnose Ambiental. Rúa Canella da Costa da Vela 12, 32004, Ourense, España.

*edjuanca@uvigo.es

Resumen

Este estudio utilizó muestras de horizontes orgánicos (OL y OF+OH) de suelos de bosques caducifolios del noroeste de España (Galicia). Además de la caracterización general de las muestras, se determinó el contenido total de Hg (Hg_T) y de metilmercurio (MeHg) y se calcularon el reservorio de Hg, las relaciones Hg/C y $MeHg/C$ y el porcentaje que el MeHg representa sobre Hg_T (%MeHg) como indicativo de actividad metiladora. Los niveles de Hg_T y MeHg se encuentran entre los rangos establecidos para este tipo de horizontes en zonas no influenciadas por fuentes puntuales de emisión de Hg. La concentración de ambos parámetros en los subhorizontes OF+OH ($172,0 \pm 28,2 \mu\text{g Hg} \text{ kg}^{-1}$ y $0,26 \pm 0,29 \mu\text{g MeHg} \text{ kg}^{-1}$) es mayor que en los OL ($106,2 \pm 14,0 \mu\text{g Hg} \text{ kg}^{-1}$ y $0,18 \pm 0,08 \mu\text{g MeHg} \text{ kg}^{-1}$) causando un incremento de las relaciones Hg/C y $MeHg/C$ con la profundidad del horizonte orgánico. Aunque en los subhorizontes OL y OF+OH los valores de %MeHg eran similares ($0,16 \pm 0,07$ y $0,15 \pm 0,14$, respectivamente), su estrecha correlación con el contenido total de C en los subhorizontes OL y su mayor contenido en OF+OH, sugieren la existencia de procesos biogeoquímicos que generan MeHg en los subhorizontes orgánicos estudiados.

Palabras clave: mercurio, metilmercurio, horizonte orgánico, metilación, materia orgánica

Abstract

This study was conducted with organic horizon soil samples (OL and OF+OF) from deciduous forest plots from northwest Spain (Galicia). In addition to general soil characterization, total contents of Hg (Hg_T) and methylmercury (MeHg) were determined as well as the pool of Hg, the ratios Hg/C and $MeHg/C$ and the percentage that MeHg represents from Hg_T (%MeHg) as indication of methylation activity. The levels of Hg_T and MeHg are in the range of those established for similar soil horizons from areas not influenced by Hg emission point sources. The concentration of both parameters in the OF+OH subhorizons ($172.0 \pm 28.2 \mu\text{g Hg} \text{ kg}^{-1}$ and $0.26 \pm 0.29 \mu\text{g MeHg} \text{ kg}^{-1}$) is higher than in OL ($106.2 \pm 14.0 \mu\text{g Hg} \text{ kg}^{-1}$ and $0.18 \pm 0.08 \mu\text{g MeHg} \text{ kg}^{-1}$) causing the increase of Hg/C and $MeHg/C$ ratios as organic horizon depth increases. In spite of the similar values of %MeHg in OL and OF+OH subhorizons (0.16 ± 0.07 and 0.15 ± 0.14 , respectively), the strong correlation of %MeHg with total C contents in OL samples and the higher MeHg contents in OF+OH subhorizons suggest that biogeochemical processes responsible for MeHg formation occurred in the studied organic subhorizons.

Key words: mercury, methylmercury, organic horizons, methylation, organic matter.

Introducción

El mercurio (Hg) es uno de los metales pesados más tóxicos y está considerado como un contaminante global. Aunque una importante parte del ciclo del Hg discurre en la atmósfera, finalmente es depositado sobre la superficie de ecosistemas acuáticos y terrestres (Fitzgerald et al., 1998).

El Hg atmosférico es transferido directa e indirectamente a través de la hojarasca hacia suelos forestales, lo que los convierte en un importante sumidero de Hg así como un medio clave de su ciclo biogeoquímico (Grigal, 2003). El Hg inorgánico puede ser transformado, principalmente mediante procesos bióticos, a su forma orgánica (metilmercurio, MeHg), la más tóxica y con capacidad de bioacumulación y biomagnificación (Xu et al., 2019). Si bien la metilación del Hg es ampliamente conocida en suelos temporal o permanentemente inundados, apenas se conoce cuál es su origen en los suelos bien aireados. En estos el MeHg puede proceder de la deposición atmosférica, de la metilación del Hg en las hojas de los árboles (Xu et al. 2019), o bien de metilación biótica y/o abiótica del Hg inorgánico en los horizontes orgánicos (Tabatchnick et al., 2012). La relevancia que desempeñan los suelos forestales en el ciclo del Hg se incrementa así por su posible papel en la presencia, formación y transferencia de MeHg a otros componentes de los ecosistemas terrestres.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la presencia de MeHg en horizontes orgánicos de suelos forestales dominados por especies caducifolias en Galicia (NO España), relacionarlo con los niveles de Hg total (Hg_T), y determinar su posible relación con las características edáficas.

Material y métodos

Al sur de la comarca de A Coruña (Galicia, España), se seleccionaron 20 parcelas de bosque caducifolio dominado por *Quercus robur*. En cada parcela se recogieron por separado muestras de los

subhorizontes orgánicos OL (hojarasca superficial no descompuesta) y OF+OH (hojarasca parcial y totalmente descompuesta). La densidad de estos subhorizontes se estimó teniendo en cuenta su espesor y masa (a peso constante) en un cuadrado de 0,25 m². En total se recogieron 40 muestras (20 OL y 20 OF+OH) que fueron acondicionadas (secado y triturado a 4 mm) para la determinación del pH en agua (pHw) y en KCl (pHk), los niveles de cationes básicos intercambiables (Na_{ex} , K_{ex} , Mg_{ex} y Ca_{ex}) y el contenido total de C y N siguiendo los métodos empleados por Méndez-López et al. (2022). La extracción de MeHg de los subhorizontes OL y OF+OH se realizó siguiendo el protocolo AN2700-07, analizando, por cuadriplicado, los niveles de MeHg en un equipo Tekran Series 2700. El contenido de Hg_T se determinó por duplicado con un autoanalizador DMA-80 y el reservorio de Hg (Hg_{Res}) se calculó teniendo en cuenta la concentración de Hg y la densidad aparente de cada horizonte O. Finalmente se calcularon las relaciones C/N, Hg/C y MeHg/C, el porcentaje de MeHg sobre el total de Hg (%MeHg) y se realizaron diferentes análisis estadísticos con el programa SPSS v. 25.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se muestran los valores para diferentes características de los subhorizontes orgánicos analizados.

El promedio del pHw en los horizontes OL y OF+OH es muy similar (4,9 y 4,8, respectivamente), siendo algo menores, en el caso de los valores de pHk (Tabla 1). Los valores de C orgánico total fueron significativamente mayores ($F=105.9$; $p=0.000$) en los horizontes OL (514,8 g kg⁻¹) que en los OF+OH. Los niveles de N total también disminuyeron con la profundidad del horizonte orgánico, con promedios de 19,5 y 16,4 g kg⁻¹ para OL y OF+OH, respectivamente (Tabla 1). Las concentraciones de cationes básicos intercambiables en OL son superiores a las de OF+OH, hecho que se refleja en el valor de CICe (50,4 y 30,0 cmol_c kg⁻¹), especialmente en el caso del K_{ex} .

Tabla 1. Caracterización general de los subhorizontes orgánicos (OL y OF+OH).

	OL	OF+OH
pH _w	4,9 ± 0,3	4,8 ± 0,5
pH _K	4,3 ± 0,3	4,0 ± 0,5
C (g·kg ⁻¹)	514,8 ± 1 3,6	351,5 ± 69,7
N (g·kg ⁻¹)	19,5 ± 1,7	16,4 ± 2,9
C/N	27 ± 3	21 ± 2
ClCe (cmol _c kg ⁻¹)	50,4 ± 11,0	30,0 ± 13,1
Na _{ex} (cmol _c kg ⁻¹)	1,6 ± 0,4	1,3 ± 0,4
K _{ex} (cmol _c kg ⁻¹)	3,9 ± 1,5	1,7 ± 0,6
Ca _{ex} (cmol _c kg ⁻¹)	26,0 ± 6,8	16,5 ± 8,4
Mg _{ex} (cmol _c kg ⁻¹)	18,8 ± 4,7	10,5 ± 4,8

En la tabla 2 se muestran los valores de Hg_T, Hg_{Res} y MeHg en los subhorizontes OL y OF+OH, así como las relaciones Hg_T/C, MeHg/C y el %MeHg. El rango de Hg_T en los horizontes OL (74,1-134,5 µg kg⁻¹) es semejante al observado para horizontes O en suelos forestales no afectados por fuentes emisoras de Hg (Obrist et al., 2009, Juillerat et al., 2012). El promedio de Hg_T en la capa OL (106,2 µg kg⁻¹) es inferior al obtenido por Gerson et al. (2017), pero mayor que el que Gómez-Armesto et al. (2020) y Obrist et al. (2012) obtuvieron para horizontes OL.

Tabla 2. Promedio y desviación estándar de variables relacionadas con el contenido de Hg y MeHg en los subhorizontes orgánicos (OL y OF+OH).

	OL	OF+OH
Hg _T (µg kg ⁻¹)	106,2 ± 14,0	172,0 ± 28,2
MeHg (µg kg ⁻¹)	0,18 ± 0,08	0,26 ± 0,29
Hg _{Res} (g·m ⁻²)	36,2 ± 14,1	623,2 ± 527,3
Hg _T /C (µg kg ⁻¹)	206,2 ± 26,1	504,3 ± 117,4
MeHg/C (µg kg ⁻¹)	0,34 ± 0,16	0,76 ± 0,82
%MeHg (%)	0,16 ± 0,07	0,15 ± 0,14

La concentración de Hg_T en la capa OF+OH (172,0 µg kg⁻¹) es mayor que en la OL, lo que se atribuye a una mayor transformación de la materia orgánica (Gómez-Armesto et al., 2020; Obrist et al., 2012). Este mayor contenido de Hg_T en los

subhorizontes OF+OH ($F=87,29$; $p=0,000$), junto con la profundidad y densidad de estos horizontes, determinan que el reservorio de Hg (Hg_{Res}) sea mucho mayor en los subhorizontes OF+OH (623 g m⁻²) que en OL (36 g m⁻²).

La concentración media de MeHg en los horizontes OF+OH (0,26 µg kg⁻¹) es mayor que en OL (0,18 µg kg⁻¹) aunque sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos. Estos niveles de MeHg son similares a los publicados por Gerson et al. (2017) y ligeramente superiores a los de Obrist et al. (2012). En general, la mayor parte de los estudios coinciden en que la concentración de MeHg tiende a aumentar con la profundidad del horizonte orgánico, posiblemente asociado a la transformación de la materia orgánica.

Cuando se comparan las relaciones Hg_T/C y MeHg/C de los correspondientes horizontes, se observa que sus valores aumentan a medida que la materia orgánica se transforma (Tabla 2). Este enriquecimiento en Hg y en sus formas metiladas también ha sido identificado por Gerson et al. (2017). La influencia de la transformación de la materia orgánica en los diferentes contenidos de Hg_T y MeHg en los suhorizontes orgánicos se constata a través de la correlación positiva entre el contenido de C total y Hg_T en los horizontes OF+OH ($r=0,456$, $p=0,043$), mientras que en los OL es el MeHg el que se correlaciona significativamente con el C orgánico total ($r=0,637$, $p=0,003$).

Gerson et al. (2017) apuntan a la liberación de Hg en formas disponibles durante la transformación de la materia orgánica, el cual podría ser un importante promotor del proceso de metilación. El %MeHg, utilizado como un indicador de la actividad metiladora (Gerson et al., 2017), muestra valores medios bajos (0,15-0,16) en los subhorizontes OL y OF+OH, siendo similares a los publicados por Obrist et al. (2012) en horizontes OL (0,14) y por Gerson et al. (2017) en capas OH (0,12), reflejando una baja actividad metiladora en todos los horizontes orgánicos estudiados. Sin embargo, el grado de metilación del Hg (%MeHg) que ocurre en los subhorizontes OL, donde la materia orgánica apenas se

ha transformado, se correlaciona con el contenido de C total ($r=0,619$, $p=0,004$), circunstancia que no se da en los horizontes OF+OH (Figura 1).

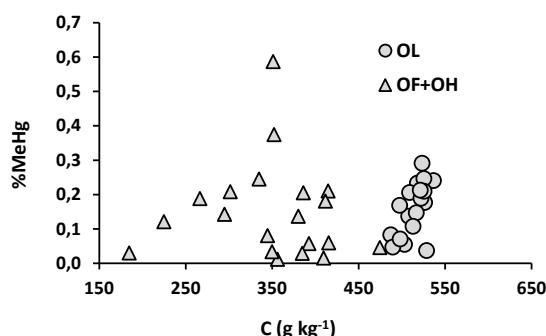


Figura 1. Relación entre el contenido de C total y la metilación (%MeHg) en los subhorizontes OL (círculos) y OF+OH (triángulos).

Conclusiones

La transformación de la materia orgánica en los horizontes O de suelos de bosques caducifolios influye en el incremento de la concentración de Hg_T y MeHg, así como en el enriquecimiento en Hg con respecto al C total. La escasa o nula humificación de la materia orgánica en los subhorizontes OL, junto a la correlación entre C total y MeHg, sugieren que el MeHg en estos subhorizontes tiene un origen pre-deposicional es decir, alcanza el suelo procedente de la atmósfera a través de la deposición húmeda, o bien es generado "in vivo" en las hojas antes de su caída por senescencia, tal y como apuntan Tabatchnick et al. (2012).

Una mayor concentración de MeHg en los subhorizontes OF+OH, unido a la ausencia de correlación entre MeHg y C orgánico total, implican la participación de procesos de metilación ajenos a los mecanismos de deposición. Así, las condiciones físico-químicas y biológicas que ocurren durante la humificación de la materia orgánica en los subhorizontes OF+OH, parecen más propicias para una mayor metilación del Hg y los consecuentes riesgos de toxicidad para la biota del suelo.

Agradecimientos

M. Méndez-López agradece al Ministerio de Educación y Formación Profesional el contrato FPU17/05484. A la Consellería de Cultura, Educación e Universidade (Xunta de Galicia) por la financiación a través de los contratos ED431C 2021/46-GRC y ED431F2018/06-EXCELENCIA.

Referencias bibliográficas

- Fitzgerald, W.F., Engstrom, D.R., Mason R.P., & Nater, E.A. (1998). The case for atmospheric mercury contamination in remote areas. *Environmental Science and Technology*, 32: 1–7. doi: 10.1021/es970284w

Gerson, J.R., Driscoll, C.T., Demers, J. D., Sauer, A.K., Blackwell, B.D., Montesdeoca, M.R., Shanley, J.B., & Ross, D.S. (2017). Deposition of mercury in forests across a montane elevation gradient: Elevational and seasonal patterns in methyl-mercury inputs and production. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 122, 1922–1939. doi: 10.1002/2016JG003721.

Gómez-Armesto, A., Méndez-López, M., Pérez-Rodríguez, P., Fernández-Calviño, D., Arias-Estevez, M., & Nóvoa-Munoz, J.C. (2020). Litterfall Hg deposition to an oak forest soil from southwestern Europe. *Journal of Environmental Management*, 269, 110858. doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110858.

Grigal D.F. (2003). Mercury sequestration in forests and peatlands: a review. *Journal of Environmental Quality*, 32(2), 393–405. doi: 10.2134/jeq2003.3930

Juillerat, J.I., Ross, D.S., & Bank, M.S. (2012). Mercury in litterfall and upper soil horizons in forested ecosystems in Vermont, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(8), 1720–1729. doi: 10.1002/etc.1896

Méndez-López, M., Gómez-Armesto, A., Alonso-Vega, F., Pontevedra-Pombal, X., Fonseca, L., de Figueiredo, T., & Nóvoa-Muñoz, J. C. (2022). The role of afforestation species as a driver of Hg accumulation in organic horizons of forest soils from a Mediterranean mountain area in SW Europe. *Science of the Total Environment*, 827, 154345. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.154345.

Obrist, D. (2012). Mercury distribution across 14 US forests. Part II: Patterns of methyl mercury concentrations and areal mass of total and methyl mercury. *Environmental Science and Technology*, 46(11), 5921–5930. doi: 10.1021/es2045579

Obrist, D., Johnson, D.W., & Lindbergs, S.E. (2009). Mercury concentrations and pools in four Sierra Nevada forest sites, and relationships to organic carbon and nitrogen. *Biogeosciences*, 6, 765–777. doi: 10.5194/bg-6-765-2009

Tabatchnick, M.D., Nogaro, G., Chad, R. & Hammerschmidt, C.R. (2012). Potential sources of methylmercury in tree foliage. *Environmental Pollution*, 160, pp. 82–87 doi: 10.1016/j.envpol.2011.09.013

Xu, J., Buck, M., Eklöf, K., Omneya O.A., Schaefer J.K., Bishop K., Skjellberg, U., Björn, E., Bertilsson, S., & Bravo A.G. (2019). Mercury methylating microbial communities of boreal forest soils. *Scientific Reports*, 9, 518. doi: 10.1038/s41598-018-37383-z.

Uso de concha de mejillón Tritura y ceniza de biomasa para prevenir la toxicidad de amoxicilina en suelos

Use of mussel shell crushing and biomass ash to prevent toxicity of amoxicillin in soils

Rodríguez-González, Laura^{1*}, Núñez-Delgado, Avelino², Álvarez-Rodríguez, Esperanza², Cela-Dablanca, Raquel², Barreiro, Ana², Díaz-Raviña, Montserrat³, Arias Estévez, Manuel¹, Fernández-Calviño, David¹, Santás-Miguel, Vanesa¹

¹ Área de Edafología e Química Agrícola. Facultade de Ciencias. Universidade de Vigo. As Lagoas 1, 32004 Ourense. Spain.

² Departamento de Edafología e Química Agrícola, Escola Politécnica Superior de Enxeñaría, Universidade de Santiago de Compostela. Lugo. Spain

³ Departamento de Bioquímica del Suelo, Misión Biológica de Galicia (MBG-CSIC), Apartado 122, 15780 Santiago de Compostela, Spain

*e-mail: laura.rodriguez.gonzalez@vigo.es

Resumen

Los antibióticos son considerados contaminantes emergentes por su creciente presencia en el medio ambiente. Su baja metabolización en el cuerpo humano y la baja capacidad de las depuradoras de aguas residuales de eliminarlos, provoca que se concentren en efluentes sólidos y líquidos que, tras la aplicación como enmiendas agrícolas entre otros usos alcanzan el suelo. En el suelo afecta a los microorganismos, modificando sus extensas funciones como son el ciclo de los nutrientes. La amoxicilina, es uno de los antibióticos más prescritos a nivel europeo y mundial. En este estudio se evaluó el efecto de AMX sobre las comunidades bacterianas del suelo tras la enmienda del suelo con diferentes dosis (0, 6, 12, 24 y 48 g kg⁻¹). de concha de mejillón triturada (CMS) y ceniza de biomasa (BA) como bioadsorbentes. El Log IC₅₀ obtenido para la muestra control es 2,10±0,07. La adición de CMS no disminuye el efecto tóxico de AMX para ninguna dosis añadida. Por otro lado, la adición de BA al suelo disminuye significativamente la toxicidad de AMX sobre las comunidades bacterianas del suelo a dosis añadida de bioadsorbente de 6 g kg⁻¹, con valor de Log IC₅₀ de 2,91±0,07, hasta 2,96±0,04 para 48 g kg⁻¹.

Palabras clave: antibiótico, incorporación de leucina, residuo, bioadsorbente

Abstract

Antibiotics are considered emerging contaminants due to their increasing presence in the environment. Its low metabolism in the human body and the low capacity of sewage treatment plants to eliminate them, causes them to be concentrated in solid and liquid effluents that, after application as agricultural amendments among other uses reach the soil. In the soil it affects microorganisms, modifying their extensive functions such as the nutrient cycle. Amoxicillin is one of the most prescribed antibiotics in Europe and worldwide. This study evaluated the effect of AMX on soil bacterial communities after soil amendment at different doses (0, 6, 12, 24 and 48 g kg⁻¹). crushed mussel shell (CMS) and biomass ash (BA) as bioadsorbents. The Log IC₅₀ obtained for the control sample is 2.10±0,07. The addition of CMS does not decrease the toxic effect of AMX for any added doses. On the other hand, the addition of BA to soil significantly reduces the toxicity of AMX to soil bacterial communities at an added dose of bioadsorbent of 6 g kg⁻¹, with a Log IC₅₀ value of 2.91±0.07, up to 2.96±0.04 for 48 g kg⁻¹.

Keywords: antibiotic, incorporation of leucine, residue, bioadsorbent

Introducción

Los antibióticos son ampliamente utilizados a nivel mundial para el tratamiento de enfermedades infecciosas, alcanzando un uso total anual de 42 mil millones de dosis diarias definidas en 2015 (Klein et al., 2018). Recientemente, la detección de antibióticos en diferentes compartimentos ambientales, ha provocado que se consideren contaminantes emergentes. Los antibióticos, tras ser ingeridos, a penas se metabolizan en el cuerpo humano, por lo que se excretan y llegan a las aguas residuales. Las plantas depuradoras de aguas residuales (EDAR) no eliminan este tipo de contaminantes y se acumulan en su efluente líquido, y especialmente sólido (Pan & Chu, 2017). Los efluentes se usan como enmienda agrícola, lo que favorece la llegada de los antibióticos al suelo. Una vez en el suelo, los antibióticos pueden ejercer presión selectiva sobre la comunidad microbiana y alterar sus funciones en los ecosistemas, tales como mantener el ciclo biogeoquímico de nutrientes y el reciclado de la materia orgánica (Cycoñ et al., 2019), además del peligro que conlleva una mayor presencia de genes de resistencia a antibióticos (Huddleston, 2014).

Los antibióticos betalactámicos son los más utilizados (Bruyndonckx et al., 2021). Dentro del grupo de antibióticos betalactámicos, la amoxicilina (AMX) es el más prescrito a nivel europeo y mundial. La amoxicilina actúa inhibiendo la biosíntesis del mucopéptido de la pared celular bacteriana, es decir, impide el crecimiento bacteriano. Con el fin de paliar los efectos adversos de AMX sobre las comunidades microbianas del suelo, el objetivo de este trabajo ha sido estudiar la disminución de la toxicidad de AMX tras la adición de dos bioadsorbentes procedentes de desechos de industrias forestal y alimentaria, que son la concha de mejillón triturada (CMS) y la ceniza de biomasa (BA) respectivamente.

Material y métodos

Suelo de estudio

El suelo utilizado (horizonte superficial 0-20cm) para los análisis procede de una parcela de roca sedimentaria con suelo agrícola dedicada al cultivo de la vid muestreado al Noroeste de la Península Ibérica (Galicia).

Concha de mejillón triturada y Ceniza de Biomasa

La concha de mejillón triturada (CMS) es un subproducto de Abonomal SL (Illa de Arousa, Galicia, España). CMS presenta un porcentaje de carbono de 11,43% y un pH en agua de 9,39. La ceniza de biomasa (BA), procedente de una caldera de combustión de Lugo, presenta un porcentaje de carbono de 11,65% y un pH en agua de 11,31.

Diseño experimental

A 48 g de suelo seco se le añadieron diferentes cantidades bioadsorbente en seco y por separado para obtener una mezcla suelo/bioadsorbente de 0, 6, 12, 24 y 48 g kg⁻¹. Posteriormente se humedecieron entre un 60-80% de la capacidad de campo y se incubaron durante 1 mes a 22°C en oscuridad, tiempo suficiente para que el contacto del suelo con el bioadsorbente añadido varíe alguna de las propiedades originales de la muestra de suelo. Transcurrido este tiempo se le añadieron diferentes dosis de AMX para obtener un gradiente de 0, 0,49, 1,95, 7,81, 31,25, 125, 500 y 2000 mg de antibiótico por kg de mezcla. Tras 1 día de incubación el crecimiento de las comunidades bacterianas del suelo se estimó utilizando el método de incorporación de leucina marcada con tritio (Bååth et al., 2001). La cantidad de Leu marcada con tritio incorporada a las bacterias se determinó usando un Analizador de Centelleo Líquido (Tri-Carb 2810 TR). Los datos se normalizaron respecto al valor del control para obtener el crecimiento bacteriano relativo y así poder comparar los resultados obtenidos.

Para distinguir los efectos de las distintas dosis de CMS y BA en la toxicidad de AMX sobre las comunidades bacterianas del suelo se calculó un índice de toxicidad (Log IC₅₀) a partir de las curvas de inhibición obtenidas. El logaritmo de la concentración que inhibe el 50% del crecimiento bacteriano (Log IC₅₀) fue calculado usando el siguiente modelo: $Y = c/[1+e^{b(x)}]$, donde Y es la incorporación de Leu para cada concentración de AMX, X es el logaritmo de la concentración de AMX añadida, a es el valor del Log IC₅₀, b es un parámetro relacionado con la pendiente de la curva de inhibición, y c es el crecimiento bacteriano sin adición de antibiótico.

Resultados y discusión

Características del suelo de estudio

El suelo utilizado presenta un pH medido en agua de 5,43 y un pH medido en KCl de 3,75. El valor de %C es de 1,2 y de %N es de 0,1%. Se trata de un suelo de textura franca, ya que contiene 45,47% de arena, 40,08% de limo y 14,45% de arcilla. La cantidad de cobre total que presenta es de 42 mg kg⁻¹ y su capacidad de intercambio catiónico (CIC_e) es de 3,56 cmol kg⁻¹.

Cambios en la toxicidad ejercida por amoxicilina en el suelo según la cantidad y el tipo de bioadsorbente

Los datos de crecimiento bacteriano relativo han sido representados frente a la cantidad de antibiótico añadida (Fig. 1) obteniéndose curvas dosis-respuesta. Estas curvas dosis-respuesta son de tipo sigmoidal, es decir, a mayor concentración de antibiótico añadido menor es el crecimiento bacteriano. La enmienda de CMS en el suelo no muestra movimiento de las curvas dosis-respuesta, por tanto, la toxicidad de AMX no varía con la adición de CMS con respecto al control. Por otro lado, la enmienda de suelos con BA causa un desplazamiento de las curvas dosis-respuesta hacia la derecha, es decir, la toxicidad de AMX en los suelos enmendados con BA disminuye con la dosis.

A partir de las curvas dosis-respuesta se han obtenido valores de Log IC₅₀, así como su error estándar y su coeficiente de determinación (R^2) para cada dosis y bioadsorbente estudiado (Tabla 1). Las curvas dosis-respuesta han sido bien descritas por el modelo logístico, presentando un valor de R^2 mínimo de 0,993 y máximo de 0,999.

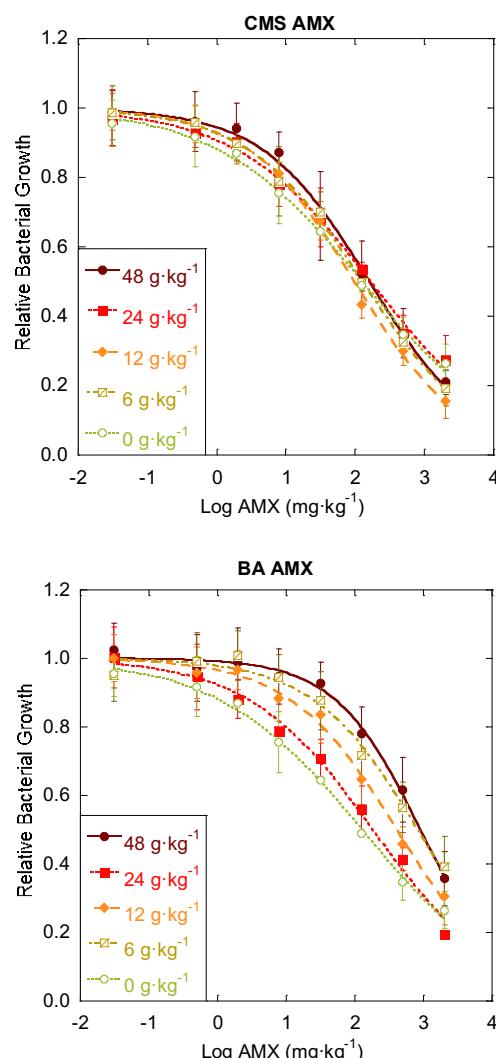


Fig. 1 – Curvas de toxicidad ejercida por amoxicilina sobre el crecimiento de la comunidad bacteriana del suelo bajo el efecto de concha de mejillón triturada (CMS) y ceniza de biomasa (BA).

El valor de Log IC₅₀ obtenidos sin bioadsorbente es $2,10 \pm 0,06$. Tras la enmienda del suelo con CMS la toxicidad de AMX no varía con respecto al control, siendo el valor de Log IC₅₀ de $2,21 \pm 0,06$ para dosis de 48 g kg⁻¹ (Tabla 1).

Tabla 1 – Valores estimados de Log IC₅₀, (valores medios con rango de error estándar para las diferentes dosis de concha de mejillón triturada (CMS) y ceniza de biomasa (BA). R² representa el coeficiente de determinación del modelo de determinación de Log IC₅₀.

	CMS			BA		
	Log IC ₅₀	Error	R ²	Log IC ₅₀	Error	R ²
0 g kg ⁻¹	2,10	0,07	0,998	2,10	0,07	0,998
6 g kg ⁻¹	2,11	0,04	0,999	2,91	0,07	0,993
12 g kg ⁻¹	1,99	0,05	0,999	2,61	0,05	0,998
24 g kg ⁻¹	2,22	0,07	0,997	2,36	0,09	0,996
48 g kg ⁻¹	2,21	0,06	0,998	2,96	0,04	0,997

Por otra parte, respecto a la enmienda del suelo con BA, se observa una disminución significativa de la toxicidad de AMX sobre las comunidades bacterianas del suelo con respecto al control a dosis 6 g kg⁻¹ con valores de Log IC₅₀ de 2,91±0,07 hasta 2,96±0,04 a dosis de 48 g kg⁻¹ (Tabla 1). Estos resultados son similares a los obtenidos por Santás-Miguel et al. (2020; 2021) que observaron que la adición de CMS no causaba variación en la toxicidad que ejercen los antibióticos de tetraciclina sobre las comunidades bacterianas del suelo. Además, también observaron como la adición de BA a los suelos disminuía significativamente la toxicidad de los antibióticos de tetraciclina, hasta alcanzar recuperación total del crecimiento de las comunidades bacterianas del suelo a dosis elevadas de BA (\geq 24 g kg⁻¹).

Conclusiones

La toxicidad sobre el crecimiento de las comunidades bacterianas del suelo ejercida por el antibiótico de uso humano amoxicilina se ve reducida tras la aplicación del residuo ceniza de biomasa como enmienda. Sin embargo, la enmienda del suelo con concha de mejillón triturada no disminuye el efecto de amoxicilina sobre el crecimiento de las comunidades bacterianas del suelo, por tanto, la concha de mejillón no puede considerarse un bioadsorbente eficaz para prevenir la toxicidad de los antibióticos de tetraciclina en los suelos.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través de los proyectos CTM2015-73422-JIN (Fondos FEDER). David Fernández Calviño es titular de un contrato Ramón y Cajal (RYC-2016-20411) financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España. Laura Rodríguez-González es becaria predoctoral (ED481A-2021/309) financiada por la Xunta de Galicia.

Referencias bibliográficas

- Klein, E.Y., Van Boeckel, T.P., Martinez, E.M., Pant, S., Gandra, S., Levin, S. A., Goossens, H., & Laxminarayan, R. (2018). Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 115(15), E3463-E3470. doi: 10.1073/pnas.1717295115
- Pan, M., & Chu, L.M. (2017). Transfer of antibiotics from wastewater or animal manure to soil and edible crops. *Environ. Pollut.*, 231, 829-836. doi: 10.1016/j.envpol.2017.08.051
- Cycoń, M., Mrozik, A., & Piotrowska-Seget, Z. (2019). Antibiotics in the soil environment—degradation and their impact on microbial activity and diversity. *Front. Microbiol.*, 10, 338. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00338
- Huddleston, J.R. (2014). Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: potential spread of antibiotic resistance genes. *Infect. Drug. Resist.*, 7, 167. doi: 10.2147/IDR.S48820
- Bruyndonckx, R., Adriaenssens, N., Versporten, A., Hens, N., Monnet, D. L., Molenberghs, G., Goossens, H., Weist, K., & Coenen, S. (2021). Consumption of antibiotics in the community, European Union/European Economic Area, 1997–2017: data collection, management and analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 76 (Supplement_2), ii2-ii6. doi: 10.1093/jac/dkab171
- Bååth, E., Pettersson, M., & Söderberg, K.H. (2001). Adaptation of a rapid and economical microcentrifugation method to measure thymidine and leucine incorporation by soil bacteria. *Soil Biol. Biochem.* 2001, 3, 1571-1574. doi: 10.1016/S0038-0717(01)00073-6
- Santás-Miguel, V., Fernández-Sanjurjo, M. J., Núñez-Delgado, A., Álvarez-Rodríguez, E., Díaz-Ravíña, M., Arias-Estévez, M. & Fernández-Calviño, D. (2020). Use of biomass ash to reduce toxicity affecting soil bacterial community growth due to tetracycline antibiotics. *Journal of Environmental Management*, 269, 110838. doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110838
- Santás-Miguel, V., Fernández-Sanjurjo, M. J., Núñez-Delgado, A., Álvarez-Rodríguez, E., Díaz-Ravíña, M., Arias-Estévez, M. & Fernández-Calviño, D. (2021). Use of waste materials to prevent tetracycline antibiotics toxicity on the growth of soil bacterial communities. *Environmental Research*, 193, 110404. doi: 10.1016/j.envres.2020.110404

Impacto de la Temperatura y de Prácticas Agrícolas Sostenibles en la Degradación de Herbicidas

Impact of Temperature and Sustainable Agricultural Practices on the Degradation of Herbicides

Douibi, Marwa¹; Sánchez-Martín, María Jesús¹; Rodríguez-Cruz, María Sonia¹; Marín-Benito, Jesús María^{1*}

¹ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC), Cordel de Merinas 40-52, 37008 Salamanca, España.

*jesusm.marin@irnasa.csic.es

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar mediante un experimento de laboratorio el impacto del uso de paja de trigo como acolchado o como enmienda orgánica del suelo en la cinética de degradación de los herbicidas S-metolacloro (SMOC) y foramsulfuron (FORAM), y en la formación de sus metabolitos mayoritarios a dos temperaturas de incubación. Los tratamientos ensayados correspondieron a paja de trigo molida (P), dos suelos agrícolas sin enmendar (S1 y S2) y enmendados con 10% (p/p) de P (S1+P y S2+P). Las muestras tratadas con ambos herbicidas se incubaron en la oscuridad a 14°C ó 24°C y al 40% de su correspondiente capacidad de campo. La degradación de FORAM fue siempre más rápida que la de SMOC en los suelos sin enmendar, y viceversa en los tratamientos P, S1+P y S2+P. La aplicación de la paja al suelo aumentó la vida media (DT_{50}) de ambos herbicidas a las dos temperaturas de incubación debido a su mayor adsorción y menor biodisponibilidad para ser degradados. La degradación de SMOC sobre la paja fue mucho más rápida que la de FORAM. Los herbicidas mostraron una degradación 1,1-3,1 veces más rápida a 24°C que a 14°C. Se observó la formación de los tres metabolitos en todos los tratamientos.

Palabras clave: degradación, herbicida, suelo, enmienda orgánica, temperatura.

Abstract

The objective of this work was to evaluate, through a laboratory experiment, the impact of the use of wheat straw as mulch or as an organic soil amendment on the degradation kinetics of the herbicides S-metolachlor (SMOC) and foramsulfuron (FORAM), and in the formation of their major metabolites at two incubation temperatures. The treatments assayed corresponded to milled wheat straw (P), two agricultural soils non-amended (S1 and S2) and amended with 10% (w/w) of P (S1+P and S2+P). The samples treated with both herbicides were incubated at 14°C or 24°C and 40% of their corresponding maximum field capacity in the dark. FORAM always showed a faster degradation than SMOC in the unamended soils, and viceversa in P, S1+P and S2+P treatments. The application of straw to soil increased the half-lives (DT_{50}) for both herbicides at the two incubation temperatures due to their higher adsorption and lower bioavailability of the herbicides to be degraded. The degradation of SMOC on straw was much faster than that observed for FORAM. The herbicides showed a faster degradation at 24°C (1.1-3.1 times) than that observed at 14°C. The formation of the three metabolites was observed in all the treatments.

Keywords: degradation, herbicide, soil, conservation agriculture, temperature.

Introducción

La degradación del suelo y el calentamiento global demandan la implantación de prácticas agrícolas sostenibles que permitan minimizar su impacto medioambiental y en el rendimiento de los cultivos. Cubrir la superficie del suelo con restos vegetales (acolchado) y la aplicación de enmiendas orgánicas al suelo son prácticas agrícolas dirigidas a mejorar la fertilidad del suelo y preservarlo de su degradación. Estas prácticas permiten, entre otros aspectos, incrementar el contenido de carbono orgánico (CO) del suelo, incrementar su humedad y actividad microbiológica, modificar la temperatura del suelo y reducir la emisión de CO₂ a la atmósfera. Sin embargo, la degradación de los herbicidas que se aplican a los cultivos bajo este tipo de prácticas agrícolas y dentro del contexto de cambio climático puede verse modificada.

SMOC y FORAM son herbicidas con propiedades muy diferentes que se aplican en pre- o post-emergencia para controlar las gramíneas y malas hierbas de hoja ancha, respectivamente. SMOC tiene una alta hidrofobicidad, y una moderada solubilidad en agua y persistencia en el suelo en condiciones de laboratorio. FORAM se caracteriza por ser un compuesto poco hidrofóbico, altamente soluble en agua y no persistente en el suelo (PPDB, 2022).

El objetivo de este trabajo fue estudiar: i) la cinética de degradación de los herbicidas SMOC y FORAM en paja de trigo molida y en dos suelos agrícolas sin enmendar y enmendados con dicha paja de trigo, y ii) la formación de los metabolitos ácido etanosulfónico (SMOC-ESA) y oxanílico (SMOC-OA) del SMOC, y 4,6-dimetoxipirimidin-2-amina del FORAM (metabolito FORAM), bajo condiciones de laboratorio a dos temperaturas diferentes.

Material y métodos

Enmienda orgánica, suelos y herbicidas

El residuo orgánico utilizado como enmienda del suelo fue paja de trigo molida (<1 mm) (P).

Los suelos S1 y S2 procedían de la finca experimental Muñovela del IRNASA-CSIC (Salamanca) y ambos tenían una textura franco arenosa. Se tomaron muestras frescas del horizonte superficial (0-10 cm) de cada uno de los suelos, se homogeneizaron y tamizaron (<2 mm). Los suelos enmendados (S1+P y S2+P) se prepararon en laboratorio añadiendo la paja molida a una dosis del 10% (peso seco) a cada uno de los suelos.

Las características fisicoquímicas de la paja, de los suelos sin enmendar y enmendados se determinaron siguiendo los métodos descritos por Carpio et al. (2020) y se incluyen en la Tabla 1.

Tabla 1 – Características de la paja de trigo, suelos sin enmendar y enmendados con paja.

Parámetro	P	S1	S1+P	S2	S2+P
pH	5,95	6,81	5,85	7,67	6,15
CO (%) ^a	41,7	0,69	6,26	1,01	11,4
COD (%) ^b	55,8	0,14	5,81	0,14	5,96
N (%) ^c	2,22	0,09	0,13	0,12	0,14
C/N	18,8	7,93	47,2	8,27	79,6

^aCarbono orgánico, ^bCarbono orgánico disuelto, ^cNitrógeno

Los patrones analíticos de los herbicidas (>98% pureza) y los metabolitos (>95.8% pureza) fueron suministrados por Sigma Aldrich Química S.A. (Madrid).

Estudio de degradación

Muestras duplicadas de paja (50 g), suelos sin enmendar o enmendados (500 g) se contaminaron conjuntamente con 2 mg puros de los herbicidas SMOC y FORAM kg⁻¹ paja o suelo. Las muestras se incubaron en la oscuridad a 14°C ó 24°C y al 40% de la capacidad de campo del respectivo tratamiento.

Los herbicidas / metabolitos se extrajeron (x 2) a distintos tiempos de incubación (0 - 284 días) de las muestras de paja con

metanol (3:16) y de las muestras de suelo sin enmendar y enmendados con metanol:agua 50:50 (1:2). Las muestras se sometieron a sonicación (1h, 20°C), agitación intermitente (24h, 20°C), centrifugación a 10000 rpm (30 min) y filtración (< 0.22 µm). En el tratamiento P, los herbicidas / metabolitos contenidos en el extracto se concentraron evaporando 8 mL de sobrenadante hasta sequedad bajo corriente de nitrógeno usando un evaporador EVA-EC2-L (VLM GmbH, Bielefeld, Alemania) y redissolviendo el residuo en 0.6 mL de metanol. La determinación analítica de los herbicidas y metabolitos de todos los tratamientos se llevó a cabo mediante UPLC-QTOF-MS (Agilent Technologies, Avondale, AZ, USA).

Las cinéticas de degradación de los herbicidas se ajustaron a un modelo cinético de primer orden (SFO) o primer orden multicompartmental (FOMC) y se calcularon los valores de DT₅₀ de los herbicidas para cada uno de los tratamientos ensayados a partir del modelo cinético que mejor se ajustó a los datos de degradación utilizando la función Solver de Excel (FOCUS, 2006). El efecto de la temperatura de incubación en la degradación de los herbicidas se determinó mediante el factor Q₁₀ = DT₅₀ (14°C) / DT₅₀ (24°C).

Resultados y discusión

Las cinéticas de degradación de SMOC y FORAM se ajustaron mejor al modelo cinético SFO en los dos suelos enmendados (S1+P y S2+P) a las dos temperaturas de incubación, mientras que en el S2 lo hicieron al modelo cinético FOMC. En los tratamientos S1 y P, se observó un comportamiento opuesto entre los dos herbicidas en cuanto al tipo de modelo que mejor describió sus cinéticas de degradación a cada una de las temperaturas de incubación. El modelo cinético FOMC describió mejor la cinética de degradación de SMOC en el tratamiento P independientemente de la temperatura de incubación, mientras que en S1 el mejor ajuste se obtuvo con el modelo FOMC a 14°C y con el modelo SFO a 24°C; y viceversa para el herbicida FORAM.

En la Tabla 2 se incluyen los valores de DT₅₀ para SMOC y FORAM en la paja, los suelos sin enmendar y enmendados con la paja a 14°C y 24°C. Estos valores incluyen una fase de latencia inicial (período de adaptación de los microorganismos durante la cual la degradación de los herbicidas fue muy lenta) de entre 11 y 60 días en las cinéticas de degradación de FORAM en los tratamientos P, S1+P y S2+P, y de SMOC en los suelos enmendados. La fase de latencia fue siempre más extendida en el tiempo a la temperatura de incubación más baja (14°C). Los valores de DT₅₀ siguieron el mismo orden a las dos temperaturas de incubación, pero el orden fue diferente para cada uno de los herbicidas. Los valores de DT₅₀ de SMOC aumentaron en el orden P < S1 < S2 < S2+P < S1+P, mientras que para el herbicida FORAM siguieron el orden S2 < S1 < P < S1+P < S2+P. La degradación de SMOC fue más lenta (DT₅₀ más altos) que la de FORAM en los suelos sin enmendar a ambas temperaturas de incubación. Sin embargo, en los tratamientos con presencia de paja (P, S1+P y S2+P) fue FORAM el herbicida que mostró valores de DT₅₀ más elevados.

Los valores de DT₅₀ mostraron una degradación más lenta de los dos herbicidas en los suelos enmendados e incubados a ambas temperaturas en comparación con los suelos sin enmendar. La aplicación de la enmienda orgánica incrementó los valores de DT₅₀ de SMOC entre 1.3-2.4 veces, y los de FORAM entre 6.7-12.4 veces. Este comportamiento podría explicarse mediante una mayor adsorción de los herbicidas en los suelos enmendados y consecuentemente su menor biodisponibilidad para ser degradados (Marín-Benito et al., 2019). Sin embargo, la paja utilizada como enmienda orgánica habría jugado un papel diferente en la adsorción/biodisponibilidad de los dos herbicidas con contrastadas propiedades. El CO aportado por la paja podría haber sido el principal responsable de una mayor adsorción del herbicida más hidrofóbico SMOC, en los suelos enmendados, mientras que el COD lo habría sido en el caso del FORAM (altamente soluble en agua). El alto contenido en COD en el tratamiento P podría

haber solubilizado al herbicida SMOC e incrementado su biodisponibilidad para ser fácilmente degradado explicando los bajos valores de DT₅₀ (Krishtammagari, 2022).

Tabla 2 – Vida media (DT₅₀, días) y factor Q₁₀ para los herbicidas en la paja, los suelos sin enmendar y enmendados a 14°C y 24°C.

Tratamiento	SMOC			FORAM		
	DT ₅₀ 14°C	DT ₅₀ 24°C	Q ₁₀	DT ₅₀ 14°C	DT ₅₀ 24°C	Q ₁₀
P	5,90	3,10	1,90	46,3	43,3	1,07
S1	75,3	24,8	3,04	20,9	8,00	2,61
S1+P	122	60,4	2,02	139	65,4	2,13
S2	80,7	29,4	2,74	16,6	7,10	2,34
S2+P	103	48,4	2,13	206	67,1	3,06

Se observó una degradación más rápida de ambos herbicidas a 24°C que a 14°C debido probablemente al incremento de la biomasa y/o actividad microbiana con la temperatura como se ha observado para otros herbicidas (Marín-Benito, et al., 2019). Los valores del factor Q₁₀ (parámetro de gran relevancia en estudios de modelización de lixiviación de pesticidas) variaron entre 1.07 y 3.06 (Tabla 3). Los valores de Q₁₀ inferiores, y por tanto con un menor impacto de la temperatura de incubación en la degradación de los herbicidas, correspondieron al tratamiento P para ambos herbicidas.

Los 3 metabolitos analizados fueron detectados en los extractos de paja y suelos de todos los tratamientos durante el experimento de degradación. Se determinó una mayor cantidad de los dos metabolitos del SMOC a 24°C que a 14°C, al contrario que lo observado para el metabolito FORAM. Este comportamiento se explicaría mediante una mayor formación de los tres metabolitos a la mayor temperatura de incubación, pero seguida de una rápida y mayor degradación del metabolito FORAM a 24°C que a 14°C (DT₅₀= 3.74 días) mientras que los elevados valores de DT₅₀ de SMOC-ESA y SMOC-OA (235 y 325 días, respectivamente; permitirían su lenta degradación a cualquiera de las dos temperaturas (PPDB, 2022).

Conclusiones

La utilización de paja de trigo molida como enmienda orgánica del suelo disminuyó la velocidad de degradación de herbicidas tanto hidrofóbicos (SMOC) como altamente solubles en agua (FORAM) debido principalmente al alto contenido en CO o COD aportado por este residuo, respectivamente, y que incrementaría su adsorción disminuyendo su biodisponibilidad para ser degradados. La utilización de la paja como acolchado de suelo incrementó o disminuyó la velocidad de degradación de SMOC y FORAM en comparación con la que tuvo lugar en el suelo sin enmendar, con el COD jugando un papel solubilizador o adsorbente de estos herbicidas, respectivamente.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por MCIU/AEI/FEDER, UE (Proyecto RTI2018-101587-J-I00). Se agradece al proyecto “CLU-2019-05 – Unidad de Excelencia IRNASA-CSIC”, financiado por la JCyL y cofinanciado por la UE (FEDER “Europa impulsa nuestro crecimiento”). Marwa Douibi agradece al Ministerio de Educación Superior del Gobierno de Argelia por su beca predoctoral.

Referencias

- Carpio, M. J., Rodríguez-Cruz, M. S., García-Delgado, C., Sánchez-Martín, M. J., & Marín-Benito, J.M. (2020). Mobility monitoring of two herbicides in amended soils: A field study for modeling applications. *Journal of Environmental Management*, 260, art. 110161.
- FOCUS (2006). Guidance Document on estimating persistence and degradation kinetics from environmental fate studies on pesticides in EU registration. Report of the FOCUS work group on degradation kinetics. EC Documents Reference Sanco/10058/2005 version 2.0.
- Krishtammagari, A. (2022). Mulching and soil organic amendments: Effect on the adsorption-desorption of herbicides. Trabajo Fin de Máster (65 pp.). Università Degli Studi di Padova, Italia.
- Marín-Benito, J. M., Carpio, M. J., Sánchez-Martín, M. J., & Rodríguez-Cruz, M. S. (2019). Previous degradation study of two herbicides to simulate their fate in a sandy loam soil: effect of the temperature and the organic amendments. *Science Total Environment*, 653, 1301–1310.
- PPDB, 2022. Pesticide Properties Data Base. University of Hertfordshire.<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>. [consulta: 15 marzo 2022].

Niveles de emisión de gases de efecto invernadero de un viñedo convencional en un clima Mediterráneo

Greenhouse gas emission levels of a conventional vineyard in a Mediterranean climate

Rodrigo García, E.^{1*}, Martínez-Vidaurre, J.M.¹

¹ ICVV, Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (Gobierno de La Rioja, Universidad de La Rioja, CSIC). Spain
erodrigog@larioja.org

Resumen

Se evalúan los niveles de emisión de los tres gases de efecto invernadero de importancia en agricultura, dióxido de carbono (CO_2), óxido nitroso (N_2O) y metano (CH_4) en un viñedo de la DOCa Rioja. Se estudia la magnitud de los flujos de estos gases con relación a un manejo convencional del suelo bajo la influencia de condiciones climáticas (precipitación y temperatura) mediterráneas. El material vegetal seleccionado es un viñedo comercial *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo blanco de la DOCa. Rioja, que se desarrolla en un suelo clasificado como "Typic Haploxerepts".

El diseño experimental consistió en la selección de 3 subparcelas homogéneas en el año 2018. La identificación y cuantificación simultánea de CO_2 , N_2O y CH_4 se ha puesto a punto mediante una nueva metodología que combina la cromatografía de gases con un detector de masas y otro de microcaptura de electrones (GC/MS/ECD).

El análisis de los resultados pone en evidencia que las emisiones son dependientes de las variaciones climáticas, especialmente en las estaciones más lluviosas. Asimismo, se detectan diferencias de los flujos de GEI entre las calles y las filas, asociadas a la implantación de diferentes prácticas culturales, como el laboreo con cultivador y el riego.

Palabras clave: gases efecto invernadero (GEI), viñedo, cromatografía, laboreo, precipitación.

Abstract

The emission levels of the three greenhouse gases of importance in agriculture, carbon dioxide (CO_2), nitrous oxide (N_2O) and methane (CH_4) in a vineyard of the DOCa Rioja are evaluated. The magnitude of the flows of these gases is studied in relation to conventional soil management under the influence of Mediterranean climatic conditions (precipitation and temperature). The selected plant material is a commercial vineyard *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo blanco from the DOCa. Rioja, growing in a soil Typic Haploxerepts, subgroup of Inceptisols Order.

The experimental design consisted of the selection of 3 homogeneous subplots in 2018. Simultaneous identification and quantification of CO_2 , N_2O and CH_4 was developed using a new methodology combining gas chromatography with a mass detector and an electron microcapture detector (GC/MS/ECD).

Analysis of the results shows that emissions depend on climatic variations, especially in the wetter seasons. Differences in GHG fluxes were also detected between alleys and rows, associated with the application of different cultural practices, such as tillage and irrigation.

Keywords: greenhouse gas (GHG), vineyard, chromatography, tillage, precipitation.

Introducción

Los suelos sometidos a laboreo pueden emitir más CO₂ en comparación con los no labrados, ya que favorece que los microorganismos del suelo realicen la descomposición de los residuos orgánicos (Kessavalou et al., 1998). Además, el uso de coberturas vegetales y la adición de compost, en combinación con las fluctuaciones del contenido de agua del suelo procedentes de las precipitaciones y el riego, influyen en la dinámica del carbono del suelo (Calleja-Cervantes et al., 2015). Respecto al N₂O, es un importante gas de efecto invernadero (GEI) emitido por procesos de nitrificación-desnitrificación, siendo responsable de la destrucción de la capa de ozono y del aumento del calentamiento global (Sa et al., 2015). Este gas junto con el CH₄ han aumentado como resultado del cambio de uso de la tierra y la intensificación de la agricultura (Livesley et al., 2013).

Material y métodos

Descripción de la parcela vitícola

El estudio se desarrolló en un viñedo comercial de 1,11 ha. en la subzona Rioja Alta de la DOCa Rioja, sobre una parcela de la variedad *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo blanco injertada sobre Richter-110 (R-110) con un sistema de conducción en cordón Royat bilateral. La orientación de las filas era noroeste-sureste, con una densidad de plantación de 3.030 plantas ha⁻¹. Además, la parcela se caracterizaba por presentar un suelo del Orden Inceptisoles, Subgrupo "Typic Haploxerepts", según la clasificación de suelos USDA (SSS, 2010). La profundidad efectiva de perfil edáfico fue de 138 cm, de los cuales los dos primeros horizontes presentan una textura franca, mientras que el último horizonte se caracteriza por ser franca arenosa.

Con relación a las condiciones climáticas, el año 2018 presentó abundantes precipitaciones (668 l m⁻²), distribuyéndose principalmente en los meses de enero (13,4%), Julio (20,4%) y

septiembre (14,3%). La temperatura media anual fue de 13,9°C, siendo febrero el mes más frío con 4,9°C de media mensual y agosto el más cálido con 23,1°C (Fig. 1).

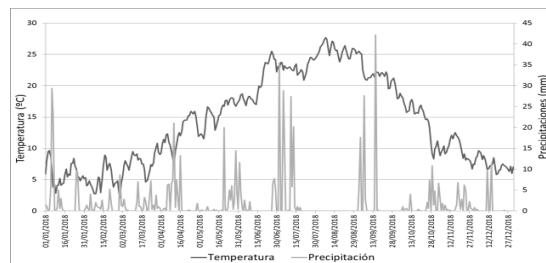


Fig. 1 – Registro de temperaturas y precipitaciones durante el año 2018.

Diseño experimental

Para el desarrollo de la experiencia se seleccionaron tres subparcelas no adyacentes, empleando 3 filas y 3 calles, a modo de réplicas. Para la toma de muestras gaseosas emitidas por el suelo, se seleccionó el sistema de captura de flujos de gases mediante cámara cerrada (Venterea, 2010). Los anillos de PVC empleados ($\varnothing = 31,5$ cm y $h=16$ cm) se introdujeron 5 cm en el suelo (Horel et al., 2018). Tras la colocación de la tapa de la cámara y su posterior sellado, se tomaron muestras a través de un septum colocado en la parte superior de la misma. Con la ayuda de una jeringuilla se extrajeron 20 ml de muestra que fue transferida a viales inertizados de 12 ml (Garland et al., 2014).

Las cámaras fueron instaladas a primera hora de la mañana, coincidiendo con la recogida de la primera muestra ($t=0$) y las siguientes se tomaron cada 20 minutos ($t=20$, $t=40$, $t=60$ min), siguiendo el método empleado por Yu et al. (2019). Para la cuantificación de las concentraciones de cada gas se empleó el equipo Agilent 7890A, con dos columnas independientes, y dos detectores, un espectrómetro de masas (MS), con el que se analizó el CO₂ y el CH₄ y un microcaptura de electrones (ECD), empleado para la determinación del N₂O. La separación cromatográfica de los GEI se llevó a cabo isotérmicamente

(T^a=35°C), trabajando en modo Split utilizando como gas portador el helio.

Una vez obtenida la recta de calibrado utilizando mezclas de gases patrón, se determinaron las concentraciones de GEI de las muestras (ppm). Para calcular las concentraciones de CO₂ (kg ha⁻¹ día⁻¹), N₂O y CH₄ (g ha⁻¹ día⁻¹) se tuvieron en cuenta las medidas t=0 y t=60, según el procedimiento descrito por Fangueiro et al. (2017).

Resultados y discusión

Con relación al CO₂ se observó que cuando las precipitaciones acumuladas son del orden de 40-50 l m⁻² en 2-3 días, y coincide con temperaturas superiores a los 20°C, las emisiones pueden llegar a doblarse e incluso triplicarse (Fig. 2). Esto se verifica en fases avanzadas del ciclo biológico de la vid, donde se cuantificaron incrementos muy significativos de niveles de CO₂ tanto en las calles (300 kg ha⁻¹ día⁻¹) como en las filas (270 kg ha⁻¹ día⁻¹). Estos incrementos son debidos tanto a fenómenos de respiración radicular como a la actividad microbiana del suelo.

En el caso del laboreo, se generan ligeros incrementos de los flujos de CO₂ al permitir la aireación del suelo (Marques et al., 2018), tal y como se observa en la Fig. 2, donde los flujos de CO₂ obtenidos en los meses de marzo y mayo, aumentan al llevar a cabo una labor de paso con cultivador días previos a la toma de muestras gaseosas.

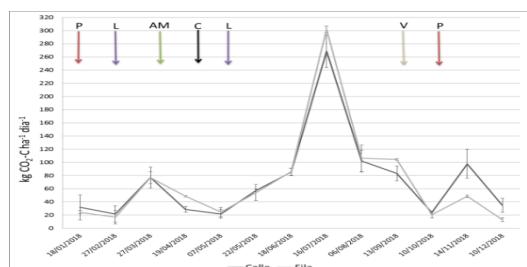


Fig. 2 – Evolución de las emisiones de CO₂ (kg ha⁻¹ día⁻¹). (P=Poda; L=Laboreo; AM= Abonado Mineral; C=Cavar filas; V=Vendimia).

Los niveles de emisión del N₂O se ven afectados principalmente por la humedad

y temperatura del suelo, provocando un aumento de las emisiones (Yu et al., 2019). Las concentraciones de este gas fueron bajas a lo largo de todo el ciclo, no superando los 7,07 g ha⁻¹ día⁻¹ excepto en momentos puntuales donde se produjeron picos de emisión elevados. Estos se correspondieron con eventos de precipitación abundante, en meses donde la temperatura superó los 15°C. Además, prácticas como la aplicación de abono mineral N-P-K 15-15-15 (300 kg ha⁻¹), conllevaron un aumento de los niveles de emisión alcanzándose los 54 g ha⁻¹ día⁻¹ en las filas del viñedo en el mes de abril (Fig. 3).

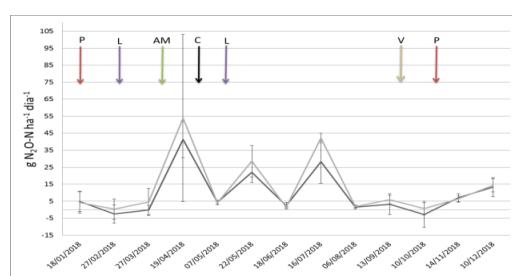


Fig. 3 – Evolución de las emisiones de N₂O (g ha⁻¹ día⁻¹). (P=Poda; L=Laboreo; AM= Abonado Mineral; C=Cavar filas; V=Vendimia).

Cabe destacar que los flujos obtenidos de CO₂ y N₂ son similares a los obtenidos por Marques et al. (2018) y Yu et al. (2019).

Por último, el CH₄ se ve influenciado principalmente por la aportación de estiércol de vaca semicompostado y enterrado en el mes de noviembre de 2017, lo que pudo favorecer la proliferación de procesos microbianos (Tao et al., 2018). Esto hizo que en el mes de marzo se alcanzara la máxima concentración de CH₄ donde las emisiones de la calle (142,98 g ha⁻¹ día⁻¹) fueron superiores a las de la fila (115,14 g ha⁻¹ día⁻¹). Esta diferencia pudo estar provocada por la realización de un laboreo antes de la recogida de muestras, liberando mayores cantidades de CH₄ (Pu et al., 2022) en la calle que en la fila. En relación al efecto que produce la humedad en el suelo, las emisiones de CH₄ se comportaron de forma diferente a las de CO₂ y N₂O, ya que los flujos más elevados

se observan en meses con menor volumen de precipitación (Rowlings et al. 2013), tal como ocurrió en agosto (0 l m⁻²), en octubre (33,8 l m⁻²) y en diciembre (22,6 l m⁻²).

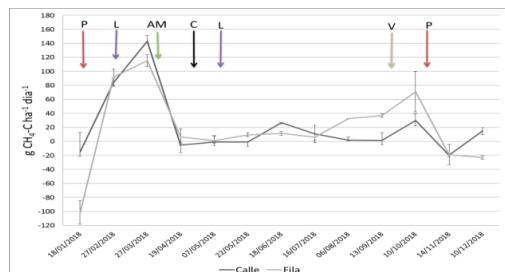


Fig. 4 – Evolución de las emisiones de CH₄ (g ha⁻¹ dia⁻¹). (P=Poda; L=Laboreo; AM= Abonado Mineral; C=Cavar filas; V=Vendimia).

Conclusiones

El estudio de las emisiones de GEI de un suelo vitícola ha permitido evidenciar que las variaciones climáticas son muy importantes, condicionando los flujos de CO₂, N₂O y CH₄ en el ciclo de la vid. Las precipitaciones han sido algo más significativas que el perfil térmico, aumentando los flujos de CO₂ y N₂O, y disminuyendo los de CH₄. Con respecto a este último, las variaciones de flujo más importantes están relacionadas con la aplicación de estiércol de vaca. Por otro lado, las diferencias entre las emisiones de GEI en las calles y en las filas del viñedo, están a su vez afectadas por las diferentes prácticas agronómicas que se llevan a cabo en cada una de estas zonas, no llegando a existir diferencias significativas entre ambas.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido cofinanciada por el Gobierno de La Rioja y por Fondos de Desarrollo Rural Europeos (FEDER).

Referencias bibliográficas

- Calleja-Cervantes, M. E., Fernández-González, A. J., Irigoyen, I., Fernández-López, M., Aparicio-Tejo, P. M., & Menéndez, S. (2015). Thirteen years of continued application of composted organic wastes in a vineyard modify soil quality characteristics. *Soil Biology and Biochemistry*, 90, 241–254. doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.07.002
- Fangueiro, D., Becerra, D., Albarrán, Á., Peña, D., Sanchez-Llerena, J., Rato-Nunes, J. M., & López-Piñeiro, A. (2017). Effect of tillage and water management on GHG emissions from Mediterranean rice growing ecosystems. *Atmospheric Environment*, 150, 303–312. doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.11.020
- Garland, G. M., Sudwick, E., Burger, M., Horwath, W. R., & Six, J. (2014). Direct N₂O emissions from a Mediterranean vineyard: Event-related baseline measurements. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 195, 44–52. doi.org/10.1016/j.agee.2014.05.018
- Horel, Á., Tóth, E., Gelybó, G., Dencso, M., & Potyó, I. (2018). Soil CO₂ and N₂O emission drivers in a vineyard (*Vitis vinifera*) under different soil management systems and amendments. *Sustainability (Switzerland)*, 10(6). doi.org/10.3390/su10061811
- Kessavalou, A., Mosier, A. R., Doran, J. W., Drijber, R. A., Lyon, D. J., & Heinemeyer, O. (1998). Fluxes of Carbon Dioxide, Nitrous Oxide, and Methane in Grass Sod and Winter Wheat-Fallow Tillage Management. *Journal of Environmental Quality*, 27(5), 1094–1104. doi.org/10.2134/jeq1998.00472425002700050015x
- Livesley, S. J., Idczak, D., & Fest, B. J. (2013). Differences in carbon density and soil CH₄/N₂O flux among remnant and agro-ecosystems established since European settlement in the Mornington Peninsula, Australia. *Science of the Total Environment*, 465, 17–25. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.06.042
- Marques, F. J. M., Pedroso, V., Trindade, H., & Pereira, J. L. S. (2018). Impact of vineyard cover cropping on carbon dioxide and nitrous oxide emissions in Portugal. *Atmospheric Pollution Research*, 9(1), 105–111. doi.org/10.1016/j.apr.2017.07.006
- Pu, C., Chen, J. S., Wang, H. Di, Virk, A. L., Zhao, X., & Zhang, H. L. (2022). Greenhouse gas emissions from the wheat-maize cropping system under different tillage and crop residue management practices in the North China Plain. *Science of the Total Environment*, 819, 153089. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153089
- Rowlings, D. W., P. R. Grace, C. Scheer, y R. Kiese. 2013. «Influence of nitrogen fertiliser application and timing on greenhouse gas emissions from a lychee (*Litchi chinensis*) orchard in humid subtropical Australia». *Agriculture, Ecosystems and Environment* 179: 168–78. dx.doi.org/10.1016/j.agee.2013.08.013
- Venterea, R. T. (2010). Simplified Method for Quantifying Theoretical Underestimation of Chamber-Based Trace Gas Fluxes. *Journal of Environmental Quality*, 39(1), 126–135. doi.org/10.2134/jeq2009.0231
- Sa, E., Ferreira, J., Carvalho, A., & Borrego, C. (2015). Development of current and future pollutant emissions for Portugal. *Atmospheric Pollution Research*, 6(5), 849–857. doi.org/10.5094/APR.2015.094
- Soil Survey Staff (2010). *Keys to Soil Taxonomy* (11th ed.). Pocahontas Press, Blacksburg, Virginia.
- Tao, R., Wakelin, S. A., Liang, Y., Hu, B., & Chu, G. (2018). Nitrous oxide emission and denitrifier communities in drip-irrigated calcareous soil as affected by chemical and organic fertilizers. *Science of the Total Environment*, 612(508), 739–749. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.258
- Yu, O. T., Greenhut, R. F., O'Geen, A. T., Mackey, B., Horwath, W. R., & Steenwerth, K. L. (2019). Precipitation Events, Soil Type, and Vineyard Management Practices Influence Soil Carbon Dynamics in a Mediterranean Climate (Lodi, California). *Soil Science Society of America Journal*, 83(3), 772–779. doi.org/10.2136/sssaj2018.09.0345

Efeito da cetamina na fauna edáfica: ensaios de fuga e reprodução com *Eisenia fetida*

Effect of ketamine on edaphic fauna: behaviour and reproduction assay with Eisenia fetida

Silva, Mariana¹; Sousa, João Ricardo^{1,2*}; Ribeiro, Ondina^{1,2}; Ferreira, João¹; Ribeiro, Cláudia^{3,4}; Tiritan, M.E.^{3,4,5}; Natal-da-Luz, Tiago⁶; Carrola, João Soares^{1,2}

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.

² Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), UTAD, Vila Real, Portugal.

³ TOXRUN-Unidade de Toxicologia, Instituto Universitário de Ciências da Saúde, CESPU, CRL, 4585-116 Gandra, Portugal

⁴ Centro Interdisciplinar de Pesquisas Marinhas e Ambientais (CIMAR), University of Porto, Edifício do Terminal de Cruzeiros do Porto de Leixões, Matosinhos, Portugal.

⁵ Laboratório de Química Orgânica e Farmacêutica, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Porto, Portugal.

⁶ Centro de Ecologia Funcional, Departamento de Ciências da Vida da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

*e-mail: jricardo@utad.pt

Resumo

A utilização crescente de cetamina para fins terapêuticos e recreativos tem motivado preocupações ao nível ambiental. Esta substância tem sido detetada em efluentes, devido à ineficiência das técnicas aplicadas nas estações de tratamento de águas residuais. Sendo que parte destes efluentes podem ser usados como águas para reutilização em práticas agrícolas, importa perceber os efeitos que a cetamina apresenta em organismos edáficos como as minhocas, facto que constitui o objetivo deste trabalho. Várias concentrações de cetamina (0, 25, 250 e 2500 µg/kg) foram testadas e avaliados os efeitos, através de testes de fuga e reprodução, usando como modelo biológico as minhocas *Eisenia fetida*, tendo como endpoints o comportamento de fuga e a reprodução, de acordo com as normas da ISO e OECD. Os resultados indicaram ausência de diferenças significativas ($p>0,05$) entre as concentrações estudadas. Em média, a cetamina promoveu a fuga e a diminuição do número de juvenis na ordem dos 11% e 26%, respetivamente, comparativamente ao tratamento controlo. Estes resultados parecem indicar que as concentrações estudadas não promovem efeitos negativos quer no comportamento como na reprodução, pelo que importa ponderar a realização de mais estudos, nos quais sejam consideradas concentrações superiores às aplicadas no presente trabalho, de modo a definir níveis de risco em ambiente edáfico.

Palavras-chave: cetamina, *Eisenia fetida*, fuga, poluição, solo.

Abstract

The increasing use of ketamine for therapeutic and recreational purposes has increased the environmental concerns. This substance has been detected in treated effluents, due to the inefficiency of treatments applied in wastewater treatment plants. Since part of these effluents can be used as water for reuse in agricultural practices, it is important to understand the effects of ketamine on edaphic organisms such as earthworms, which is the objective of the present work. Various concentrations of ketamine (0, 25, 250 and 2500 µg/kg) were tested and the effects evaluated by avoidance and reproduction tests, using *Eisenia fetida* as a biological model, considered the avoidance behaviour and reproduction as endpoints, according to ISO and OECD guidelines. The results indicated no significant differences ($p>0,05$) between the concentrations studied. On average, ketamine promoted an escape and a decrease in the number of juveniles in the order of 11% and 26%, respectively, compared to the control treatment. These results seem to indicate no negative effects of the studied concentrations on behaviour and reproduction of earthworms. More studies are needed, with higher concentrations than those applied in the present work in order to define risk levels in edaphic environment.

Keywords: ketamine, *Eisenia fetida*, behaviour, pollution, soil.

Introdução

O solo, como parte do ecossistema, tem um importante papel em termos ambientais. Mais recentemente são vários os exemplos associados à presença de contaminantes de preocupação emergente no solo, como o caso da cetamina, que poderão diminuir a respetiva capacidade de fornecer serviços ao ecossistema (Sara, 2018).

A cetamina é um anestésico usado em medicina humana e veterinária, sendo excretada maioritariamente na sua forma conjugada. Este composto poderá permanecer biologicamente ativo nos ambientes aquáticos e edáficos, devido à ineficiência dos sistemas de tratamento de afluentes (Li et al., 2017), que geram águas para reutilização e lamas que podem ter como destino final o solo, contribuindo para a contaminação e, consequente, redução da qualidade deste recurso.

A utilização de organismos da fauna edáfica, como o caso das minhocas, em testes de fuga ou reprodução, poderão fornecer informações importantes para a compreensão dos efeitos dos contaminantes na qualidade do solo. Assim, o objetivo do presente trabalho é avaliar o efeito de diferentes concentrações de cetamina no comportamento de fuga e reprodução da *Eisenia fetida*, de modo a estimar potenciais riscos da sua presença no solo.

Material e métodos

Na realização do trabalho foram aplicadas as normas para o estudo de substâncias químicas (ISO, 2008). Para o efeito, foi preparado um solo artificial com base na mistura turfa, caulino e areia na proporção de 10, 20 e 70% (peso seco) (ps), respetivamente. A capacidade máxima de retenção de água (CMRA) da mistura foi determinada e ajustado o teor de humidade para valores de 40% da CMRA. O valor de pH inicial foi corrigido para valores de $6,0 \pm 0,5$, através da adição de CaCO_3 (pa).

Como bioindicador foi usada a espécie *Eisenia fetida*, devido à elevada sensibilidade e fecundidade, menor tempo

de geração e maior facilidade de manutenção em condições laboratoriais. Cerca de 300 indivíduos adultos, com clitelo bem desenvolvido, com uma biomassa entre os 300 e 600 mg, foram selecionados e colocados em solo artificial, durante 24 a 48 horas antes de serem usados nos ensaios, para efeitos de aclimatação.

Nos ensaios de fuga e reprodução (figura 1), foram estudadas quatro concentrações (tratamentos) de cetamina, equivalentes a 0, 25, 250 e 2500 $\mu\text{g/kg}$, sendo incluídas três repetições para cada concentração. A cetamina foi adquirida na forma comercial do medicamento NIMATEK®, para uso veterinário, sendo aplicada na forma de solução aquosa.

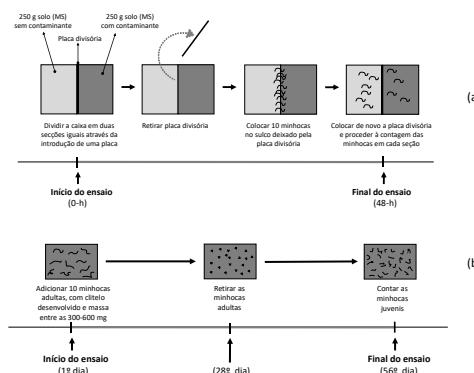


Fig. 1 – Ensaios de incubação com *Eisenia fetida*: (a) fuga e (b) reprodução.

Para cada ensaio, de acordo com os tratamentos e repetições testadas, foram usadas 12 caixas de PVC ($24 \times 30 \times 5$ cm) como recipiente-teste, perfuradas para facilitar trocas gasosas e tapadas para retenção da humidade. Ambos os ensaios foram realizados sob idênticas condições laboratoriais de temperatura (20 ± 2 °C), fotoperíodo (16-h de luz e 8-h de escuro), intensidade de luz, arejamento e humidade.

No ensaio de fuga (figura 1.a), em cada recipiente-teste, foi colocada uma placa divisória e cada secção preenchida com 250 g de solo artificial (ps) a 40% da CMRA, com cetamina à concentração estudada (solo-teste) ou sem cetamina (solo-controlo). Após remoção da placa 10 minhocas foram colocadas na linha divisória entre secções e deixadas em

contato durante um período de 48-h. No final do ensaio, a placa divisória foi recolocada na zona central, procedendo-se à contagem do número de organismos em cada secção, com e sem cetamina, e determinada a percentagem de fuga (x) de acordo com a equação 1:

$$x (\%) = [(n_c - n_t)/N] * 100 \quad (\text{Eq.1})$$

em que n_c , n_t e N são referentes ao número de minhocas no solo-controlo, solo-teste e número total de minhocas por recipiente-teste, respetivamente.

No ensaio de reprodução manteve-se o delineamento experimental, aumentando o período de exposição à cetamina para 56 dias. Em cada recipiente-teste colocaram-se 500 g de solo artificial (ps), a 40% CMRA, com uma solução de cetamina a concentração variável, de acordo com o tratamento estudado (figura 1.b). Um tratamento controlo, sem cetamina, foi também incluído, no qual foi adicionado igual volume de água destilada. Dez minhocas, previamente aclimatadas, depuradas, foram colocadas por recipiente-teste e expostas às concentrações de cetamina estudadas. A cada 7 dias, procedeu-se ao controlo gravimétrico do teor de humidade e alimentação, com aveia biológica moída (1 g) e esterilizada em camara UV. Ao fim de 28 dias de incubação foram retiradas as minhocas adultas e os juvenis e casulos foram mantidos por mais 28 dias, ao fim dos quais foi realizada a contagem de juvenis, em cada tratamento e repetição.

Os dados obtidos em cada teste foram sujeitos a uma análise para avaliar a normalidade na distribuição e a homogeneidade de variâncias, pelos testes de Shapiro-Wilk e Barlett, respetivamente. Posteriormente, os dados foram sujeitos a uma ANOVA a um factor, seguida do teste de Dunnett para um grau de probabilidade de $p \leq 0,05$.

Resultados e discussão

Os resultados obtidos para o teste de fuga, relativos à distribuição dos indivíduos nas secções em cada recipiente teste, para

as concentrações de cetamina estudadas, são apresentados na figura 2. A presença de cetamina não influenciou o comportamento das minhocas, não sendo observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as respetivas secções, com e sem cetamina, em todas as concentrações estudadas. Para a percentagem de fuga (x), as concentrações de 25 e 250 µg/kg revelaram valores de 13% e a concentração de 2500 µg/kg cerca de 6%.

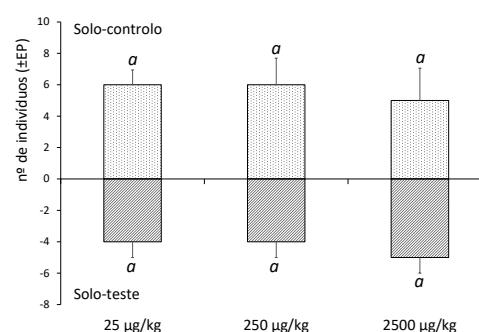


Fig. 2 – Ensaio de fuga: distribuição dos indivíduos (média±EP), pelas secções com solo teste e controlo, em cada recipiente-teste, para as concentrações estudadas. (barras, relativas a cada concentração de cetamina, com a mesma letra em cada secção, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Dunnett, para 5% de probabilidade).

No teste de reprodução manteve-se a tendência observada no teste de fuga, com as concentrações de cetamina a não efetuar de forma significativa a capacidade reprodutiva das minhocas (figura 3). Ainda assim, comparativamente ao grupo controlo, é observada uma tendência de redução do número de juvenis em todos os tratamentos com cetamina que, em termos médios, apresentou uma redução de 26% em relação ao controlo.

A coerência dos resultados obtidos nas metodologias testadas sugere que a presença de cetamina, para as concentrações estudadas, não altera a qualidade do solo ou induz efeitos de toxicidade na *E. fetida*. Lin et al. (2020), em estudos com cetamina em meio aquoso, com *Daphnia magna*, observaram efeitos negativos a partir de concentrações 10 vezes superiores à concentração máxima testada no presente trabalho (2500 µg/kg). A ausência de efeito da cetamina poderá estar relacionada com o efeito tampão induzido pela matriz de suporte usado no trabalho (De Silva et al., 2009). Compostos

constituintes, como húmus e argilas do tipo 1:1, são responsáveis por fenómenos de adsorção e complexação, que podem mitigar os efeitos da presença e concentração de cetamina no solo artificial.

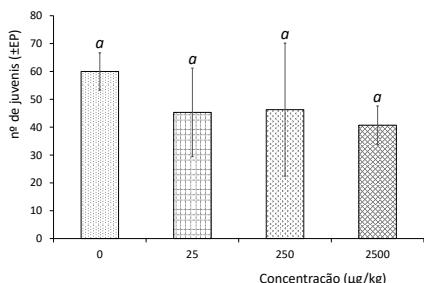


Fig. 3 – Ensaio de reprodução. (barras, relativas a cada concentração de cetamina, com a mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Dunnett, para 5% de probabilidade).

As menores quantidades de cetamina biodisponível como o menor tempo de exposição nos ensaios de fuga (48-h) não permitem um efeito bioacumulativo, limitando o nível de reposta e, desta forma, condicionando o comportamento de fuga da *E. fetida* (Demuyck et al., 2016). Todavia, o maior tempo de exposição no ensaio de reprodução, não se revelou suficiente para detetar efeitos nas concentrações estudadas ao nível da reprodução, apesar da tendência de diminuição do número de juvenis na presença de cetamina, facto que poderá estar associado ao gasto energético usado na remoção do contaminante, limitando a energia disponível para processos biológicos, como o crescimento ou diferenciação (Spurgeon & Hopkin, 1996).

Apesar de Donker et al. (1993) referir o número de juvenis como um parâmetro de maior sensibilidade neste tipo de estudos, ambos os testes apresentam uma elevada correlação (figura 4), com o teste de fuga a explicar mais de 99% da variância observada no teste de reprodução. A correlação negativa revela uma diminuição do nº de juvenis com o aumento da percentagem de fuga por parte das minhocas, corroborando os pressupostos sugeridos por Spurgeon & Hopkin (1996). Estes resultados permitem, ainda, referir que neste tipo de testes, em que o objetivo é realizar uma avaliação preliminar ou complementar da degradação e habitabilidade do solo na presença de

contaminantes, o teste de fuga parece ser mais adequado devido à sua maior exequibilidade, rapidez e até, como certos autores defendem (Hund-Rinke & Wiechering, 2001), sensibilidade.

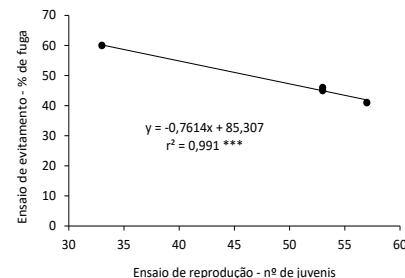


Fig. 4 – Regressão entre os testes de fuga e reprodução realizados para as diferentes concentrações estudadas. (** altamente significativo para um nível de probabilidade <0,001).

Conclusões

Os resultados obtidos não revelaram efeitos negativos da presença de cetamina comparativamente ao solo controlo pelo que, para as concentrações estudadas, podemos concluir que não existe riscos para a *Eisenia fetida*.

Referências bibliográficas

- Sara, B. (2018). Soil ecosystem services: a overview. In *Managing Soil health for Sustainable Agriculture* (pp 1-22). Burleigh Dadds Science Publishing Limited. USDA-ARS and University of Minnesota, USA.
- Lin, Yen-Ching, Hsiao, Ta-Ching, & Lin, A. Yu-Ching. 2020. Urban wastewater treatment plants as a potential source of ketamine and methamphetamine emission to air. *Water Research*, 172: 1-8. doi:10.1016/j.watres.2020.115495.
- Li, S.-W., Wang, Y.-H. & Lin, A. Y.-C. 2017. Ecotoxicological effect of ketamine: Evidence of acute, chronic and photolysis toxicity to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 143: 173-179. doi: 0.1016/j.ecoenv.2017.05.040.
- ISO. Soil quality 2008. Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour-Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). ISO 17512-1. International Organization for Standardization, Genéve.
- Donker, M., Zonneveld, C., & Van Straalen, N. 1993. Early reproduction and increased reproductive allocation in metal adapted populations of the terrestrial isopod *Porcellio scaber*. *Oecologia*, 96: 316-323.
- Spurgeon, D.J., & Hopkin, S.P. 1996. The effects of metal contamination on earthworm populations around a smelting works: quantifying species effects. *Applied Soil Ecology*, 4: 147-160.
- De Silva, P.M.C.S., Pathiratne, A. & Van Gestel, C.A.M. 2009. Influence of temperatura and soil type on the toxicity of three pesticides to *Eisenia andrei*. *Chemosphere*, 76: 1410-1415.
- Demuyck, S., Lebel, A., Grumiaux, F., Pernin, C., Leprêtre, A. & Lemière, S. 2016. Comparative avoidance behaviour of the earthworm *Eisenia fetida* towards chloride, nitrate and sulphate salts of Cd, Cu and Zn using filter paper and extruded water agar gels as exposure media. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 129: 66-74.
- Hund-Rinke, K., & Wiechering, H. 2001. Earthworm avoidance test for soil assessments. An alternative for acute and reproduction test. *Journal of Soils and Sediments*, 1:15-20.

Recuperación de la biodiversidad funcional de los residuos de minas de oro mediante fitoremediacin asistida

Recovery of gold mine tailings functional biodiversity by assisted phytoremediation

Cabezas-Lpez, Alberto¹; Caballero-Meja, Bibiana^{1,2}; Prez-Estean, Javier³; Navas, Mariela⁴;
Moliner, Ana^{1*}

¹ Dpto. Producción Agraria, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid. Avda. Puerta de Hierro, 2, 28040 Madrid

² Facultad de Ciencias, Escuela de Geociencias. Universidad Nacional de Colombia (Medelln)

³ Dpto. Química Orgánica y Biorgánica. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Educación a Distancia. Paseo de Senda del Rey, 9, 28040 Madrid

⁴ Dpto. Investigación Aplicada y Extensión Agraria, IMIDRA, Finca El Encín. Autovía A2, km 38,2. Aptdo. 127, 28800 Alcal de Henares, Madrid

*ana.moliner@upm.es

Resumen

Los microorganismos juegan un papel importante en las funciones del suelo. Sin embargo, muchas veces su actividad se ve afectada por la contaminación derivada de las actividades humanas. Una de las actividades con mayor impacto sobre el medio ambiente es la minería, y más concretamente la minería a pequeña escala debido a su falta de regulación, que la convierte en un foco de contaminación como consecuencia del manejo inadecuado de los residuos. Con el fin de evaluar el efecto de la fitoremediacin asistida por microorganismos y una enmienda orgánica en la diversidad funcional de dichas arenas de relave, se llevó a cabo un ensayo de fitoremediacin en microcosmos en el municipio de Buritic en Colombia, regin muy afectada por minería informal. En el ensayo se utilizó una leguminosa, *Enterolobium cyclocarpum* en macetas con arena de relave y arena de relave enmendada, junto con distintos microorganismos (micorrizas y fijadores de nitrógeno). El ensayo se mantuvo 240 días. Los resultados del estudio demostraron que los suelos enmendados presentaron una mayor diversidad funcional que aquellos sin enmendar siendo las diferencias significativas. Dicho efecto no se vió aumentado tras la aplicación de inóculos, e incluso se observaron valores de diversidad menores. Se discuten las posibles causas e implicaciones de dichas variaciones

Palabras clave: Fitorremediación de elementos traza, enmiendas, inóculos, perfil metabólico

Abstract

Microorganisms play an important role in soil functions. However, their activity is often affected by pollution from human activities. One of the activities with the greatest impact on the environment is mining, and more specifically small-scale mining due to its lack of regulation, which makes it a source of contamination, as a consequence of inadequate waste management. In order to evaluate the effect of phytoremediation assisted by microorganisms and an organic amendment on the functional diversity of these tailings sands, a microcosm phytoremediation trial was carried out in the municipality of Buritic in Colombia, a region highly affected by informal mining. The trial used a legume, *Enterolobium cyclocarpum*, in pots with mine tailings and tailings amended with compost, together with different microorganisms (mycorrhizae and nitrogen fixers). The test was maintained for 240 days. The results of the study showed that the amended soils presented a greater functional diversity than the unamended soils, and the differences were significant. This effect was not increased after inoculum application, and even lower diversity values were observed. The possible causes and implications of these variations are discussed.

Keywords: Trace metal phytoremediation, amendments, inoculation, metabolic profile

Introducción

La minería informal de oro deja cantidades importantes de relaves con elevado contenido de elementos traza que conducen a una pérdida de la funcionalidad del suelo y del ecosistema. Además, dichos elementos son susceptibles de ser transportados por erosión hídrica o eólica hacia zonas más bajas y contaminar cultivos y cursos de agua. La fitoremediación es una estrategia respetuosa con el medio ambiente y socialmente aceptada. Dentro de las diversas técnicas que comprende, actualmente se prefiere la fitoestabilización que favorece la inmovilización de los elementos traza en la rizosfera (Moreira et al., 2021).

La presencia de elementos traza en el suelo derivada de esta actividad, supone un efecto negativo en la estructura de las comunidades microbianas del suelo, disminuyendo el número y diversidad de especies, creando un problema para el estado de salud del suelo. No obstante, muchos de estos microorganismos son capaces de tolerar ciertos niveles de contaminantes al desarrollar mecanismos de resistencia, llegando a occasionar cambios en la huella metabólica (Tischer et al., 2008). Microorganismos adaptados a estos ambientes, son capaces de mejorar la transferencia y movilización e inmovilización de los elementos traza modificando las propiedades químicas del suelo (Sessitsch et al., 2013) a través de numerosas vías de detoxificación de elementos traza que pueden condicionar a su biodisponibilidad. Los microorganismos de la rizosfera, son los que más afectan el desarrollo vegetal debido a su contacto directo con las raíces de las plantas (Sugiyama, 2019).

El análisis funcional de la comunidad microbiana se puede considerar como una alternativa para estimar la diversidad, ya que se basa en las características metabólicas de los microorganismos. La diversidad funcional tiene en cuenta la capacidad metabólica de todo el conjunto de microorganismos. No considera la identificación taxonómica, ni requiere aislar microorganismos (Sofo & Ricciuti, 2019).

Además, se ha observado que la actividad catabólica mejora en suelos en los que se aplicó fitoremediación (Couic et al., 2022).

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la fitoestabilización de arenas de relave, asistida por la adición de una enmienda orgánica y microorganismos, en la diversidad funcional del suelo, estudiando las posibles interacciones entre la microbiota autóctona y la aportada por enmiendas e inóculos.

Material y métodos

Este estudio fue llevado a cabo en el municipio de Buriticá, situado al noroeste de Colombia. En concreto, en el recinto de la empresa Zijin Continental Gold en la faja media del Río Cauca, y con una elevación entre 600 y 2200 m.

Se realizó un ensayo de fitoremediación en microcosmos, en un invernadero sombreado dentro del recinto minero. Se utilizaron arenas procedentes de relaves de minería informal, surgida alrededor de la mina, enmienda orgánica comercial a base de gallinaza compostada con una relación C/N de 10. Además, 2 inóculos comerciales, uno basado en bacterias fijadoras de nitrógeno [FN] y otra de hongos micorrílicos [M]. Se utilizaron plántulas de *Enterolobium cyclocarpum*, obtenidas en el mismo recinto, en un sustrato formado por suelo no contaminado y la misma enmienda orgánica a base de gallinaza compostada utilizada en el ensayo. Se utilizó un diseño factorial de 2x2x2 (arena de relave sin enmienda y con 5% de enmienda orgánica [A y A+MO], sin y con bacterias fijadoras de nitrógeno [0 y FN] y sin y con micorrizas [0 y M], todo por triplicado. El ensayo se mantuvo durante 240 días tras los cuales se procedió a la separación del suelo rizosférico.

Para evaluar el perfil metabólico del suelo rizosférico, se empleó la técnica de Biolog Ecoplates™, basada en la capacidad de los microorganismos para oxidar diferentes sustratos de carbonos (Lebrun et al., 2021). Se siguió el protocolo del fabricante con pequeñas modificaciones. Tras ello se procesaron los datos obtenidos y se calcularon distintos índices que aportan

información sobre el perfil fisiológico y actividad metabólica de la comunidad microbiana (Burges *et al.*, 2017; Sofo & Ricciutti, 2019).

El análisis estadístico se realizó con el programa Stagraphics 19, utilizando un ANOVA de 3 factores mediante el Modelo Lineal General ($p<0,05$). La distribución normal se comprobó con el test de Shapiro-Wilk's y la homogeneidad de la varianza usando el test de Levene, usando la transformación de Box-Cox en caso necesario.

Resultados y discusión

La Tabla 1 muestra la caracterización de la muestra compuesta de arenas de relave, MO y la mezcla previamente al ensayo y la caracterización del sustrato de las macetas al final del ensayo.

Tabla 1: Propiedades químicas de los sustratos (SUST) antes y después del ensayo para los distintos tratamientos y biomasa total de *Enterolobium cyclocarpum* (A: arena de relave; MO: enmienda orgánica; FN bacterias fijadoras de nitrógeno, M hongos micorrízicos

	SUST	FN	M	pH	MO (%)	Biomasa
ORIGINAL	A			2,4	0,53	-
	MO			8,4	25,9	-
	A+MO			4,4	2,7	-
POST-CULTIVO	A	0	0	2,7	0,80	3,0
		0	M	2,6	0,75	1,7
		FN	0	2,7	0,61	2,3
		FN	M	2,7	0,84	3,6
	A+MO	0	0	3,8	3,17	3,2
		0	M	3,4	3,30	3,1
		FN	0	2,9	2,50	1,7
		FN	M	4,3	3,93	7,6

La arena de relave tenía un pH extremadamente bajo por lo que la enmienda orgánica contribuyó no sólo a incrementar el contenido en materia orgánica, sino que aumentó los valores de pH. Respecto al desarrollo vegetal, en ausencia de enmienda orgánica, sólo la mezcla de microorganismos incrementó la biomasa seca. Los inóculos por separado, disminuyeron la biomasa. Respecto al

sustrato enmendado, la aplicación de bacterias disminuyó la biomasa, la aplicación de hongos no tuvo ningún efecto y la aplicación del consorcio de microorganismos, provocó un aumento considerable de la biomasa, pero solo se desarrolló la planta de 1 de las 3 macetas.

Los perfiles fisiológicos a nivel de comunidad, mostraron diferencias en la diversidad funcional microbiana entre aquellos suelos cuyo sustrato fue de arena sola en comparación con aquellos que combinaron arena con materia orgánica, demostrando que la aplicación de enmiendas orgánicas conduce a una mayor diversidad microbiana (Tabla 2), así como una tasa de utilización de los sustratos más rápida en los enmendados.

Tabla 2: Efecto del sustrato e inóculos (FN y M) en el color medio de pozo (AWCD), riqueza (S), índice de biodiversidad de Shannon (H'), índice de biodiversidad de Simpson (D) e Índice de equitatividad (valores medios ± desviación típica) del suelo rizosférico de *Enterolobium cyclocarpum* en arenas enmendadas y sin enmendar.

	SUST	FN	M	AWCD	S	H'	D	E
A	0	0		0,29	13,7	2,45	11,7	0,965
	0	M		0,02	0,33	0,00	0,33	0,000
	FN	0		0,08	3,5	0,96	3,27	0,492
	FN	M		0,19	6,67	0,95	5,26	0,319
A+MO	0	0		0,87	25,3	3,13	21,3	0,969
	0	M		0,25	13,5	2,47	11,3	0,972
	FN	0		0,71	20,0	2,78	17,0	0,973
	FN	M		1,45	30,0	3,33	26,8	0,979

Dentro de la arena de relave sin enmendar, la adición de inóculos tuvo un efecto negativo en la actividad catabólica del suelo rizosférico, es decir, la adición de microorganismos extraños diminuyó la actividad catabólica como se refleja en la disminución del AWCD. Lo mismo ocurre con el resto de los índices evaluados. Este hecho podría deberse a que los ecotipos de suelos contaminados con elementos traza, han desarrollado resistencia y son más tolerantes. La aplicación de inóculos comerciales puede provocar un desequilibrio que conduce a una actividad metabólica menor.

Por otra parte, a pesar de que en general la adición de materia orgánica produjo una actividad metabólica superior, la adición de inóculos individualmente, redujo la actividad y la diversidad. En este caso, los inóculos compiten tanto con los microorganismos autóctonos de las arenas de relave como con los que provienen de laenmienda añadida y reducen la capacidad de metabolizar sustratos. Sin embargo, el consorcio de ambos, que ya había producido una biomasa vegetal mayor, contribuyeron a una mayor capacidad de uso de los sustratos. En este caso, una mayor producción de exudados radiculares puede contribuir a la inmovilización de elementos traza y traducirse en una actividad metabólica mayor.

Al agrupar los sustratos por categorías (carbohidratos, aminoácidos, ácidos carboxílicos, polímeros, aminas y amidas) se observó que los carbohidratos y los aminoácidos fueron metabolizados con mayor rapidez tanto en arenas emmendadas como sin emendar.

Conclusiones

En conclusión, nuestro estudio demuestra los efectos positivos de la aplicación de enmiendas orgánicas sobre material de escombrera, estimulando la actividad microbiana y regulando la estructura y composición de la comunidad. No fue tan evidente el efecto de microorganismos comerciales, posiblemente por no estar adaptados a estos ambientes tan inhóspitos, aunque el consorcio de inóculos produjo una mayor biomasa vegetal y capacidad metabólica en arenas emmendadas, pero solo una de las tres plantas fue capaz de desarrollarse.

Agradecimientos

Los investigadores agradecen a la empresa Zijin Continental Gold, Buriticá, Antioquia (Colombia), la cooperación del personal de la empresa, así como el uso de sus instalaciones para el ensayo en microcosmos. También agradecen el apoyo económico y la ayuda para la

Realización de Trabajo Fin de Master en Cooperación Internacional para el Desarrollo Sostenible (TFT-CIDS) de la UPM a uno de los investigadores

Referencias bibliográficas

- Burges, A., Epelde, L., Blanco, F., Becerril, J., & Garbisu, C. (2017). Ecosystem services and plant physiological status during endophyte-assisted phytoremediation of metal contaminated soil. *Science of the Total Environment*, 584, 329-338. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.146>.
- Couic, E., Tribondeau, A., Alphonse, V., Livet, A., & Bousserrhine, N. (2022). Positive Effect of Ecological Restoration with Fabaceous Species on Microbial Activities of Former Guyanese Mining Sites. *Molecules*, 27, 1768. <https://doi.org/10.3390/molecules27061768>.
- Lebrun, M., Miard, F., Bucci, A., Fougère, L., Nandillon, R., Naclerio, G., . . . Bourgerie, S. (2021). The rhizosphere of *Salix viminalis* plants after a phytostabilization process assisted by biochar, compost, and iron grit: chemical and (micro)-biological analyses. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14113-z>.
- Moreira, H., Mench, M., Pereira, S., Garbisu, C., Kidd, P., & Castro, P. (2021). Phytomanagement of Metal(loid)-Contaminated Soils: Options, Efficiency and Value. *Frontiers in Environmental Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.661423>.
- Sessitsch, A., Kuffner, M., Kidd, P., Vangronsveld, J., Wenzel, W., Fallmann, K., & Puschenreiter, M. (2013). The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 60(100), 182-194. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.01.012>.
- Sofo, A., & Ricciuti, P. (2019). A standarized method for estimating the functional diversity of soil bacterial community by Biolog® EcoPlates™ assay-the case study of a sustainable olive orchard. *Applied Sciences*, 9(19), 4035. <https://doi.org/10.3390/app9194035>.
- Sugiyama, A. (2019). The soybean rhizosphere: Metabolites, microbes, and beyond-A review. *Journal of Advanced Research*, 19, 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.005>.
- Tischer, S., Tanneberg, H., & Guggenberger, G. (2008). Microbial parameters of soils contaminated with heavy metals: assessment for ecotoxicological monitoring. *Polish Journal of Ecology*, 56(3), 471-479. <https://doi.org/10.18321/ectj681>.

Fitorremediación con *Enterolobium cyclocarpum* en arenas de relaves procedentes de minería de oro informal contaminadas con arsénico y cadmio

Phytoremediation with *Enterolobium cyclocarpum* in tailing sands from informal gold mining contaminated with arsenic and cadmium.

Caballero-Mejía, Bibiana^{1,2}; Cabezas-López, Alberto¹; Pérez-Esteban, Javier³; Hontoria, Chiquinquirá¹; Moliner, Ana^{1*}

¹ Dpto. Producción Agraria, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid. Avda. Puerta de Hierro, 2, 28040 Madrid.

² Facultad de Ciencias, Escuela de Geociencias. Universidad Nacional de Colombia (Medellín).

³ Dpto. Química Orgánica y Biorgánica. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Educación a Distancia. Paseo de Senda del Rey, 9, 28040 Madrid.

*ana.moliner@upm.es

Resumen

La minería informal supone un riesgo para la salud de los ecosistemas. Con el objetivo de restaurar las zonas afectadas por este tipo de actividad de una forma sostenible, se realizó un ensayo en microcosmos durante ocho meses con *Enterolobium cyclocarpum*, (Jacq.) Griseb. 1960, inoculadas con microorganismos promotores del crecimiento en arenas de relave procedentes de minería informal. Este estudio se hizo dentro de un invernadero ubicado en el municipio de Buriticá del departamento de Antioquia (dentro de los predios de Zijin - Continental Gold). La especie vegetal fue plantada en macetas de 10 L, conteniendo aproximadamente 14 kg de arenas de relave (A) o arenas de relave mezclada con materia orgánica [5% p/p de gallinaza compostada (A+MO)]. Se ensayó el efecto de microorganismos comerciales. En cada maceta se añadieron Micorrizas (0 g ó 50 g Mycorfos®), ó Rizobium (0 cm³ ó 0,5 cm³ de Rhizobiol® ó la mezcla de los 2 en las mismas dosis. En total hubo 24 macetas. A pesar de los altos niveles de elementos traza (ET) totales en las arenas de relave (As 269 mg/kg; Cd 461 mg/kg), el *Enterolobium cyclocarpum* se adaptó a las condiciones de los sustratos, presentando en el tratamiento de arena con micorrizas, la mayor concentración de As y Cd acumulado en las partes aéreas de las plantas. Por su parte, en los tratamientos sin enmienda orgánica que llevaban incorporados hongos micorrízicos, A+M y A+FN+M, la mayor concentración de As y Cd se presentó en la raíz.

Palabras clave: Fitorremediación, rizobium, micorrizas, *Enterolobium cyclocarpum*.

Abstract

Informal mining poses a risk to ecosystem health. With the aim of restoring the areas affected by this type of activity in a sustainable way, a microcosm trial was carried out for eight months with *Enterolobium cyclocarpum*, (Jacq.) Griseb. 1960, inoculated with growth-promoting microorganisms in tailings sands from informal mining. This study was carried out in a greenhouse located in the municipality of Buriticá in the department of Antioquia (on the premises of Zijin - Continental Gold). The plant species were planted in 10 L pots, containing approximately 14 kg of tailings sand (A) or tailings sand mixed with organic matter [5% w/w composted poultry manure (A+MO)]. The effect of commercial micro-organisms was tested. Mycorrhizae (0 g or 50 g Mycorfos®), or Rhizobium (0 cm³ or 0.5 cm³ of Rhizobiol® or a mixture of the two at the same doses were added to each pot. In total there were 24 pots. Despite the high levels of total trace elements in the tailings sand (As 269 mg/kg; Cd 461 mg/kg), *Enterolobium cyclocarpum* adapted to the substrate conditions, with the highest concentration of As and Cd accumulated in the aerial parts of the plants in the mycorrhizal sand treatment. On the other hand, in the treatments without organic amendment that incorporated mycorrhizal fungi, A+M and A+FN+M, the highest concentrations of As and Cd were found in the roots.

Keywords: Phytoremediation, rhizobium, mycorrhiza, *Enterolobium cyclocarpum*.

Introducción

La minería informal hace referencia a aquella actividad de extracción que se lleva a cabo sin tener un título minero debidamente registrado en el Catastro Minero. Asimismo, el concepto aludido de informalidad se concentra sólo en la falta de registro y no en otros márgenes, como por ejemplo, el cumplimiento de regulaciones de otra índole como tributarias, sanitarias, de seguridad en el trabajo, medioambientales, pagos de beneficios sociales a trabajadores, etc. (Goñi et al., 2014)

La actividad minera es fuente importante de contaminación por elementos traza (ET), que pueden causar estrés oxidante en plantas (Fayiga et al., 2004), además de ser vehículo de paso a la cadena alimentaria.

Considerando que la fitoestabilización se basa en la inactivación de metales por parte de la planta, principalmente por absorción en la raíz, o por precipitación en la rizosfera (Kidd et al., 2009), esta técnica se puede utilizar para inmovilizar los contaminantes presentes en el suelo, a la vez que para frenar la erosión.

El *Enterolobium cyclocarpum* es una especie arbórea de rápido crecimiento que puede llegar hasta los 20-30 m de altura (Galindo et al., 2001), y ha sido empleada ampliamente en restauración de ecosistemas degradados para la conservación y control de la erosión en los suelos (Martínez-Pacheco et al., 2012).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de *Enterolobium cyclocarpum* asistido por microorganismos para estabilizar arsénico y cadmio presentes en las arenas de relave procedentes de la actividad minera informal de oro.

Material y métodos

El estudio se llevó a cabo en Buriticá, situado al NO de Medellín, en los predios de Zijin - Continental Gold cuyos alrededores están afectados por minería informal. Los veranos son cortos y calurosos, los inviernos son cortos y agradables, teniendo precipitaciones y

nubosidad todo el año. Durante el transcurso del año, la temperatura generalmente varía de 16 °C a 25 °C.

Inicialmente se hizo un muestreo al azar de los 30 cm superiores de las arenas de relave, para conocer el contenido en elementos traza. Las muestras se homogenizaron, se secaron y después de su digestión con agua regia en microondas, se determinó el contenido en elementos traza mediante ICP-OES.

El ensayo de fitorremediación se llevó a cabo durante ocho meses en macetas de 10 L en un invernadero cubierto, ubicado dentro de la empresa. Se utilizó como sustrato en la mitad de ellas aprox. 14 kg de la arena de relave (A) y en la otra, arena de relave más 5% de compost (A+MO). En cada maceta se añadieron Micorrizas (0 g ó 50 g Mycorfos®), ó Rizobium (0 cm³ ó 0,5 cm³ de Rhizobiol® ó la mezcla de los 2 en las mismas dosis que en los tratamientos individuales. Se utilizó una plántula por maceta de *Enterolobium cyclocarpum* de 15 cm (2 meses) desarrolladas en el vivero de la empresa minera y utilizando como sustrato el mismo material que se usó como enmienda de las arenas de relave. Al final del ensayo se evaluó el peso fresco y seco de la parte aérea y radicular, así como la cantidad de arsénico y cadmio acumulado en el tejido vegetal (raíz y brotes).

Tanto la enmienda orgánica que se utilizó, como los inóculos fueron productos comerciales con el fin de garantizar la homogeneidad del material y la posibilidad de replicarlo en campo.

El análisis estadístico se realizó con el programa Statgraphics 19, utilizando un ANOVA de 3 factores mediante el Modelo Lineal General ($p<0,05$). La distribución normal se comprobó con el test de Shapiro-Wilk's y la homogeneidad de la varianza usando el test de Levene.

Se utilizó como método de comparación entre los diferentes tratamientos un ANOVA con test de Tukey y un nivel de significación de 0,05. Y para las comparaciones entre los tratamientos con y sin aplicación de la materia orgánica, se

realizó una prueba t de Student con nivel de significación de 0,05.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se presenta el contenido total de elementos traza de la muestra compuesta procedente de arenas de relave de la actividad de minería informal. Las concentraciones de ET analizados en la muestra, excepto el Cr, superan los niveles de toxicidad que plantean organismos de referencia mundial (Tóth et al., 2016).

Tabla 1: Contenido total en elementos traza (ET) de las arenas de relave de minería informal y valores de referencia

Elemento	Contenido ET en arenas*	Valores de referencia MEF** mg/kg		Bajo	Alto	
	mg/kg					
As	269	50	100			
Cr	208	200	300			
Cu	4461	150	200			
Cd	461	10	20			
Hg	121	2	5			
Pb	1242	200	750			
Zn	22045	250	400			

* Arenas de relave (Buriticá)

** Valores de referencia del Ministerio de Medioambiente de Finlandia (MEF, citado por Toth et al., 2016)

En la Tabla 2 se presenta el peso del material vegetal seco, tanto de raíz como de la parte aérea. Se observa que el *Enterolobium cyclocarpum*, fue capaz de desarrollarse en ausencia de enmienda orgánica o inoculantes, mostrando una capacidad potencial para ser utilizada en relaves de minería de oro sin ningún tratamiento químico o biológico. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los datos obtenidos se refieren al ensayo en el que se utilizaron plantones de 15 cm, ya que las semillas no llegaron a germinar. Al observar las raíces de las plantas, se detecta que éstas prácticamente limitaron su desarrollo al bulbo que arrastraban del sustrato orgánico del plantón y no exploraron mucho el resto de la maceta donde se encontraba las arenas.

En las macetas donde no se adicionó materia orgánica pero sí una mezcla de inoculantes (Tabla 2), se observa el efecto que tiene la interacción de los microrganismos utilizados incrementando la biomasa total. Además, para el tratamiento donde no se aplicó la enmienda

se logró un desarrollo incipiente, al compararlo con el obtenido para estos mismos tratamientos, con la adición de materia orgánica. Esto puede deberse a que la materia orgánica aumenta la capacidad de retención de algunos elementos, lo que también puede reducir la disponibilidad y, por ende, favorecer el desarrollo vegetal.

Tabla 2: Valores medios de biomasa seca (g) y número de plantas de *Enterolobium cyclocarpum* que sobrevivieron al final del ensayo

SUST	FN	M	Nº PLANTAS	BIOMASA SECA		
				BROTES	RAIZ	TOTAL
A	0	0	3	1,77	1,26	3,03
	0	M	3	1,03	0,62	1,65
	FN	0	2	1,42	0,83	2,25
	FN	M	3	1,66	1,93	3,59
A+MO	0	0	3	2,08	1,12	3,20
	0	M	2	2,09	1,02	3,10
	FN	0	3	0,96	0,75	1,71
	FN	M	1	4,87	2,70	7,57

Tratamientos: FN Fijador de nitrógeno (*Rhizobium*); M Micorriza; A: arena; MO: materia orgánica.

Sin embargo, estas diferencias dentro de cada sustrato no fueron significativas. Tampoco se hallaron diferencias significativas al comparar el mismo inóculo en diferente sustrato, debido a la gran variabilidad existente. Por otra parte, en el tratamiento con materia orgánica y ambos inóculos, sólo se desarrolló la planta de una de las macetas y esta tuvo una biomasa muy superior al resto. Al relacionarlo con el contenido de metales en planta, se observa una menor concentración de As en dicho tratamiento.

En la Tabla 3 se observa que hubo una mayor acumulación de As en raíz que en brotes para todos los tratamientos. Además, en la arena sin enmendar con adición de micorriza (A+M) es donde mayor concentración de elementos traza se acumuló en los brotes (As 25,99 mg kg⁻¹), lo que podría dar lugar a su paso a la cadena trófica. Un efecto similar se encontró en ensayos de fitoextracción con *Pteris vittata* (Cantamessa et al., 2020).

Respecto al cadmio, también se detectó una mayor concentración en raíz que en brotes para todos los tratamientos (Wang et al., 2021). En arena sin enmendar, el tratamiento sin inóculos presentó la menor concentración de Cd en brotes, lo que es deseable en estudios de fitoestabilización.

La aplicación de micorrizas supuso un aumento del contenido de Cd en brotes en el sustrato sin enmendar, tanto cuando el hongo se aplicó solo, como en consorcio con el *Rhizobium*, efecto observado por otros autores (Guo et al., 1996).

Tabla 3: Valores promedios de arsénico y cadmio acumulado (mg kg^{-1}) en *Enterolobium cyclocarpum*.

SUST	FN	M	As		Cd	
			brotes	raíces	brotes	raíces
A	0	0	4,87	7,07	1,47	9,15
	0	M	25,99	26,30	3,35	4,34
	FN	0	10,27	11,24	2,58	7,18
A+MO	FN	M	6,28	10,19	3,36	17,85
	0	0	4,85	5,78	2,82	5,79
	0	M	1,55	11,18	2,23	10,37
	FN	0	5,82	31,95	6,72	29,03
	FN	M	0,69	4,37	0,72	13,53

Los tratamientos que presentaron la mayor concentración de As y Cd en la raíz fueron aquellos inoculados con hongos micorrízicos (A+M y A+FN+M). En el caso del comportamiento del Cd concuerdan con lo obtenido en otros estudios, donde las plantas que fueron inoculadas con *Rhizobium* y/o hongos micorrílicos presentaban una mayor acumulación de metales en raíces que aquellos sin ningún tipo de inóculo (Khan, 2001).

Conclusiones

A pesar de los altos niveles totales de elementos traza en las arenas de relave procedentes de la minería informal, el *Enterolobium cyclocarpum* se adaptó a las condiciones de los sustratos, presentando en el tratamiento de arena con micorrizas, la mayor concentración de As y Cd acumulado en las partes aéreas de las plantas. En ausencia de la enmienda orgánica el tratamiento con menor cantidad de metales en brotes fue el de las arenas sin inóculos. Por su parte, en el sustrato enmendado con materia orgánica los tratamientos con micorrizas (A+M y A+FN+M), estabilizaron la mayor cantidad de As y Cd en la raíz. Toda parece indicar que la enmienda orgánica es fundamental para la implantación de *Enterolobium cyclocarpum* en arenas de relave. Las

micorrizas, por otra parte, tienen mejores resultados cuando se aplican con enmienda orgánica ya que se reduce la exportación de ET a los brotes.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la empresa Zijin Continental Gold, Buriticá, (Colombia), la cooperación del personal de la empresa, así como el uso de sus instalaciones para el ensayo. También agradecen el apoyo económico y la beca de la plataforma LAC (Itd-UPM) a uno de los investigadores.

Referencias Bibliográficas

- Cantamessa, S., Massa, N., Gamalero, E. and Berta, G. (2020). Phytoremediation of a highly arsenic polluted site, using *Pteris vitata* L. and arbuscular mycorrhizal fungi. *plants*, 9:1211.
- Fayiga, A. O., Ma, L. Q., Cao, X. and Rathinasabapathi, B. (2004). Effects of heavy metals on growth an arsenic accumulation in the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Environmental Pollution*, 132, 289-296.
- Galindo, J., González, N., Aldama, A. I. and Marrero, Y. (2001). Efecto de *Enterolobium cyclocarpum* en la población microbiana ruminal y su actividad en condiciones in vitro. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 35 (3), 241.
- Goñi, E., Sabogal, S. and Asmat, R. (2014). *Minería Informal Aurífera en Colombia: Principales Resultados del Levantamiento de la Línea Debase [Informal Gold Mining in Colombia: Main Results on the Lifting of the Base Line]*. Bogotá: Fedesarrollo and IDB.
- Guo, Y., George, E. and Marschner, H. (1996). Contribution of an arbuscular mycorrhizal fungus to the uptake of cadmium an nickel in bean and maize plants. *Plant and Soil*, 184: 195-205.
- Khan, A. G. (2001). Relationships between chromium biomagnification ratio, accumulation factor, and mycorrhizae in plants growing on tannery effluent-polluted soil. *Environmental International*, 26: 417-423.
- Kidd, P., Barceló, J., Berna, M. P., Navari-Izzo, F., Poschenrieder, C., Shilev, S., and Monterroso, C. (2009.). Trace element behaviour at the root-soil interface: implications in phytoremediation. *Environmental and experimental Botany*, 67(1):243–259.
- Martínez-Pacheco, M. M., del Río, R., Flores-García, A., Martínez-Muñoz, R. E., Ron-Echeverría, O. A. and Raya-González, D. (2012). *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.: The biotechnological profile of a tropical tree. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11 (5), 385-399.
- Tóth G, Hermann T, Da Silva MR, Montanarella L. (2016) Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. *Environment International* 88: 299-309.
- Wang, X., Fang, L., Beiyuan, J., Cui, Y., Peng, Q., Zhu, S., Wang, M. and Zhang, X. (2021). Improvement of alfalfa resistance against Cd stress through rhizobia and arbuscular mycorrhiza fungi co-inoculation in Cd-contaminated soil. *Environmental Pollution*, 277; 116758.

Caracterización química elemental de suelos en dos sectores libres de hielo del sur de la isla Livingston (región septentrional de la Península Antártica)

Elemental chemical characterization of soils from two ice-free sectors in southern Livingston Island (northern Antarctic Peninsula region)

Guirado, María^{1*}; Navarro, Gabriel²; Díaz-Puente, Javier¹; Garralón, Antonio¹; Carcavilla, Luis³; Ortega, José⁴; Millán, Rocio¹; Tovar-Sánchez, Antonio²; Schmid, Thomas¹; López-Martínez, Jerónimo⁴

¹Centro de Investigaciones Energéticas Medio Ambientales y Tecnológicas -CIEMAT, Avda. Complutense 40, 28040 Madrid, Spain.

²Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC), Campus Universitario Río San Pedro, 11510 Puerto Real, Cádiz, Spain.

³Instituto Geológico y Minero de España, C. Ríos Rosas, 23, 28003 Madrid, Spain.

⁴Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, Spain.

*maria.guirado@ciemat.es

Resumen

Algunos ecosistemas terrestres antárticos se ven considerablemente afectados por el cambio climático, sobre todo en la región norte de la Península Antártica, que ha tenido el mayor aumento de temperatura en los últimos 60 años. Este calentamiento ha sido más pronunciado desde 2017 y ha provocado el retroceso de numerosos glaciares. Ello ha provocado la incipiente formación de suelos, que se encuentran sometidos a la acción de factores de formación (clima, biota, topografía), acción de animales (aves, mamíferos) y actividades humanas, y que evolucionan hacia una mayor producción y diversidad biológica. En este trabajo se determinó (en febrero de 2022) la composición química de los suelos en diferentes áreas de la Península Hurd y de Punta Hannah (parte meridional de la isla Livingston). En estos suelos los elementos mayoritarios (%) fueron Si, Fe, Ca, K, y Al y los minoritarios (ppm) Ti, Zr, Mn, Sr, P, y S. Estos componentes han permitido agrupar suelos según diferentes condiciones e impactos naturales, además de observar el tipo y la distribución de la vegetación como indicador del desarrollo edáfico.

Abstract

Some Antarctic terrestrial ecosystems are greatly affected by climate change, especially in the northern Antarctic Peninsula region which has had the greatest temperature increase in the last 60 years. This increase has been more pronounced since 2017 and has caused a retreat of many glaciers. The retreat has caused the generation of soils, which are subjected to environmental effects (radiation, wind, temperatures), animal actions (birds, mammals) and human activities, and which evolve to greater biological production and diversity. Preliminary data on the chemical composition of soils were collected on February 2022 from different areas of Hurd Peninsula and Hannah Point (southern Livingston Island). The percentage of major elements (%) such as Si, Fe, Ca, K, and Al or minoritary (ppm) Ti, Zr, Mn, Sr, P, and S can be used to group soils according to different natural conditions and impacts. Furthermore, type and distribution of vegetation can be an indicator of soil development.

Keywords: Suelos, Elementos químicos, zonas libres de hielo, impactos, Antártida

Introducción

La aceleración de la descongelación y el retroceso de glaciares en la Antártida marítima están condicionados por el cambio climático (Horrocks et al., 2020). Esto es especialmente notable en la región norte de la Península Antártica, donde se produce aumento de las áreas libres de hielo, debido a temperaturas más altas y mayor frecuencia de precipitaciones líquidas (Lee et al., 2017). El cambio de las condiciones climáticas y sus efectos en el permafrost, aumentan el agua disponible y hacen que la Antártida marítima sea un hábitat menos extremo y más favorable para que se desarrollen ciertos organismos vivos (Convey et al., 2019). Por otra parte, los procesos periglaciales y paraglaciales afectan a la hidrología, los ecosistemas y a la frágil formación de suelos, siendo predominante la meteorización física y los procesos criogénicos, especialmente por los ciclos de hielo-deshielo (López-Martínez et al., 2012).

La biodiversidad terrestre antártica es considerada baja comparativamente con la de otras zonas del planeta. Esta biodiversidad depende de variaciones espaciales y temporales de: a) la presencia de vegetación, principalmente musgos y líquenes, que se encuentran en forma de pequeñas comunidades separadas por áreas libres de vegetación; y b) la acción de aves y mamíferos migratorios, que tienen alimentaciones y fisiologías significativamente diferentes en sus zonas de reproducción e invernada; y c) el impacto humano directo, por su presencia cada vez más frecuente, o bien indirecto, por la contaminación orgánica e inorgánica a larga distancia (Chown & Convey, 2007). Los factores mencionados modifican los suelos en zonas libres de hielo e influyen en la composición mineral y biológica del suelo.

El objetivo de este trabajo es contribuir a caracterizar la superficie del suelo, mediante observaciones de campo y determinación de la composición elemental en dos sectores con áreas libres de hielo en el sur de la isla Livingston, perteneciente a las Islas Shetland del Sur.

Área de estudio

La Península Hurd (aprox. 62° 40' S, 60° 21' O) está situada en la costa sur de la isla Livingston, entre South Bay y False Bay y ocupa un área de aproximadamente 28 km². La Punta Hannah está situada en la costa sur de la isla Livingston (62°39' S, 60°37' O) y tiene una superficie de aproximadamente 1,22 km² (Fig. 1).

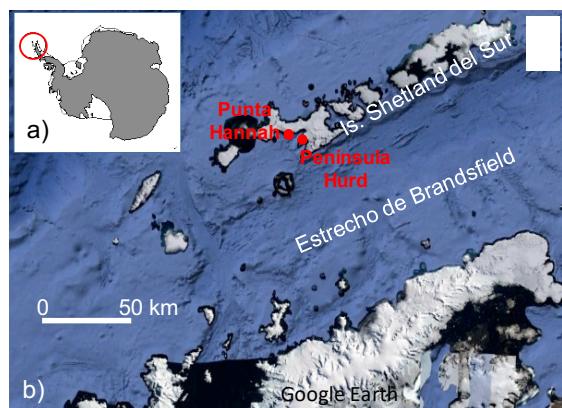


Fig. 1 – Situación de la región de estudio en la Antártida (a) y localización de la Péninsula Hurd y Punta Hannah en la isla Livingston (b).

La meteorización física de la roca es un factor dominante por las condiciones extremas, que permiten la acumulación de sedimentos no consolidados y el inicio de la formación de los suelos. La mineralogía más frecuente en la Península Hurd son plagioclasas y cuarzo y en menor medida, feldespatos potásicos y biotita (Kamenov, et al., 2005).

Material y métodos

Observaciones en campo y muestreos fueron realizados en sitios como: P (pingüinera), V (vegetación) y D (suelos desnudos) en febrero de 2022. Un total de 11 sitios (SC01 - SC11) fueron seleccionados y 4 submuestras fueron recogidas en cada sitio. El muestreo se realizó tomando un punto central (C) y submuestras en direcciones N, SE y SO a una distancia de 10 m con respecto al centro, con un ángulo de 120° entre las líneas de los muestreos (Schmid et al., 2017).

La determinación de 35 elementos químicos totales, fue realizada “in situ” directamente en las 44 muestras sin tratar, mediante un equipo portátil de fluorescencia de rayos X (Vanta™

Handheld XRF Series, marca Olympus) operado con la configuración GEOCHEM. El programa estadístico utilizado fue SPSS (ver.14), que trató los datos de los elementos más representativos de esos suelos (Si, Fe, Ca, K, Al, Ti, Zr, Mn, Sr, P, S, Zn, Rb, Y).

Resultados y discusión

Las observaciones de campo mostraron que una cubierta vegetal mínima suele ser un buen indicador de una superficie de terreno estable, con poca o ninguna erosión y con topografía y aporte hídrico adecuados para poder infiltrarse más allá de la superficie del suelo. Los impactos de las actividades animales o humanas tienden a concentrarse principalmente más cerca de la costa en bahías protegidas.

Composición de elementos químicos en los suelos muestreados

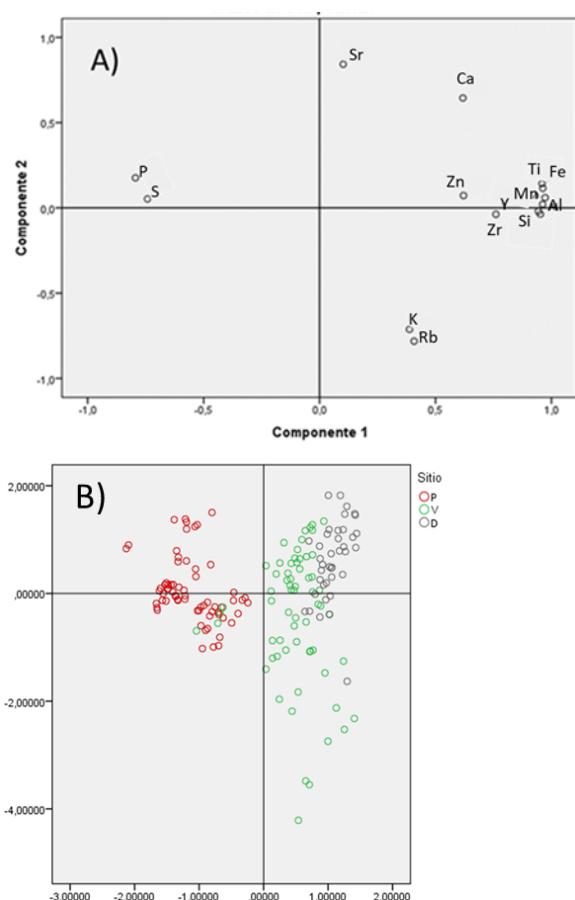


Fig.2 Componentes principales. A) Diagrama de saturación que representa los elementos del suelo. B) Dispersion de puntos que representa los distintos tipos de suelos: P (pingüinera), V (vegetación) y D (suelos desnudos).

El análisis de componentes principales realizado con los elementos químicos mayoritarios, permite diferenciar distintos tipos de suelos (Fig. 2). Esto es observado por la componente 1 que representa el 60% de la varianza total. De los tres grupos formados en la dirección de izquierda (-) a derecha (+) de la componente 1, aparece primero el grupo de muestras de la pingüinera, seguido de los suelos con cubierta vegetal y por último los suelos desnudos (Fig. 2-B). Estos últimos presentan más proporción de elementos químicos que los de la pingüinera, que contienen una mayor proporción de P y S, probablemente por la asociación con la materia orgánica debida al guano. Los suelos con vegetación se encuentran en medio y presentan una mayor variabilidad.

Coberturas vegetales a lo largo de un transecto

La variabilidad en la composición química de los suelos superficiales que presentan las diferentes coberturas vegetales, se puede deber a las distintas especies de las comunidades de musgos y líquenes y sobre todo a su proporción en los pequeños “parches” que forman, sin descartar las variables topográficas y climáticas que influyen en su formación.

Los grupos representados en la Fig. 3 son de cuatro muestreos o “parches” vegetales, tomados siguiendo un gradiente longitudinal en la Peninsula Hurd, desde la costa hasta una zona cercana al glaciar. El análisis de componentes principales muestra nuevamente 3 grupos (Fig. 3-B) que son separados por la componente 1 que explica el 55% de la variabilidad total. En la dirección de izquierda (-) a derecha (+) de esta componente encontramos el “parche” de musgos más abundante (SC07), situado más cerca de la costa, donde la humedad es mayor, seguido de los “parches” de vegetación intermedios (SC10, SC11), que representan zonas menos abundantes en número de especies y que se encuentran más cerca de elementos como fósforo, estroncio y calcio; y el último el “parche” (SC03), con una mayor proporción de líquenes que de

musgos y situado en la zona más cercana al glaciar, presenta una mayor proporción de Si, Zn y Al, que posiblemente se trate de silicatos. Esta diferencia entre ellos puede ser debida a la distinta abundancia y mayor diversidad de especies entre las coberturas vegetales, que modifica la composición mineral del suelo.

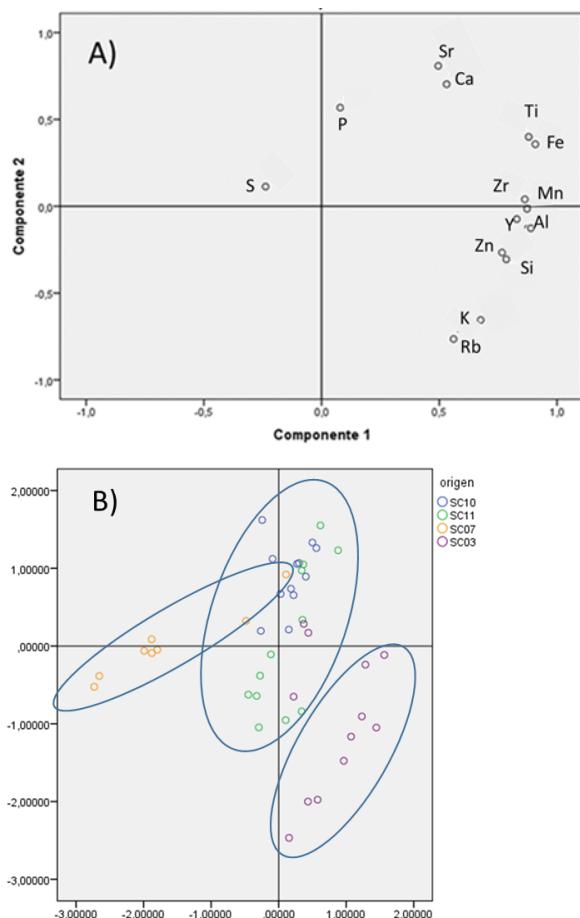


Fig. 3 Análisis de componentes principales de suelos con cobertura vegetal. A) diagrama de saturación con los elementos químicos más representativos. B) Diagrama de dispersión de las muestras del suelo. Las elipses representan los distintos grupos de cobertura vegetal.

Conclusiones

La composición química, de los suelos estudiados en la Península Hurd y en la Punta Hannah, permite diferenciar distintos impactos ocasionados por la vegetación, animales y acción antrópica. Especialmente significativo parece el papel de las coberturas vegetales y su distribución espacial, que influyen en las características edáficas. La distribución de elementos en los suelos estudiados puede ser debida a varios factores, entre ellos

litología, geomorfología, características topográficas y tiempo transcurrido desde la retirada del hielo. Todo ello ha permitido un desarrollo diferencial de los suelos y de los impactos potenciales. Futuros estudios con estas muestras contribuirán a esclarecer algunos interrogantes planteados.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos RTI2018-098099-B-I00 y RTI2018-098048-B-I00 del Plan Estatal de I+D+i. Los autores agradecen el apoyo logístico brindado por el Programa Antártico Español.

References

- Chown, S.L. & Convey, P. (2007). Spatial and temporal variability across life's hierarchies in the terrestrial Antarctic. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 362(1488), 2307-2331.
- Convey, P. & Peck, L.S. (2019). Antarctic environmental change and biological responses. *Science Advances*, 5(11), eaaz0888.
- Horrocks, C.A., Newsham K.K., Cox, F., Garnett, M.H., Robinson, C.H. & Dungait J.A.J. (2020). Predicting climate change impacts on maritime Antarctic soils: a space-for-time substitution study. *Soil Biology and Biochemistry*, 141, 107682.
- Kamenov, B.K., Zheng, X., Dimov, D. & Pimpirev, C. (2005). The isolated plutons in Hurd Peninsula, Livingston Island, Antarctica: Petrological and geochronological evidences of their affiliations to Barnard Point Batholith. *Geochemistry, Mineralogy and Petrology*, 67-86.
- Lee, J.R., Raymond, B., Bracegirdle, T.J., Chadès, L., Fuller, R.A., Shaw, J.D. & Terauds, A. 2017. Climate change drives expansion of Antarctic ice-free habitat. *Nature*, 547, 49-54.
- López-Martínez, J., Serrano, E., Schmid, T., Mink, S. & Linés, C. (2012). Periglacial processes and landforms in the South Shetland Islands (Northern Antarctic Peninsula region). *Geomorphology*, 155-156, 62-79.
- Molina, C., Navarro, F.J., Calvet, J., García-Sellés, D. & Lapazaran, J.J. (2007). Hurd Peninsula glaciers, Livingston Island, Antarctica, as indicators of regional warming: ice-volume changes during the period 1956–2000. *Annals of Glaciology*, 46, 43-49.
- Schmid, T., López-Martínez, J., Guillaso, S., Serrano, E., D'Hondt, O., Koch, M., Nieto, A., O'Neill, T., Mink, S., Durán, J.J. & Maestro, A. (2017). Geomorphological mapping of ice-free areas using polarimetric RADARSAT-2 data on Fildes Peninsula and Ardley Island, Antarctica. *Geomorphology*, 293, 448-459.

Remediação da drenagem ácida de minas através do uso de solos artificiais com biochar

Acid Mine Drainage remediation through artificial soils with biochar

Ana Machado^{1,2*}, María Otero³, Manuel Sevilla³, Verónica Asensio⁴

¹Ibero Massa Florestal, S.A., Rua Manuel Borges de Oliveira, nº 75, 3720-584 Avenal – UL, Portugal,
ana.machado@imflorestal.com

² CESAM - Centre for Environmental and Marine Studies, University of Aveiro, Aveiro, 3810-193, Portugal

³ Tharsis Mining S.L., Calle Pueblo Nuevo s/n 21530, Tharsis – Alosno, Huelva, Spain

⁴ EDAFOTEC SL, Rúa Colón 26 4º Of. 2, 36201, Vigo, Spain

Resumo

A drenagem ácida de minas (DAM) é um problema ambiental sério associado à exploração mineira quando minerais contendo enxofre são expostos às condições atmosféricas. Os efluentes gerados com pH baixo e alto teor de metais podem representar uma ameaça para os ecossistemas, mesmo após a mina estar encerrada, e por isso, o seu tratamento é necessário podendo ser atingido através de ações de restauro. O projeto Mindingsoils tem por objetivo o tratamento de DAM através do uso de solos artificiais com biochar, baseado no conceito de economia circular, que vai promover a redução do escoamento gerado, aumento do pH do escoamento e ao providenciar a capacidade de sorção de metais. Para tal, os resíduos de mina, assim como diferentes biochares (acácia, pinheiro e eucalipto) foram caracterizados quimicamente. Os resultados mostraram que os resíduos da mina, tendo valores elevados de metais e baixo pH, irão promover efeitos ambientais negativos nos corpos de água adjacentes. O biochar de acácia foi selecionado para o presente estudo devido à sua maior capacidade de troca catiónica e a sua proporção de H e O. Os resultados permitiram o desenho do solo artificial, que irá ser testado num ensaio piloto de campo.

Palavras-chave: sorção de metais, efluentes de mina, mitigação de poluição, tecnosolos.

Abstract

Acid mine drainage (AMD) is a serious environmental problem associated with the mine sector when minerals that contains sulfur are exposed. The effluents discharge, in water bodies, with low pH and high metals levels, can pose a threat to the ecosystems, even after the mine exploration ceases. Hence, treatments for the AMD are necessary and can be accomplish by mine restoration actions. The project Mindingsoils aims to mitigate ADM by applying artificial soils with biochar under a circular economy concept, that will promote the reduction of runoff generated, increase of the mine pH runoff and provide metals sorption capacity. To that aim, the mine residues and different biochars (Acacia, Pine and Eucalyptus) were chemically characterized. The results showed that the mine residues, with high level of metals and low pH, will promote environmental negative effects in the adjacent water bodies. From the different tested biochars, Acacia spp. was the feedstock that had more potential for ADM remediation strategies due to its high cation exchange capacity as well as H and O ratios. These results allowed the design of the artificial soil, which will be tested in a pilot field experimental.

Keywords: metals sorption, mine effluents, pollution mitigation, Technosols.

Introduction

Acid mine drainage (AMD) generated from sulphide mining is one of the most critical environmental pollution issues for the aquatic ecosystems (Akçil and Koldas, 2006). Sulfide minerals, when exposed to oxygen and water, release acidity and metals in the water bodies, compromising the aquatic organism's survival (Nieto et al., 2007; Peppas et al., 2000). The impact of AMD can last centuries even after the mine exploration ceases. Hence, treatments for the AMD are necessary and can be accomplished by mine restoration actions. Two different strategies can be applied: mine mineral residues remediation (i.e., in situ action), and mine effluents treatment. The latest, is the strategy up to date more commonly used varying from direct effluents chemical treatments to phytoremediation treatments (Ighalo et al., 2022). Nevertheless, due to maintenance deficits, especially after mine exploitation closure, these strategies cannot mitigate efficiently the AMD. In situ action, on the other hand, aims to tackle the source of AMD.

In this scope, the project Mindingsoils aims to mitigate ADM by applying artificial soils with biochar in the mine surface under a circular economy concept. The artificial soil will be created through the valorisation of mine residues and local wastes. This new solution aims to promote the reduction of runoff generated, increase the pH of the mine drainage and provide metals sorption capacity to the soil.

Materials and methodology

The project will implement the new solution, at pilot scale, in the Tharsis mine, located in Huelva, Spain (Fig.1). Tharsis mine residues, produced during the old operation time in the last decades of 20th century, were chemically characterized to access their potential for the artificial soil integration.

Biochars from *Acacia melanoxylon*, *Pinus pinaster* and *Eucalyptus globulus* wood, produced in a slow pyrolysis process in an oxygen free environment at relatively low temperatures (<700°C), were

chemically characterized, for the selection of the biochar feedstock more suitable to the project objective.

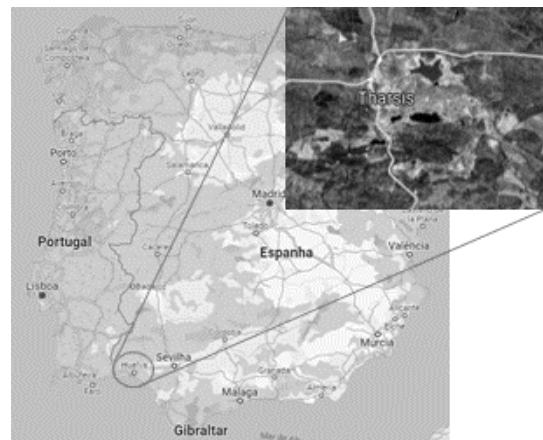


Fig. 1 – Location of Tharsis mine in Huelva, Spain.

Likewise, a selection of residues generated in the province of Huelva were characterized.

Results and discussion

The material from the mine waste was strongly acidic, with high Al³⁺ concentration, undetectable nitrogen content, and Pb and As concentrations above the generic reference levels for industrial use according to the regional legislation (Table 1). That low pH is probably due to pyrite oxidation, since 53% of the mineral fraction is pyrite.

Table 1 – Chemical characteristics of the Mine tailing

Variable (unit)	Mine tailing
pH	3.20
Al ³⁺ (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)	8.48
Total N (mg kg ⁻¹)	u.l.
As (mg kg ⁻¹)	1806
Pb (mg kg ⁻¹)	8489

Al³⁺: exchangeable aluminium, u.l.: undetectable level.

As a consequence of these characteristics of the mine residue, mine water effluents are strongly acidic (pH 1-3), and with a high content levels of Cu, Fe, Zn and sulphates. Another consequence is the absence of spontaneous vegetation in the surface of the mine tailing.

Table 2 – Chemical characteristics of the biochar made with acacia, pine and eucalyptus wood.

Variable (unit)	Acac.	Pine	Euc.
CEC (cmol(+)/kg)	7.09	4.61	5.77
C (%)	80.9	93.4	90.5
H (%)	3.68	1.64	2.48
O (%)	14.9	4.76	6.89
O/C	0.19	0.05	0.08
H/C	0.05	0.02	0.03

CEC: effective cation exchange capacity, C: carbon, H: hydrogen, O: oxygen, Acac.: biochar from acacia wood, Euc.: biochar from eucalyptus wood.

The chemical characteristics analysed in the three tested biochars showed that the made from acacia wood had the highest CEC, proportion of H and O, as well as the highest O/C and H/C ratios (Table 1). Therefore, that was the biochar with the best characteristics for pollutants retention.

Based on the objective of increasing the low pH and affection problems in the mine waste and water, it was decided to apply three different layers of artificial soils (Figure 1).

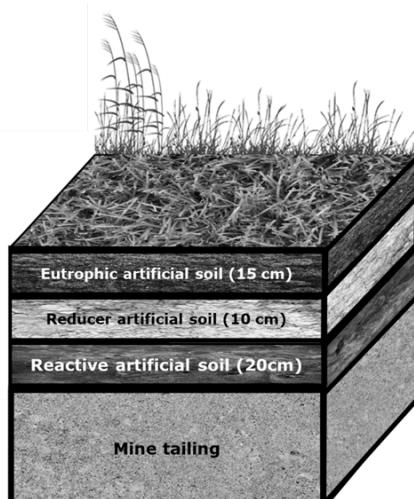


Fig. 2 – Design of the artificial soil layers to cover the mine tailing material.

By taking into account the type of residues available in the province of Huelva, as well as their physico-chemical characteristics, the composition of each artificial soil is the following:

1) Eutrophic: pruning residues, DWT sludge, WWT sludge, manure, papermill sludge, CDWs and biochar.

2) Reductor: DWT sludge, WWT sludge, manure and papermill sludge.

3) Reactive: WWT sludge, manure, papermill sludge and biochar.

Conclusions

The main objective of the Mindingsoils project is expected to be achieved at the end of the field experiment. The artificial soils designed, which includes a specifically selected biochar, have the potential to stop the generation of acid mine drainage and pollutants lixiviation from the mine tailing.

Acknowledgements

The Mindingsoils project has indirectly received funding from the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation programme, via an Open Call issued and executed under project MINE.THE.GAP (grant agreement No873149). Edafotec thanks GAIN for the staff co-financed with the Resolution of the Galician Innovation Agency of December 31, 2019 ("Talento Senior" program).

References

- Akcil, A., & Koldas, S. (2006). Acid Mine Drainage (AMD): causes, treatment and case studies. *Journal of Cleaner Production*, 14(12-13), 1139-1145. doi: 10.1016/j.jclepro.2004.09.006
- Ighalo, J.O., Kurniawan, S.B., Iwuzor, K.O., Aniagor, C. O., Ajala, O.J., Oba, S.N., Iwuchukwu, F.U., Ahmadi, S., Igwegbe, C.A., A review of treatment technologies for the mitigation of the toxic environmental effects of acid mine drainage (AMD). *Process Safety and Environmental Protection* 157(37-58). doi: 10.1016/j.psep.2021.11.008
- Nieto, J.M., Sarmiento, A.M., Olías, M., Canovas, C.R., Riba, I., Kalman, J., Delvalls, T.A. (2007). Acid mine drainage pollution in the Tinto and Odiel rivers (Iberian Pyrite Belt, SW Spain) and bioavailability of the transported metals to the Huelva Estuary. *Environment International* 33(4), 445-455. doi: 10.1016/j.envint.2006.11.010.
- Peppas A, Komitsas K & Halikia I (2000). Use of organic covers for acid mine drainage control. *Minerals Engineering* 13(5), 563-574. doi: 10.1016/S0892-6875(00)00036-4

El uso de la tolerancia bacteriana a Ni inducida por contaminación (PICT) para evaluar los efectos del proceso de remediación

The use of Pollution-Induced Community Tolerance (PICT) to Ni to assess the effects of remediation techniques

Campillo-Cora, Claudia*, Arias-Estévez, Manuel, Fernández-Calviño, David

Universidade de Vigo, Departamento de Biología Vegetal e Ciencia do Solo, As Lagoas s/n, 32004 Ourense, Spain;
 *ccampillo@uvigo.es

Resumen

Los tratamientos de remediación en suelos contaminados por metales pesados están muy extendidos. No obstante, generalmente, cuando se evalúa su eficacia después de la aplicación, únicamente se tienen en cuenta fracciones del metal (soluble, biodisponible, etc.). Sin embargo, también es relevante conocer el estado de los microorganismos del suelo por las funciones esenciales que desempeñan. En este trabajo se evaluó el efecto de 3 tratamientos de remediación en un suelo contaminado por Ni sobre las comunidades bacterianas, en términos de desarrollo de tolerancia al Ni. Los tratamientos de remediación fueron: concha de mejillón (CMT), corteza de pino (CP) y EDTA. También se estableció un control sin tratamientos. La CMT fue el tratamiento más efectivo y menos nocivo, ya que las comunidades bacterianas no desarrollaron tolerancia en respuesta a las adiciones de Ni al suelo. La remediación con CP sólo fue efectiva para niveles de Ni de 500 y 1000 mg·kg⁻¹, pero las comunidades bacterianas desarrollaron tolerancia al Ni para 2000 mg·kg⁻¹. El lavado del suelo con EDTA fue efectivo en términos de desarrollo de tolerancia al Ni por las comunidades bacterianas; no obstante, este procedimiento con EDTA fue demasiado nocivo para las bacterias, perjudicando la salud de la comunidad.

Palabras clave: níquel, remediación, crecimiento bacteriano, subproductos, contaminación.

Abstract

The use of remediation techniques in polluted soils with heavy metals is widespread. However, in general, after remediation application, only metal fractions (soluble, bioavailable, et.) are taken into account in the assessment of their efficacy. In this sense, it is also relevant to know the status of soil microorganisms because of the essential functions they perform. In the present study, the effect of 3 remediation techniques on the development of bacterial community tolerance to Ni was assessed. The selected remediation techniques were: crushed mussel shell (CMS), pine bark (PB), and EDTA. A no-treatment control was also established. CMS was the most effective and least harmful treatment, as the bacterial communities did not develop tolerance in response to Ni additions to the soil. Ni-remediation with CP was only effective for Ni levels of 500 and 1000 mg·kg⁻¹, but bacterial communities developed tolerance to Ni at 2000 mg·kg⁻¹. Washing Ni out of the soil with EDTA was effective in terms of the development of bacterial community tolerance to Ni; however, EDTA-procedure was too harmful to the bacteria, damaging the health of the community.

Keywords: nickel, remediation, bacterial growth, by-products, pollution.

Introducción

La acumulación de metales pesados en los suelos es un problema global que afecta negativamente a las funciones que el suelo desempeña. Por ejemplo, en suelos con influencias antrópicas se han reportado valores de hasta $6025 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de níquel (Ni) (Kashulina, 2017). En general, cuando el nivel de metales supera un cierto umbral, es necesario aplicar algún tipo de tratamiento de remediación para mitigar los efectos nocivos sobre el ecosistema. Para ello se recomienda el uso de enmiendas orgánicas para inmovilizar metales pesados en suelos (Bolan et al., 2014). Las enmiendas que más interesan son aquellas de bajo coste y que sean subproductos de otros tipos de industria, como la concha de mejillón triturada (CMT) o la corteza de pino (CP). Tanto la CMT como la CP son efectivas en la inmovilización de metales pesados *in situ* (Núñez-Delgado et al., 2021). No obstante, en ocasiones es necesario un tratamiento más exhaustivo mediante técnicas *ex situ*, como el lavado del suelo. En este tipo de tratamientos *ex situ*, para la eliminación de los metales del suelo se suelen utilizar agentes quelantes como el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) (Hu et al., 2014). Una vez realizado el tratamiento de remediación, la evaluación del suelo no se debe limitar a las fracciones del metal en el suelo, si no que también debe de tenerse en consideración el resto de funciones del suelo. La utilización de microorganismos como indicadores puede ser muy útil dadas las funciones esenciales que desempeñan en los suelos (Nannipieri et al., 2003). Una de las técnicas más sensibles con microorganismos como indicadores es la determinación de tolerancia de las comunidades microbianas a los metales (PICT: Pollution-induced Community Tolerance). El desarrollo de tolerancia informa directamente sobre la toxicidad de un metal.

En este estudio se evalúa la respuesta de comunidades bacterianas, en términos de tolerancia al Pb, después de aplicar 3 técnicas de remediación (CMT, CP y EDTA) a un suelo contaminado. La hipótesis se basa en que si las técnicas de

remediación han sido efectivas, la toxicidad del Pb disminuirá, y por tanto la tolerancia al Pb de las comunidades bacterianas también disminuirá.

Material y métodos

Diseño experimental

Se seleccionó un suelo forestal natural desarrollado sobre anfibolita: pH 4,7, 19,6 % MO, 79 mg Ni·kg⁻¹. Se contaminó el suelo seco, tamizado (2 mm) y homogeneizado mediante la aplicación de diferentes soluciones de $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2\cdot6\text{H}_2\text{O}$ al suelo. Finalmente, se obtuvieron las siguientes concentraciones finales: 2000, 1000, 500, 250 and 0 mg Ni·kg⁻¹. Estos microcosmos se incubaron durante 30 días en oscuridad a 22°C. Una vez pasado el tiempo de incubación, se aplicaron los tratamientos de remediación a los microcosmos. Por un lado, se añadieron 48 g·kg⁻¹ de CMT y CP, individualmente, a los microcosmos. Por otro lado, se realizó el tratamiento de lavado del suelo con EDTA 0.1M mediante lixiviación en columnas (5 h EDTA 0.1M, 5 h agua destilada; 2,.5 mL·h⁻¹). Una vez realizados los tratamientos de remediación, se incubaron los microcosmos durante 60 días.

Determinación de tolerancia al Pb de la comunidad bacteriana

Terminada la incubación, se extrajo la suspensión bacteriana de cada microcosmo por el método de centrifugación-extracción (Bååth, 1992) utilizando MES 20 mM pH 6 (Lekfeldt et al., 2014). Cada suspensión bacteriana se subdividió en microtubos a los que se añadieron 9 concentraciones de $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2\cdot6\text{H}_2\text{O}$ y un control de agua destilada. Las concentraciones de Ni en las suspensiones bacterianas oscilaron entre 10^{-8} y 3.3×10^{-3} M. Posteriormente, en cada muestra se determinó el crecimiento bacteriano por el método de incorporación de leucina (Bååth et al., 2001).

Se obtuvo una curva dosis-respuesta para cada microcosmo (Fig. 1). A partir de las curvas de inhibición se determinó log IC₅₀ como índice de tolerancia: la concentración

de Ni necesaria para inhibir al 50% el crecimiento bacteriano. Mayor log IC₅₀ significa mayor tolerancia y mayor toxicidad del Ni; menor log IC₅₀ significa menor tolerancia y menor toxicidad del Ni. Para cada tratamiento, se determinaron individualmente el incremento de tolerancia ($\Delta\log IC_{50}$) como la diferencia entre log IC₅₀ entre 2000, 1000 y 500 mg·kg⁻¹ y el suelo no contaminado. Se considera incremento de tolerancia, y por tanto toxicidad, si $\Delta\log IC_{50}>0.3$.

Resultados y discusión

Para cada microcosmos se obtuvo una curva dosis-respuesta (o curva de inhibición) con forma sigmoidal: en general, el crecimiento bacteriano fue máximo (≈ 1) en las concentraciones más bajas de Ni en las suspensión bacteriana y, a medida que la concentración de Ni aumentó, el crecimiento bacteriano tendió a 0 (Fig. 1). A partir de cada curva se determinaron los valores de tolerancia, es decir, log IC₅₀.

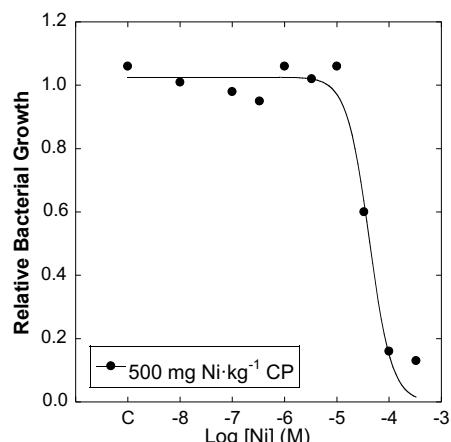


Fig. 1. Ejemplo de curva de inhibición de la comunidad bacteriana al Ni en la suspensión.

En cuanto a la respuesta de las comunidades bacterianas a la adición de Ni, el desarrollo de tolerancia al Ni aumentó a medida que aumentó el nivel de Ni en el suelo (Fig. 2). La tolerancia al Ni fue superior al nivel de referencia ($\Delta\log IC_{50}>0.3$ unidades logarítmicas) para 1000 y 2000 mg Ni·kg⁻¹, pero no para 500 mg·kg⁻¹.

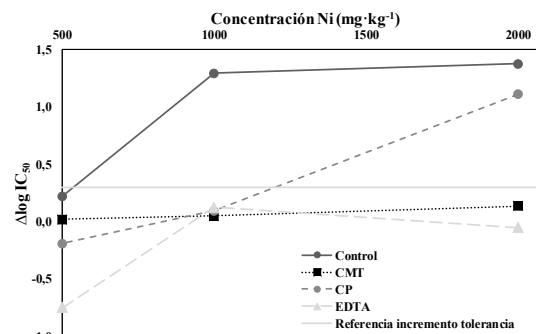


Fig. 2. Incremento de tolerancia al Ni de las comunidades bacterianas ($\Delta\log IC_{50}$) en respuesta a 3 niveles de contaminación por Ni (500, 1000 y 2000 mg·kg⁻¹) y 3 tratamientos de remediación (CMT, CP y EDTA). La línea de referencia marca un valor de $\Delta\log IC_{50} = 0.3$.

En cuanto a los tratamientos de remediación, cuando se aplicó al suelo contaminado corteza de pino triturada (CP), el desarrollo de tolerancia al Ni de las comunidades bacterianas aumentó en respuesta a la adición de Ni, superando el valor de referencia (0.3) en el suelo contaminado con 2000 mg Ni·kg⁻¹ ($\Delta\log IC_{50} = 1.1$) (Fig. 2). Es decir, la adición de CP redujo la toxicidad del Ni, pero sólo hasta cierto nivel de concentración. El efecto de la CP sobre la toxicidad del Ni puede deberse al aporte de materia orgánica y a la afinidad entre ésta y el Ni (Cutillas-Barreiro et al., 2014). Al añadir CP al suelo, aumenta el aporte de materia orgánica y el Ni se adsorbe a ésta formando complejos organometálicos que reducen la toxicidad del Ni para las comunidades bacterias.

Por otro lado, cuando el suelo contaminado se trató con concha de mejillón triturada (CMT), las comunidades bacterianas no mostraron tolerancia al Ni, para ninguna de las concentraciones estudiadas (Fig. 2). Es decir, la adición de CMT al suelo redujo la toxicidad del Ni casi por completo, en términos de desarrollo de tolerancia de las comunidades bacterianas. La razón de este comportamiento puede deberse a que el pH del suelo aumenta como consecuencia de la adición de la CMT. Al aumentar el pH, la biodisponibilidad del Ni diminuye (Ramírez-Pérez et al., 2013) y resulta menos tóxico para las comunidades bacterianas.

De manera similar, cuando el Ni del suelo contaminado se retiró con un tratamiento

de lixiviación (EDTA), las comunidades bacterianas de ese suelo no mostraron desarrollo de tolerancia al Ni, para ninguna de las concentraciones de estudio (Fig. 2). No obstante, analizando los resultados para la concentración más baja de Ni añadido ($500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), se puede observar que el incremento de tolerancia de las comunidades bacterianas es mucho menor cuando el suelo se lava con EDTA ($\Delta\log IC_{50} = -0.75$) que en el suelo control ($\Delta\log IC_{50} = 0.22$). Esto sugiere que el EDTA hace que el Ni sea más tóxico para las bacterias. No obstante, esto no es posible ya que en el lavado del suelo con EDTA se retira el Ni biodisponible para reducir la toxicidad. Otra hipótesis es que el tratamiento del suelo con EDTA también afecta de manera negativa a la comunidad bacteriana. Por tanto, cuando las comunidades bacterianas se exponen al Ni son más sensibles y muestran menor tolerancia.

Conclusiones

Se evaluaron tres técnicas de remediación suelos contaminados por Ni mediante la respuesta de las comunidades bacterianas del suelo en términos de desarrollo de tolerancia al Ni. La técnica de remediación más efectiva y menos nociva fue la concha de mejillón triturada, que redujo la disponibilidad de Ni incluso a $2000 \text{ mg Ni}\cdot\text{kg}^{-1}$. La corteza de pino fue efectiva únicamente hasta $1000 \text{ mg Ni}\cdot\text{kg}^{-1}$. Por último, el lavado de suelo con EDTA fue efectivo en términos de desarrollo de tolerancia de las comunidades bacterianas, no obstante, provocó efectos nocivos en la comunidad bacteriana en sí.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio español de Economía, Industria y Competitividad a través del proyecto CTM2015-73422-JIN. David Fernández Calviño posee un contrato Ramón y Cajal (RYC-2016-20411) financiado por el Ministerio español de Economía, Industria y Competitividad. Claudia Campillo-Cora posee contrato predoctoral “Xunta de Galicia” (ED401A-2020/084) financiado por

la Consellería de Educación, Universidade e Formación profesional.

Referencias

- Bååth, E. (1992). Thymidine incorporation into macromolecules of bacteria extracted from soil by homogenization-centrifugation. *Soil Biology and Biochemistry*, 24, 1157-1165. doi:10.1016/0038-0717(92)90066-7.
- Bååth, E., Pettersson, M., & Söderberg, K.H. (2001). Adaptation of a rapid and economical microcentrifugation method to measure thymidine and leucine incorporation by soil bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 1571-1574. doi:10.1016/S0038-0717(01)00073-6.
- Bolan, N., Kunhikrishnan, A., Thangarajan, R., Kumpiene, J., Park, J., Makino, T., Kirkham, M.B., & Scheckel, K. (2014). Remediation of heavy metal(lloid)s contaminated soils - To mobilize or to immobilize? *Journal of Hazardous Materials*, 266, 141-166. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.12.018.
- Cutillas-Barreiro, L., Ansias-Manso, L., Fernández-Calviño, D., Arias-Estevez, M., Núñez-Delgado, A. (2014). Pine bark as bio-adsorbent for Cd, Cu, Ni, Pb and Zn: Batch-type and stirred flow chamber experiments. *Journal of Environmental Management*, 144, 258-264. doi:10.1016/J.JENVMAN.2014.06.008.
- Hu, P., Yang, B., Dong, C., Chen, L., Cao, X., Zhao, J., Wu, L., Luo, Y., & Christie, P. (2014). Assessment of EDTA heap leaching of an agricultural soil highly contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 117, 532-537. doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2014.08.081.
- Kashulina, G.M. (2017). Extreme pollution of soils by emissions of the copper–nickel industrial complex in the Kola Peninsula. *Eurasian Soil Science*, 50, 837-849. doi:10.1134/S1064229317070031.
- Lekfeldt, J.D.S., Magid, J., Holm, P.E., Nybroe, O., & Brandt, K.K. (2014). Evaluation of the leucine incorporation technique for detection of pollution-induced community tolerance to copper in a long-term agricultural field trial with urban waste fertilizers. *Environmental Pollution*, 194, 78-85. doi:10.1016/j.envpol.2014.07.013.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G. (2003). Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, 54, 655-670. doi:10.1046/j.1351-0754.2003.0556.x.
- Núñez-Delgado, A., Fernández-Sanjurjo, M.J., Álvarez-Rodríguez, E., Arias-Estevez, M., Conde-Cid, M., & Fernández-Calviño, D. (2021). Sorbents to control soil pollution. In: *Sorbents Materials for Controlling Environmental Pollution* (pp. 691-700). doi:10.1016/b978-0-12-820042-1.00009-2.
- Ramírez-Pérez, A.M., Paradelo, M., Núñez-Delgado, A., Fernández-Sanjurjo, M.J., Álvarez-Rodríguez, E., Arias-Estevez, M., Conde-Cid, M., & Fernández-Calviño, D. (2013). Heavy metal retention in copper mine soil treated with mussel shells: Batch and column experiments. *Journal of Hazardous Materials*, 248-249, 122-130. doi:10.1016/j.jhazmat.2012.12.045.

Distribución de metales traza en perfiles de suelos urbanos

Depth distribution of trace elements in urban soil profiles

Roo, María¹, Herbón, Cecilia¹, Barral, María Teresa¹, Pontevedra-Pombal, Xabier¹, García-Rodeja, Eduardo¹, Paradelo, Remigio^{1*}

¹ Departamento de Edafología e Química Agrícola, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España

* remigio.paradelo.nunez@usc.es

Resumen

Los suelos son un componente importante de los ecosistemas urbanos, pero sus funciones pueden verse afectadas negativamente por el aumento de la población urbana previsto para las próximas décadas. Entre los problemas que sufren los suelos urbanos, se destaca la acumulación de contaminantes inorgánicos. Este trabajo analiza las concentraciones de Pb, Cu, Zn, Ni y Cr en seis suelos de la ciudad de Santiago de Compostela (noroeste de España), tres de ellos desarrollados en condiciones naturales y tres formados sobre materiales transportados/alterados por actividades humanas. En dos de los suelos naturales las concentraciones de los metales traza muestran una tendencia clara a descender en profundidad, lo que sugiere que el aporte procede de la contaminación del entorno. En el otro suelo natural, formado sobre anfibolitas, esta tendencia solo se cumple para el Pb, mientras que el Cu, Ni y Cr aumentan en profundidad, lo que puede explicarse por la naturaleza del material de partida. Por el contrario, en ninguno de los tres suelos artificiales se observa una tendencia clara en la distribución de los metales en profundidad.

Palabras clave: suelos urbanos, metales, contaminación.

Abstract

Soils are an important component of urban ecosystems, but their ecosystemic functions may be negatively affected by the growth in urban population projected for the next decades. Among the problems that affect urban soils, the accumulation of inorganic contaminants such as heavy metals is one of the most challenging. In this study we analized the concentrations of Pb, Cu, Zn, Ni and Cr in six soil profiles of the city of Santiago de Compostela (northwestern Spain). Three of them are developed under natural conditions, and the other three are developed over human altered and transported materials. In two of the natural soils, trace metal concentrations show a clear trend to decrease with depth, suggesting that metals come from the environmental pollution. In the other natural soil, developed from amphiboles, this trend is only true for Pb , while Cu, Zn, Ni and Cr increase in depth, which can be explained by the particular lithology of this soil. On the contrary, in none of the three artificial soils a clear trend in the distribution of trace element concentrations with depth is observed.

Keywords: urban soils, metals, pollution.

Introducción

En el año 1950 el 30 % de la población mundial residía en zonas urbanas. En 2018, el porcentaje de población urbana ascendió hasta el 55 %, y está previsto que se alcance el 68 % en el año 2050 (United Nations, 2019). Este aumento de la población en áreas urbanas implica una mayor industrialización y una expansión de las ciudades que tiene impactos negativos sobre el ecosistema urbano.

El suelo es un componente esencial en los entornos urbanos, ya que proporciona un amplio rango de servicios ecosistémicos. Sin embargo, uno de los mayores desafíos en el desarrollo urbano es la presencia de contaminantes derivados del tráfico, la industria, o el tratamiento de residuos, y el depósito y acumulación de muchos de estos contaminantes en el suelo. Entre los que se acumulan en los suelos urbanos se pueden encontrar tanto compuestos orgánicos como inorgánicos, siendo elementos como Pb o Cu los que representan más habitualmente un problema en estos casos (Ajmone-Marsan & Biasioli, 2010).

Este trabajo se enfocó en el estudio de cinco elementos potencialmente tóxicos que suelen aparecer en concentraciones elevadas en zonas urbanas y potencialmente peligrosos para la salud: plomo, cobre, zinc, níquel y cromo. Se estudió la distribución de estos metales en profundidad en seis perfiles de suelos de la ciudad de Santiago de Compostela (España). Los suelos se eligieron atendiendo a la diversidad edáfica presente en la ciudad, seleccionando tres suelos formados sobre materiales *in situ* y tres formados a partir de materiales transportados por el hombre.

Material y métodos

Zona de estudio

La ciudad de Santiago de Compostela es la capital de la comunidad autónoma de Galicia, localizada en el noroeste de la península ibérica. El municipio tiene una superficie de 222 km² y 97.000 habitantes permanentes, a los que se unen algo más

de 20.000 estudiantes universitarios y más de un millón de turistas que visitan la ciudad cada año.

La ciudad muestra un clima oceánico que se corresponde a la zona Cfb en la clasificación climática de Köppen-Geiger (Kottek, Grieser, Beck, Rudolph, & Rubel, 2006), con una temperatura media anual de 13°C y precipitación media anual de 1787 mm.

En cuanto a su geología, la ciudad se encuentra en la zona de contacto entre un área granítica y el macizo metamórfico conocido como Complejo de Ordes, por lo que presenta una gran diversidad geológica que se pueden dividir en cuatro tipos de materiales de partida para los suelos: esquistos, ortogneises, anfibolitas y rocas graníticas (IGME, 1981).

Suelos

Se muestrearon perfiles de seis suelos de la ciudad de Santiago de Compostela. Los suelos 1, 2 y 3 son suelos formados sobre materiales *in situ*, mientras que los suelos 4, 5 y 6 se formaron sobre materiales transportados y/o alterados (Tabla 1).

Tabla 1 – Caracterización general de los suelos estudiados

	Clasificación (WRB, 2015)	Litología	Vegetación
1	Haplic Umbrisol	Gneis	Arbórea
2	Haplic Umbrisol	Gneis	Herbáceas
3	Endocambic Umbrisol	Anfibolita	Herbáceas
4	Skeletal Regosol	Esquisto/granito	Herbáceas
5	Ekranic Technosol	Esquisto	Ninguna
6	Ekranic Technosol	Esquisto	Ninguna

Métodos de análisis

Las muestras de suelo secas al aire y tamizadas (<2 mm) se molieron en un mortero de ágata hasta <250 µm. Para el análisis de metales totales se realizó una digestión ácida de 0,5 g de suelo con 3 ml de HF y 9 ml de HNO₃ a 180°C en microondas, siguiendo el método EPA 3052 (USEPA, 1996). El contenido de Pb, Cu, Zn, Ni y Cr en los extractos se determinó mediante espectrometría de absorción

atómica de llama (Varian SpectraAA 220FS). En estos análisis se utilizaron ácidos hiperpuros y agua milli-Q. Como control de calidad se utilizaron materiales de referencia del BCR CRM143R (suelo enmendado con lodos de depuradora) y 320R (sedimento de canal). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Estadística

Se analizaron las correlaciones entre las concentraciones de los diferentes metales traza utilizando la correlación de Pearson en el software estadístico R para Windows, versión 4.1.3, y el paquete R Commander versión 2.7-2.

Resultados y discusión

Los contenidos en metales traza en los diferentes horizontes de los seis suelos analizados se muestran en la Tabla 2.

La concentración de Pb se encuentra en un rango entre 40-175 mg kg⁻¹. En los suelos de evolución natural (suelos 1, 2 y 3), las concentraciones son más altas en los horizontes superficiales que en los más profundos, mientras que en los suelos artificiales (suelos 4, 5 y 6) no se aprecia claramente esta tendencia. Esto sugiere que el Pb procede de la contaminación del entorno, al ser mayor en los horizontes en contacto con la superficie. Las principales fuentes actuales de Pb son el tráfico y la soldadura en industria, pero ha sido utilizado desde 1920 como aditivo en la gasolina, siendo esta la principal fuente de contaminación histórica (Ajmone-Marsan & Biasioli, 2010).

Las concentraciones de Cu son muy variables (en la mayoría de los casos entre 1-70 mg kg⁻¹, con un extremo de 270 mg kg⁻¹ en uno de los suelos artificiales). En los suelos 1 a 4 se aprecia un descenso de la concentración de este metal en horizontes profundos, mientras que en los suelos 5 y 6 no se observa ninguna tendencia. El mayor contenido de Cu observado en el suelo 3 se relaciona con la litología del material de partida, ya que las anfibolitas contienen mayores niveles de este elemento que otras rocas.

El contenido de Zn varía entre 30-140 mg kg⁻¹ en los seis suelos. No sigue ninguna tendencia clara en su distribución vertical, excepto en los suelos 2 y 3, donde tiende a descender en profundidad.

Tabla 2 – Contenido total de metales traza en los perfiles de los suelos analizados (mg kg⁻¹). MTD: material técnico duro.

	Hor.	Pb	Cu	Zn	Ni	Cr
1	Ah	43,7	4,1	31,0	16,4	14,1
	Bw	39,4	2,2	33,0	16,9	9,2
	C	32,2	1,0	29,3	16,2	4,5
2	Ap1	173,7	32,5	142,2	25,3	22,5
	Ap2	105,1	28,6	90,8	24,7	22,6
	Ap3	103,0	26,8	77,1	23,2	21,5
	2A	57,0	18,8	59,3	22,5	20,2
3	Ap1	70,9	71,3	108,1	82,2	89,3
	Ap2	71,3	73,4	104,3	82,8	95,3
	2Ah	52,0	65,4	106,6	84,1	93,6
	2Bw	41,3	69,3	84,8	93,2	151,9
	3Bw	38,3	66,4	73,8	118,4	137,2
	3C	40,9	46,0	78,6	102,2	126,2
4	A	58,7	16,0	64,7	26,2	19,4
	C	47,2	15,9	56,4	26,3	24,5
	2C1	61,2	16,2	57,4	26,4	22,9
	2C2	52,3	13,4	45,1	23,1	23,4
	2C3	43,1	12,6	49,1	25,3	21,7
	3Ab	47,5	14,3	56,1	25,8	17,4
5	MTD	-	-	-	-	-
	C1	110,9	55,1	68,6	33,8	30,3
	C2	165,8	269,7	72,5	34,1	31,5
	C3	81,0	52,9	73,0	21,7	10,1
	C4	67,2	20,6	76,8	18,6	5,2
	Cu	62,1	21,7	72,6	20,8	9,3
	C5	55,3	17,6	73,8	17,0	5,8
6	MTD	-	-	-	-	-
	C1	58,0	36,9	114,1	39,5	44,2
	C2	44,3	8,0	46,9	28,2	36,4
	Cu	50,6	4,3	70,6	12,8	8,2
	2BC	52,1	30,3	87,0	48,4	52,7

Las concentraciones de Ni varían entre 12-120 mg kg⁻¹. Solo el suelo 3 muestra una tendencia definida en su distribución en profundidad, aumentando en horizontes más profundos, lo que sugiere que el

origen de este elemento son las anfibolitas sobre las que se formó el suelo. Este origen se confirma también por el hecho de ser este suelo el que presenta concentraciones más altas de este elemento.

El contenido de Cr en los seis suelos se encuentra en un rango de 4-130 mg kg⁻¹. Tan solo dos suelos presentan una tendencia definida en profundidad: en el suelo 1 tiende a descender, mientras que en el suelo 3 tiende a aumentar. Al igual que en el caso del Cu y del Ni, el aumento en profundidad de la concentración de Cr en el suelo 3 parece estar relacionado con el material de partida, anfibolitas más ricas en metales.

Estas concentraciones se hallan en todos los casos por debajo de los niveles genéricos de referencia establecidos en la legislación relativa a suelos contaminados (Xunta de Galicia, 2009) por lo que el riesgo asociado sería bajo y ningún suelo se considera contaminado.

Por último, en la Tabla 3 se muestran las correlaciones entre las concentraciones de los metales analizados. El Pb está correlacionado significativamente con el Cu y el Zn ($p<0,01$), sugiriendo un origen común para los tres elementos ligado posiblemente a fuentes de contaminación antrópica. Por su parte, la correlación más significativa ocurre entre Ni y Cr ($p<0,001$) y se debe a un origen preferentemente litogénico de estos elementos, asociado a los suelos desarrollados sobre anfibolitas.

Tabla 3 – Correlaciones entre las concentraciones de los metales traza: * significativo a $p<0,05$; ** significativo a $p<0,01$; *** significativo a $p<0,001$.

	Pb	Cu	Zn	Ni	Cr
Pb	1				
Cu	0,57**	1			
Zn	0,51**	0,30	1		
Ni	-0,17	0,35	0,42*	1	
Cr	-0,19	0,32	0,40*	0,98***	1

Conclusiones

Los suelos urbanos estudiados presentan concentraciones variables de los cinco metales traza analizados y diferentes patrones de distribución en profundidad.

Para el Pb, las mayores concentraciones aparecen en los suelos 2 y 5, siguiendo un patrón asociado a una fuente de contaminación externa. Además, el suelo 3 destaca por sus altas concentraciones de Cu, Ni y Cr, determinadas por la litología del material de partida. En los suelos artificiales no se observa ninguna tendencia en la distribución de los metales en profundidad. En dos de los suelos naturales las concentraciones de los metales descienden en profundidad, indicando que su origen es la contaminación del entorno. En el tercer suelo natural, formado sobre anfibolitas, esta tendencia solo se cumple para el Pb, mientras que el Cu, Ni y Cr aumentan en profundidad, ya que su origen se encuentra principalmente en el material de partida.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Concello de Santiago de Compostela. R. Paradelo agradece al Ministerio de Economía y Competitividad de España su ayuda Ramón y Cajal (RYC-2016-19286). Esta investigación ha sido financiada por la Xunta de Xunta de Galicia (Subvención nº ED431F 2018/04).

Referencias bibliográficas

- Ajmone-Marsan, F., & Biasioli, M. (2010). Trace elements in soils of urban areas. *Water Air Soil Pollut.*, 213, 121-143.
- IGME, 1981. Mapa Geológico de España 1:50.000. Hoja 94. Instituto Geológico y Minero de España, Madrid.
- Herbón, C., Barral, M. T., & Paradelo, R. (2021). Potentially toxic trace elements in the urban soils of Santiago de Compostela (Northwestern Spain). *Applied Sciences*, 11(9), 4211.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolph, B., & Rubel, F. (2006). World map of Köppen-Geiger Climate Classification updated. *Meteorol. Z.*, 15, 259-263.
- Paradelo, R., Herbón, C., & Barral, M. T. (2021). Composition and chemical properties of the soils of the city of Santiago de Compostela, northwestern Spain. *J. Environ. Qual.*, 50, 7-21.
- United Nations. (2019). *World Urbanization Prospects: The 2018 Revision*. New York.
- USEPA. (1996). *Method 3052: Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices*. Washington, DC.
- WRB, 2015. World Reference Base for soil resources 2014, update 2015. World Soil Resources Report No. 106, FAO, Rome.
- Xunta de Galicia. (2009). Decreto 60/2009 de 26 de febrero. DOGA, 57, 5920-5936

Liberación del antibiótico Trimetoprima en tres bioadsorbentes en función del pH

Liberation of the antibiotic Trimethoprim in three bioadsorbents as a function of pH

Rodríguez-López, Lucía^{1*}, Santás-Miguel, Vanesa¹, Núñez-Delgado, Avelino², Álvarez-Rodríguez, Esperanza², Arias-Estevez, Manuel¹, Pérez-Rodríguez, Paula¹.

¹ Área de Edafología e Química Agrícola. Facultade de Ciencias, Universidade de Vigo, Ourense, España.

² Departamento de Edafología e Química Agrícola. Escola Politécnica Superior de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, España.

*lucia.rodriguez.lopez@uvigo.es

Resumen

En este trabajo se estudia la liberación de Trimetoprima (TRI) en bioadsorbentes, cáñamo, ceniza de biomasa y concha de mejillón mediante experimentos en cámara de flujo agitado a tres pHs. Los resultados obtenidos muestran que los mayores porcentajes de liberación son para cáñamo (59,1%), seguido de la ceniza de biomasa (29,0%) ambos a pH 5,0, y de la concha de mejillón, con valores menores al 31,0% para pH 3,0. Podemos decir que para los tres bioadsorbentes no influye el pH de entrada, sino que el proceso está condicionado por el pH de cada bioadsorbente. Los datos se ajustaron satisfactoriamente al modelo de peudo-primer y pesudo-segunda orden a juzgar por los valores de R^2 . Se obtuvieron valores de las constantes de velocidad entre 0,10 y 0,36 min⁻¹ para k_1 y entre 3,4*10⁻⁴ y 5,0*10⁻³ para k_2 y la cantidad liberada de TRI en el equilibrio presenta valores para ambos modelos entre 134,2 y 552,3 μmol kg⁻¹. Por tanto, podemos decir que los tres residuos presentan valores de liberación relativamente bajos y su aplicación como bioadsorbentes sería una buena medida de remediación en un suelo contaminado.

Palabras clave: trimetoprima, liberación, bioadsorbentes, adsorción

Abstract

This work studies the release of Trimethoprim (TRI) in bioadsorbents, hemp, biomass ash and mussel shell through experiments in a stirred flow chamber at three pHs. The results obtained show that the highest percentages of release are for hemp (59.1%), followed by biomass ash (29.0%) both at pH 5.0, and mussel shell, with values less than 31.0% for pH 3.0. We can say that for the three bioadsorbents the input pH does not influence, but that the process is conditioned by the pH of each bioadsorbent. The data were satisfactorily adjusted to the pseudo-first and pseudo-second order model judging by the values of R^2 . Values of the velocity constants between 0.10 and 0.36 min⁻¹ for k_1 and between 3.4*10⁻⁴ and 5.0*10⁻³ for k_2 were obtained and the amount released of TRI in the equilibrium presents values for both models between 134.2 and 552.3 μmol kg⁻¹. Therefore, we can say that the three residues have relatively low release values and their application as bioadsorbents would be a good remediation measure in a contaminated soil.

Keywords: trimethoprim, liberation, bioadsorbents, adsorption

Introducción

Trimetoprima (TRI), es un antibiótico de amplio espectro que pertenece a la familia de las diaminopirimidinas, y se encuentra entre las familias más empleadas tanto en medicina humana como animal, a nivel mundial (Carvalho y Santos, 2016). Actualmente, se encuentran cifras significativas de este antibiótico tanto en aguas como en suelos (Peng et al., 2015), lo que se debe a la falta de eficacia de los métodos de depuración de aguas residuales. Los antibióticos, una vez llegan a las estaciones depuradoras de aguas residuales, no son eliminados completamente, por lo que pasan al suelo, tras la aplicación de los lodos de depuradora como enmiendas agrícolas. Práctica agrícola muy común ya que aportan un alto contenido en materia orgánica y nutrientes (Aydin et al., 2022).

Una vez se encuentran en el suelo, su transporte hacia otros compartimentos va a depender de múltiples procesos como la adsorción/desorción, así como de las propiedades edáficas del suelo, pH, capacidad de intercambio catiónico, contenido en materia orgánica, entre otros. Para favorecer ese proceso de adsorción e inmovilizar los antibióticos, evitando así la aparición de genes de resistencia en aguas o cultivos, como técnica de remediación se utilizan bioadsorbentes que ayudan a retener los antibióticos. Por tanto, el objetivo de este estudio, es conocer la capacidad de retención de tres bioadsorbentes, cáñamo, ceniza de biomasa y concha de mejillón, estudiando la liberación de Trimetoprim a tres pHs diferentes.

Material y métodos

Antibiótico

El antibiótico trimetoprima con pureza $\geq 98\%$, fue adquirido a Sigma-Aldrich (Barcelona, España). TRI con peso molecular de $290,32 \text{ g mol}^{-1}$, presenta dos valores de pK_a ($6,16 - 7,16$), se trata de una molécula anfótera, por lo que puede presentarse como catión, anión y/o zwitterión, en función del pH del medio.

Bioadsorbentes

Se utilizaron tres bioadsorbentes, cáñamo, ceniza de biomasa y concha de mejillón, procedentes de empresas de Galicia, España. Presentan características muy diferentes (Tabla1), en cuanto a los porcentajes de carbono, varían desde 11,43% a 36,53%, en el caso del nitrógeno, varía entre 0,2% para concha de mejillón y ceniza de biomasa y 2,8% para cáñamo. En cuanto al pH, vemos que los tres presentan un pH básico, entre 8 y 11. La capacidad de intercambio catiónico es del mismo orden para concha ($30,3 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$) y cáñamo ($60,8 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$), pero en el caso de la ceniza es de $361,2 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$, siendo los cationes predominantes el Ca_e y K_e . En el fósforo, vemos que presentan valores muy diferentes, siendo superior para ceniza ($462,8 \text{ mg kg}^{-1}$), mucho menor para concha ($54,2 \text{ mg kg}^{-1}$) y cáñamo no presenta prácticamente ($<0,01 \text{ mg kg}^{-1}$).

Tabla 1 – Principales propiedades fisicoquímicas de los bioadsorbentes estudiados. $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$: pH en agua; Ca_e , Mg_e , Na_e , K_e y Al_e : cationes intercambiables ($\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$); CICe : capacidad de intercambio catiónico efectiva; C: carbono orgánico; N: nitrógeno total; P_{Olsen} : fósforo (mg kg^{-1}).

	Concha de mejillón	Ceniza de biomasa	Cáñamo
C (%)	11,43	13,23	36,53
N(%)	0,21	0,22	2,81
$\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$	9,39	11,31	8,70
$\text{Ca}_e (\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1})$	24,75	95,03	31,15
$\text{Mg}_e (\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1})$	0,72	3,26	3,67
$\text{Na}_e (\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1})$	4,37	12,17	4,19
$\text{K}_e (\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1})$	0,38	250,70	21,82
$\text{Al}_e (\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1})$	0,03	0,07	<0,001
$\text{CICe} (\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1})$	30,25	361,20	60,83
$\text{P}_{\text{Olsen}} (\text{mg kg}^{-1})$	54,17	462,80	<0,01

Estudio del proceso de liberación

El experimento se llevó a cabo en una cámara de flujo agitado, que consta de un reactor de polipropileno con un volumen de $1,5 \text{ cm}^3$. El reactor en la entrada está conectado a una bomba peristáltica que se encarga de introducir la disolución de entrada. En la salida, está conectado a un

colector de fracciones que recoje las muestras que salen del mismo, a un intervalo de tiempo determinado. Dentro del reactor colocamos un imán junto a la muestra de bioadsorbente, que garantiza una continua agitación.

El flujo utilizado es de $1,5 \text{ ml min}^{-1}$ y se recogieron 80 muestras de $1,5 \text{ ml muestra}^{-1}$, por lo que la recogida para cada muestra fue de 1 minuto y el experimento de 80 min.

Para la liberación de TRI en los tres bioadsorbentes se utilizaron disoluciones de NaCl 0,01M ajustando el pH a 3,0, 5,0 o 8,0, añadiendo NaOH 0,5M o HCl 0,5M, en función del pH.

El experimento comienza incubando las muestras de bioadsorbente con antibiótico, pesamos 0,2 g de bioadsorbente y se añaden $100\mu\text{L}$ de antibiótico con una concentración 1,7 mM disuelto en acetona. Se mantiene en contacto 24h el bioadsorbente con el antibiótico, y al pasar ese tiempo, se lleva a cabo el experimento, conectando el reactor a la bomba y al colector de fracciones y se recogen las 80 muestras, midiendo una vez finalizado el proceso, el pH y la concentración de antibiótico mediante HPLC-UV.

Resultados y discusión

En la Figura 1, se muestran las cinéticas de liberación en porcentaje del antibiótico TRI para los tres bioadsorbentes, cáñamo, ceniza de biomasa y concha de mejillón, así como los pHs a los que tiene lugar el proceso de liberación. Vemos como la liberación varía entre los tres bioadsorbentes, y también entre los tres pHs para un mismo bioadsorbente. Comparando entre ellos, observamos que la liberación en los tres casos tiene lugar en los primeros 20 minutos, y es mayor en el caso del cáñamo (alcanzando el 59% de liberación a pH 5,0), y similar entre la ceniza de biomasa (siendo el valor más alto 29% a pH 5,0) y la concha de mejillón (30% a pH 3,0).

Observamos como a pesar de que la disolución de entrada tiene un pH de 3,0, 5,0 o 8,0, ese pH no se mantiene durante la liberación. Por tanto, se puede decir que este proceso se ve influenciado por el pH

de los bioadsorbentes. En estudios previos autores como Berges et al. (2021), Elkady et al. (2021) o Peng et al. (2015), observaron como TRI se comporta diferente en función del pH, es decir, a pHs más básicos la adsorción es mayor, de ahí que la liberación en este estudio sea menor en el caso de la concha de mejillón, así como en la ceniza, presentando ambos pHs superiores a 7.

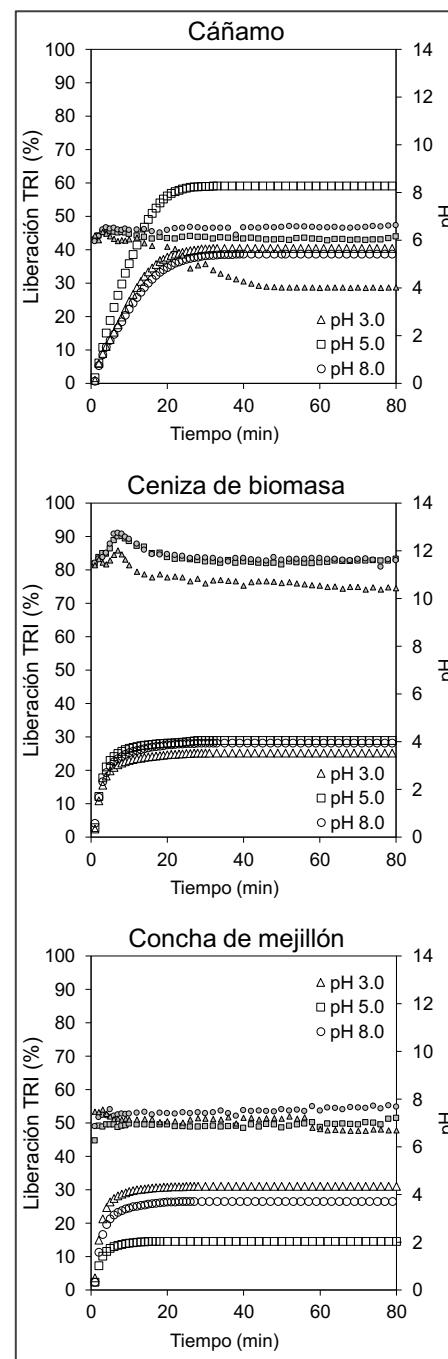


Fig. 1 – Cantidad de TRI liberada en cada uno de los bioadsorbentes (en porcentaje) a los tres pHs de estudio, 3,0, 5,0 y 8,0, y pH para cada una de las muestras obtenidas durante el proceso.

Los datos experimentales se ajustaron satisfactoriamente a los modelos cinéticos de pseudo-primer y pseudo-segunda orden, a juzgar por los valores de R^2 , que son superiores a 0,872 (Tabla 2). Las constantes de velocidad de liberación varían entre 0,101 y 0,355 min⁻¹, en el caso de k_1 y entre 2,4*10⁻⁴ y 5,0*10⁻³ kg μmol⁻¹ h⁻¹ para k_2 , como observamos en la Tabla 2. La mayor velocidad de liberación de TRI tuvo lugar en la concha de mejillón con valores para k_1 y k_2 superiores a 0,291 min⁻¹ y 2,1*10⁻³ kg μmol⁻¹ h⁻¹, respectivamente.

Tabla 2 – Parámetros de los ajustes de liberación de Trimetoprim a diferentes pHs para los modelos cinéticos de pseudo-primer y pseudo-segunda orden. k_1 (min⁻¹): constante de velocidad de pseudo-primer orden; k_2 (kg μmol⁻¹ h⁻¹): constante de velocidad de pseudo-segunda orden; q_e (μmol kg⁻¹): cantidad de antibiótico liberada en el equilibrio; R^2 : coeficiente de determinación.

Pseudo-primer orden			
pH	k_1	q_e	R^2
Cáñamo	3.0 0,101 ± 0,002	342,7 ± 1,7	0,979
	5.0 0,101 ± 0,003	483,4 ± 2,7	0,974
	8.0 0,093 ± 0,002	307,2 ± 1,3	0,986
Cinza de biomasa	3.0 0,281 ± 0,007	216,9 ± 0,6	0,973
	5.0 0,283 ± 0,007	246,8 ± 0,7	0,973
	8.0 0,262 ± 0,005	244,1 ± 0,5	0,985
Concha de mejillón	3.0 0,339 ± 0,009	262,3 ± 0,7	0,968
	5.0 0,355 ± 0,008	128,7 ± 0,3	0,978
	8.0 0,291 ± 0,007	234,0 ± 0,6	0,973
Pseudo-segunda orden			
pH	k_2	q_e	R^2
Cáñamo	3.0 3,4*10 ⁻⁴ ± 0,0	391,1 ± 6,0	0,924
	5.0 2,4*10 ⁻⁴ ± 0,0	552,3 ± 9,0	0,916
	8.0 3,4*10 ⁻⁴ ± 0,0	353,7 ± 5,1	0,940
Cinza de biomasa	3.0 2,2*10 ⁻³ ± 0,0	228,8 ± 1,4	0,922
	5.0 1,9*10 ⁻³ ± 0,0	260,4 ± 1,6	0,919
	8.0 1,8*10 ⁻³ ± 0,0	258,2 ± 1,3	0,946
Concha de mejillón	3.0 2,3*10 ⁻³ ± 0,0	274,4 ± 1,8	0,878
	5.0 5,0*10 ⁻³ ± 0,0	134,2 ± 0,9	0,872
	8.0 2,1*10 ⁻³ ± 0,0	246,3 ± 1,6	0,901

En el caso de la cantidad liberada (q_e) en el equilibrio vemos que varía entre 128,7 y 483,4 μmol kg⁻¹ para el modelo de pseudo-primer orden, y entre 134,2 y 552,3 μmol kg⁻¹ para el de pseudo-segunda orden, siendo el bioadsorbente que presentó

valores más altos (>307,2 μmol kg⁻¹), el cáñamo.

Conclusiones

El antibiótico TRI presentó una liberación entre 14 y 60% para los tres bioadsorbentes, que apenas varió en función del pH de la disolución de entrada, sino del pH del propio bioadsorbente. Los valores más altos de velocidad de liberación, k_1 y k_2 , se corresponden con la concha de mejillón (0,291-0,355 min⁻¹ para k_1 y 2,1*10⁻³-5,0*10⁻³ kg μmol⁻¹ h⁻¹ para k_2) y la cantidad liberada de TRI más alta se corresponde con el cáñamo (307-552 μmol kg⁻¹). Dado que a pHs básicos la liberación ha sido menor, es de esperar que la aplicación de los bioadsorbentes favorezca una mayor adsorción que la existente en suelos para este antibiótico, y, por tanto, el empleo de estos supone una reducción en los riesgos hacia la salud humana y ecológica que provocan estos compuestos.

Agradecimientos

Estudio financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad: proyectos RTI2018-099574-B-C21 y RTI2018-099574-B-C22 (Fondos FEDER). Lucía Rodríguez López posee una ayuda predoctoral FPU (FPU19/03758).

Referencias bibliográficas

- Aydin, S., Ulvi, A., Bedük, F., Aydin, M.E. (2022). *Pharmaceutical residues in digested sewage sludge: Occurrence, seasonal variation and risk assessment for soil*. Sci. Total Environ. 817, 152864.
- Berges, J., Moles, S., Ormad, M.P., Mosteo, R., Gómez, J., 2021. *Antibiotics removal from aquatic environments: adsorption of enrofloxacin, trimethoprim, sulfadiazine, and amoxicillin on vegetal powdered activated carbon*. Environ. Sci. Pollut. Res. 28, 8442-8452.
- Carvalho, I.T.; Santos, L. (2016). *Antibiotics in the aquatic environments: a review of the European scenario*. Environ. Int. 94: 736-757.
- Elkady, M., Diab, K.E., Shokry, H. (2021) *Trimethoprim antibiotic adsorption from aqueous solution onto eco-friendly Zr-metal organic framework material*. Materials 14, 7545.
- Peng, F.-J., Ying, G.-G., Liu, Y.-S., Su, H.-C., He, L.-H. (2015). *Joint antibacterial activity of soil-adsorbed antibiotics trimethoprim and sulfamethazine*. Sci. Total Environ. 506-507, 58-65.

Adsorción/desorción de Ciprofloxacín en diferentes bioadsorbentes

Adsorption/Desorption of Ciprofloxacin in different bioasorbents

Rodríguez-López, Lucía¹, Núñez-Delgado, Avelino², Álvarez-Rodríguez, Esperanza², Arias-Estevez, Manuel^{1*}, Pérez-Rodríguez, Paula¹

¹ Área de Edafología e Química Agrícola. Facultade de Ciencias, Universidade de Vigo, Ourense, España.

² Departamento de Edafología e Química Agrícola. Escola Politécnica Superior de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, España.

*mastevez@uvigo.es

Resumen

En este trabajo se estudia la adsorción/desorción del antibiótico Ciprofloxacín (CIP) en diferentes bioadsorbentes, bentonita, cáñamo, ceniza de biomasa y concha de mejillón mediante experimentos de tipo batch. Los datos se ajustaron satisfactoriamente al modelo de adsorción de Freundlich y Lineal, y se obtuvieron valores de K_F entre 2,81 y 2671,1 $L^n \mu\text{mol}^{1-n} \text{kg}^{-1}$ y de K_d entre 74,9 y 944,5 $L \text{kg}^{-1}$. Esto nos indica que este antibiótico presenta diferente afinidad en función del bioadsorbente, siendo el de mayor adsorción bentonita (con porcentajes de adsorción superiores al 91%), seguido de cáñamo con porcentajes superiores a 69% y con menores porcentajes, la ceniza de biomasa y la concha de mejillón, con porcentajes inferiores a 47% y 48%. En cuanto a la desorción, se obtienen porcentajes desde 0,4% para bentonita, 16,5% para cáñamo y ceniza de biomasa y 16,1% para concha de mejillón para la concentración inicial más alta. Podemos decir, que este antibiótico en el medio queda retenido en los bioadsorbentes, especialmente en el caso de la bentonita con valores de adsorción más elevados, y desorción, más baja.

Palabras clave: Ciprofloxacín, adsorción, bioadsorbentes, antibióticos.

Abstract

This paper studies the adsorption/desorption of the antibiotic Ciprofloxacin (CIP) in different bioadsorbents, bentonite, hemp, biomass ash and mussel shell through batch experiments. The data were satisfactorily adjusted to the Freundlich and Linear adsorption model, and K_F values between 2.81 and 2671.1 $L^n \mu\text{mol}^{1-n} \text{kg}^{-1}$ and K_d values between 74.9 and 944.5 $L \text{kg}^{-1}$ were obtained. This indicates that this antibiotic has different affinity depending on the bioadsorbent, being the one with the highest bentonite adsorption (with adsorption percentages greater than 91%), followed by hemp with percentages higher than 69% and with lower percentages, biomass ash and mussel shell, with percentages lower than 47% and 48%. As for desorption, percentages are obtained from 0.4% for bentonite, 16.5% for hemp and biomass ash and 16.1% for mussel shell for the highest initial concentration. We can say that this antibiotic in the medium is retained in bioadsorbents, especially in the case of bentonite with higher adsorption values, and lower desorption.

Keywords: ciprofloxacin, adsorption, bioadsorbents, antibiotics.

Introducción

Los antibióticos, considerados contaminantes emergentes y muy abundantes hoy en día en múltiples compartimentos medioambientales, como aguas, suelos o sedimentos (Hu et al., 2010), suponen un problema medioambiental grave, ya que su presencia en el medio provoca la aparición de genes resistentes a dichos antibióticos en los microorganismos del medio (Ji et al., 2012). Esto implica que esa resistencia a los antibióticos pueda llegar a los seres humanos a través de la cadena trófica, de ahí la utilización de bioadsorbentes en suelos contaminados para evitar así su transferencia hacia otros compartimentos como pueden ser los cuerpos de agua o los cultivos.

El ciprofloxacin, antibiótico objeto de este estudio, pertenece a la familia de las fluoroquinolonas y es utilizado en medicina humana y animal, por su amplio espectro. Se han encontrado valores altos de este en el medio, ya que en las estaciones depuradoras de aguas residuales no se elimina este compuesto al 100%, llegando al suelo tras la aplicación de lodos como enmiendas agrícolas (Ezzariai et al., 2018). De ahí la necesidad de estudiar el proceso de adsorción-desorción, así como transporte o degradación para conocer su posible destino una vez llegan al suelo.

Entre las posibles medidas de restauración de un suelo contaminado por antibióticos se encuentra la aplicación de bioadsorbentes para intentar inmovilizarlos y evitar su transporte. Por tanto, el objetivo de este estudio es conocer el proceso de adsorción-desorción mediante experimentos de tipo batch, del antibiótico Ciprofloxacin en diferentes bioadsorbentes procedentes de residuos orgánicos, cáñamo, ceniza de biomasa y concha de mejillón, y en una arcilla, la bentonita, dándole así a mayores una revalorización a residuos de bajo coste.

Material y método

Antibiótico

El antibiótico CIP (grado HPLC, $\geq 98\%$ de pureza) fue adquirido a Sigma-Aldrich (Barcelona, España). Se trata de una molécula anfótera, con dos valores de pK_a (5,90 – 8,89), por lo que puede presentarse como catión, anión y/o zwitterión, en función del pH del medio.

Bioadsorbentes

Para llevar a cabo este estudio se utilizaron cuatro bioadsorbentes, bentonita, ceniza de biomasa, concha de mejillón y residuos de cáñamo, procedentes de diferentes empresas de España y los cuales presentan un pH_{H_2O} muy variable desde 5,1 hasta 11,3. Presentaron una CIC_e variable, desde 30,3 hasta 361,2 $cmol_c \text{ kg}^{-1}$, siendo el K_e y el Ca_e los cationes predominantes. El contenido en materia orgánica fue muy variable, desde 11,4 a 36,5%, al igual que el contenido en nitrógeno, que varió desde 0,21 a 2,81%. Vemos que el fósforo varía mucho, desde el cáñamo que no presenta prácticamente hasta la bentonita que tiene 1680,7 mg kg^{-1} .

Tabla 1 – Principales propiedades fisicoquímicas de los bioadsorbentes estudiados. pH_{H_2O} : pH en agua; Ca_e , Mg_e , Na_e , K_e y Al_e : cationes intercambiables ($cmol_c \text{ kg}^{-1}$); CIC_e : capacidad de intercambio catiónico efectiva; C: carbono orgánico; N: nitrógeno total; P_{Olsen} : fósforo (mg kg^{-1}).

	Concha de mejillón	Ceniza de biomasa	Bentonita	Cáñamo
C (%)	11,43	13,23	16,41	36,53
N (%)	0,21	0,22	1,90	2,81
pH_{H_2O}	9,39	11,31	5,10	8,70
Ca_e	24,75	95,03	2,60	31,15
Mg_e	0,72	3,26	1,60	3,67
Na_e	4,37	12,17	2,60	4,19
K_e	0,38	250,70	164,90	21,82
Al_e	0,03	0,07	0,80	<0,001
CIC_e	30,25	361,20	170,50	60,83
P_{Olsen}	54,17	462,80	1680,67	<0,01

Experimentos de adsorción-desorción en el equilibrio

El proceso de adsorción y desorción en el equilibrio se llevó a cabo mediante experimentos de tipo batch y para ello, 0,5g de bioadsorbente se pusieron en contacto con 40 mL de disolución de CIP con NaCl 0,01M como fondo iónico, se agitaron durante 24h, se centrifugaron, se filtraron y se analizaron mediante HPLC-UV. Las concentraciones utilizadas de antibiótico han sido 4, desde 50 a 400 μM . Para el proceso de desorción, a las muestras de bioadsorbente del proceso de adsorción se le añadió 40mL de NaCl 0,01M y se les aplicó el mismo proceso que para las muestras de adsorción.

Los datos experimentales se describieron mediante el modelo de Freundlich y Lineal, que se describen con las siguientes ecuaciones, respectivamente:

$$q_a = K_F C_{eq}^n$$

$$q_a = K_d C_{eq}$$

donde q_a ($\mu\text{mol kg}^{-1}$): cantidad de cada antibiótico adsorbida en el equilibrio; C_{eq} ($\mu\text{mol L}^{-1}$): concentración de cada antibiótico que permanece en la disolución de equilibrio; K_F ($\text{L}^n \mu\text{mol}^{1-n} \text{kg}^{-1}$): coeficiente de afinidad de Freundlich; n (adimensional): índice de linealidad de Freundlich; K_d (L kg^{-1}): constante de distribución en el modelo Lineal. Los resultados de desorción se expresaron como la cantidad desorbida para cada una de las concentraciones iniciales.

Resultados y discusión

En la Figura 1 se muestran las curvas de adsorción de CIP en los bioadsorbentes utilizados y podemos observar como dicho proceso varía de unos biadsorbentes a otros. Podemos ver como en el caso de bentonita, bioadsorbente que presenta una mayor adsorción, tiene porcentajes para la concentración inicial más elevada (400 μM), del 93% de adsorción, seguido del residuo de cáñamo, con 69% de adsorción. En el caso de la ceniza de biomasa y concha de mejillón, la adsorción es menor, con porcentajes para la concentración inicial más alta, de 47 y 48%, respectivamente.

Estos resultados se corresponden con un estudio previo que muestra como CIP presenta una elevada afinidad por la bentonita, Ashiq et al., (2019) estudiaron como el bioacarbón unido a la arcilla bentonita da lugar a una alta adsorción.

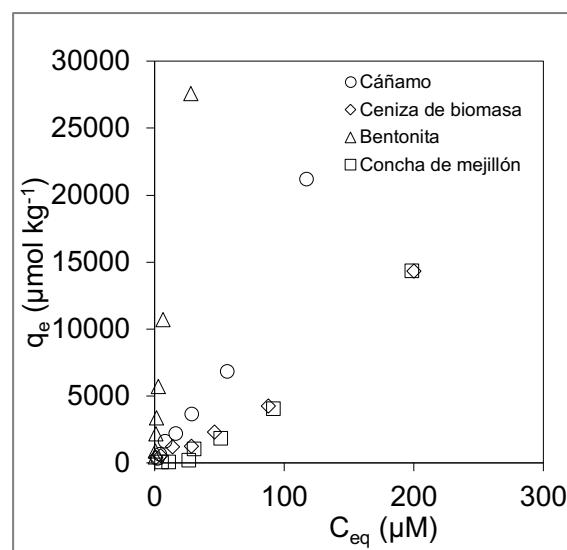


Fig. 1 – Curvas de adsorción de Ciprofloxacin (CIP) en los cuatro bioadsorbentes utilizados. q_a : cantidad de CIP adsorbida al bioadsorbente; C_{eq} : concentración de CIP en la disolución de equilibrio.

Podemos ver como el modelo de Freundlich y Lineal describieron satisfactoriamente todas las curvas de adsorción, a juzgar por los valores de R^2 , que son superiores a 0,970 (Tabla 2 y 3). El coeficiente de afinidad de Freundlich (K_F) osciló entre 2671 y 2,81 $\text{L}^n \mu\text{mol}^{1-n} \text{kg}^{-1}$, siendo la bentonita, el bioadsorbente que presenta mayor adsorción. En cuanto al índice de Linealidad de Freundlich (n), fue superior a 1 en todos los casos, excepto para la bentonita.

Tabla 2 – Parámetros resultantes de los ajustes de los datos experimentales de adsorción a los modelos de Freundlich. K_F ($\text{L}^n \mu\text{mol}^{1-n} \text{kg}^{-1}$): coeficiente de afinidad de Freundlich; n (adimensional): índice de linealidad de Freundlich. R^2 : coeficiente de determinación.

Bioadsorbente	Freundlich		
	K_F	n	R^2
Bentonita	$2671,1 \pm 299,4$	$0,70 \pm 0,04$	0,994
Cáñamo	$35,98 \pm 16,25$	$1,34 \pm 0,10$	0,992
Ceniza de biomasa	$12,76 \pm 6,65$	$1,32 \pm 0,10$	0,981
Concha de mejillón	$2,81 \pm 0,90$	$1,61 \pm 0,06$	0,998

En cuanto a la constante de distribución del modelo Lineal, K_d , vemos que varía de 944,5 a 74,94 L kg⁻¹, similares a los obtenidos por otros autores como Sidhu et al., (2019) para otros bioadsorbentes como biosólidos.

Tabla 3 – Parámetros resultantes de los ajustes de los datos experimentales de adsorción al modelo Lineal. K_d (L kg⁻¹): constante de distribución en el modelo Lineal; R^2 : coeficiente de determinación.

Bioadsorbente	Lineal	
	K_d	R^2
Bentonita	944,5 ± 74,3	0,970
Cáñamo	175,4 ± 13,1	0,973
Ceniza de biomasa	69,1 ± 5,5	0,970
Concha de mejillón	74,9 ± 5,9	0,970

La desorción presenta porcentajes de desorción para la concentración inicial más elevada (Tabla 4), desde 0,4% para bentonita, 16,1% para concha de mejillón a 16,5% para cáñamo y ceniza de biomasa. Comparando con otros autores, como Conde-Cid et al., (2021) que utilizaron la concha y ceniza de biomasa con la familia de antibióticos sulfonamidas, vemos que CIP presenta una baja desorción. Por tanto, podemos afirmar que el proceso de adsorción de CIP es altamente irreversible en el caso de la bentonita, y en menor medida para cáñamo, ceniza de biomasa y concha de mejillón.

Tabla 4 – Cantidad de ciprofloxacin desorbida en el equilibrio (μmol kg⁻¹) y porcentaje de desorción (entre paréntesis) para cada una de las concentraciones iniciales (C_0) utilizadas y para cada bioadsorbente

Bioadsorbente	C_0 (μmol L ⁻¹)			
	50	100	200	400
Bentonita	8 (0,3)	9 (0,2)	16 (0,2)	118 (0,4)
Cáñamo	513 (23,7)	1161 (32,0)	2260 (33,1)	3486 (16,5)
Ceniza de biomasa	380 (31,1)	747 (32,7)	1398 (33,0)	2366 (16,5)
Concha de mejillón	642 (63,3)	1494 (82,9)	1927 (48,0)	2313 (16,1)

Conclusiones

Se obtuvo que el antibiótico ciprofloxacina mostró una elevada afinidad por la

bentonita (93%), y menor para cáñamo (69%), ceniza de biomasa (47%) y concha de mejillón (48%) y porcentajes de desorción de 0,4%, 16,5%, 16,5% y 16,1% respectivamente. Los valores de la constante de afinidad, K_F , variaron entre 2671 y 2,81 Lⁿ μmol¹⁻ⁿ kg⁻¹ y la constante de distribución K_d , entre 944,5 a 74,94 L kg⁻¹. En base a estos resultados, es de esperar que este contaminante no presente un elevado riesgo de lixiviación y escorrentía hacia aguas superficiales y subterráneas al aplicar los bioadsorbentes, por tanto, se reduce el riesgo que supone para la salud humana y ecológica.

Agradecimientos

Estudio financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad: proyectos RTI2018-099574-B-C21 y RTI2018-099574-B-C22 (Fondos FEDER). Lucía Rodríguez López posee una ayuda predoctoral FPU (FPU19/03758).

Referencias bibliográficas

- Ashiq, A., Adassooriya, N.M., Sarkar, B., Rajapaksha, A.U., Ok, Y.S., Vithanage, M. (2019). *Municipal solid waste biochar-bentonite composite for the removal of antibiotic ciprofloxacin from aqueous media*. Journal of Environmental Management 236, 428-435.
- Conde-Cid, M., Cela-Dablanc, R., Ferreira-Coelho, G., Fernández-Calviño, D., Núñez-Delgado, A., Fernández-Sanjurjo, M.J., Arias-Estevez, M., Álvarez-Rodríguez, E. (2021) *Sulfadiazine, sulfamethazine and sulfachloropyridazine removal using three different porous materials: Pine bark, "oak ash" and mussel shell*. Environmental Research 195, 110814.
- Ezzariai, A., Hafidi, M., Khadra, A., Aemig, Q., El Fels, L., Barret, M., Merlin, G., Patureau, D., Pinelli, E. (2018). *Human and veterinary antibiotics during composting of sludge or manure: Global perspectives on persistence, degradation, and resistance genes*. Journal of Hazardous Materials 359, 465-481.
- Hu, X., Zhou, Q., Luo, Y. (2010). *Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China*. Environmental Pollution 158, 2992-2998. doi:
- Ji, X., Shen, Q., Liu, F., Ma, J., Xu, G., Wang, Y., Wu, M. (2012). *Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metal in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai, China*. Journal of Hazardous Materials 235-236, 178-185
- Sidhu, H., D'Angelo, E., O'Connor, G. (2019). *Retention-release of ciprofloxacin and azithromycin in biosolids and biosolids-amended soils*. Science of the Total Environment 650, 173-183.

Adsorción de Herbicidas Ionizables por Suelos Agrícolas sin Enmendar y Enmendados con Compost Vegetal

Adsorption of Ionizable Herbicides by Agricultural Soils without Amendment and Green Compost-Amended Soils

Alejandro García-Miro¹, José M. Ordax¹, M. Jesús Sánchez-Martín¹, Jesús M. Marín-Benito¹, M. Sonia Rodríguez-Cruz^{1*}

¹ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca, IRNASA-CSIC, Cordel de Merinas 40-52, 37008 Salamanca, España.

msonia.rodriguez@irnasa.csic.es

Resumen

El objetivo de este trabajo fue estudiar la adsorción de aminopiralid e iodosulfuron-metil sodio, aplicados en post-emergencia en cultivo de trigo, y dos productos de degradación, metsulfuron-metil y 2-amino-4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazina (AMMT), por compost vegetal (GC) y por dos suelos agrícolas (suelo A y suelo B) con diferentes características, sin enmendar y enmendados con GC a una dosis de 2.5% p/p. El estudio de adsorción de los herbicidas y metabolitos por los suelos y GC se llevó a cabo mediante la técnica de "batch" en el equilibrio. Las concentraciones de equilibrio de los compuestos se determinaron por HPLC-MS, excepto las de ¹⁴C-iodosulfuron-metil sodio que fueron determinadas en un contador de centelleo líquido. Las isotermas de adsorción se ajustaron a la ecuación de Freundlich, presentando una forma lineal para la adsorción de los herbicidas por el suelo B + GC. Los valores de Kf de aminopiralid fueron mayores que los de iodosulfuron-metil sodio, indicando una mayor adsorción de este herbicida por los suelos. La capacidad de adsorción de los herbicidas y sus metabolitos por los suelos enmendados dependió del contenido en carbono orgánico (CO) y del pH del suelo. Para todos los compuestos el porcentaje adsorbido por GC fue mayor que por los suelos.

Palabras clave: herbicida, metabolito, suelo, enmienda orgánica, adsorción.

Abstract

The objective of this work was to study the adsorption of aminopyralid and iodosulfuron-methyl sodium, applied in post-emergence to wheat crops, and two degradation products, metsulfuron-methyl and 2-amino-4-methoxy- 6-methyl-1,3,5-triazine (AMMT), by green compost (GC) and by two agricultural soils (soil A and soil B) with different characteristics, without amendment and amended with GC at 2.5% w/w. The study of herbicide and metabolite adsorption by soils and GC was carried out using the batch equilibrium method. The equilibrium concentrations of the compounds were determined by HPLC-MS, except for ¹⁴C-iodosulfuron-methyl sodium, which was determined in a liquid scintillation counter. The adsorption isotherms were fitted to the Freundlich equation, presenting a linear form for the adsorption of the herbicides by the soil B + GC. The Kf values of aminopyralid were higher than those of iodosulfuron-methyl sodium, indicating a greater adsorption of this herbicide by soils. The adsorption capacity of herbicides and their metabolites by amended soils depended on the soil organic carbon (OC) content and the pH. For all the compounds, the percentage adsorbed by GC was higher than by the soils.

Keywords: herbicide, metabolite, soil, organic amendment, adsorption.

Introducción

Una estrategia habitual para controlar las malas hierbas sin excesiva aplicación de herbicidas es a través de la rotación de cultivos. Sin embargo, la producción de estos cultivos de rotación podría verse afectada por la presencia de residuos de herbicidas en el suelo procedentes de su aplicación en el ciclo de cultivo anterior. Diferentes características de los herbicidas y las propiedades del suelo condicionan la persistencia de los herbicidas en el suelo a través de su influencia en procesos tales como su adsorción, movilidad y degradación que inciden directamente en su disipación (Álvarez-Martín y col., 2016). Algunas prácticas agrícolas habituales en la agricultura como la aplicación de enmiendas orgánicas al suelo simultáneamente a la aplicación de herbicidas podrían también modificar el comportamiento de estos compuestos en el suelo (Pose-Juan y col., 2018).

El objetivo de este trabajo fue estudiar en condiciones controladas de laboratorio la adsorción de dos herbicidas (aplicados en post-emergencia en cultivo de trigo) y sus productos de degradación por compost vegetal y por dos suelos agrícolas con diferentes características, sin enmendar y enmendados con compost vegetal.

Material y métodos

Herbicidas

El aminopiralid (4-amino-3,6-dicloropiridina-2-ácido carboxílico) es un herbicida del grupo de las piridinas. El iodosulfuron-metil sodio y su metabolito metsulfuron metil son herbicidas del grupo de las sulfonilureas. El 2-amino-4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazina (AMMT) es un metabolito del iodosulfuron-metil sodio y del metsulfuron-metil. Los estándares analíticos PESTANAL™ de los herbicidas y metabolitos (pureza \geq 98.5 %) fueron suministrados por Sigma-Aldrich, Merck (Alemania). El iodosulfuron-metil sodio marcado en ^{14}C (fenilo-U- ^{14}C , actividad específica 2.87 MBq mg $^{-1}$, pureza 99.1 %) fue suministrado por IZOTOP (Hungría). Su solubilidad en agua y el coeficiente de

reparto octanol/agua (Log Kow) se incluyen en la Tabla 1 (PPDB, 2022).

Tabla 1 – Propiedades de los herbicidas y metabolitos

Compuesto	Solubilidad agua (mg/L)	Log Kow
Aminopiralid	2480	-2.87
Iodosulfuron-metil sodio	25000	-0.70
Metsulfuron-metil	2790	-1.87
2-amino-4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazina	-	0.52

Enmienda orgánica

El compost vegetal (GC) utilizado para enmendar el suelo fue suministrado por Viveros El Arca (Salamanca) y es una mezcla de residuos vegetales procedentes de poda compostados y presentaba un contenido en humedad del 37.7%. El residuo previamente secado a temperatura ambiente, homogeneizado y tamizado (< 2 mm) presenta un pH de 7.8, CO de 19.1% y nitrógeno orgánico de 2.1%.

Suelos naturales y enmendados

Se utilizaron dos suelos agrícolas (S-A y S-B) de diferentes características situados en la Finca experimental Muñovela (IRNASA-CSIC, Salamanca). Las muestras de suelo (0-30 cm) fueron secadas al aire y tamizadas (< 2 mm) antes de su análisis. Las características de los suelos determinadas por los métodos habituales de análisis (Sparks, 1996) se incluyen en la Tabla 2. Los S-A y S-B se clasifican como franco y franco arenoso, respectivamente.

Tabla 2 – Características de los suelos sin enmendar y enmendados con compost vegetal (GC)

Suelo	pH	CO (%)	N (%)	C/N
S-A	4.35	0.43	0.059	7.3
S-A+GC	5.03	0.70	0.092	7.6
S-B	6.19	1.12	0.126	8.9
S-B+GC	6.26	1.37	0.162	8.5

Los S-A y S-B se enmendaron con el compost vegetal a una dosis del 2.5% p/p

y sus características se presentan en la Tabla 2.

Isotermas de adsorción

El estudio de adsorción de aminopiralid, ^{14}C -iodosulfuron-metil sodio, metsulfuron-metil y AMMT por los suelos y GC se llevó a cabo mediante la técnica de "batch" en el equilibrio. Las isotermas de adsorción de los herbicidas y metabolitos se obtuvieron tratando 5 g de suelo ó 1 g de GC con 10 ml de soluciones acuosas de los compuestos a concentraciones iniciales de 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50 y 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y una actividad de 100 Bq mL^{-1} en el caso del ^{14}C -iodosulfuron-metil sodio. Las suspensiones se mantuvieron en contacto durante 24 h a 20 °C en cámara termostatizada, con agitación intermitente. Posteriormente se centrifugaron a 3000 rpm durante 30 minutos. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por duplicado. La concentración de ^{14}C -iodosulfuron-metil sodio en equilibrio se determinó midiendo la actividad en un contador de centelleo líquido Beckman LS6500 (Beckman Instruments, Inc., CA, USA). Las concentraciones de equilibrio del resto de compuestos se determinaron por HPLC-MS (Waters Association, MA, USA). La cantidad de compuesto adsorbido se determinó por diferencia entre la cantidad inicialmente presente en la solución y la obtenida en la solución de equilibrio. Estas isotermas se ajustaron a la ecuación de Freundlich, cuya forma lineal es: $\log C_s = \log K_f + n_f \log C_e$, donde C_s ($\mu\text{g g}^{-1}$) es la cantidad de herbicida adsorbido, C_e ($\mu\text{g mL}^{-1}$) es la concentración de equilibrio del compuesto en solución, y K_f ($\mu^{1-n_f} \text{g}^{-1} \text{mL}^{n_f}$) y n_f son dos constantes características de la capacidad de adsorción del compuesto. También se calcularon los coeficientes de distribución ($K_d = C_s / C_e$, mL g^{-1}) para una C_e de 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Resultados y discusión

Las curvas de adsorción se ajustaron a la ecuación de Freundlich con valores de r^2 en el rango 0.75-0.99. Las constantes K_f y n_f determinados a partir de la forma lineal de esta ecuación, los porcentajes de

adsorción calculados para una concentración inicial de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y las constantes de adsorción K_d (mL g^{-1}), se incluyen en la Tabla 3.

Tabla 3 – Constantes de adsorción de Freundlich (K_f y n_f), porcentaje adsorbido (%Ads) ($C_i=100 \mu\text{g mL}^{-1}$) y coeficiente de distribución (K_d) ($C_e=40 \mu\text{g mL}^{-1}$) de los herbicidas y metabolitos por compost vegetal y por los suelos sin enmendar y enmendados con compost vegetal

Suelo	K_f	n_f	% Ads	$K_d (\text{mL g}^{-1})$
Aminopiralid				
S-A	1.83	0.86	31.6	1.07
S-A+GC	10.8	0.54	74.0	1.98
S-B	0.76	0.98	41.0	0.72
S-B+GC	2.09	1.13	82.4	3.43
GC	31.2	0.72	57.3	11.2
Iodosulfuron-metil sodio				
S-A	0.75	0.60	4.45	0.17
S-A+GC	0.37	0.84	8.08	0.20
S-B	0.40	0.80	6.65	0.19
S-B+GC	0.45	0.87	10.1	0.27
GC	6.23	0.84	22.7	3.39
Metsulfuron-metil (Metabolito)				
S-A	0.13	0.95	7.78	0.11
S-A+GC	2.16	0.62	25.0	0.54
S-B	0.04	1.30	7.36	0.12
S-B+GC	4.89	0.59	33.8	1.09
GC	21.6	1.35	88.0	93.8
2-amino-4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazina (Metabolito)				
S-A	10.6	0.72	55.9	3.74
S-A+GC	1.98	0.73	24.2	0.74
S-B	0.75	0.66	8.67	0.21
S-B+GC	0.46	1.15	28.9	0.80
GC	16.1	0.78	35.2	7.11

Las isotermas de adsorción de los herbicidas y metabolitos por los suelos sin enmendar y enmendados con GC fueron de tipo L ($n_f < 1$). Sin embargo, algunas isotermas de adsorción fueron de tipo L-C ($n_f \approx 1$) o de tipo S ($n_f > 1$). La linealidad de

las isotermas de adsorción de los herbicidas aumentó en el S-B+GC, indicando que a mayor contenido de CO hay una partición del soluto en el adsorbente (Chen & Yuan, 2011).

Los valores de K_f de aminopiralid fueron más elevados que los de iodosulfuron-metil sodio, indicando una mayor adsorción de este herbicida por los suelos. Los valores de K_f aumentaron en los suelos enmendados con GC para aminopiralid y metsulfuron-metil. Sin embargo, para iodosulfuron-metil y su metabolito AMMT los valores de K_f en los suelos sin enmienda son similares o mayores que en los suelos enmendados, siendo más elevados en el S-A. Esto indica el posible efecto de otros factores como el pH del suelo sobre la adsorción iodosulfuron-metil sodio y AMMT (Ahmad, 2019). Los porcentajes de adsorción de los herbicidas y el metabolito metsulfuron-metil por cada uno de los suelos siguieron el orden S-B+GC > S-A+GC > S-B ≥ S-A, indicando la influencia en la adsorción del CO de los suelos, que fue mayor en los suelos enmendados. Para el metabolito AMMT los porcentajes adsorbidos fueron similares en los suelos enmendados y el valor máximo fue para el S-A, indicando que la adsorción por los suelos sin enmienda es mayor en el suelo con pH más bajo. Por el contrario, en los suelos enmendados el efecto del pH fue menos evidente. Los valores de K_d de los herbicidas y metsulfuron-metil siguieron el orden S-B+GC > S-A+GC > S-B ≥ S-A. Sin embargo, los valores de K_d del metabolito AMMT siguieron el orden S-A > S-B+GC ≥ S-A+GC > S-B, corroborando la influencia del pH en la adsorción de este compuesto.

La adsorción de los herbicidas y metabolitos por GC siguió el orden metsulfuron-metil > aminopiralid > AMMT > iodosulfuron-metil sodio. Para todos los compuestos el porcentaje adsorbido por GC fue mayor que por los suelos, excepto para AMMT donde el porcentaje adsorbido fue menor que por el S-A.

Conclusiones

Los resultados de este estudio demuestran que la aplicación de GC modifica la

capacidad de adsorción de los herbicidas y sus metabolitos por los suelos. Sin embargo, para algunos compuestos, la capacidad de adsorción por los suelos enmendados depende del contenido en CO del suelo y de otras variables como el pH del suelo. La mayor capacidad de adsorción de los suelos enmendados podría reducir la movilidad de los herbicidas y así prevenir su lixiviación a las aguas subterráneas, indicando que la aplicación de compost vegetal a una dosis agronómica a suelos con bajo contenido en materia orgánica podría ser útil para aumentar la fertilidad e incrementar la inmovilización de pesticidas en suelos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación, AEI (proyecto PID2020-113379RB-I00). A. García agradece al Proyecto CLU-2019-05 – Unidad de Excelencia IRNASA-CSIC, financiado por la Junta de Castilla y León y cofinanciado por la UE-FEDER por su contrato.

Referencias bibliográficas

- Ahmad, K. S. (2019). Adsorption evaluation of herbicide iodosulfuron followed by Cedrus deodora sawdust-derived activated carbon removal. *Soil and Sediment Contamination* 28, 65-80. doi:10.1080/15320383.2018.1536692
- Álvarez-Martín, A., Rodríguez-Cruz, M. S., Andrade, M. S., & Sánchez-Martín, M. J. (2016). Application of a biosorbent to soil: a potential method for controlling water pollution by pesticides. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 9192–9203. doi:10.1007/s11356-016-6132-4
- Chen, B., & Yuan, M. (2011). Enhanced sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil amended with biochar. *Journal of Soils and Sediments* 11, 62–71.
- Pose-Juan, E., Marín-Benito, J. M., Sánchez-Martín, M. J., & Rodríguez-Cruz, M. S. (2018). Dissipation of herbicides after repeated application in soils amended with green compost and sewage sludge. *Journal of Environmental Management* 223, 1068–1077. doi:10.1016/j.jenvman.2018.07.026
- PPDB. (2022). *Pesticide Properties Data Base*. University of Hertfordshire. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>.
- Sparks, D. L. (1996). *Methods of Soil Analysis. Part 3- Chemical Methods*. Madison: Soil Science Society of America, Inc.

Variación de la concentración y acumulación de Hg en suelos de pinar a lo largo de un transecto costa-interior al NO de la Península Ibérica

Variation of Hg concentration and accumulation in pine forest soils along a coastal-inland transect in NW Iberian Peninsula

Méndez-López, Melissa^{1,2*}, Eimil-Fraga, Cristina³, Alonso-Vega, Flora^{1,2}, Rodríguez-Soalleiro, Roque³, Álvarez-Rodríguez, Esperanza⁴, Arias-Estévez, Manuel^{1,2}, Nóvoa-Muñoz, Juan Carlos^{1,2}

¹ Universidade de Vigo, Departamento de Biología Vegetal e Ciencia do Solo, Área de Edafología e Química Agrícola, Facultade de Ciencias. As Lagoas s/n, 32004 Ourense, España.

² Campus da Auga, Universidade de Vigo, Laboratorio de Tecnología e Diagnose Ambiental. Rúa Canella da Costa da Vela 12, 32004, Ourense, España.

³ Unidad de Gestión Ambiental y Forestal Sostenible, Escuela Politécnica Superior de Ingeniería, Universidad de Santiago de Compostela. Rúa Benigno Ledo s/n, 27002, Lugo, España.

⁴ Departamento de Edafología y Química Agrícola, Escuela Politécnica Superior de Ingeniería, Universidad de Santiago de Compostela, Rúa Benigno Ledo s/n, 27002 Lugo, España.

*memendez@uvigo.es

Resumen

Se ha evaluado la variación de la concentración (THg) y acumulación (RHg) de Hg en el suelo de 17 parcelas de *Pinus pinaster* distribuidas en un transecto costa-interior. En cada parcela se recogieron muestras de los horizontes orgánicos (OL, OF, OH) y de los horizontes minerales (hasta 40 cm). En los horizontes orgánicos, los niveles medios de THg ($34-115 \mu\text{g kg}^{-1}$) y de RHg ($24-247 \mu\text{g m}^{-2}$) aumentaron con el grado de humificación de la materia orgánica siguiendo la secuencia: OL<OF<OH. En los horizontes minerales, THg disminuyó con la profundidad ($53-103 \mu\text{g kg}^{-1}$), mientras que el RHg registró valores más altos en capas más profundas del suelo. Los valores de THg en las capas más superficiales del suelo (O_i, O_e, O_a, 0-5 cm) fueron significativamente mayores en parcelas más próximas a la costa, donde una mayor abundancia de precipitaciones debido a la influencia oceánica, contribuye directa e indirectamente a una mayor deposición de Hg atmosférico. Por el contrario, el RHg del suelo está principalmente influenciado por parámetros como la densidad aparente o la concentración de elementos biofilos (C, N).

Palabras clave: mercurio, reservorio, influencia oceánica, bosque, materia orgánica.

Abstract

The variation of Hg concentration (THg) and accumulation (RHg) in the soil of 17 plots of *Pinus pinaster* distributed along a coastal-inland transect was evaluated. In each plot, samples were collected from organic horizons (OL, OF, OH) and mineral horizons (up to 40 cm). In the organic horizons, the mean values of THg ($34-115 \mu\text{g kg}^{-1}$) and RHg ($24-247 \mu\text{g m}^{-2}$) increased with the degree of humification of the organic matter following the sequence: OL<OF<OH. In the mineral horizons, THg decreased with depth ($53-103 \mu\text{g kg}^{-1}$), while RHg showed higher values in deeper soil layers. THg values in the uppermost soil layers (O_i, O_e, O_a, 0-5 cm) were significantly higher in plots closer to the coast, where a higher abundance of precipitation due to oceanic influence contributes direct and indirectly to a higher deposition of atmospheric Hg. In contrast, soil RHg is mainly influenced by parameters such as bulk density or the concentration of biophilic elements (C, N).

Keywords: mercury, pool, oceanic influence, forest, organic matter.

Introducción

El mercurio (Hg) es considerado un contaminante global debido a que se moviliza largas distancias a través de la atmósfera y también por su alta capacidad de bioacumulación, provocando problemas de toxicidad en los organismos vivos (United Nations, 2013). En los ecosistemas terrestres, la vegetación y el suelo constituyen los principales sumideros de Hg atmosférico (Bishop et al., 2020). Se estima que más del 80% del Hg atmosférico que llega al suelo lo hace mediante procesos de deposición seca (*litterfall, throughfall*) o húmeda (precipitación). El suelo desempeña un papel fundamental en el ciclo biogeoquímico del Hg, principalmente por su capacidad de retenerlo y acumularlo, regulando su movilización hacia otros compartimentos ambientales.

La cantidad de Hg que llega al suelo depende en gran medida del tipo de vegetación que lo cubre. Se sabe que las acículas de coníferas acumulan más Hg que las hojas de caducifolias, debido a su mayor área foliar específica y a que están activas durante varios años (Pleijel et al., 2021). En bosques de coníferas, el Hg que se transfiere al suelo por la caída de acículas (*litterfall*) tiende a acumularse en los horizontes orgánicos. Su retención en las capas más superficiales del suelo se ve favorecida por el contenido alto en lignina y bajo en nitrógeno de las acículas, lo que ralentiza su descomposición y dificulta el arrastre de Hg por lixiviado o escorrentía hacia cuerpos de agua (Obrist et al., 2009).

El clima también es un factor determinante en la dinámica del Hg en la vegetación y suelos. Así, en áreas con climas oceánicos, algunos eventos meteorológicos (precipitación, niebla, vientos marítimos) puede contribuir al transporte de Hg desde el mar hacia zonas de costa, donde sería captado por las masas forestales (Coale et al., 2018).

El objetivo de este trabajo es evaluar si la concentración de Hg total (THg) y su reservorio (RHg) en suelos de coníferas muestran una variación dependiendo del

grado de influencia oceánica de su ubicación.

Material y métodos

El estudio se llevó a cabo en Galicia (NO Península Ibérica), donde se seleccionaron 17 parcelas de *Pinus pinaster* distribuidas a lo largo de un transecto oeste-este, desde la costa atlántica hacia el interior. Teniendo en cuenta la distancia a la costa de las parcelas y las precipitaciones anuales, se han definido dos zonas en el transecto: costa (<75 km; >900 mm) e interior (>75 km; <900 mm).

En cada una de las 17 parcelas se tomaron muestras de 3 perfiles de suelo, recogiendo en todos ellos muestras del horizonte O (diferenciando entre OL, OF y OH) y del suelo mineral. Las muestras de los horizontes O se recogieron utilizando un cuadrado de 50 x 50 cm y anotando su espesor. Para el suelo mineral, se abrió una cata tomando muestras de suelo y camisa para densidad aparente a 5 profundidades (0-5, 5-10, 10-20, 20-30 y 30-40 cm). Tras su secado, los horizontes O se trituraron (<4 mm) y los minerales se tamizaron (<2 mm). Posteriormente se molieron para determinar sus niveles de Hg, C y N totales.

Para evaluar la influencia de diferentes factores en THg y RHg, o la relación de estos con las propiedades de los suelos, se utilizaron tests estadísticos no paramétricos.

Resultados y discusión

Las principales características de los horizontes O se presentan en la Tabla 1. Tanto la concentración (THg; 34-115 µg kg⁻¹) como la acumulación (RHg; 24-247 µg m⁻²) de Hg siguen la secuencia: OL<OF<OH. Ambos parámetros mostraron los valores más elevados con el progreso de la humificación de la materia orgánica (menor C/N), coincidiendo con lo observado para horizontes O de suelos dominados por diferentes especies arbóreas (Méndez-López et al., 2022). No obstante, solo en los subhorizontes OF y OH se observó una correlación negativa entre la ratio C/N y

THg ($\rho=-0.633$ y -0.684 ; $p=0.000$) y RHg ($\rho=-0.497$ y -0.485 ; $p=0.000$).

Tabla 1 – Valores medios de diferentes parámetros en los subhorizontes orgánicos en función de la distancia a la costa. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p<0.05$) entre subhorizontes (minúsculas) y distancias a la costa (mayúsculas).

Dist. costa	Capa	THg	RHg	C	N	C/N
		$\mu\text{g kg}^{-1}$	$\mu\text{g m}^{-2}$	-- g kg^{-1} --	-- g kg^{-1} --	-- g kg^{-1} --
<75 km	OL	44 ^{a,A}	29 ^{a,A}	490 ^{a,A}	7,6 ^{a,A}	71 ^{a,A}
	OF	99 ^{b,A}	171 ^{b,A}	403 ^{b,A}	12,4 ^{b,A}	33 ^{b,A}
	OH	115 ^{b,A}	247 ^{b,A}	358 ^{c,A}	12,6 ^{b,A}	29 ^{b,A}
>75 km	OL	34 ^{a,B}	24 ^{a,A}	499 ^{a,A}	7,8 ^{a,A}	71 ^{a,A}
	OF	75 ^{b,B}	111 ^{b,A}	457 ^{b,B}	12,0 ^{b,A}	41 ^{b,B}
	OH	99 ^{c,A}	246 ^{c,A}	404 ^{c,B}	13,1 ^{b,A}	32 ^{b,A}

Los valores de THg en los subhorizontes OL ($H=17.394$; $p=0.000$) y OF ($H=10.171$; $p<0.05$) fueron significativamente mayores en las parcelas más próximas a la costa y con mayor precipitación (Tabla 1). Este resultado puede justificarse en base a un mayor aporte de Hg atmosférico en zonas costeras a través de la deposición húmeda (precipitaciones) y oculta (niebla), que tiende a disminuir a medida que las parcelas se alejan de la costa (Tabla 2). La influencia de ambientes oceánicos en una mayor deposición de Hg en medios terrestres ha sido puesta en evidencia en estudios previos (Peckham et al., 2018).

Tabla 2 – Resultado del test de Spearman (ρ), correlacionando la concentración de Hg (THg) con la distancia a la costa y la precipitación anual acumulada.

Capa	Dist. costa		Precipitación anual		
	N	ρ	Sig.	ρ	Sig.
OL	51	-0.547	0.000	0.420	0.002
OF	51	-0.449	0.001	0.474	0.000
OH	51	-0.339	0.015	0.326	0.020
0-5 cm	51	-0.363	0.009	0.320	0.022

En los horizontes minerales, al contrario de lo que ocurre en los horizontes O, los valores de THg disminuyen con la profundidad, al igual que lo hacen el C y N totales (Tabla 3). La similitud en el patrón de distribución de THg, C y N con la profundidad indica que el Hg estaría

principalmente ligado a estos elementos biofílicos (C y N), como se ha constatado en estudios previos (Navrátil et al., 2016). Las elevadas correlaciones de THg con C ($\rho=0.751$; $p=0.000$; $n= 247$) y con N ($\rho=0.680$; $p=0.000$; $n= 247$) apoyarían esta idea.

Por otra parte, el RHg tiende a ser mayor en capas más profundas del suelo mineral (Tabla 3). Esto sugiere que RHg en el suelo mineral depende más de la densidad aparente ($\rho=0.367$; $p=0.000$; $n=247$) que de la concentración de Hg.

Cuantitativamente, los valores de THg y RHg en parcelas de zonas de costa fueron mayores que en parcelas de interior entre 0-20 cm de profundidad, aunque las diferencias no eran significativas (Tabla 3). Esto supone que la proximidad a la costa no afecta sustancialmente a los parámetros de Hg (THg y RHg) en el suelo mineral. De hecho, sólo la capa de 0-5 cm presenta una correlación significativa del THg con la distancia a la costa y la precipitación (Tabla 2).

Tabla 3 – Valores medios de diferentes parámetros en el suelo mineral y en función de la distancia a la costa. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p<0.05$) entre profundidades (minúsculas) y distancias a la costa (mayúsculas).

Dist. costa	Capa	THg	RHg	C	N	C/N
		cm	$\mu\text{g kg}^{-1}$	$\mu\text{g m}^{-2}$	-- g kg^{-1} --	-- g kg^{-1} --
<75 km	0-5	103 ^{a,A}	2791 ^{a,A}	125 ^{a,A}	7,1 ^{a,A}	18 ^{a,A}
	5-10	88 ^{ab,A}	3108 ^{a,A}	96 ^{b,A}	5,9 ^{ab,A}	17 ^{a,A}
	10-20	80 ^{abc,A}	6284 ^{b,A}	78 ^{bc,A}	4,8 ^{bc,A}	17 ^{a,A}
	20-30	61 ^{bc,A}	5115 ^{b,A}	60 ^{c,A}	3,7 ^{c,A}	17 ^{a,A}
	30-40	53 ^{c,A}	4846 ^{b,A}	52 ^{c,A}	3,3 ^{c,A}	16 ^{a,A}
>75 km	0-5	89 ^{a,A}	2525 ^{a,A}	113 ^{a,A}	5,4 ^{a,B}	22 ^{a,B}
	5-10	76 ^{ab,A}	2999 ^{a,A}	75 ^{b,B}	3,7 ^{b,B}	21 ^{ab,B}
	10-20	72 ^{ab,A}	6023 ^{b,A}	66 ^{bc,A}	3,4 ^{bc,B}	19 ^{bc,B}
	20-30	64 ^{ab,A}	6188 ^{b,A}	49 ^{cd,A}	2,7 ^{bc,A}	18 ^{bc,A}
	30-40	56 ^{b,A}	5873 ^{b,A}	39 ^{d,A}	2,1 ^{c,A}	18 ^{c,B}

Conclusiones

La concentración total de Hg (THg) aumenta con el grado de mineralización de la materia orgánica en los horizontes orgánicos, y disminuye con la profundidad en el suelo mineral, posiblemente debido a

menor exposición de las capas más profundas del suelo a la deposición de Hg atmosférico y a los niveles insignificantes de Hg en el material de partida. El reservorio de Hg (RHg) siguió el mismo patrón que THg en los horizontes orgánicos, mientras que aumentó con la profundidad en el suelo mineral como consecuencia del incremento de la densidad aparente del suelo.

La proximidad a la costa afectó significativamente a la concentración de Hg en las capas más superficiales del suelo (OL, OF, OH y 0-5 cm), haciendo que los valores más altos de THg se observasen en las parcelas más próximas a la costa donde también la precipitación total anual es mayor. A medida que aumenta la distancia de la parcela a la costa, los valores de THg en estas capas del suelo van disminuyendo. Este gradiente costa vs. interior no pareció afectar al reservorio de Hg. Así, una vez el Hg está incorporado al suelo mineral, su acumulación va a depender en gran medida de parámetros físico-químicos del suelo (densidad aparente, contenido total de C y N, C/N, por ejemplo).

Agradecimientos

M. Méndez-López agradece al Ministerio de Educación y Formación Profesional el contrato FPU17/05484. A la Consellería de Cultura, Educación e Universidade (Xunta de Galicia) por la financiación a través de los contratos ED431C 2021/46-GRC y ED431F2018/06-EXCELENCIA.

Referencias bibliográficas

- Bishop, K., Shanley, J. B., Riscassi, A., de Wit, H. A., Eklöf, K., Meng, B., Mitchell, C., Osterwalder, S., Scguster, P.F., Webster, J., & Zhu, W. (2020). Recent advances in understanding and measurement of mercury in the environment: Terrestrial Hg cycling. *Science of the Total Environment*, 721, 137647.
- Coale, K., Heim, W., Negrey, J., Weiss-Penzias, P., Fernández, D., Olson, A., Chiswell, H., Byington, A., Bonnema, A., & Martenuk, S., (2018). The distribution and speciation of mercury in the California current: Implications for mercury transport via fog to land. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 151:77-88.
- Méndez-López, M., Gómez-Armesto, A., Alonso-Vega, F., Pontevedra-Pombal, X., Fonseca, L., de Figueiredo, T., Arias-Estévez, M., & Núñez-Muñoz, J. C. (2022). The role of afforestation species as a driver of Hg accumulation in organic horizons of forest soils from a Mediterranean mountain area in SW Europe. *Science of The Total Environment*, 154345.
- Obrist, D., Johnson, D. W., & Lindberg, S. E. (2009). Mercury concentrations and pools in four Sierra Nevada forest sites, and relationships to organic carbon and nitrogen. *Biogeosciences*, 6(5), 765-777.
- Peckham, M. A., Gustin, M. S., Weisberg, P. J., & Weiss-Penzias, P. (2019). Results of a controlled field experiment to assess the use of tree tissue concentrations as bioindicators of air Hg. *Biogeochemistry*, 142(2), 265-279.
- Pleijel, H., Klingberg, J., Nerentorp, M., Broberg, M. C., Nyirambangutse, B., Munthe, J., & Wallin, G. (2021). Mercury accumulation in leaves of different plant types—the significance of tissue age and specific leaf area. *Biogeosciences*, 18(23), 6313-6328.
- Navrátil, T., Shanley, J. B., Rohovec, J., Oulehle, F., Šimeček, M., Houška, J., & Cudlín, P. (2016). Soil mercury distribution in adjacent coniferous and deciduous stands highly impacted by acid rain in the Ore Mountains, Czech Republic. *Applied Geochemistry*, 75, 63-75.
- United Nations, 2013. *Minamata Convention on Mercury*. Collection, UN Treaty.

Extractabilidad de metales pesados en suelos urbanos

Extractability of trace metals in urban soils

Roo, María¹, Herbón, Cecilia¹, Martín, Juan Pedro^{1,2}, Barral, María Teresa¹, Paradelo, Remigio^{1*}

¹ Departamento de Edafología e Química Agrícola, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España

² Departamento de Química en Ciencias Farmacéuticas, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España

* remigio.paradelo.nunez@usc.es

Resumen

El aumento de la urbanización y la industrialización pueden afectar negativamente a las funciones de los suelos urbanos. Entre los problemas más desafiantes se encuentra la acumulación de contaminantes derivados de las actividades humanas, como los metales pesados. No es suficiente conocer las concentraciones totales de estos contaminantes en los suelos, sino que es necesario evaluar su extractabilidad para simular qué concentración está disponible para las plantas y que podría suponer un riesgo al introducirse en la cadena alimentaria. En este trabajo se ha evaluado la biodisponibilidad de cinco metales pesados (Pb, Cu, Zn, Ni y Cr) en 55 suelos de la ciudad de Santiago de Compostela dedicados a distintos usos del suelo (vegetación herbácea, forestal y agrícola) y desarrollados sobre diferentes litologías. Los metales solubles se evaluaron con una extracción CaCl_2 0,01M en la que solo el Zn aparece en forma soluble en cantidades significativas. Los metales disponibles para plantas, evaluados con una extracción en AEDT, siguieron una secuencia de concentraciones decreciente $\text{Pb} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Ni} > \text{Cr}$. Las concentraciones de Zn y Cu más altas aparecen en suelos de uso agrícola, situados principalmente sobre gneiss, lo que explica también la relación encontrada entre la concentración de Cu y este tipo de litología.

Palabras clave: biodisponibilidad, metales pesados, extracción en AEDT, extracción en CaCl_2 .

Abstract

Urbanization and industrialization may have negative effects in urban soils functions. One of the most challenging problems is the accumulation of pollutants coming from the anthropogenic activities, such as heavy metals. It is not enough to analyse the total concentrations of this pollutants, but we need to evaluate their bioavailability and determine which concentration could enter to the food chain through plant uptake. In this study we analysed the bioavailability of five heavy metals (Pb, Cu, Zn, Ni and Cr) in 55 soils of Santiago de Compostela with different land uses (grassland, forest and agricultural) and different lithologies. Soluble metals were evaluated using an extraction with 0.01M CaCl_2 , in which only soluble Zn appears in a significant amount. Bioavailability of exchangeable metals, evaluated using an EDTA extraction, followed a decreasing trend $\text{Pb} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Ni} > \text{Cr}$. Moreover, we found that higher concentrations of Zn and Cu correspond to agricultural soils, developed most over gneiss, which explains the significant relation between Cu concentrations and gneiss lithology.

Keywords: bioavailability, heavy metals, extraction with EDTA, extraction with CaCl_2 .

Introducción

El suelo es un componente fundamental de los ecosistemas urbanos, pero la expansión de las ciudades y el incremento de la industrialización pueden afectar negativamente a sus funciones ecosistémicas. Uno de los mayores desafíos, derivado de las actividades humanas en las ciudades, es el aporte de sustancias contaminantes a los suelos. Entre los contaminantes más comunes presentes en los suelos urbanos se encuentran los metales pesados, sustancias inorgánicas que han sido objeto de investigaciones en ciudades de todo el mundo (Li et al., 2018).

El estudio de la concentración total de metales traza en el suelo no es suficiente para evaluar su riesgo potencial para la salud humana. Dicho riesgo radica en la posibilidad de que los contaminantes se incorporen a la cadena alimentaria, pudiendo afectar así a la salud humana. Por esto, es necesario conocer la movilidad de estos metales en el suelo para evaluar el riesgo de que se desplacen a otros compartimentos del ecosistema urbano, como aguas subterráneas o la vegetación (Ajmone-Marsan & Biasioli, 2010). Habitualmente se utilizan diferentes tipos de extracciones para evaluar el grado de movilidad de estos contaminantes.

En este trabajo se estudia la extractabilidad de cinco metales traza potencialmente peligrosos para la salud humana: plomo, cobre, zinc, níquel y cromo, en muestras superficiales de 55 suelos de la ciudad de Santiago de Compostela (España), desarrollados sobre diferentes materiales geológicos y con diferentes usos para representar la diversidad edáfica presente en la ciudad.

Material y métodos

Área de estudio

El municipio de Santiago de Compostela, situado en el noroeste de la península ibérica, tiene una superficie de 222 km² y una población de 97.000 habitantes permanentes.

La ciudad presenta un clima océánico que

se corresponde con la zona Cfb en la clasificación climática de Köppen-Geiger (Kottek et al., 2006), con una temperatura media anual de 13 °C y una precipitación media anual de 1787 mm (Martínez & Pérez, 1999).

Desde el punto de vista geológico, Santiago de Compostela se sitúa en la zona de contacto entre un área granítica y el macizo metamórfico conocido como Complejo de Ordes, por lo que muestra una diversidad geológica que se puede agrupar en cuatro litologías: esquistos, ortogneises, anfibolitas y rocas graníticas (IGME, 1981).

Muestras de suelo

Se tomaron muestras de suelos en 55 puntos de la ciudad de Santiago de Compostela elegidos al azar, con una barrena Edelman (0-20 cm). Según el uso de suelo de cada punto del muestreo, se analizaron 28 muestras de suelo con vegetación herbácea, 13 muestras de bosque urbano y 14 de suelo de agricultura urbana y periurbana.

Métodos de análisis

La fracción soluble de los metales pesados se determinó mezclando 2 g de suelo con 20 ml de CaCl₂ 0,01 N. La suspensión se agitó durante tres horas y se filtró (Novozamsky et al., 1993). Finalmente se analizaron los extractos por espectrometría de emisión óptica con fuente de ionización (Perkin Elmer, Optima 4300 DV ICP-OES).

La disponibilidad de los metales pesados para plantas se evaluó siguiendo el método Lakanen y Erviö (Lakanen & Erviö, 1971). Para ello se agitaron 5 g de suelo con 50 ml de una solución extractante compuesta de AcONH₄ 0,5 M, AcOH 0,5 M y Na₂-AEDT 0,02 M, a pH 4,65, durante una hora. El sobrenadante se filtró por Whatman nº 40 y los extractos se analizaron mediante espectrometría de absorción atómica de llama (Varian SpectraAA 220FS). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza para evaluar la influencia del uso del suelo y la litología del material de partida en la biodisponibilidad de los metales. Se realizó el test de Tukey para comparar dos a dos las medias y ver diferencias entre grupos. Para ello se utilizó el software estadístico R para Windows, versión 4.1.3, y el paquete R Commander versión 2.7-2.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se muestra un resumen de los resultados de la extracción de metales solubles. Las concentraciones siguieron una tendencia decreciente Zn > Pb > Ni > Cu > Cr (las concentraciones de Cr estuvieron por debajo del límite de detección en todos los casos). Solo el Zn aparece en forma soluble en cantidades significativas, con una concentración máxima de 10,6 mg kg⁻¹, siempre por debajo del 2% del contenido total del elemento. Las concentraciones máximas para los demás metales son muy bajas: 1,7 mg kg⁻¹ para Pb, 0,23 mg kg⁻¹ para el Ni y 0,17 mg kg⁻¹ para el Cu (lo que representó siempre porcentajes inferiores al 1 % del contenido total). No se ha observado ningún efecto significativo del uso o la litología del material de partida en la concentración de metales solubles.

Tabla 1. Metales extraíbles en CaCl₂ (mg kg⁻¹). No se incluyen los valores para Cr por estar debajo del límite de detección en todos los casos.

	Pb	Cu	Zn	Ni
Mínimo	0,0	0,0	0,0	0,0
Máximo	1,7	0,17	10,6	0,23
Media	0,05	0,02	0,7	0,04
Mediana	0,0004	0,001	0,23	0,03
SD	0,2	0,03	1,5	0,04
ANOVA				
Uso - F	0,4	1,1	0,9	1,2
p	0,6	0,3	0,4	0,3
Litología - F	0,4	1,8	1,2	0,7
p	0,8	0,1	0,3	0,6

En la Tabla 2 se muestra un resumen de los resultados de la extracción de metales

en AEDT. Las concentraciones medias para el conjunto de suelos siguieron una tendencia decreciente Pb > Cu > Zn > Ni > Cr. El Pb fue el elemento que presentó una mayor biodisponibilidad, con valores entre 1,6 y 182 mg kg⁻¹ (promedio de 26 mg kg⁻¹, hasta un 60% de la concentración total), seguido por el Cu, con valores entre 0,3 y 54 mg kg⁻¹ (promedio de 10 mg kg⁻¹, hasta un 36% del contenido total) y el Zn, con valores entre 0,2 y 105 mg kg⁻¹ (promedio de 9,4 mg kg⁻¹, con un máximo del 23% del Zn total). El Ni y especialmente el Cr fueron los elementos que presentaron una menor biodisponibilidad.

Tabla 2. Metales extraíbles en AEDT (ácido etilendiaminotetraacético, mg kg⁻¹). * significante con p-valor <0,05; ** significante con p-valor <0,01.

	Pb	Cu	Zn	Ni	Cr
Mínimo	1,6	0,3	0,2	0,1	0,0004
Máximo	182	54	105	3,0	0,34
Media	26	10	9,4	0,8	0,08
Mediana	18	5,8	4,7	0,6	0,05
SD	34	11	17	0,6	0,08
ANOVA					
Uso - F	1,5	6,6	6,1	1,6	0,13
p	0,2	0,003 **	0,004 **	0,2	0,9
Litología - F	1,9	3,7	1,8	1,2	1,3
p	0,1	0,011 *	0,1	0,3	0,3

En este caso, se observó una influencia significativa del uso del suelo en las concentraciones de Cu y Zn ($p<0,01$) (Tabla 2), siendo estos elementos más abundantes en suelos dedicados a agricultura urbana que en otros usos (Figura 1), lo que coincide con las mayores concentraciones totales de estos metales en los huertos urbanos de la ciudad (Herbón et al., 2021). Se aprecia también un efecto significativo ($p<0,05$) de la litología en la concentración de Cu, siendo más abundante este elemento en los suelos sobre gneis, si bien, en este caso, cabe interpretarlo a como un efecto indirecto, ya que los suelos con uso agrícola se hallan mayoritariamente sobre este material.

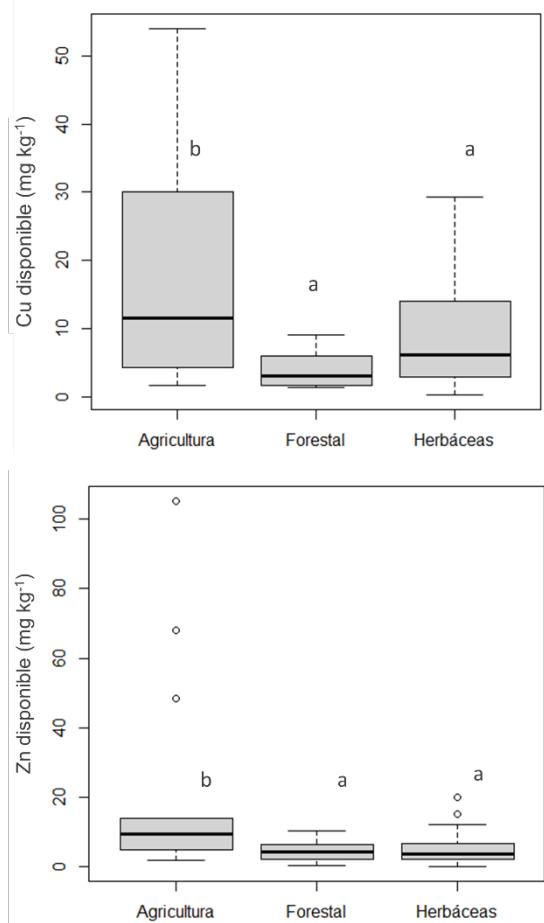


Fig. 1 – Concentraciones de Cu y Zn extraíbles en AEDT en función del uso de suelo. Letras diferentes indican que se encontraron diferencias significativas entre grupos.

Conclusiones

El análisis de las formas de metales pesados en muestras superficiales de 55 suelos urbanos de la ciudad de Santiago de Compostela demuestra que solamente el Zn se halla en formas solubles (extraíbles en CaCl_2), en contraste con Pb, Cu, Ni o Cr. En el extracto de metales intercambiables en AEDT los elementos con mayor concentración fueron el Pb, el Zn y el Cu, en ese orden.

Factores como el uso del suelo y la litología del material de partida no influyen en las concentraciones encontradas de metales solubles, mientras que en el caso de los metales extraíbles en AEDT (disponibles para plantas) se hallaron concentraciones significativamente más altas de Zn y Cu en suelos de huertos urbanos, lo que supondría un mayor riesgo de que estos metales pasen a la cadena alimentaria.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Concello de Santiago de Compostela. R. Paradelo agradece al Ministerio de Economía y Competitividad de España su ayuda Ramón y Cajal (RYC-2016-19286). J.P. Martín cuenta con una ayuda Margarita Salas financiada por la Unión Europea-NextGenerationEU a través del Ministerio de Universidades y de la convocatoria CT31/21 de la UCM. Esta investigación ha sido financiada por la Xunta de Galicia (Subvención nº ED431F 2018/04).

Referencias bibliográficas

- Ajmone-Marsan, F., & Biasioli, M. (2010). Trace Elements in Soils of Urban Areas. *Water Air Soil Pollut.*, 213, 121-143.
- Martínez Cortizas, M.A., & Pérez Alberti, A. (1999). Atlas Climático de Galicia. Xunta de Galicia, Santiago de Compostela.
- IGME, 1981. Mapa Geológico de España 1:50.000. Hoja 94. Instituto Geológico y Minero de España, Madrid.
- Herbón, C., Barral, M. T., & Paradelo, R. (2021). Potentially toxic trace elements in the urban soils of Santiago de Compostela (Northwestern Spain). *Applied Sciences*, 11(9), 4211.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolph, B., & Rubel, F. (2006). World map of Köppen-Geiger Climate Classification updated. *Meteorol. Z.*, 15, 259-263.
- Lakanen, E., & Erviö, R. (1971). A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soils. *Acta Agric. Scand.*, 17, 131-139.
- Li, G., Sun, G.-X., Ren, Y., Luo, X.-S., & Zhu, Y.-G. (2018). Urban soil and human health: a review. *Eur. J. Soil Sci.*, 69, 196-215.
- Novozamsky, I., Lexmond, T. M., & Houba, V. J. (1993). A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51, 47-58.
- Paradelo, R., Herbón, C., & Barral, M. T. (2021). Composition and chemical properties of the soils of the city of Santiago de Compostela, northwestern Spain. *J. Environ. Qual.*, 50, 7-21.

Genes de resistencia a antibióticos en los suelos: ¿Es posible su transferencia a las plantas?

Antibiotic resistance genes in soils: Is their transfer to plants possible?

Artetxe, Unai^{1†}, Gómez-Sagasti, María Teresa^{1*†}, Gorostiaga, Leyre, Garbisu, Carlos²; Becerril, José María¹

¹ Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), E-48080 Bilbao. España

² NEIKER-BRTA, Departamento de Conservación de Recursos Naturales, C/Berreaga 1, E-48160 Derio, España.

[†] U. Artetxe y M.T. Gómez-Sagasti han contribuido a partes iguales en este trabajo.

*mariateresa.gomez@ehu.eus

Resumen

El suelo constituye un gran reservorio de genes de resistencia a los antibióticos (ARGs) como la tetraciclina, la estreptomicina y la ciprofloxacina. La propagación de los ARGs en los suelos se atribuye principalmente a la ganadería intensiva y a las prácticas agrícolas. En particular, la aplicación de estiércoles en el suelo es una de las vías más importantes para la entrada de ARGs en los suelos agrícolas. Mientras que la diversidad y abundancia de los ARGs del suelo se han estudiado ampliamente, poco se sabe de su posterior transmisión al microbioma de las plantas. Existe la posibilidad de que los ARGs se transfieran de los suelos enmendados a las plantas a través de la colonización de los tejidos por bacterias endófitas (foliares y radiculares) o por la adhesión de bacterias portadoras de ARGs a las superficies de las plantas. Este trabajo tiene como objetivo principal recopilar información sobre la posible transferencia de ARGs a plantas para así poder entender la magnitud del problema, puesto que puede poner en jaque la seguridad alimentaria y, por consiguiente, la salud humana.

Palabras clave: suelos enmendados, sistema suelo-planta, microbioma de la planta, bacterias endófitas.

Abstract

Soil is a major reservoir of resistance genes for antibiotics (ARGs) such as tetracycline, streptomycin and ciprofloxacin. The spread of ARGs in soils is mainly attributed to intensive livestock farming and agricultural practices. In particular, the application of manures to soil is one of the most important pathways for the entry of ARGs into agricultural soils. While the diversity and abundance of ARGs in soils have been extensively studied, little is known about their subsequent transmission to the plant microbiome. The ARGs could be transferred from amended soils to plants through colonisation of plant tissues by foliar or root endophytic bacteria or by attachment of ARG-bearing bacteria to plant surfaces. The main objective of this work is to gather information on the possible transfer of ARGs to plants in order to understand the magnitude of the problem, as it may jeopardise food safety and, consequently, human health.

Keywords: amended soils, soil-plant system, plant microbiome, endophytic bacteria.

Antibióticos y la resistencia a los antibióticos como contaminantes emergentes

Desde la década de los 40, los antibióticos han sido fundamentales para tratar y prevenir eficazmente infecciones no solo en humanos, también en el ganado y otros animales destinados a la alimentación. De forma proporcional al crecimiento de la población humana, ha ido aumentado también la producción y el uso extensivo de antibióticos como los pertenecientes al grupo de las tetraciclinas o al de las sulfoamidas. Cada vez hay más evidencias de la entrada de los antibióticos en el medio ambiente (Figura 1) y de los efectos adversos que producen en los organismos “no dianas” y en los seres humanos (Christou et al., 2017).

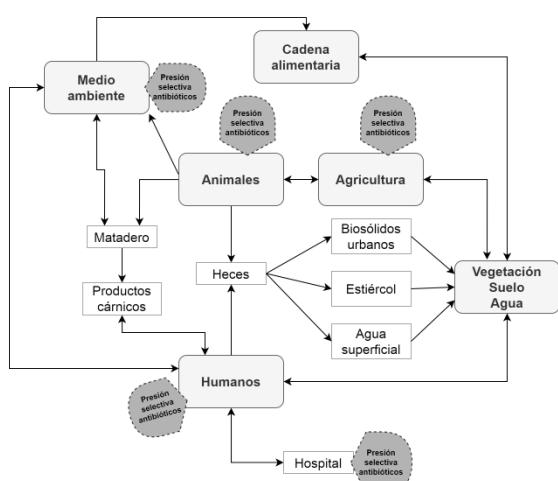


Fig. 1 – Rutas de diseminación de los genes de resistencia a los antibióticos (ARGs) que se extienden por diferentes ecosistemas. Modificada de Caniça et al. (2019).

La mayoría de los antibióticos no se metabolizan completamente en el organismo humano y animal. Un alto porcentaje de la dosis de ingesta (30-90%) de la mayoría de los antibióticos se excreta a través de la orina y las heces horas después de la aplicación (Christou et al., 2017). El uso de aguas residuales para el riego y de estiércoles de animales como enmiendas para el suelo constituyen las vías principales de entrada de los antibióticos a los suelos agrícolas (Figura 1). Otras prácticas agrícolas como la

aplicación de plaguicidas pueden también contribuir a la presión selectiva de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) (Radu et al., 2021).

Actualmente, la resistencia a los antibióticos se reconoce como uno de los retos más importantes de la medicina moderna y un grave problema de salud pública a nivel mundial. Se trata de un fenómeno extremadamente peligroso no solo porque impide el tratamiento eficaz de las infecciones bacterianas y puede ser la causa de amenazas epidémicas y de una elevada mortalidad (Caniça et al., 2019). El reciclaje de los estiércoles como enmiendas en la agricultura puede suponer también la transferencia de la resistencia a los antibióticos a las verduras y hortalizas que a menudo se comen crudas o con un procesamiento mínimo antes de su consumo (Zhang et al., 2019).

Aplicación de estiércoles en agricultura ecológica: fuente de ARBs y ARGs

El mercado de los alimentos ecológicos ha crecido rápidamente en las últimas décadas debido a la creciente preocupación por la salud personal (Zhu et al., 2017). Para la producción de frutas y verduras ecológicas certificadas, los fertilizantes y pesticidas químicos son sustituidos por la utilización de estiércoles de animales como abonos orgánicos y/o biofertilizantes.

Junto con los antibióticos, los estiércoles de animales pueden transportar también cargas significativas de bacterias resistentes a los antibióticos (ARBs), genes de resistencia (ARGs) y elementos genéticos móviles (MGEs) como plásmidos de amplio rango y/o intregrones de Clase 1 que facilitan la transferencia horizontal de ARGs entre bacterias del propio estiércol y aquellas autóctonas del suelo receptor. Los ARGs adquiridos pueden llegar a ser estables en el genoma microbiano sin representar costes adicionales para la célula, incluso en ausencia de cualquier presión selectiva (Scaccia et al., 2021). Aunque el compostaje de los estiércoles puede

reducir significativamente su nivel de resistencia a los antibióticos, el riesgo de transferencia de resistomas del estiércoles animal a los suelos agrícolas no se elimina por completo (Zhang et al., 2019). Así pues, la aplicación a largo plazo de estiércoles animal y biosólidos en el suelo agrícola conduce a la introducción, proliferación y diseminación de estos contaminantes emergentes en el medio ambiente (Urra et al., 2019), lo que sugiere que hay una necesidad urgente de optimizar la eliminación de residuos para la agricultura ecológica y el reciclaje de residuos orgánicos (Chen et al., 2019).

Si bien está ampliamente reconocido que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPBs) mejoran el crecimiento de las plantas y las ayudan a hacer frente a los estreses bióticos y abióticos, éstas también pueden contener ARGs. De hecho, se ha detectado que varias cepas bacterianas aisladas del suelo, como *Pseudomonas* y *Bacillus* sp., que se utilizan con frecuencia como inoculantes en condiciones de campo e invernadero para promover el crecimiento de las plantas, contienen más de un ARG cromosómico y plasmídico (Ramakrishna et al., 2019). Debemos, por tanto, también considerar antes de aplicarlas en campo como biofertilizantes, otros aspectos desfavorables asociados a las PGPBs que hasta ahora no se han tenido en cuenta.

El resistoma antibiótico del microbioma de las plantas

El microbioma de las plantas lo forman los microorganismos (hongos y bacterias) asociados a las flores, tallos, raíces, hojas y frutos (Figura 2). Se trata de una asociación simbiótica, en la que los microorganismos habitan en los espacios intra e intercelulares sin causar daños y, con frecuencia, benefician a la planta huésped y son determinantes clave de la salud, la aptitud y la productividad de las plantas (Chen et al., 2020). Cada vez son más las evidencias que indican la importancia de la diversidad taxonómica y genética de los microbiomas de las raíces y sus interacciones con las plantas para la estimulación del crecimiento y la

disminución de la susceptibilidad de éstas a las enfermedades causadas por hongos patógenos, bacterias, virus y nemátodos (Chen et al., 2019).

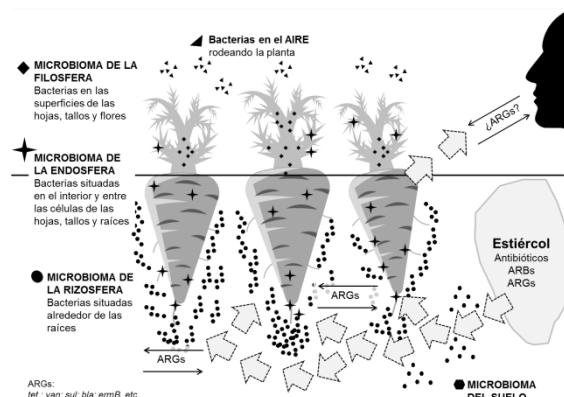


Fig. 2 – Esquema de los microbiomas asociados a las plantas y la diseminación de los ARGs por la aplicación al suelo de estiércoles como enmiendas orgánicas.

Al hablar del resistoma antibiótico del microbioma vegetal nos referimos al conjunto de ARGs presentes en las bacterias endofíticas y de la filosfera. Los ARGs se encuentran también en el microbioma vegetal de la endosfera, filosfera y rizosfera (Chen et al., 2020). Se ha detectado la presencia de ARGs tanto en la superficie de frutas y verduras como en las bacterias endofíticas de raíz y hoja y microorganismos de la filosfera en hortalizas cultivas en suelos enmendados con estiércoles (Wang et al., 2015; Zhu et al., 2017; Zhang et al., 2019; Guo et al., 2021; Jauregi et al., 2021). Una amenaza potencialmente más grave para la salud humana que la que supone las bacterias de la filosfera portadoras de ARGs son las bacterias endofíticas. Las primeras pueden eliminarse mediante el lavado o tratamiento de la fruta y verdura, pero las segundas no, y pueden persistir en aquellas verduras que se consumen crudas (Zhang et al., 2019). Además las prácticas agrícolas influyen de manera sustancial en la presencia de ARGs. Así, se ha visto que las lechugas producidas bajo agricultura orgánica albergan una mayor abundancia y diversidad de ARGs que aquellas cultivadas de manera convencional (Zhu et al., 2017), siendo estos ARGs los que confieren resistencia a casi todas las clases principales de

antibióticos comúnmente administrados a animales y humanos (Chen et al., 2019). El consumo de verduras, a través del microbioma vegetal, es una de las principales rutas de exposición del microbioma humano al microbioma ambiental. La propagación de los ARGs desde el suelo al microbioma vegetal mediante transferencia horizontal de genes está aún poco explorada por la falta de técnicas adecuadas de rastreo (Xu et al., 2021).

Conclusiones

Optimizar el tratamiento y la gestión de estiércoles de animales antes de su aplicación en suelo agrícola es fundamental para minimizar la entrada de ARGs en el suelo y reducir así también su diseminación. El conocimiento sobre el microbioma y resistoma de las plantas es clave para controlar la propagación de la resistencia a los antibióticos a través de la cadena alimentaria. De cara a futuro, será importante estudiar la diversidad y la abundancia de ARGs en el microbioma vegetal, especialmente en las endófitas de diferentes especies vegetales que se consumen comúnmente crudas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado mediante el Grupo de Investigación Consolidado del Gobierno Vasco (GV ITO18-16) y el proyecto PRADA (PID2019-110055RB-C22) del MINECO.

Referencias bibliográficas

- Caniça, M., Manageiro, V., Abriouel, H., Moran-Gilad, J., & Franz, C. M. (2019). Antibiotic resistance in foodborne bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 84, 41-44. doi: 10.1016/j.tifs.2018.08.001.
- Chen, Q. L., Cui, H. L., Su, J. Q., Penuelas, J., & Zhu, Y. G. (2019). Antibiotic resistomes in plant microbiomes. *Trends in Plant Science*, 24(6), 530-541. doi: 10.1016/j.tplants.2019.02.010.
- Chen, Q. L., Hu, H. W., Zhu, D., Ding, J., Yan, Z. Z., He, J. Z., & Zhu, Y. G. (2020). Host identity determines plant associated resistomes. *Environmental Pollution*, 258, 113709. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113709.
- Christou, A., Agüera, A., Bayona, J. M., Cytryn, E., Fotopoulos, V., Lambropoulou, D., ..., & Fatta-Kassinos, D. (2017). The potential implications of reclaimed wastewater reuse for irrigation on the agricultural environment: the knowns and unknowns of the fate of antibiotics and antibiotic resistant bacteria and resistance genes—a review. *Water Research*, 123, 448-467. doi: 10.1016/j.watres.2017.07.004.
- Guo, Y., Qiu, T., Gao, M., Sun, Y., Cheng, S., Gao, H., & Wang, X. (2021). Diversity and abundance of antibiotic resistance genes in rhizosphere soil and endophytes of leafy vegetables: Focusing on the effect of the vegetable species. *Journal of Hazardous Materials*, 415, 125595. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125595.
- Jauregi, L., Epelde, L., Alkorta, I., & Garbisu, C. (2021). Antibiotic resistance in agricultural soil and crops associated to the application of cow manure-derived amendments from conventional and organic livestock farms. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 153. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125595.
- Radu, E., Woegerbauer, M., Rab, G., Oismüller, M., Strauss, P., Hufnagl, P., ..., & Kreuzinger, N. (2021). Resilience of agricultural soils to antibiotic resistance genes introduced by agricultural management practices. *Science of The Total Environment*, 756, 143699. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125595.
- Ramakrishna, W., Yadav, R., & Li, K. (2019). Plant growth promoting bacteria in agriculture: two sides of a coin. *Applied Soil Ecology*, 138, 10-18. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125595.
- Scaccia, N., Vaz-Moreira, I., & Manaia, C. M. (2021). The risk of transmitting antibiotic resistance through endophytic bacteria. *Trends in Plant Science*, 26(12), 1213-1226. doi: 10.1016/j.tplants.2021.09.001.
- Urra, J., Alkorta, I., & Garbisu, C. (2019). Potential benefits and risks for soil health derived from the use of organic amendments in agriculture. *Agronomy*, 9(9), 542. doi: 10.3390/agronomy9090542.
- Wang, F. H., Qiao, M., Chen, Z., Su, J. Q., & Zhu, Y. G. (2015). Antibiotic resistance genes in manure-amended soil and vegetables at harvest. *Journal of Hazardous Materials*, 299, 215-221. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.05.028.
- Xu, H., Chen, Z., Huang, R., Cui, Y., Li, Q., Zhao, Y., ..., & Ren, H. (2021). Antibiotic resistance gene-carrying plasmid spreads into the plant endophytic bacteria using soil bacteria as carriers. *Environmental Science & Technology*, 55(15), 10462-10470. doi: 10.1021/acs.est.1c01615.
- Zhang, Y. J., Hu, H. W., Chen, Q. L., Singh, B. K., Yan, H., Chen, D., & He, J. Z. (2019). Transfer of antibiotic resistance from manure-amended soils to vegetable microbiomes. *Environment International*, 130, 104912. doi: 10.1016/j.envint.2019.104912.
- Zhu, B., Chen, Q., Chen, S., & Zhu, Y. G. (2017). Does organically produced lettuce harbor higher abundance of antibiotic resistance genes than conventionally produced? *Environment International*, 98, 152-159. doi: 10.1016/j.envint.2016.11.001.

Evaluación del contenido de glomalina y su relación con la agregación en suelos urbanos

Evaluation of glomalin content and its relationship with aggregation in urban soils

Suárez, M., Herbón, C., Barral, M.T., Paradelo, R.*

Departamento de Edafología y Química Agrícola, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela

*remigio.paradelo.nunez@usc.es

Resumen

La materia orgánica tiene un papel esencial en la agregación de las partículas de suelo y por ello en el desarrollo de una estructura estable. Entre los componentes orgánicos, se ha destacado el papel en la formación de agregados de la glomalina, una glicoproteína producida por hongos micorrízicos, cuyo contenido puede verse afectado por diversos factores, entre ellos el uso del suelo. En este trabajo se analiza el contenido de glomalina en 56 suelos urbanos de Santiago de Compostela, sobre distinto sustrato litológico y vegetación (forestal, prado y horticultura), y se evalúa su relación con la estabilidad de agregados. Las concentraciones de glomalina fácilmente extraíble varían entre 0,8 y 9,6 mg g⁻¹(valor medio 4,8 mg g⁻¹, 8 % de la materia orgánica del suelo), sin que se observen diferencias atribuibles a la litología o uso del suelo. No se observa relación significativa de estabilidad de agregados en agua con la glomalina, pero tampoco con otras formas de C soluble ni con C total, lo que se atribuye al elevado contenido de materia orgánica de los suelos estudiados, que superan los valores umbrales por encima de los cuales la materia orgánica ya no tiene efectos apreciables en la agregación.

Palabras clave: estructura edáfica, agregados, estabilidad, materia orgánica, glomalina

Abstract

Organic matter plays an essential role in the aggregation of soil particles and thus in the development of a stable structure. Among the organic components, the role of glomalin, a glycoprotein produced by mycorrhizal fungi, whose content can be affected by various factors, including land use, has been highlighted in the formation of aggregates. In this work, the content of glomalin in 56 urban soils of Santiago de Compostela is analyzed, on different lithological substrates and vegetation (forestry, grassland and horticulture), and its relationship with the stability of aggregates is evaluated. Easily extractable glomalin concentrations vary between 0.8 and 9.6 mg g⁻¹ (mean value 4.8 mg g⁻¹, 8 % of soil organic matter), with no differences attributable to lithology or land use. No significant relationship of stability of aggregates in water is observed with glomalin, but neither with other forms of soluble C nor with total C, which is attributed to the high organic matter content of the soils studied, which exceed the threshold values above of which organic matter no longer has appreciable effects on aggregation.

Keywords: edaphic structure, aggregates, stability, organic matter, glomalina

Introducción

La glomalina es una glicoproteína producida y liberada al suelo por los hongos micorrízicos arbusculares. Se ha postulado que constituye el mayor componente de la materia orgánica del suelo y, por su lenta velocidad de degradación, se considera crucial para el almacenamiento de carbono orgánico del suelo (SOC) (Wang et al., 2020), participando activamente en la formación de agregados (Wright and Upadhyaya, 1996, 1998; Wright et al., 2007).

Se cuantifica de forma operativa, diferenciándose dos fracciones: la glomalina total (GT) y la glomalina fácilmente extraíble (GFE). La primera representa la máxima cantidad que puede ser extraída; está fuertemente unida a las partículas de suelo y requiere por ello de condiciones más drásticas de extracción que la GFE, que se considera de más reciente deposición y más relacionada con la estabilidad de la agregación (Wright & Upadhyaya, 1998).

La concentración de glomalina varía con el clima y usos del suelo (Rilling et al., 2003), siendo mínima en suelos antárticos y máxima en suelos de bosques tropicales. En prados y bosques templados se han obtenido valores de glomalina entre 0,23 y 5,80 mg g⁻¹ (Hossain, 2021).

Por sus efectos en la estructura del suelo, fertilidad química y retención de metales, la glomalina se considera un buen indicador de calidad (Vasconcellos et al., 2013; Almendras et al., 2002). Las actividades y cambios de uso asociados al crecimiento urbano tienen un fuerte impacto en las propiedades y calidad de los suelos, pudiendo afectar a la producción de glomalina. Sin embargo, hasta el momento se han llevado a cabo muy escasos estudios sobre la distribución de glomalina en suelos urbanos y los ya publicados apuntan a una drástica disminución de la relación GFE/SOC (Wang et al., 2018, 2019b, 2020).

Según nuestro conocimiento, no se han realizado estudios sobre glomalina en ambientes urbanos en España. En este trabajo se analiza la concentración de

glomalina en suelos urbanos de Santiago de Compostela, desarrollados sobre diferentes materiales geológicos y dedicados a distintos usos, y se evalúa su relación con otras propiedades edáficas, con particular atención a la estabilidad de agregados en agua.

Material y métodos

Se obtuvieron muestras compuestas de suelo, mezclando 4-5 submuestras tomadas con barrena (0–20 cm), en 56 zonas verdes de Santiago de Compostela, con representación de los suelos desarrollados sobre todos los materiales geológicos (granitos, esquistos, gneis y anfibolitas) y distintos usos del suelo (vegetación herbácea, forestal y huertos urbanos).

La medida de pH, C orgánico y N total se llevó a cabo en suelo seco al aire tamizado por 2 mm, siguiendo los métodos descritos en Guitián y Carballas (1976). El carbono soluble en agua (Cs, 20 °C, 30 min) y el carbono extraíble en agua caliente (HWC, 80 °C, 16 h) se determinaron según Ghani et al. (2003), empleando una relación sólido-líquido de 1:10, determinando el C en los extractos por oxidación húmeda con dicromato.

Para la estimación de la estabilidad de agregados se empleó suelo sin perturbar, separando la fracción 1-2 mm por tamizado ligero, y sometiéndola a agitación en agua, tras prehumectación lenta, según el método de Kemper y Rosenau (1986). La estabilidad se presenta como el porcentaje de suelo agregado que queda en el tamiz con luz de malla 0.250 mm después de secado a 103 °C y corrección por el peso del material grueso > 0,25 mm.

La determinación de la glomalina fácilmente extraíble se llevó a cabo según Wright y Upadhyaya (1996), con extracción de 1 g de suelo en 8 mL de citrato trisódico 20 mM pH 7,0, en autoclave a 121 °C durante 30 minutos, centrifugación y posterior determinación colorimétrica a 595 nm, mediante el ensayo Bradford, empleando una curva patrón con seroalbúmina.

Resultados y discusión

Las concentraciones de GFE oscilan entre 0,8 y 9,6 mg g⁻¹, con un valor medio de 4,8 mg g⁻¹, muy superior al encontrado en suelos urbanos (0,56 mg g⁻¹) por Wang et al (2020). No se observan diferencias significativas en este componente según el uso del suelo o la litología (Figura 1).

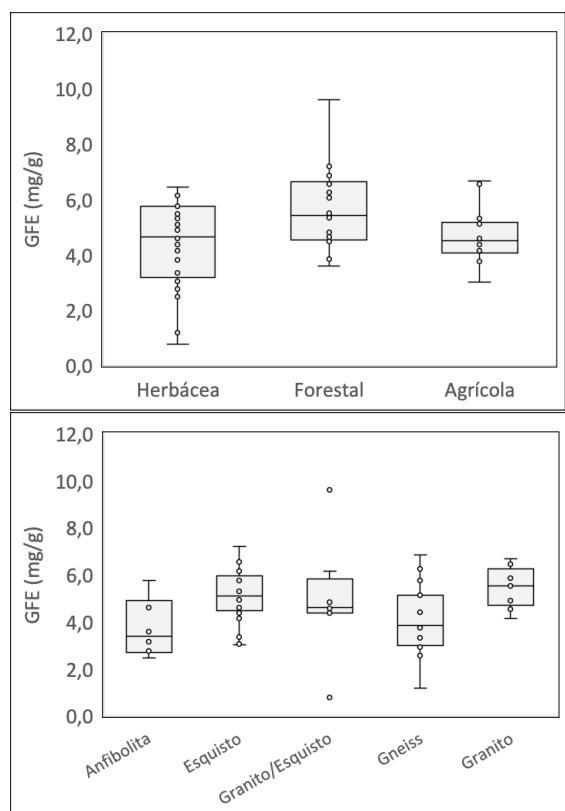


Fig. 1- Distribución de las concentraciones de glomalina fácilmente extraíble (GFE, mg g⁻¹), de acuerdo con el uso del suelo (arriba) y el sustrato geológico (abajo). Las líneas de las cajas representan los percentiles 25, 50 y 75%.

Se encuentra una correlación lineal significativa ($p<0,01$) de la glomalina con el contenido de C y N totales, ambos componentes mayoritarios de la materia orgánica del suelo, con un mejor ajuste a una relación logarítmica con C total (Figura 2). El contenido de GFE representa entre un 4 y un 15 % de la materia orgánica del suelo, con un valor medio del 8 %. Expresado como proporción del C total, considerando una concentración media de C en glomalina del 35 % (Rillig et al. 2003), la proporción oscila entre 2 y 9 %, con un valor medio del 5 %, ligeramente superior al observado por Wang et al (2019a) en suelos forestales de China (2-3 %).

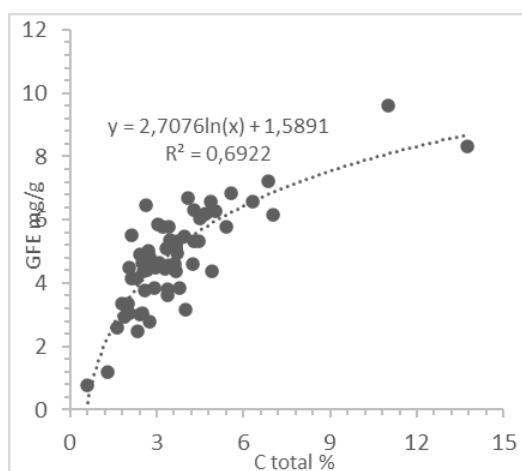


Fig. 2. Relación entre GFE y C total.

Se considera que las formas de C solubles en agua fría y caliente (Cs y HWC, respectivamente) representan las fracciones de materia orgánica lábil que se producen durante la descomposición microbiana de los residuos vegetales en el suelo (Von Lützow et al., 2007). Se observa correlación positiva significativa ($p<0,99$) entre GFE y ambos parámetros, si bien las concentraciones de GFE superan a las de Cs en dos órdenes de magnitud y en 1,8 veces la de HWC.

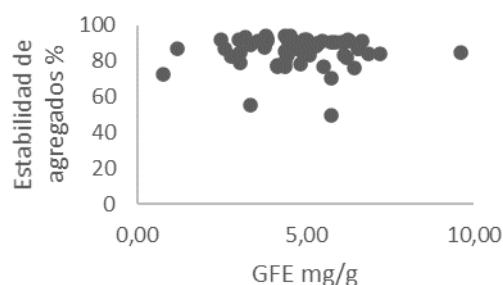


Fig. 3- Distribución de la estabilidad de agregados (%) en función de las concentraciones de glomalina fácilmente extraíble (GFE, mg g⁻¹).

No se encuentra en este caso una correlación entre estabilidad estructural y GFE (Figura 3), pero tampoco con C total, ni con las otras formas de C soluble Cs y HWC. Este comportamiento puede ser debido a la elevada estabilidad de los agregados de los suelos analizados, que supera en general el 70 %, con un valor medio de 86 %. Wright y Upadhyaya (1998) observaron que, más allá de una cierta saturación en un suelo dado, un aumento de glomalina no produce incrementos

detectables en la estabilidad en agua, proponiendo, como posible explicación, que el sellado de los poros con esta sustancia ralentizaría la penetración de agua en los agregados.

La estabilidad de los suelos estudiados puede ser atribuida a sus elevados contenidos de materia orgánica y óxidos de hierro. De acuerdo con Kemper y Koch (1966), se puede establecer un valor umbral del 1-2 % de materia orgánica del suelo para el desarrollo de una buena estabilidad de agregados, valor que Greenland et al (1975) eleva a 3,4 %, contenidos ampliamente superados en la mayoría de los suelos estudiados, que variaron entre 1,0 y 23,6 %, con un valor medio del 6,4 %.

Conclusiones

Los suelos urbanos de Santiago de Compostela presentan elevadas concentraciones de glomalin fácilmente extraíble (valor medio $4,8 \text{ mg g}^{-1}$, 8 % de la MOS), sin que existan diferencias atribuibles a la litología o uso del suelo. No se observa relación significativa de estabilidad de agregados en agua con la glomalin, pero tampoco con otras formas de C soluble ni con C total, lo que se atribuye al elevado contenido de materia orgánica de los suelos estudiados.

Agradecimientos

R. Paradelo agradece al Ministerio de Economía y Competitividad de España la beca Ramón y Cajal (RYC-2016-19286). Esta investigación ha sido financiada por la Xunta de Xunta de Galicia (Subvención nº ED431F 2018/04).

Referencias bibliográficas

- Almendras, A.S. & Wright, S.F. (2002). Glomalin: a potential soil quality indicator for Philippine uplands. *Philippine Journal of Crop Science*, 27, 44.
- Ghani, A., Dexter, M. & Perrott, K.W. (2003) Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil Biol. Biochem.*, 35, 1231-1243.
- Greenland, D.J., Rimmer, D. & Quirk, J.P. (1975). Determination of the structural stability class of English and Welsh soils, using a water coherence test. *Journal of Soil Science*, 26, 294-303.
- Gutián, F. & Carballas, M.T. (1976). Técnicas de análisis de suelos. Santiago de Compostela: Editorial Pico Sacro.
- Hossain, M. B. (2021). Glomalin and Contribution of Glomalin to Carbon Sequestration in Soil: A Review. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 9(1), 191-196.
- Kemper, W.D. & Koch, E.J. (1966). Aggregate stability of soils from Western United States and Canada. In *Acid Soil and Acid Rain. Second edition. USDA Technical Bulletin 1355*, Washington DC, USA: Research Studies Press.
- Kemper, W.D. & Rosenau, R.C. (1986). Aggregate stability and size distribution. In A. Klute (ed.) *Methods of soil analysis: Part 1—Physical and mineralogical methods*. 2nd ed. Agron. Monogr. 9 (pp. 425-442).. Madison, WI: ASA and SSSA.
- Rillig, M.C., Ramsey, P.W., Morris, S. & Paul, E.A. (2003). Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant and Soil*, 253, 293–299.
- Vasconcellos, R.L.F., Bonfim, J.A., Baretta, D., & Cardoso, E.J.B.. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin-related soil protein as potential indicators of soil quality in a recuperation gradient of the atlantic forest in Brazil. *Land degradation*, 2013, 10 pp. doi: 10.1002/ldr.2228
- Von Lützow, M., Kügel-Knabner, L., Ekschmitt, K., Flessa, H., Guggenberger, G., Matzner, E. & Marschner, B. (2007). SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. *Soil Biol. Biochem.*, 39, 2183-2207.
- Wang, Q., Wang, W., Zhong, Z., Wang, H. & Fu, Y. (2019a). Variation in glomalin in soil profiles and its association with climatic conditions, shelterbelt characteristics, and soil properties in poplar shelterbelts of Northeast China. *J. For. Res.*, 31, 279–290.
- Wang, Q., Wang, W.J., He, X.Y., Zhou, W., Zhai, C., Wang, P.J., Tang, Z., Wei, C.H., Zhang, B. & Xiao, L. (2019b). Urbanization-induced glomalin changes and their associations with land-use configuration, forest characteristics, and soil properties in Changchun, Northeast China. *J. Soils Sed.*, 19, 2433-2444.
- Wang, Q., Zhang, D., Zhou, W., He, X. & Wang, W. (2020). Urbanization led to a decline in glomalin-soil-carbon sequestration and responsible factors examination in Changchun, Northeastern China, *Urban Forestry & Urban Greening*, 48, 126506
- Wang, W.J., Wang, Q., Zhou, W., Xiao, L., Wang, H.M. & He, X.Y. (2018). Glomalin changes in urban-rural gradients and their possible associations with forest characteristics and soil properties in Harbin City, Northeastern China. *J. Environ. Manage.*, 224 (2018), pp. 225-234.
- Wright, S.F. & Upadhyaya, A. (1996). Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci.*, 161, 575–586.
- Wright, S.F. & Upadhyaya, A. (1998) A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 198, 97-107.
- Wright, S.F., Green, V.S. & Cavigelli, M.A. (2007). Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems. *Soil Tillage Res.*, 94, 546-549.

Short-term evolution of physico-chemical properties of Technosols made from contaminated soils by pyritic sludge

Evolución a corto plazo de las propiedades fisicoquímicas de Tecnosoles elaborados a partir de suelos contaminados por lodos piríticos

Aguilar-Garrido, Antonio^{1*}, Paniagua-López, Mario¹, Romero-Freire, Ana¹, Martínez Garzón, Francisco Javier¹, Fernández Ondoño, Emilia¹, Martín Peinado, Francisco José¹

¹ Departamento de Edafología y Química Agrícola, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, Campus Fuentenueva s/n, 18071 Granada, Spain. *email: antonioag@ugr.es

Abstract

The aim of this study was to evaluate, at short term, the physico-chemical and biological quality of residually contaminated soils after the Aznalcóllar mine spill and treated with "tailor-made Technosols". Two Technosols with different properties (T4 and T6) were used as treatments. Both are composed of *ex-situ* contaminated soil and two wastes from mining (sludge rich in iron oxyhydroxides and marble sludge); and T4 by a waste from agro-industry (solid olive-mill by-product) and T6 by one from urban activity (vermicompost from gardening). After 6 months of application, samples of Technosols and treated contaminated soils were characterised (soil properties, total, soluble and available concentrations of potentially harmful elements (PHEs), and toxicity bioassay with *Lactuca sativa* L.) and compared with baseline conditions. Some soils in the Guadiamar Green Corridor presented a significant environmental and human health risk due to their extreme characteristics ($\text{pH} < 4$, low fertility and multielemental contamination). After only six months, the application of Technosols on these soils has led to a significant improvement in their physico-chemical and biological properties (pH neutralisation, reduction of mobility PHEs and enrichment in organic carbon). So, in the long term, soil remediation through the Technosols is expected to be effective and proven in future studies.

Keywords: Soil remediation, metal(loid)s, waste valorisation, acid neutralisation, toxicity

Resumen

Nuestro objetivo fue evaluar, a corto plazo, la calidad fisicoquímica y biológica de suelos contaminados tras el accidente de Aznalcóllar y ser tratados con "Tecnosoles a la carta". Se aplicaron dos Tecnosoles (T4 y T6); ambos compuestos por suelos contaminados *ex-situ* y dos residuos procedentes de la minería (lodos ricos en oxihidróxidos de hierro y lodos de mármol); y T4 también por uno agrícola (subproductos sólidos de almazara) y T6 por uno urbano (vermicompost de jardinería). Tras 6 meses, se caracterizaron los Tecnosoles y los suelos contaminados tratados (propiedades del suelo, concentraciones totales, solubles y disponibles de elementos potencialmente contaminantes (EPCs), y bioensayo de toxicidad con *Lactuca sativa* L.) y compararon con las condiciones de partida. Algunos suelos del Corredor Verde del Guadiamar presentaban un importante riesgo ambiental y para la salud humana debido a sus características extremas ($\text{pH} < 4$, baja fertilidad y contaminación multielemental). La aplicación de los Tecnosoles ha mejorado significativamente sus propiedades fisicoquímicas y biológicas (neutralización del pH, reducción de la movilidad de los PHE y enriquecimiento en carbono orgánico) en tan solo 6 meses. Así pues, a largo plazo, se espera que la remediación de los suelos mediante los Tecnosoles sea eficaz y demostrada en futuros estudios.

Palabras clave: Remediación de suelos, metal(oides), valorización de residuos, neutralización de ácidos, toxicidad

Introduction

Soil contamination by potentially harmful elements (PHEs) is one of the most alarming degradation processes worldwide. Metal mining is one of the main pollutant sources, especially the mismanagement of waste derived from this activity. A notable example of the damage that can be caused by this type of contamination was the mine spill occurred in 1998 in Aznalcóllar (SW Spain), where 4.5 hm³ of acidic waters and toxic tailings were spilled into the Agrio and Guadiamar rivers (Simón, et al., 2001), eventually affecting 45 km² of soils. The consequences of this tragic environmental accident still persist to this day, with around 7% of the affected area with bare, acidic soils with high levels of some PHEs despite the implementation of one of the most ambitious soil remediation programmes ever undertaken (Martín Peinado, et al., 2015; García-Carmona, et al., 2019).

Rehabilitation of these contaminated areas is critical to prevent environmental degradation, as well as to control the exposure of human and other living organisms to PHEs (Pavel & Gavrilescu, 2008). Recently, one of the booming environmental rehabilitation technologies, based on sustainability and circular economy, is the use of waste-derived Technosols. This technology refers to those soils whose properties are characterised by their technical origin (Technosol "tailor made soils"; Macías, 2004). Technosols are produced mostly from waste and fulfill a specific function such as the acid neutralisation and immobilisation of PHEs, as well as the general soil functions. The effectiveness of this strategy in improving the physico-chemical and biological characteristics of mine tailings and leachates has been demonstrated in several studies using a wide range of different Technosols (Asemaninejad, et al., 2018; Jordán, et al., 2017; Santos, Abreu, & Macías, 2019). Likewise, Aguilar-Garrido et al. (2021) showed a high acid neutralising and immobilisation of PHEs capacity in soils affected by mining of some Technosols through laboratory assays. Therefore, here we have selected two of

the best Technosols from the previous study and applied them in an *in-situ* soil rehabilitation experiment.

The aim of this study is to evaluate, in the short term, the changes produced in the physico-chemical and biological properties of both treated contaminated soils and Technosols.

Material and methods

To remediate residually contaminated soils for more than 20 years due to the Aznalcóllar mining spill, we implemented a pilot project in the Guadiamar Green Corridor (Fig. 1). About 25 cm of two Technosols (T4 and T6) were surface applied on the contaminated soils, in triplicate. Technosols were developed by mixing *ex-situ* contaminated soils and organic/inorganic wastes from mining (sludge rich in iron oxihydroxides and sludge from the cutting and polishing of marble), urban activity (vermicompost from gardening) in T6, and agro-industry (solid olive-mill by-product) in T4, in the proportions set out in Table 1.

Table 1 – Composition of Technosols T4 and T6: % of contaminated soil and of each waste.

Technosol	PS	IO	MS	OL	VC
T4	59	2	20	19	-
T6	63	2	20	-	15

PS: contaminated soil, IO: sludge rich in iron oxihydroxides; MS: sludge from marble cutting, OL: solid olive-mill by-product; VC: vermicompost from pruning and gardening

After 1 month of incubation in the field (t_0) and 6 months of its application on the contaminated soil (t_1), composite samples of each of the Technosols (T4 and T6; depth: < 25 cm), and of the contaminated soil treated below each Technosol (T4-SC and T6-SC; depth: 25 cm - 30 cm) were collected. These samples were analysed to examine for changes in soil properties (pH and EC in 1:2.5 and 1:5 soil:water extract, respectively; organic C; calcium carbonate; total N and Fe; available P; cation exchange capacity; and basal heterotrophic respiration (ISO 17555, 2002)). The mobility and bioavailability of PHEs was also assessed by determining the multi-elemental concentration in the total

fraction (X-ray fluorescence with NITON XL3t-980 GOLDD+), water-soluble and available by EDTA extraction fractions (measured by PerkinElmer Avio® 500 ICP-OES). A bioassay with *Lactuca sativa* L. (OECD, 2003) was also carried out to evaluate the evolution of the toxicity of the soils studied. Changes in the parameters of the Technosols and the treated soils in time were evaluated using the non-parametric U Mann-Whitney test ($p < 0.05$).



Fig. 1 – Experimental plot and scheme of the rehabilitation system based on Technosols.

Results and discussion

Technosols (T4 and T6) with a sandy loam-loam texture were highly carbonated, with pH close to neutral or slightly alkaline. They also had a high total Fe and OC content, but low CEC was measured (Table 2). These soil properties and constituents play an important role in reducing the mobility and availability of PHEs in soils, as they are potential PHEs adsorbers and acidity neutralisers (Aguilar-Garrido, et al., 2021; Merdy, Gharbi, & Lucas, 2009).

Table 2. Properties of contaminated soil and Technosols at the beginning (t_0) and 6 months after installation (t_1).

	T4		T4-SC		T6		T6-SC	
	t_0	t_1	t_0	t_1	t_0	t_1	t_0	t_1
pH	7.03 a	7.78 b	3.60 a	7.33 b	7.12 a	7.79 b	3.60 a	6.71 b
EC	3.34	3.12	2.88 b	2.72 a	3.05 b	2.73 a	2.82	2.69
OC	2.92	2.16	0.45 a	0.87 b	2.29	2.39	0.59 a	0.92 b
CO ₃	21.60	19.47	0.68 b	0.41 a	30.39 b	19.10 a	0.62	0.38
N _T	0.20 a	0.22 b	0.10	0.10	0.18	0.20	0.10	0.10
Fe _T	4.58 b	3.96 a	4.82 b	3.85 a	3.63	3.76	5.11 b	4.13 a
P _A	9.15 b	3.25 a	6.98 b	3.42 a	73.97 b	13.47 a	6.29 b	4.41 a
CEC	8.93 a	12.10 b	7.99	8.90	9.75 b	7.58 a	6.96 a	9.27 b
SR	5.30	4.64	1.61 a	4.59 b	4.80	6.38	2.16	3.69

EC: electrical conductivity (dS m⁻¹); OC: organic carbon (%); CO₃: calcium carbonate content (%); N_T: total N content (%); Fe_T: total Fe content (%); P_A: assimilable P (mg kg⁻¹); CEC: cation exchange capacity (cmol₍₊₎ kg⁻¹); SR: basal respiration (µg CO₂ g soil⁻¹ h⁻¹). Lower-case letters indicate statistically significant differences over time.

The contaminated soil presented the same conditions observed in previous studies such as acidic pH, low OC content, low microbial activity and nutrient poverty (Table 2); as well as high concentrations of some PHEs (e.g. As, Cu, Pb, Ni and Zn) in the total, soluble and bioavailable fractions (Table 3).

Table 3. Total, water-soluble and available concentrations of metal(loid)s (mg kg⁻¹) of contaminated soil and Technosols at the beginning (t_0) and 6 months after installation (t_1).

	T4		T4-SC		T6		T6-SC	
	Total	t_0	t_0	t_1	t_0	t_1	t_0	t_1
As	215.2 b	187.0 a	274.1	189.3	187.0	183.9	288.7 b	234.1 a
Cd	<LOD							
Cu	95.3	93.1	81.5	77.5	75.1	75.4	84.9	75.8
Cr	55.2	55.4	94.8	101.6	53.7	55.8	91.9	85.8
Ni	31.3	25.2	35.8 b	29.9 a	30.2	25.6	36.0	38.9
Pb	477.7 b	418.6 a	548.9	402.7	422.9	380.6	553.6	405.3
Sb	20.6	17.8	24.9	18.1	16.3 b	<LOD a	22.8	21.4
Zn	168.1	151.9	144.9	167.1	156.9	167.8	129.0	134.1
Water-soluble								
As	0.23 a	0.51 b	0.20 b	0.17 a	0.37 a	0.59 b	0.20	0.16
Cd	0.008	0.004	0.221 b	0.000 a	0.010 b	0.005 a	0.175	0.042
Cu	0.47 b	0.19 a	3.39 b	0.08 a	0.30 b	0.07 a	3.20 b	0.14 a
Cr	0.017 b	0.000 a	0.057 b	0.000 a	0.014 b	0.000 a	0.044 b	0.003 a
Ni	0.041 b	0.012 a	1.398 b	0.000 a	0.017 b	0.000 a	1.177	0.351
Pb	<LOD							
Sb	0.123	0.153	0.055	0.049	0.131 b	0.107 a	0.031	0.051
Zn	0.26 b	0.10 a	35.54 b	0.04 a	0.16 b	0.05 a	27.79	6.75
Available – EDTA extraction								
As	0.90 a	2.42 b	2.45	2.58	2.54 a	3.48 b	2.42	3.73
Cd	0.38	0.34	0.28	0.29	0.38	0.40	0.24	0.23
Cu	16.18	13.11	19.29	18.38	15.14 b	13.68 a	17.88	15.25
Cr	0.18 b	0.12 a	0.18	0.27	0.21 b	0.12 a	0.15	0.20
Ni	0.50 b	0.27 a	1.55 b	0.71 a	0.57 b	0.27 a	1.31	0.81
Pb	0.69	0.09	0.25	1.67	0.71 b	0.35 a	0.71	0.55
Sb	0.23	0.31	0.15	0.28	0.25	0.33	0.18	0.27
Zn	31.51	21.94	38.47 b	17.44 a	37.29 b	28.82 a	29.88	18.33

LOD: Level of detection. Lower-case letters indicate statistically significant differences over time.

During these 6 months, with the treatment of Technosols, the contaminated soil was reverting its adverse conditions. Most notably, the strong acidic pH condition has been neutralised. In fact, a reduction in the calcium carbonate content was observed in the Technosols, especially at T6, as a result of the reaction of the latter buffering the soil pH. Likewise, a slight enrichment in OC is occurring in the underlying contaminated soil.

Regarding the mobility and availability of PHEs in the contaminated soil, there were significant reductions in the soluble fraction of Cd, Cu, Cr, Ni and Zn in both Technosols (higher reduction in T4). While in the available fraction no major changes have been observed yet. However, the toxicity bioassay with lettuce showed that the potential toxicity in the contaminated soil is decreasing, although in the T6-treated soil it was not statistically significant (Fig.1).

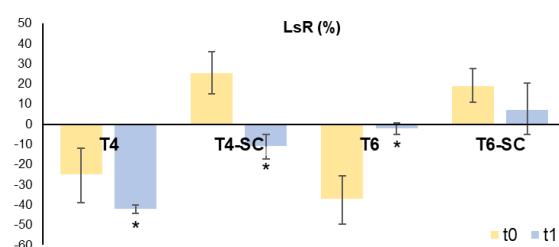


Fig. 1 – Reduction in the elongation of *Lactuca sativa* L. compared to a control (distilled water). * indicates statistically significant differences over time.

Conclusions

The application of Technosols on residually contaminated soils has led to a significant improvement in the physico-chemical and biological quality of the soils only six months later. Thus, expectations for further progress in the soil remediation process over time are high. In fact, in future studies, the development of a vegetation cover on the technosols is expected, which has not yet occurred due to the sampling times (April-October).

Acknowledgements

This work was supported by the Research Project RTI 2018-094327-B-I00 and Grant FPU-18/02901 (Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities). We also thank Junta de Andalucía for permission to use experimental sites in the Protected Landscape of the Corredor Verde del Guadiamar (Seville, Spain).

References

- Aguilar-Garrido, A., García-Carmona, M., Sierra-Aragón, M., Martín-Peinado, F., & Martínez Garzón, F. (2021). Carbonated waste valorisation from a peat bog exploitation in the treatment of arsenic-polluted waters. *International Journal of Environmental Science and Technology*.
- Aguilar-Garrido, A., Martínez Garzón, F. J., Paniagua-López, M., Sierra-Aragón, M., & Martín Peinado, F. J. (2021). Technosols made from organic/inorganic wastes for soil remediation: A microcosm study. *Congresso Ibérico "Solos e Desenvolvimento Sustentável. Desafios e Soluções"* (pp. 255-256). Porto, Portugal: Universidade do Porto.
- Asemaninejad, A., Arteaga, J., Spiers, G., Beckett, P., McGarry, S., Mykytczuk, N., & Basiliko, N. (2018). Blended pulp mill, forest humus and mine residual material Technosols for mine reclamation: A growth-chamber study to explore the role of physiochemical properties of substrates and microbial inoculation on plant growth. *Journal of Environmental Management*, 228, 93-102.
- García-Carmona, M., García-Robles, H., Turpín Torrano, C., Fernández-Ondoño, E., Lorite Moreno, J., Sierra Aragón, M., & Martín Peinado, F. (2019). Residual pollution and vegetation distribution in amended soils 20 years after a pyrite mine tailings spill (Aznalcóllar, Spain). *Science of the Total Environment*, 650, 933-940.
- ISO 17555. (2002). *Soil quality. Determination abundance activity soil microflora using respiration curves. International Standard ISO No.17155*. International. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Jordán, M. M., García-Sánchez, E., Almendro-Candel, M. B., Pardo, F., Vicente, A. B., Sanfeliu, T., & Bech, J. (2017). Technosols designed for rehabilitation of mining activities using mine spoils and biosolids. Ion mobility and correlations using percolation columns. *Catena*, 148, 74-80.
- Macías, F. (2004). Recuperación dos solos degradados, reutilización de residuos e secuestro de carbono. Unha alternativa integral de mellora da calidade ambiental (in Galego). *Recursos Rurais*, 1, 49-56.
- Martín Peinado, F., Romero-Freire, A., García Fernández, I., Sierra Aragón, M., Ortiz-Bernad, I., & Simón Torres, M. (2015). Long-term contamination in a recovered area affected by a mining spill. *Science of the Total Environment*, 514, 219-223.
- Merdy, P., Gharbi, L. T., & Lucas, Y. (2009). Pb, Cu and Cr interactions with soil: Sorption experiments and modelling. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 347, 192-199.
- OECD. (2003). *Guideline for the testing of chemicals. Proposal for updating Guideline 208. Terrestrial plant test: 208: Seedling emergence and seedling growth test*. Organization. Paris, France: Organization for Economic Cooperation and Development.
- Pavel, L., & Gavrilescu, M. (2008). Overview of ex situ decontamination techniques for soil cleanup. *Environmental Engineering and Management Journal*, 7(6), 815-834.
- Santos, E. S., Abreu, M. M., & Macías, F. (2019). Rehabilitation of mining areas through integrated biotechnological approach: Technosols derived from organic/inorganic wastes and autochthonous plant development. *Chemosphere*, 224, 765-775.
- Simón, M., Martín, F., Ortiz, I., García, I., Fernández, J., Fernández, E., & Aguilar, J. (2001). Soil pollution by oxidation of tailings from toxic spill of a pyrite mine. *Science of the Total Environment*, 279(1), 63-74.

Restauración de estériles de mina con enmiendas orgánicas y especies vegetales: Impacto sobre las propiedades físicas del suelo

Restoration of mine tailings with organic amendments and plant species: Impact on the physical properties of the soil

**Monterroso, Carmela^{1*}, Paradelo, Remigio¹, Romero, Marc¹, Guerra, Aida¹, Álvarez, Vanesa²,
Prieto, Ángeles³, Rodríguez, Beatriz³, Kidd, Petra^{3†}**

¹ CRETUS, Dep. Edafología e Química Agrícola, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Vida, 15782-Santiago, España

² Dep. Producción Vegetal, Universidad de Santiago de Compostela, Rúa Benigno Ledo, 27002-Lugo, España

³ Misión Biológica de Galicia-Sede Santiago de Compostela, CSIC, Avda. de Vigo s/n, 15705-Santiago, España

*carmela.monterroso@usc.es

Resumen

El uso de enmiendas orgánicas formuladas a partir de residuos en la restauración de suelos contaminados es una práctica habitual que permite, además de valorizar residuos, mejorar las condiciones de desarrollo vegetal y reincorporar nutrientes a los ciclos biogeoquímicos naturales. No obstante, hay pocos ensayos de campo que permitan evaluar el efecto a largo plazo de esta práctica sobre las propiedades del suelo. El objetivo de este trabajo es hacer un seguimiento de la evolución de las propiedades físicas del suelo en estériles de mina restaurados mediante la aplicación de enmiendas orgánicas en combinación con la plantación de distintas especies vegetales (fitogestión), *Salix viminalis* o *Agrostis capillaris*. Las condiciones físicas del suelo eran muy desfavorables para el crecimiento vegetal en los suelos de mina sin tratar, que presentaban texturas gruesas, elevada densidad, baja porosidad y baja capacidad de almacenamiento de agua. Las técnicas de fitogestión mejoraron la agregación, redujeron la compactación y la densidad del suelo, y aumentaron su porosidad y la capacidad de retención de agua, recuperando características similares los suelos naturales del entorno.

Palabras clave: restauración de suelos de mina, fitogestión, propiedades físicas del suelo, enmiendas orgánicas

Abstract

The use of organic residue - based amendments for the restoration of polluted soils is a common practice that allows to improving soil properties and reincorporating plant nutrients to the natural biogeochemical cycles, in addition to waste valorizing. However, there are few field trials evaluating the long-term effect of this practice on soil properties. The objective of this work is to monitor the evolution of soil physical properties in mine soils restored with organic amendments in combination with two plant species (phytomanagement), *Salix viminalis* or *Agrostis capillaris*. In the non-treated soil the physical properties were very desfavourable for plant growth, with coarse textures, high density, low porosity and low capacity of water retention. Phytomanagement techniques improved aggregation, reduced both soil compaction and density, and increased both porosity and water retention capacity, recovering characteristics similar to f the surrounding natural soils.

Keywords: minesoil restoration, phytogestion, soil physical properties, organic amendments.

Introducción

El uso de diferentes tipos de enmiendas para mejorar las propiedades físicas, químicas o biológicas de un suelo es una práctica habitual en la restauración de suelos degradados. Como ejemplo frecuente de materiales aplicados se encuentra el compost orgánico obtenido a partir de lodos de depuradora de aguas residuales, residuos sólidos urbanos o estiércol. El compostaje estabiliza los residuos orgánicos y reduce su contenido en materia orgánica disuelta (DOM), que de otra forma podría formar complejos metálicos y provocar su lixiviación a través del suelo [Tandy et al., 2009]. Estos mismos residuos también pueden ser estabilizados mediante la incorporación materiales de residuos inorgánicos, como los procedentes de construcción o de otros procesos industriales (Macías et al., 2007).

Conjuntamente con las enmiendas, la fitogestión permite, mediante plantación de diferentes especies vegetales, la rehabilitación del suelo gracias al aporte de nutrientes y materia orgánica, y a su capacidad para reducir la toxicidad de metales contaminantes. En suelos de mina, caracterizados por una elevada acidez, escasez de nutrientes y materia orgánica, baja capacidad de retención de agua y una alta concentración de elementos traza (Wong, 2003), existen incluso determinadas plantas capaces de crecer y crear una cubierta vegetal estable. Como ejemplos de estas especies se encuentran herbáceas, como *Poa pratensis*, *Agrostis capillaris*, *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra* y *Festuca ovina*, o leñosas como *Salix* o *Populus* (Pierzynski et al., 2002).

Existe un número limitado de estudios de evaluación de la viabilidad y eficacia de las técnicas de fitogestión, por lo que, para conseguir su aplicación a gran escala, es evidente la necesidad de realizar ensayos de campo a largo plazo (Kidd et al., 2015).

En el presente trabajo se estudia la evolución de las propiedades físicas del suelo, durante 10 años, en una

escombrera de estériles de mina restaurada mediante la aplicación de distintas enmiendas orgánicas en combinación con la implantación de una cobertura vegetal (*Agrostis capillaris* o *Salix viminalis*).

Material y métodos

Lugar de estudio

El estudio se realizó en la antigua mina de Cu del NW de España, que forma parte de la red PhytoSUDOE de emplazamientos fitogestionados (Proyecto Phy2SUDOE, SOE4/P5/E1021). La escombrera de la mina cubre un área de alrededor de 550 ha y el substrato geológico es anfibolita con presencia significativa de sulfuros metálicos (pirita, pirrotita, y calcopirita). Los suelos de la mina, clasificados como *Spolic Technosoil* (IUSS Working Group WRB, 2006), son muy pedregosos, compactos y extremadamente ácidos, lo que imposibilita el establecimiento vegetal. El clima de la de la región es Atlántico con una precipitación media anual de 1900 mm y una temperatura media de 12,6 °C (Touceda-González et al., 2017).

Diseño experimental

En 2011 se establecieron ensayos de fitoestabilización asistida con enmiendas orgánicas sobre la escombrera carente de vegetación (Touceda-González et al., 2017) El terreno se dividió en tres bloques, uno para cada tratamiento (PC, PT1 y PT2). La enmienda denominada PC fue elaborada a partir de lodos de depuradora compostados; la PT1 a partir de lodos de depuradora estabilizados con ceniza de biomasa y oxihidróxidos de Fe de baja cristalinidad; y la PT2 por lodos de depuradora estabilizados con ceniza de biomasa y lodos de alúmina. Cada bloque se dividió, en parcelas de 5 x 5 m, en las que se sembró por triplicado *Agrostis capillaris* o *Salix viminalis*. Como referencia se dejaron parcelas enmendadas sin plantar (UNP) y parcelas sin tratar y sin plantar (UNT). Las parcelas se dejaron evolucionar sin tratamientos

posteriores. Las enmiendas se obtuvieron de la empresa Tratamientos Ecológicos de Noroeste (TEN S.L.) y se aplicaron a razón de 25 t ha⁻¹.

En cada parcela se tomaron muestras de suelo (20 cm superficiales) después de 1, 6 y 10 año a partir de la aplicación de las enmiendas y de la plantación de las especies vegetales.

Métodos de análisis

Se realizaron por triplicado las determinaciones de densidad aparente, porosidad, capacidad de retención de agua, estabilidad de agregados, análisis granulométrico y textura del suelo. La densidad aparente y la porosidad se determinaron mediante la recuperación *in situ* de muestras de suelo inalterado, en cilindros de volumen conocido (100 cm³). La capacidad de retención de agua se determinó gravimétricamente después del encharcamiento, drenaje y secado de un volumen conocido de suelo inalterado, siguiendo el protocolo propuesto por (Zhang et al., 2006). La estabilidad de los agregados se determinó en laboratorio de acuerdo con el método de tamizado en húmedo descrito por (Kemper et al., 1986), que evalúa la estabilidad de los agregados de tamaño 1-2 mm. El análisis granulométrico se realizó por tamizado y sedimentación mediante el método de la pipeta y la clase textural se estimó según la clasificación del USDA.

Resultados y discusión

La textura del suelo fue dominante franco arenosa en todas las parcelas de ensayo (tratadas y no tratadas). En los suelos sin tratar, la densidad aparente fue muy elevada y limitante para un adecuado desarrollo vegetal (1,4-1,6 g/cm³), pero la aplicación de enmienda orgánica y el desarrollo vegetal tuvieron un impacto muy positivo sobre este parámetro (Figura 1). Después de 6 años, en las parcelas tratadas la densidad se redujo a 0.95-1.15 g/cm³ (valores medios), y además, se observó una reducción posterior después de 10 años (valores medios de 0.60-0.88 g/cm³), encontrándose los valores más

bajos en las parcelas enmendadas y plantadas con *S. viminalis*. Esto se reflejó también en un importante incremento de la porosidad del suelo, llegándose a alcanzar con algunos tratamientos valores propios de los suelos naturales de la zona.

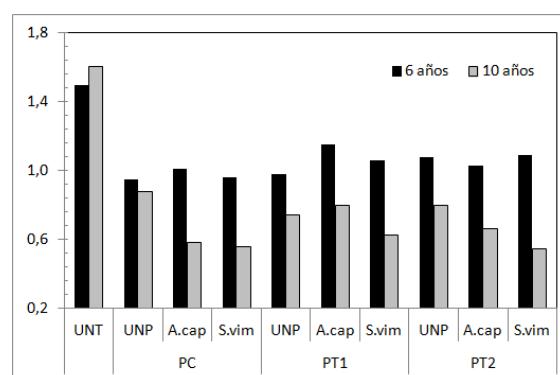


Fig. 1. Densidad aparente del suelo (valores medios, g/cm³) después de 6 y 10 años del establecimiento de las parcelas de ensayo. UNT=parcela no tratada; UNP=parcela tratada, no plantada; PC, PT1, PT2 = parcelas tratadas con enmiendas edáficas.

De forma paralela, las enmiendas edáficas y la vegetación tuvieron un impacto positivo sobre el comportamiento hídrico del suelo, aumentando la capacidad máxima de almacenamiento de agua (hasta valores medios de 0,55 a 0,68 g cm⁻³). La enmienda hizo aumentar la fracción de agua capilar, y un incremento adicional se observó en las parcelas plantadas. Por el contrario, la fracción de agua gravitacional descendió en los suelos plantados (con respecto a los suelos enmendados no plantados) y este descenso fue consistentemente más marcado en los suelos con *S. viminalis* en las tres enmiendas. Este comportamiento refleja un efecto positivo de la vegetación, especialmente con la incorporación de *S. viminalis*, sobre la porosidad efectiva del suelo.

Los suelos sin tratar presentaron un 45% de agregados estables. Este porcentaje aumentó hasta valores medios en torno al 70% tras la aplicación de las enmiendas orgánicas y la vegetación produjo un incremento adicional de hasta un 15%. La estabilidad de los agregados hace referencia a su resistencia a la ruptura cuando son sometidos a fuerzas externas.

Afecta al movimiento de agua, la erosión y crecimiento de las raíces de las plantas y, por tanto, determina la sensibilidad del suelo frente al sellado y la capacidad para almacenar carbono a través de la protección física de las moléculas orgánicas.

Los factores que más afectan a la estabilidad de los agregados son: la cantidad/tipo de materia orgánica, el contenido en óx(hidro)idos de hierro, las poblaciones microbianas y el crecimiento de micelios fúngicos (eg Amézketa, 1999). Además, la formación de complejos C-Al (órgano-alumínicos), puede ser un mecanismo importante de estabilización de la MOS en suelos ácidos (Calvo de Anta et al., 2020). Todos estos factores justificarían el incremento de estabilidad inducido con el aporte de las enmiendas y el desarrollo vegetal observado.

Conclusiones

Las condiciones físicas del suelo eran muy negativas en los suelos de mina sin tratar, con texturas gruesas, elevada densidad, baja porosidad y baja capacidad de almacenamiento de agua. La combinación de aplicación de enmiendas orgánicas y desarrollo de una cubierta vegetal (distintos patrones de cultivo) generaron un efecto muy positivo sobre las condiciones físicas del suelo. El uso de enmiendas orgánicas favoreció la formación de agregados estables y aumentó la porosidad y la capacidad de retención de agua, permitiendo el establecimiento de los cultivos. Una mejora adicional fue obtenida tras el desarrollo vegetal (especialmente con el cultivo de *S. viminalis*), probablemente gracias al crecimiento de las raíces y un aporte extra de biomasa. En conjunto, las técnicas de fitogestión mejoraron la agregación, redujeron la compactación y la densidad del suelo, y aumentaron su porosidad y la capacidad de retención de agua, recuperando las características de los suelos naturales del entorno.

Agradecimientos. Financiado con fondos FEDER, Programa Interreg-SUDOE

(Proyectos PhytoSUDOE-SOE1/P5/E0189 y Phy2SUDOE-SOE4/P5/E1021).

Referencias bibliográficas

- Amézketa, E. (1999). Soil aggregate stability: a review. *Journal of sustainable agriculture*, 14(2-3), 83-151.
- Calvo de Anta, R. C., Luís, E., Febrero-Bande, M., Galiñanes, J., Macías, F., Ortíz, R., & Casás, F. (2020). Soil organic carbon in peninsular Spain: influence of environmental factors and spatial distribution. *Geoderma*, 370, 114365.
- IUSS Working Group WRB, 2006. IUSS World Reference Base for Soil Resources 2006. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome.
- Kemper, W., Rosenau, R. and Nelson, S. (1986). Gas Displacement and Aggregate Stability of Soils1. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49, 25.
- Kidd, P., Mench, M., Alvarez-Lopez, V., Bert, V., Dimitriou, I., Friesl-Hanl, W., ... & Puschenreiter, M. (2015). Agronomic practices for improving gentle remediation of trace element-contaminated soils. *International journal of phytoremediation*, 17(11), 1005-1037.
- Macías, F., Bao, M., Macías-García, F., Camps Arbestain, M., 2007. Valorización biogeoquímica de residuos por medio de la elaboración de Tecnosoles con diferentes aplicaciones ambientales. *Aguas & Residuos*, 5: 12-25.
- Pierzynski, G.M., Schnoor, J.L., Youngman, A., Licht, L., Erickson, L.E., 2002. Poplar trees for phytostabilization of abandoned Zinc-Lead smelter. Pract. Period. Hazard. Toxic Radioact. Waste Manage. 6, 177-183.
- Tandy, S., Healey, J.R., Nason, M.A., Williamson, J.C., Jones, J.L., 2009. Remediation of metal polluted mine soil with compost: Co-composting versus incorporation. *Environ. Pollut.* 157, 690-697.
- Touceda-González, M., Álvarez-López, V., Prieto-Fernández, Á., Rodríguez-Garrido, B., Trasar-Cepeda, C., Mench, M., Puschenreiter, M., Quintela-Sabarís, C., Macías-García, F. and Kidd, P. (2017). Aided phytostabilisation reduces metal toxicity, improves soil fertility and enhances microbial activity in Cu-rich mine tailings. *Journal of Environmental Management* 186, pp.301-313.
- Wong, M.H., 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* 50, 775-780
- Zhang, Y., Liu, S., & Ma, J. (2006). Water-holding capacity of ground covers and soils in alpine and sub-alpine shrubs in western Sichuan, China. *Acta Ecologica Sinica*, 26(9), 2775-2781.

Recuperación de un suelo contaminado con clorpirifós usando nuevas cepas bacterianas y ciclodextrina. Evaluación de su efectividad a través de estudios de ecotoxicidad

Remediation of a chlorpyrifos contaminated soil using novel bacterial strains and cyclodextrin. Evaluation of its effectiveness by ecotoxicity studies

Lara-Moreno, Alba^{1,2*}, Morillo, Esmeralda¹, Merchán, Francisco², Madrid, Fernando¹, Villaverde, Jaime

¹ Department of Agrochemistry, Environmental Microbiology and Soil Conservation, Institute of Natural Resources and Agrobiology of Seville, Spanish National Research Council (IRNAS-CSIC), Seville, Spain *alara9@us.es

² Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Pharmacy, University of Seville, Seville, Spain

Resumen

Clorpirifos (CLP) es uno de los insecticidas más usados en el mundo. Sin embargo, es altamente tóxico para los organismos vivos y persistente en el medio ambiente. El tratamiento biológico es considerado como una buena opción para recuperar áreas contaminadas. Dos cepas bacterianas, *Bacillus megaterium* CCLP1 y *Bacillus safensis* CCLP2 fueron aisladas a partir de dos suelos agrícolas a través de cultivos de enriquecimientos en presencia de CLP como única fuente de carbono y energía. Estas cepas fueron capaces de eliminar un 99.1 y 98.9% de CLP en solución tras 60 d de ensayo (concentración inicial: 10 mg L⁻¹). Varios tratamientos fueron aplicados en un suelo artificialmente contaminado con CLP para su biorrecuperación: 1. bioestímulo, adicionando macro- y micronutrientes; 2. bioaumento, inoculando *B. megaterium* CCLP1 o *B. safensis* CCLP2; 3. Adición de β-ciclodextrina aleatoriamente metilada (RAMEB), como potenciador de la biodisponibilidad; 4. bioaumento + RAMEB. Los mejores resultados de biodegradación de CLP fueron obtenidos cuando bioaumento y RAMEB fueron aplicados conjuntamente. Tras el tratamiento de biodegradación, un ensayo ecotoxicológico fue realizado para verificar la efectividad de la estrategia de biorrecuperación en el suelo. Los resultados mostraron que las bacterias inoculadas individualmente en el suelo fueron capaces de reducir la toxicidad a niveles indetectables.

Palabras claves: Clorpirifos, biorrecuperación, suelo, *Bacillus*, ciclodextrina

Abstract

Chlorpyrifos (CLP) is one of the most widely used insecticides in the world. However, it is highly toxic for living organisms and persistent in the environment. Biological treatment is considered as a good option to remediate polluted environmental areas. Two bacterial strains, *Bacillus megaterium* CCLP1 and *Bacillus safensis* CCLP2 were isolated from two selected agricultural soils (R and LL), using enrichment technique in presence of CLP as only carbon and energy source. These strains were able to remove in solution up to 99.1 and 98.9% of CLP after 60 d (initial concentration: 10 mg L⁻¹). Several treatments were performed in a soil artificially contaminated with CLP to enhance its remediation: 1. biostimulation, adding micro- and macronutrients; 2. bioaugmentation, inoculating *B. megaterium* CCLP1 or *B. safensis* CCLP2; 3. Addition of randomly methylated β-cyclodextrin (RAMEB), as bioavailability enhancement; 4. bioaugmentation + RAMEB. The best CLP biodegradation results were achieved when bioaugmentation and RAMEB were jointly applied. After biodegradation treatment, an ecotoxicological test was carried out to verify the effectiveness of the bioremediation strategy in soil. Results pointed out that bacteria individually inoculated into the soil were able to decrease the toxicity to undetectable levels.

Keywords: Chlorpyrifos, bioremediation, soil, *Bacillus*, cyclodextrin

Introduction

Chlorpyrifos (CLP) [O, O-diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate] is an organophosphorus insecticide. Currently, its use is banned throughout the European Union, but it is still used in South America and Asian countries, and with some restrictions in China and USA. It has been one of the most widely applied pesticides due to its low-cost and its high efficiency, (Bose et al., 2021). CLP involves a serious risk for humans, since it is an acetyl cholinesterase (AChE) inhibitor, causing neurotoxic disorders. Nowadays its presence remains in water samples and soils even in those countries where CLP had been banned. Its continued application leads to its accumulation in soils, affecting their properties and productivity (Bose et al., 2021).

Microbial biodegradation is one of the best strategies to remove CLP from the environment. Biostimulation and bioaugmentation are used to enhance its bioremediation (Rayu et al., 2017). CLP is highly hydrophobic and persistent in soils, and bioavailability is an essential factor in efficiency of pesticide biodegradation in soils. For this reason, cyclodextrins (CDs) have been recognized as a tool for the elimination of pesticides in soils, since they are able to increase their water solubility, enhancing bioavailability to accelerate its biodegradation (Morillo et al., 2020).

The objective of this work was to bioremediate a soil contaminated with the insecticide CLP in presence of the bacterial strains *B. megaterium* CCLP1 or *B. safensis* CCLP2. Both strains were isolated from two agricultural soils treated with CLP for years. Several biodegradation treatments were performed: biostimulation, adding macro-and micronutrients solutions (NS), bioaugmentation, inoculating isolated bacterial strains, and addition of a CD as availability enhancer. Lastly, the feasibility of bioremediation strategy was verified through ecotoxicological studies at the beginning and after the CLP decontamination treatments.

Materials and Methods

Insecticide: CLP provided by Sigma-Aldrich (purity > 98%).

Bacterial strains: *B. megaterium* CCLP1 and *B. safensis* CCLP2 isolated from agricultural soils by enrichment cultures with CLP.

Soil:

Table 1- Some properties of the soil used.

Soil	pH	CO ₃ ⁻² (%)	OM (%)	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)
ALC	5.1	0.5	13.9	69.1	7.8	23.1

Cyclodextrin: randomly methylated β-cyclodextrin (Cyclolab, Budapest, Hungary).

Biodegradation experiments

25 mL sterilized glass vials were used in triplicates for biodegradation tests. Each vial contained: 1 g of contaminated soil sample (50 mg kg⁻¹ CLP) and the required volume of NS to reach 40% of the soil water holding capacity (73.4 ml per 100 g of soil) for biostimulation. Several biodegradation strategies were designed, where contaminated soil was treated with a solution of RAMEB (an amount corresponding to 10 times that of the CLP molar soil concentration initially added) and/or bioaugmented, inoculating the isolated degrading bacteria (10⁸ CFU g⁻¹). Abiotic degradation control tests were also performed by adding 200 mg L⁻¹ of HgCl₂. All assays were kept at 30°C under agitation at 180 rpm during 100 d. Samples were taken at different incubation periods to monitor the concentration of CLP. 1 g of soil sample was extracted with 5 mL of acetonitrile:water (90:10). The extraction process was: 1) 1 min under vortex mixer, 2) 10 min in an ultrasound bath, 3) 1 h of shaking at 100 rpm and 20 ± 1°C, and 4) 10 min centrifugation at 8000 rpm. Residual CLP was quantified by GC/MS. The separation was achieved with a 30×0.25 mm I.D. DB-5 MS (J&W Scientific, Agilent Technologies) column, which is covered with phenyl methylpolysiloxane 5%. The analytical method used was based on the method described by Ishag et al., (2016). Biodegradation curves were adjusted to three kinetic models: First Simple Order Kinetics (SFO), Hockey-Stick Model (HS)

kinetics or Multicompartmental First Order Model (FOMC), following the indications of the Focus working group.

Toxicity analysis

Microtox® Test System using *Vibrio fischeri* was employed to measure the toxicity of bioremediated soil. Briefly, 3 mL of NaCl at 2% were added to 2 g of soil. These suspensions were shaken for 10 min, and centrifuged (2 min, 10000 rpm). Samples were serially diluted (1:2) with NaCl at 2% solution. After 15 min of exposure, the bioluminescence was read to calculate EC₅₀ and TU. EC₅₀ indicates the pollutant concentration (% v/v) that produce a reduction of 50% in *V. fischeri* luminescence, and the toxic units (TU) were calculated according to the equation TU = 100/EC₅₀.

Toxicity was measured at the beginning and at the end of the treatment and was analysed relatively to the control.

Results and discussion

CLP biodegradation in soil

Table 2 shows the different treatments conducted to achieve an effective remediation of the soil contaminated with CLP.

Treatments	
T1	Soil (non-inoculated) + HgCl ₂
T2	Soil (non-inoculated) + NS
T3	Soil + NS + <i>B. megaterium</i> CCLP1
T4	Soil + NS + <i>B. safensis</i> CCLP2
T5	Soil + NS + RAMEB
T6	Soil + NS + RAMEB + <i>B. megaterium</i> CCLP1
T7	Soil + NS + RAMEB + <i>B. safensis</i> CCLP2

Table 2- Treatments performed in this study.

ALC soil from a Natural Park, was used to carry out biodegradation test. No significant biodegradation was observed in the non-inoculated soil in presence of its endogenous soil microbiota (0.3% after 100 d, Fig. 1, T1). However, when NS was added to stimulate soil

microbiota, a slight increase in the biodegradation percentage was observed (15.7%, Fig. 1, T2), but DT₅₀ value (required time for the pollutant concentration to decline to half of its initial value) was almost 2 years (Table 3). It indicates the high persistence of CLP in this soil. Based on these results, the application of bioremediation techniques such as bioaugmentation and the addition of RAMEB to improve the soil CLP biodegradation rate were considered.

B. megaterium CCLP1 and *B. safensis* CCLP2 were inoculated individually. After 100 d of inoculation, 60.6% and 64.8% of extent of degradation was reached, respectively (Fig. 1, T3, T4). In addition, DT₅₀ was significantly reduced from 696.6 d (only with biostimulation) to 44.6 and 47.1 d (Table 3) in the case of inoculation with *B. megaterium* CCLP1 and *B. safensis* CCLP2, respectively.

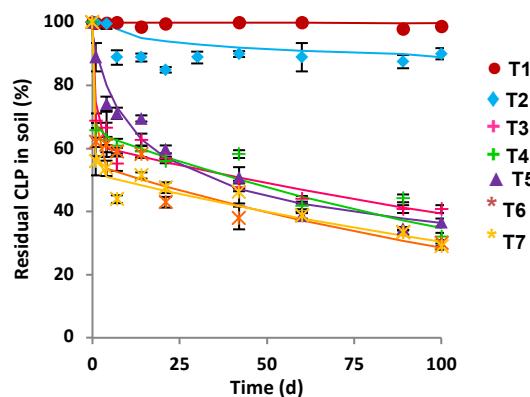


Fig. 1 – CLP biodegradation curves in ALC soil after the application of different treatments.

Table 3- Calculated kinetic parameters for CLP biodegradation in soil.

Treatment	Kinetic model	DT ₅₀	Extent of biodegradation (%)
T1	SFO	∞	0.3
T2	SFO	696.6	15.7
T3	HS	44.6	60.6
T4	HS	47.1	64.6
T5	FOMC	38.9	63.6
T6	HS	14	71.5
T7	HS	7.9	69.6

RAMEB was added to ALC soil (Fig. 1, T5), achieving a 63.6% of biodegradation, and a decreasing in DT₅₀ (38.9 d), regarding NS treatment. RAMEB would be provoking an increase of the CLP fraction in the soil solution, which involves an improvement in its extent and rate of biodegradation (Köse et al., 2022). CCLP1 or CCLP2 strains, jointly applied with RAMEB, were the most effective treatments (Fig. 3). DT₅₀ was reduced to 14 and 7.9 d, respectively (Table 3).

Toxicity analysis in soil samples

The toxicity of the CLP and their potential formed metabolites remaining in soil were assessed at the end of the bioremediation process. Results were compared according to classification proposed by Persoone et al. (2003) (Table 4). Non-inoculated contaminated soil (T1) showed a value of TU 5.6 (1 < TU < 10, acute toxicity). However, in presence of *B. megaterium* CCLP1, the toxicity was undetectable after 100 d. When *B. safensis* CCLP2 was inoculated, the level of toxicity decreased from acute toxicity to non-toxic (TU 0,004, TU < 0.4, non-toxic). These results confirmed its ability to degrade CLP to non-toxic substances. In addition, the effectiveness of bioaugmentation and RAMEB addition (T6 and T7 experiments) was demonstrated since no toxicity was detected in any case (Table 4). It is worth noting that, as far as we know, no study of CLP ecotoxicity in soil has been published previously.

Table 4- Acute toxicity test towards *V. fischeri* before and after 100 d of incubation.

Treatment	EC ₅₀ (%)	TU	Toxicity
T1	17,8	5,6	Acute
T3	-	-	Non toxic
T4	25363	0,004	Non toxic
T6	-	-	Non toxic
T7	-	-	Non toxic

Conclusions

B. megaterium CCLP1 and *B. safensis* CCLP2, isolated in our lab from two agricultural soils by enrichment cultures, in presence of CLP as the only carbon source, proved to be able to degrade CLP in soil.

RAMEB was used as a bioavailability enhancer of CLP in soil due to its ability to form an inclusion complex. However, the most effective treatment was the joint application of bacterial strains and cyclodextrin. The feasibility of bioremediation strategy was checked using ecotoxicological studies, showing a decline in toxicity parameters in all cases where the selected bacterial strains were used. A complete elimination in the toxicity was achieved, when bioaugmentation and CD treatments were applied, reducing also the time required to remediate the soil to less than 14 d. It is concluded that, biodegradation should be considered as a useful process to degrade CLP, but the soil particular conditions must be adjusted to achieve the most suitable for bioremediation.

Acknowledgements

This work was supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness under the research project CMT2017-82472-C2-1-R (AEI/FEDER, UE). Alba, Lara-Moreno University of Seville for her Margarita Salas grant funded by the European Union – NextGenerationEU.

References

- Bose, S., Kumar, P. S., Vo, D. V. N. (2021). A review on the microbial degradation of chlorpyrifos and its metabolite TCP. *Chemosphere*, 283, 131447. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131447
- Ishag, A. E. S. A., Abdelbagi, A. O., Hammad, A. M. A., Elsheikh, E. A. E., Elsaied, O. E., Hur, J. H., et al. (2016). Biodegradation of chlorpyrifos, malathion, and dimethoate by three strains of bacteria isolated from pesticide-polluted soils in Sudan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 64(45), 8491–8498. doi: 10.1021/acs.jafc.6b03334
- Köse, K., Tüysüz, M., Aksüt, D., Uzun, L. (2022). Modification of cyclodextrin and use in environmental applications. *Environmental Science and Pollution Research*. 29, 182–209. doi: 10.1007/s11356-021-15005-y
- Morillo, E., Madrid, F., Lara-Moreno, A., Villaverde, J. (2020). Soil bioremediation by cyclodextrins. a review. *International Journal of Pharmaceutics*. 591, 119943. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119943
- Persoone, G., Marsalek, B., Blinova, I., Törökne, A., Zarina, D., Manusadzianas, L., et al. (2003). A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters. *Environmental Toxicology*. 18(6), 395–402. https://doi.org/10.1002/tox.10141
- Rayu, S., Nielsen, U. N., Nazaries, L., Singh, B. K. (2017). Isolation and molecular characterization of novel chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol-degrading bacteria from sugarcane farm soils. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1–16. doi: 10.3389/fmicb.2017.00518

Red de estaciones de medida de temperatura y humedad del suelo

Network of stations to measure soil temperature and humidity

Boquera, Lola; * **Lladós, Agnès;** Jara, José Antonio

¹ Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya (www.icgc.cat),

* dolores.boquera@icgc.cat.

Resumen

El Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya (ICGC) actualmente tiene una red formada por 14 estaciones automáticas que miden la temperatura y el contenido volumétrico de agua en el suelo. Estas estaciones están situadas en viñedos de altura (adaptación al cambio climático). En las estaciones se disponen varios sensores atmosféricos (pluviometría, radiación solar, temperatura y humedad del aire) y sensores enterrados en el suelo (que miden el contenido de agua y temperatura), situados a 5, 20, 50 y 100 cm de profundidad, para poder contrastar los parámetros atmosféricos con los físicos del suelo. Son estaciones autónomas alimentadas por energía solar que, a través de un módem, transfieren los datos periódicamente a una base de datos remota situada en la sede central del ICGC. Estos datos son accesibles a través de un visor web, a través del cual se pueden visualizar los datos gráficamente, descargarlos en formato .csv y consultar la información edafológica del lugar donde está situada la estación. Los datos, además de permitir determinar los regímenes climáticos de los suelos, a medio plazo también serán útiles para realizar estudios hidrológicos y de cambio climático.

Contenido de agua en el suelo, temperatura del suelo, monitoraje del suelo, régimenes climáticos del suelo, cambio climático.

Abstract (English*)

The Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya (ICGC) currently has a network of 14 automatic stations that measure the soil temperature and water content. These stations are installed in high altitude vineyards (adaptation to climate change). Stations consist of various atmospheric sensors (rainfall, solar radiation, air temperature and humidity) and a set of sensors, buried into the ground at 5, 20, 50 and 100 cm depths, to measure water content and temperature, enabling to compare the atmospheric parameters with the physical ones of the soil. They are autonomous stations powered by solar energy that, through a modem, periodically transfer data to a remote database located at the ICGC headquarters. These data are displayed graphically and downloaded through an open web app, which also provides information about the soil where the station is located. The obtained data allows to compute the climatic regimes of soils, and in addition, they will be useful to carry out hydrological and climate change studies in the medium term.

Soil water content, temperature soil, monitoring soil, soil climatic regimes, climate change.

Introducción

Desde el año el año 2010, dentro del proyecto Base de Datos de Suelos del Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya (ICGC), se ubicaron un conjunto de sensores de temperatura y humedad del suelo a diferentes profundidades en varias ubicaciones del territorio de Catalunya. Estos sensores se instalaron, junto con técnicos del *Natural Resource Conservation Service* del Departamento de Agricultura de Estados Unidos de América, con el fin de establecer los regímenes de temperatura y humedad de los suelos de Catalunya.

La experiencia acumulada durante el seguimiento de dichos sensores hizo que afloraran una serie de problemas relacionados, principalmente, con la recopilación de los datos, con las necesidades de mantenimiento y con la reposición de los equipos deteriorados.

Para encontrar soluciones a estos problemas y dar continuidad al proyecto de establecimiento de los regímenes de temperatura y humedad de los suelos de Catalunya se planteó la creación de una red de estaciones automáticas de medida de parámetros físicos de los suelos (Adell, et al., 2014).

Uno de los principales beneficios es que, de este modo, no es necesario

desplazarse para recoger los datos y se pueden detectar las sondas que no funcionan con mayor facilidad. Esto permite tener un registro continuo de todos los datos y facilita el mantenimiento de la red.

Descripción de las estaciones y tipo de sensores.

Las estaciones automáticas están formadas por 4 sensores multiparamétricos que miden la temperatura y humedad del suelo, instalados a 5, 20, 50 y 100 cm de profundidad. Hay que destacar que cuando nos referimos a que los sensores miden la humedad del suelo, en realidad lo que miden es el contenido volumétrico de agua en el suelo (Topp, 1980, 1988). Adicionalmente se dispone de sensores atmosféricos que permiten contrastar con los parámetros del suelo, los cuales consisten en un pluviómetro, un piranómetro y una sonda de temperatura y humedad ambiental.

Para su correcto funcionamiento las estaciones también tienen incorporado, un sistema de adquisición de datos, un sistema de alimentación y un sistema de comunicación de datos.

Cuadro 1 – Detalle de los sensores instalados en cada una de las estaciones.

ID	Sensor	Modelo	Descripción	Precisión
1	Pluviómetro	Young 52203	Pluviómetro incremental basculante	± 2% con intensidad de corrección
2	Piranómetro	Hukseflux P02-05	Sensor de radiación global. S=11.83μV/(W/m ²)	< ± 1.5 %
3	T/H	Campbell CS215	Sonda de temperatura y humedad relativa del aire	Temperatura: ±0.3°C a 25°C, ±0.4°C de +5° a +40°C, ±0.9°C de -40° a +70°C. Humedad: ±2% de 10 a 90%, ±4% de 0 a 100%
4	T/H Suelo_05	Campbell CS655	Sonda multiparamétrica del suelo instalada a 5cm de profundidad	Temperatura: ±0.5°C. Humedad: 3 % entre 0 y 50% VWC (suelo mineral estándar, EC < 5 mS/cm)
5	T/H Suelo_20	Campbell CS655	Sonda multiparamétrica del suelo instalada a 20cm de profundidad	Temperatura: ±0.5°C. Humedad: 3 % entre 0 y 50% VWC (suelo mineral estándar, EC < 5 mS/cm)
6	T/H Suelo_50	Campbell CS655	Sonda multiparamétrica del suelo instalada a 50cm de profundidad	Temperatura: ±0.5°C. Humedad: 3 % entre 0 y 50% VWC (suelo mineral estándar, EC < 5 mS/cm)
7	T/H Suelo_100	Campbell CS655	Sonda multiparamétrica del suelo instalada a 1m de profundidad	Temperatura: ±0.5°C. Humedad: 3 % entre 0 y 50% VWC (suelo mineral estándar, EC < 5 mS/cm)



Fig. 1 – Vista de una de las estaciones de la red de medida de parámetros físicos del suelo.

Sistema de adquisición de datos

La adquisición de los datos medidos por los sensores se realiza mediante un datalogger de la marca Campbell Scientific, modelo CR800. La estación extrae los datos que miden los sensores y cada 30 minutos registra sus valores de acuerdo con el Cuadro 2. En este cuadro se pueden observar las medidas que se obtienen en cada estación con su descripción y su unidad correspondiente.

Cuadro 2 – Principales medidas registradas cada 30 minutos en las estaciones automáticas.

Parámetro	Descripción	Tipo de medida	Unidades
TmStamp	Tiempo UTC de medida	-	-
RecNum	Número de la medida	-	-
Bateria_Avg	Tensión de la batería	Media	Voltios
PTemp_Avg	Temperatura interior del armario	Media	°C
Temp_aire_Avg	Temperatura del aire	Media	°C
H_R_Avg	Humedad relativa del aire	Media	%H ₂ O
Pluja_Tot	Lluvia acumulada cada media hora	Total	l/m ²
VWC_005	Contenido del agua del suelo a 5 cm	Muestra	m ³ /m ³
VWC_020	Contenido del agua del suelo a 20 cm	Muestra	m ³ /m ³
VWC_050	Contenido del agua del suelo a 50 cm	Muestra	m ³ /m ³
VWC_100	Contenido del agua del suelo a 1m	Muestra	m ³ /m ³
TSoil_005	Temperatura del suelo a 5cm	Muestra	°C
TSoil_020	Temperatura del suelo a 20cm	Muestra	°C
TSoil_050	Temperatura del suelo a 50cm	Muestra	°C
TSoil_100	Temperatura del suelo a 1m	Muestra	°C
RS_Avg	Radiación global	Media	W/m ²

Sistema de comunicación de datos

El sistema de comunicación de datos está basado en un módem, que mediante la pila TCP/IP del datalogger permite establecer una conexión a Internet.

Periódicamente los datos se descargan del datalogger, utilizando la conexión a Internet de la estación, y se almacenan en una base de datos ubicada en la sede del ICGC. Actualmente se realizan dos descargas diarias de datos, una a las 00:10 (UTC) y una segunda a las 12:10 (UTC). Una vez descargados los datos y almacenados en la base de datos, éstos son accesibles mediante la aplicación web NetMon

(<http://netmon.icgc.cat/netmon>) para los propietarios o bien, de manera pública, a través del visor del ICGC <https://visors.icgc.cat/mesurasols/>

Sistema de alimentación

El sistema de alimentación es de tipo fotovoltaico lo cual hace que sea completamente autosuficiente, y está formado por los siguientes elementos:

- Placa fotovoltaica 40W a 12V monocristalino
- Regulador de 6A y 12V
- Batería solar.

El sistema de alimentación suministra energía al módem de comunicaciones y al datalogger, siendo este último el encargado de alimentar adecuadamente al resto de sensores de la estación.

Acceso a los datos y visualización.

Los datos obtenidos por los sensores, y descargados en la base de datos remota, se pueden consultar a través del visor del ICGC. Descargándolos en un archivo .csv o bien visualizándolos gráficamente (Fig.2 i Fig.3).

A su vez, se puede consultar la información edafológica de cada estación, ya que en el momento de la instalación se realiza una descripción y clasificación del suelo, así como un análisis de laboratorio de los diferentes horizontes.

A partir de estos datos se pueden calcular los regímenes climáticos de los suelos. Por otro lado, cuando se disponga de un registro más largo, se podrá aplicar a estudios de cambio climático.

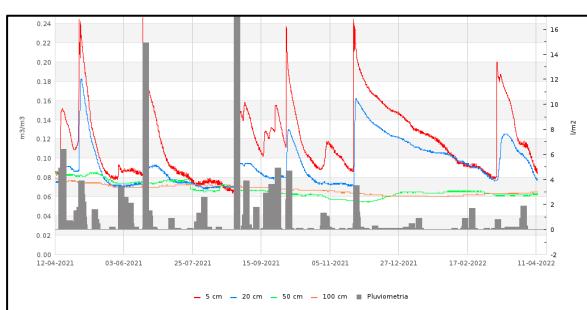


Fig. 2 – Ejemplo de gráfica de humedad del suelo a diferentes profundidades junto con la pluviometría total.

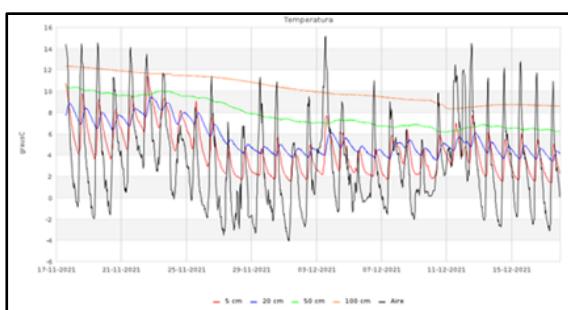


Fig. 3 – Gráfica de temperatura del suelo a diferentes profundidades junto con la temperatura del aire.

Conclusiones

Después de 5 años desde la instalación de la primera estación automática, se llega a la conclusión que este tipo de estaciones son totalmente válidas y que ofrecen datos fiables y constantes, los cuales permiten calcular los regímenes climáticos (Soil Survey Quality Assurance Staff, 1994) de los suelos y la realización de estudios de cambio climático (Paolina et al. 2017).

El uso de un visor para la divulgación de los datos ha resultado muy útil para dar accesibilidad y visibilidad a la información

Agradecimientos

A todos los propietarios de los campos de viña que nos han cedido el espacio para poder instalar las estaciones automáticas.

A la Unidad de Instrumentación del ICGC por la implicación y dedicación en la instalación, mantenimiento y revisión de las estaciones.

A la Unidad de suelos del ICGC por su apoyo incondicional en la descripción y clasificación de suelos.

A la Unidad de Geostart por su colaboración en la elaboración del visor.

Referencias bibliográficas

- Adell, J., Jiménez, E., Vicencs, M., & Ascaso, E.. (2014). Règims de temperatura i humitat als sòls de Catalunya. Barcelona: Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya.
- Paolina B. Cerlinia, S. M. (2017). Groundwater supply and climate change management by means of. ScienceDirect, 420-427.
- Soil Survey Quality Assurance Staff. (1994). Soil Climate Regimes of the United States. Lincoln, Nebraska: Soil Conservation Service. National Soil Survey Center. United States Department of Agriculture.
- Topp, G. J. (1980). Electromagnetic determination of soil water content: measurements in coaxial transmission lines. Water resources, 574-582.
- Topp, G. M. (1988). Determination of electrical conductivity using time domain reflectometry: soil water experiments in coaxial lines. Water Resources, 945-952.

OS MICRORGANISMOS DO SOLO NO MONTADO: UMA ESTRATÉGIA PARA ADAPTAÇÃO ÀS ALTERAÇÕES CLIMÁTICAS

SOIL MICROORGANISMS IN MONTADO: A STRATEGY FOR ADAPTATION TO CLIMATE CHANGE

de Castro Silva, Márcia^{1,2*}, Machado, Helena¹, Videira e Castro, Isabel²

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, INIAV, I.P., Laboratório de Micologia¹ e Laboratório de Microbiologia do Solo² - Unidade Estratégica de Investigação e Serviços - Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal Av. da República, 2780-159 Oeiras, Portugal.

* marcia.silva@iniav.pt

Resumo

O Montado é um ecossistema mediterrânico florestal com particular resiliência, rico em biodiversidade e de grande relevância para a conservação da natureza. No entanto, está exposto a ameaças por pressões ambientais agravadas pelas mudanças climáticas e pela pressão do Homem, o que está a levar ao seu declínio. Os microrganismos do solo são cruciais na manutenção de várias das funções do solo onde se inclui a regulação de azoto no solo disponível para as plantas. As bactérias dos nódulos radiculares das leguminosas (conhecidas por rizóbios) podem melhorar o rendimento destes ecossistemas agroflorestais devido ao processo de fixação biológica de azoto que é levado a cabo pela simbiose que se estabelece entre estas bactérias e as leguminosas. Em Portugal, a mortalidade generalizada registada em sobreiros e azinheiras nas últimas décadas deve-se, entre outros fatores, a infecções por *Phytophthora* spp. nas raízes destas árvores. É, por isso, importante desenvolverem-se meios de biocontrolo para esta doença. O presente trabalho tem por base a avaliação da dimensão e eficácia da população rizobiana existente em solos de Montado. Foram também avaliadas outras importantes atividades *in vitro*, das bactérias isoladas dos nódulos radiculares dos trevos, como o antagonismo à *Phytophthora*, a solubilização de fosfato e a capacidade de degradarem a celulose.

Palavras-chave: Montado, solos degradados, Bactérias fixadoras de azoto (*Rhizobium*), *Phytophthora*

Abstract

The Montado is a particularly resilient Mediterranean forest ecosystems, rich in biodiversity and of great importance for nature conservation. However, it is exposed to threats from environmental pressures aggravated by global climate change and human pressure, which is leading to its decline. Soil microorganisms are crucial in the maintenance of several soil functions including the regulation of soil nitrogen available to plants. The bacteria in the root nodules of legumes (known as rhizobia) can improve the performance of these agroforestry ecosystems due to the process of biological nitrogen fixation that is carried out by the symbiosis established between these bacteria and legumes. In Portugal, the widespread mortality recorded in cork and holm oaks in recent decades is due, among other factors, to infections by *Phytophthora* spp. in the roots of these trees. It is therefore important to develop means of biocontrol for this disease. The present work is based on the evaluation of the size and effectiveness of the rhizobial population existing in Montado soils. It was also evaluated, the *in vitro* antagonist activity to *Phytophthora*, of the bacteria isolated from root nodules, phosphate solubilization and the ability to degrade cellulose, an essential component of *Phytophthora* cell wall.

Keywords: Montado, degraded soils, Nitrogen fixing bacteria (*Rhizobium*), *Phytophthora*

Introdução

O Montado é um ecossistema mediterrânico com particular resiliência, rico em biodiversidade e de grande relevância para a conservação da natureza. Nas últimas décadas, as mudanças ambientais, culturais, económicas e sociais têm provocado um desequilíbrio no ecossistema Montado levando muitas vezes ao seu declínio. Particularmente, as alterações climáticas, devido ao aumento de temperaturas extremas e redução das chuvas, têm provocado o aumento dos locais com mortalidade das árvores, causado pelo aumento de pragas e doenças, como o oomicota *Phytophthora* sp.. A simbiose entre as leguminosas e as bactérias (rizóbios), a qual permite a fixação biológica do azoto, constitui um trunfo essencial para a manutenção e melhoria da fertilidade dos solos pela introdução de quantidades apreciáveis de azoto no solo, de uma forma ambientalmente não poluente. Por outro lado, estas simbioses contribuem também diretamente, para o crescimento das plantas do sob-coberto, como as pastagens naturais ou introduzidas à base de leguminosas. Desta forma, estas simbioses proporcionam um enriquecimento nutricional de solos empobrecidos, reequilibrando a sua produtividade e sustentabilidade (Videira e Castro et al., 2019). Por isso, um dos objetivos deste estudo foi avaliar a dimensão e a eficácia na fixação de azoto, da população rizobiana natural em solos associados ao Montado. Estes resultados irão fornecer informações valiosas sobre a importância do estabelecimento ou manutenção do sob-coberto (pastagens) nestes locais. Neste trabalho fez-se ainda o isolamento das bactérias dos nódulos radiculares de leguminosas (trevo subterrâneo) para avaliar outras importantes atividades *in vitro* como a solubilização do fósforo, atividade de celulase e antagonismo contra *Phytophthora*.

Material e métodos

O estudo foi realizado num dos locais de demonstração do projeto LIFE-

MONTADO-ADAPT, no Alentejo. Foram avaliados vários parâmetros em contexto de declínio, como a presença de *Phytophthora* e aplicadas classes de desfoliação da copa das árvores a amostrar, de modo a estudarmos casos distintos, em declínio *versus* boas condições fitossanitárias: C0 - sem desfoliação, C1 - desfoliação ligeira $\leq 25\%$, C2 - desfoliação moderada 26-60% e C3 - desfoliação severa $> 60\%$ (Cadahia et al., 1991). Em cada local escolhido fizeram-se colheitas de amostras de solo, sendo cada amostra composta por 4 subamostras da camada superficial do solo, colhidas nos quatro pontos cardeais e a 1-2 m de distância de cada árvore (até 20 cm de profundidade). A presença/ausência de *Phytophthora* em cada amostra de solo foi detetada pelo método de armadilha vegetal, seguido de isolamento em cultura pura e identificação com base em características morfológicas (Jung, et al., 1996) e métodos moleculares (White et al., 1990). A população rizobiana natural foi estimada por contagem indireta, através da infecção de plantas, pelo método do número mais provável (NMP) utilizando-se *Trifolium subterraneum* como hospedeiro-armadilha. No início as sementes de trevo pré-germinadas foram inoculadas com diferentes diluições de solo e mantidas em câmara fitoclimática durante 8 semanas. Foram também incluídos controlos: TN (plantas inoculadas com KNO_3 , como fonte química de azoto) e T0 (plantas sem adição de N, nem de diluição de solo). No final, as plantas foram caracterizadas quanto à presença ou ausência de nódulos radiculares e o número de bactérias g^{-1} de solo calculado em função de tabelas de acordo com Somasegaran & Hoben (1994). A parte aérea das plantas das primeiras diluições, e com nódulos, bem como as plantas/controlo TN e T0 foram secas em estufa a 80°C durante 2 dias e os respetivos pesos secos utilizados para calcular o índice de eficácia simbiótica (Es) da população rizobiana: $\text{Es}(\%) = (\text{X}_s - \text{X}_{T_0}) / (\text{X}_{T_N} - \text{X}_{T_0}) \times 100]$, sendo X_s - peso seco médio das plantas inoculadas com solo, X_{T_N} e X_{T_0} - peso seco médio de plantas do controlo de azoto e das não inoculadas, respetivamente (Ferreira & Marques, 1992). Em seguida, os nódulos foram

removidos para isolamento das bactérias com recurso a meios específicos (Agar de Manitol Levedura - AML). Os isolados obtidos foram testados *in vitro* quanto à solubilização de fosfato mineral, atividade de celulase e antagonismo contra *Phytophthora cinnamomi*. Os testes *in vitro* para avaliação da solubilização de fosfato foram efetuados com base na metodologia descrita em Peix *et al.*, (2001). Para a atividade de celulase seguiu-se o método descrito em Verma *et al.*, (2001). Nos testes para avaliação da atividade antagonista foram usados 2 meios de cultura: Potato Dextrose Agar (PDA) e AML. O inóculo de *Phytophthora* foi colocado no centro das placas de Petri e após 2 dias de incubação a 27°C aplicaram-se 3 µl de cada cultura bacteriana (4/placa), previamente crescidas durante 48 h em meio líquido de Triptona (TY). As placas foram incubadas durante 10 dias a 27°C. A caracterização molecular de alguns dos isolados foi efetuada com base na análise de sequência do gene 16S rRNA (Weisburg *et al.*, 1991).

Resultados e discussão

Nos locais sem desfoliação (classe 0) verificou-se que a população rizobiana natural foi muito elevada, variando entre $1,47 \times 10^4$ e $9,33 \times 10^4$ bactérias g⁻¹ de solo. Estes valores (acima de 10^4 bactérias g⁻¹ de solo) podem ser considerados como suficientes para que a simbiose entre as leguminosas, como *Trifolium* sp., e as bactérias/rizóbios, se estabeleça e seja eficiente na fixação de azoto. A eficácia simbiótica desta população atingiu 147,4%, podendo ser considerada uma população natural altamente eficaz na fixação de azoto. Por outro lado, verificou-se que a dimensão da população rizobiana foi bastante mais baixa nos locais com árvores com maiores classes de desfoliação (classe 3), variando entre $1,47 \times 10^2$ e $9,18 \times 10^2$ bactérias g⁻¹ de solo. Nestes solos, a eficácia simbiótica atingiu também valores elevados variando entre 68,5 e 106,6% (Quadro 1).

Quadro 1 – Dimensão da população rizobiana nos vários locais selecionados com diferentes classes de desfoliação da copa das árvores e respetiva eficácia simbiótica

Classes	Nºde bactérias g ⁻¹ solo	Eficácia (%)
0	$1,47 \times 10^3$ - $9,33 \times 10^4$	98,5 – 147,4
1	$1,47 \times 10^4$ - $4,27 \times 10^4$	72,9 – 104,9
2	$4,24 \times 10^2$ - $4,27 \times 10^4$	75,8 – 80,4
3	$1,47 \times 10^2$ - $9,18 \times 10^2$	68,5 – 106,6

Obtiveram-se 120 isolados de bactérias dos nódulos radiculares de *T. subterraneum*. Os resultados obtidos nos vários testes *in vitro* efetuados mostraram que apenas um pequeno número de isolados possuía pelo menos uma das atividades testadas distribuídas do seguinte modo: solubilização de fosfato (6%), de antagonismo à *Phytophthora* (4%) e de celulase (17%) (Figura 1).

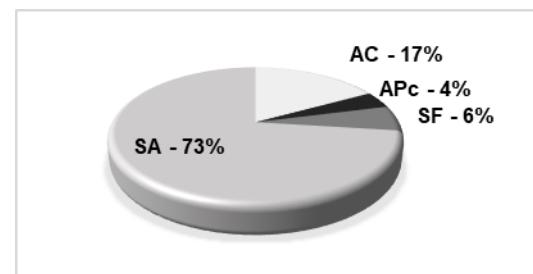


Fig. 1 – Percentagem das atividades dos testes *in vitro* nos 120 isolados - (SA) Sem Atividades, (AC) Atividade de Celulase, (APc) Antagonismo à *Phytophthora*, (SF) Solubilização de fosfato

Apesar do pequeno número de bactérias que mostraram atividade de solubilização do fósforo, estas podem ser consideradas de grande importância em solos pobres e degradados, pela sua capacidade para mobilizar o fósforo indisponível tornando-o acessível às plantas e reduzindo assim as necessidades de fertilização fosfatada. A capacidade de degradar a celulose foi verificada em 17% dos isolados, sendo a sua maioria provenientes de solos recolhidos junto a árvores pertencentes à classe 2 de desfoliação. Sendo a celulose um componente essencial da parede celular da *Phytophthora*, estas bactérias podem também ajudar no seu combate. Por outro lado, as bactérias que mostraram possuir atividade antagonista contra *Phytophthora*, foram isoladas dos nódulos radiculares das plantas de trevo

subterrâneo inoculadas com os solos recolhidos junto a árvores com classes de desfoliação 0 e 3. Porém, nestes locais não foi detetada a presença de *Phytophthora*. Estas bactérias com atividade antagonista foram identificadas molecularmente como *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas moraviensis*, *Streptomyces umbrinus* e *Rhizobium* sp. e apresentaram simultaneamente atividade de celulase e solubilização de fósforo, incluindo a fixação de azoto, para o caso do *Rhizobium* sp.. Estas espécies estão descritas como bactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR). Por exemplo, a espécie *Bacillus subtilis* é muito comum no solo e desempenha um papel fundamental ao conferir tolerância ao stress biótico e abiótico nas plantas (Mahapatra et al., 2022). Embora estas bactérias tenham sido isoladas dos nódulos radiculares das plantas de trevo nos ensaios das camaras bioclimáticas, estariam também presentes nos solos avaliados, tendo compartilhado o nódulo juntamente com bactérias *Rhizobium* sp. responsáveis pelo processo de nodulação nestas leguminosas e poderão por isso também desempenhar um papel importante conferindo tolerância a agentes fitopatogénicos.

Conclusões

Os microrganismos do solo, designadamente as bactérias fixadoras de azoto (rizóbios) têm um papel importante em solos degradados, como alguns que existem em áreas de Montado, ao contribuírem para a entrada de azoto nestes solos através das simbioses que estabelecem com as leguminosas. Nos locais examinados correspondentes a classes de desfoliação elevada a população rizobiana encontrada foi baixa não se estabelecendo, por isso, simbioses eficientes. Nestes casos o recurso a biofertilizantes, com bactérias fixadoras de azoto será indispensável. Igualmente, a utilização de bactérias que mostraram ser antagonistas de *Phytophthora* e com atividade de celulase são promissores para o controlo desta doença. Desta forma, este trabalho permitiu a obtenção de bactérias altamente eficientes na fixação de azoto que para além de terem diversas

funções benéficas para o solo e para o seu equilíbrio, poderão ser usadas em futuros bioinoculantes para a recuperação do montado face às alterações climáticas e no controlo de doenças radiculares.

Agradecimentos

Trabalho suportado pelo projeto Life Montado & Climate – A Need to Adapt – 15 CCA/PT/000043

Referências bibliográficas

- Cadahia, D.; Cobos, J.M.; Soria, S.; Claußer, F.; Gellini, R.; Grossoni, P.E.; Ferreira, M.C. (1991). Observação de Danos em Espécies Florestais Mediterrâneas, Comissão das Comunidades Europeias, Direcção Geral da Agricultura. Ministerio de Agricultura, Pescas Y Alimentacion, Espanha, 96 pp.
- Ferreira, E. M., & Marques, J. F. (1992). Selection of Portuguese *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strains for production of legume inoculants. Plant and Soil, 147(1), 151–158.
- Jung T, Blaschke H, Neumann P, 1996. Isolation, identification, and pathogenicity of *Phytophthora* species from declining oak stands. European Journal of Forest Pathology 26, 253–72.
- Mahapatra S, Yadav R, Ramakrishna W. *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: Dr. Jekyll and Mr. Hyde. J Appl Microbiol. 2022 Feb 9.
- Peix, A., Rivas-Boyer, A. A., Mateos, P. F., Rodriguez-Barrueco, C., Martínez-Molina, E., & Velazquez, E. (2001). Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. Soil Biology and Biochemistry, 33(1), 103-110.
- Somasegaran, P., & Hoben, H. J. (1994). *Handbook for rhizobia*. Berlin: Springer.
- Verma, S. C., Ladha, J. K., & Tripathi, A. K. (2001). Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. Journal of Biotechnology, 91, 127–141.
- Videira e Castro I., de Castro Silva M., Fernandez C., Colavolpe B., Machado H. (2019). The Potential of Nitrogen-Fixing Bacteria in the Sustainability of Agro-Forestry Ecosystems. In: Zúñiga-Dávila D., González-Andrés F., Ormeño-Orrillo E. (eds) Microbial Probiotics for Agricultural Systems. Sustainability in Plant and Crop Protection. Springer, Cham.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. Journal of Bacteriology, 173(2), 697–703
- White, T. J.; Bruns, T.; Lee, S.; Taylor, J., 1990: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications. Ed. by Innis, M. A.; Gelfand, D. H.; Sninski, J. J.; White, T. J. San Diego, USA: Academic Press, pp. 315–322.

La fitorremediación de suelos afectados por la actividad cinegética: lecciones aprendidas, retos y futuras oportunidades

Phytoremediation of soils affected by shooting practises: lessons learned, challenges and future opportunities

Gómez-Saqasti, María Teresa^{1*}, Artetxe, Unai¹, Tazueco, Diego¹, Hernández, Antonio¹, Garbisu, Carlos², Becerril, José María¹

¹ Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), E-48080 Bilbao. España

² NEIKER-BRTA, Departamento de Conservación de Recursos Naturales, C/Berreaga 1, E-48160 Derio, España.

*mariateresa.gomez@ehu.eus

Resumen

La contaminación por metal(oid)es de los suelos dentro de o cercanos a las instalaciones de tiro recreativas es un problema ambiental que se ha agravado en las últimas décadas. La caída constante de munición (compuesta esta principalmente por plomo -Pb-) a los suelos y su dispersión ha dado lugar a zonas con altas concentraciones totales de Pb, oscilando entre miles a decenas de miles de mg kg⁻¹ de peso seco suelo según nos acercamos a la línea de tiro o bermas. Una vez depositados en el suelo, los fragmentos de la munición son muy susceptibles a los procesos de meteorización, que hacen que se libere el Pb en sus formas químicas más móviles y potencialmente tóxicas. En los últimos años la fitorremediación ha cogido fuerza como alternativa a los tratamientos fisico-químicos para el control y la gestión de la contaminación por Pb en los campos de tiro debido a su fácil aplicación, beneficios ambientales y bajo coste. En este contexto, el objetivo principal de este trabajo es revisar el estado del arte de la fitorremediación de los suelos afectados por las prácticas de tiro y, además, reflexionar sobre los retos actuales y futuros a abordar para su óptima remediación.

Palabras clave: contaminación, plomo, fitoextracción, fitoestabilización, vegetación espontánea.

Abstract

Metal(oid)-contamination of soils within or near recreational shooting ranges is an environmental problem that has worsened in recent decades. The constant fall of ammunition (composed mainly of lead -Pb-) into soils and its dispersal has resulted in areas with high total Pb concentrations, ranging from thousands to tens of thousands of mg kg⁻¹ dry weight of soil as one approaches the firing line or berms. Once deposited in the soil, ammunition fragments are highly susceptible to weathering processes, which release Pb in its more mobile and potentially toxic chemical forms. Phytoremediation has gained momentum in recent years as an alternative to physico-chemical treatments for the control and management of Pb contamination in shooting ranges, due to it is environmentally friendly, easy to apply and low cost. In this context, the main objective of this work is to review the state of the art of phytoremediation of soils affected by shooting practices and, in addition, to reflect on the current and future challenges to be addressed for their optimal remediation.

Keywords: contamination, lead, phytoextraction, phytostabilisation, spontaneous vegetation.

El plomo (Pb) en los campos de tiro y su impacto medioambiental

Las actividades de tiro son una fuente importante de contaminación de suelos por Pb, ya que este es el principal componente de las balas y perdigones tradicionales, constituyendo más del 90% de su masa (Sanderson et al., 2018). Aunque el uso de munición libre de Pb es cada vez más popular, la munición tradicional sigue siendo la preferida por su eficacia balística (Rodríguez-Seijo et al., 2016).

Las concentraciones totales de Pb en los suelos de los campos de tiro suelen superar con frecuencia los 1.000 mg kg⁻¹. Incluso se han detectado concentraciones muy superiores a los 20.000 mg kg⁻¹ (Dinake et al., 2019). Las instalaciones civiles de tiro suelen localizarse cerca de zonas urbanas y/o agrícolas (Bandara & Vithanage, 2016). Por lo tanto, la presencia de elementos tóxicos como el Pb en esos suelos representa una grave amenaza para el funcionamiento del ecosistema circundante, pudiendo incluso afectar a la salud humana.

El impacto medioambiental de los campos de tiro ha pasado inadvertido durante mucho tiempo, pensando que el Pb metálico de la munición permanecía relativamente inerte en el suelo (Rodríguez-Seijo et al., 2016). Sin embargo, los fragmentos de bala y perdigones disparados se acumulan en los horizontes superficiales del suelo (0-15 cm), donde el Pb metálico superficial sufre procesos de meteorización (oxidación y carbonatación), dando lugar a la formación de minerales secundarios como la cerusita –PbCO₃– y la hidrocerusita –Pb₃(CO₃)₂(OH)₂–. En suelos ácidos, estos minerales se transforman luego en especies iónicas del Pb más móviles y biodisponibles (Pb²⁺, Pb⁴⁺). Son precisamente estas especies químicas las que pueden ser tóxicas para la biota del suelo, además de entrar y transferirse a lo largo de la cadena trófica a través de su acumulación en las plantas (Bandara & Vithanage, 2016). Es esencial, por consiguiente, comprender el comportamiento geoquímico del Pb en los suelos de los campos de tiro con el fin de gestionar, y preferiblemente reducir, los

riesgos potenciales para los seres humanos y el medio ambiente (Gómez-Sagasti et al., 2021).

La gestión de los suelos contaminados de los campos de tiro

Los manuales de buenas prácticas para la gestión de los suelos contaminados de los campos de tiro se centran principalmente en (i) el reciclaje de la munición usada (estrategia: eliminación física), (ii) la prevención de la migración del Pb a las aguas subterráneas y superficiales (estrategia: inmovilización o estabilización química), y en (iii) la remediación de esos suelos (estrategia: mobilización) (Sanderson et al., 2018) (Figura 1).

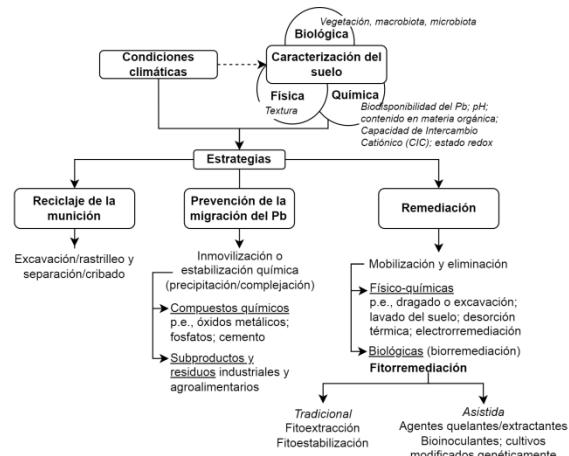


Fig. 1 – Estrategias de gestión de suelos contaminados por Pb en los campos de tiro.

Para la selección de la tecnología de remediación más adecuada se deben tener en cuenta tanto las propiedades físico-químicas como las biológicas del emplazamiento (ver detalle de la Figura 1). En la actualidad, la inmovilización química *in situ* mediante el uso de subproductos y residuos industriales y agroalimentarios como enmiendas del suelo es la técnica más utilizada, ya que además está alineada con las estrategias de economía circular europeas (Gómez-Sagasti et al., 2021). Junto a ella, la fitorremediación de suelos de los campos de tiro está teniendo un gran auge (Figura 2).

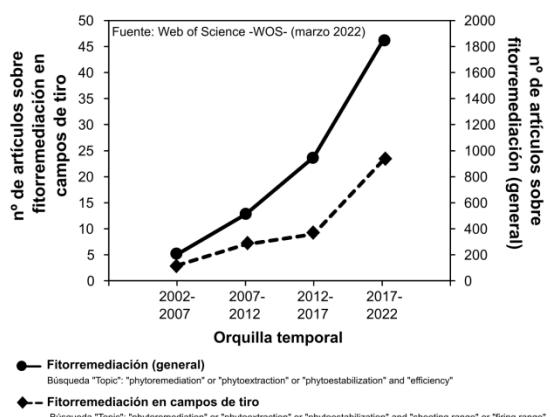


Fig. 2 – Número de artículos publicados en los últimos 20 años sobre fitorremediación (línea sólida, eje Z) y en los que ésta ha sido aplicada en suelos de campos de tiro (línea punteada, Eje Y).

La fitorremediación en los campos de tiro

La fitorremediación se define como el uso de plantas (y microorganismos asociados) para minimizar los efectos tóxicos de uno o varios contaminantes en el medio ambiente. En el caso del Pb, las plantas pueden extraerlo y acumularlo en su parte aérea (fitoextracción) y/o inmovilizarlo en el suelo (fitoestabilización).

Especies como el maíz (*Zea mays*) y el guisante (*Pisum sativus*) (Tariq & Ashraf, 2016), el pasto vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) (Bandara & Vithanage, 2016), o la agróstide común (*Agrostis capillaris*) (Rodríguez-Seijo et al., 2016) han propiciado la remediación de suelos contaminados con Pb en campos de tiro. De hecho, para los emplazamientos con contaminación crónica como los situados en los campos de tiro, la fitorremediación puede ser la única tecnología *in situ* económicamente viable (Kim et al., 2010).

¿Qué lecciones hemos aprendido?

Es indudable que un buen acondicionamiento del suelo que incluya el laboreo mecánico del terreno, la adición de enmiendas y/o fertilizantes (a ser posible, orgánicos), fortalece el proceso de fitorremediación al mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas.

La selección de las especies vegetales o cultivares adecuados es clave también

para garantizar el éxito de la fitorremediación. Idealmente, las especies remediadoras deben tener una tasa de crecimiento rápida, producir una gran biomasa, tolerar estreses bióticos y abióticos del emplazamiento, además de tolerar altos niveles de Pb y preferiblemente tener la capacidad de absorber y acumular el Pb en la parte aérea. Alternativamente, su inmovilización en la rizósfera también puede reducir la ecotoxicidad y mejorar la salud del suelo. En la biodisponibilidad del Pb influyen enormemente las condiciones edafoclimáticas y el estado de la comunidad microbiana rizosférica.

La eficiencia de fitorremediación de diferentes plantas se han mejorado significativamente mediante la aplicación de bacterias endófitas y hongos micorrílicos resistentes al Pb (Bandara & Vithanage, 2016). El mecanismo implicado en ello podría ser la actividad de promoción del crecimiento vegetal (actividad PGPR) de las cepas microbianas que, al fomentar el crecimiento de las plantas y la producción de biomasa, mejoran a su vez el estado nutricional del suelo, regulando las propiedades fisicoquímicas y el sistema antioxidante de las plantas.

Retos y perspectivas de trabajo

Uno de los primeros retos (o limitaciones) a los que debe hacer frente la fitorremediación de los suelos de los campos de tiro es la baja biodisponibilidad natural del Pb en la rizósfera, que hace que el proceso se alargue mucho en el tiempo. En caso de ser aplicable, la fitoextracción asistida por agentes quelantes debe ser optimizada y controlada para limitar la movilidad de estos agentes. El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) moviliza eficazmente el Pb del suelo, pero su escasa biodegradabilidad lo hace además de ecotóxico, muy persistente en el suelo y, por consiguiente, potencialmente lixivable. Como alternativa, se han empleado agentes quelantes biodegradables como el ácido etilendiaminoisuccínico (EDDS), o ácidos

orgánicos como el ácido cítrico, que también promueven la fitoextracción (Tariq & Ashraf, 2016; Cámara et al., 2020).

Muchas de las plantas con potencial fitorremediador probadas en los suelos de los campos de tiro son cultivares agrícolas. Es necesario evaluar la vegetación espontánea con moderada o alta biomasa que crece en esos suelos, dado que está mejor adaptada en términos de supervivencia, crecimiento y reproducción bajo el estrés ambiental que las plantas introducidas de otros entornos (Bandara & Vithanage, 2016).

En los últimos años, la ingeniería genética ha posibilitado la mejora de la fitorremediación. El cruzamiento (*crossbreeding*) es un método de mejora tradicional útil para optimizar aspectos relativos a la producción de biomasa. La inclusión de genes exógenos mediante la recombinación de DNA puede mejorar la captación, transporte y acumulación de Pb. Sin embargo, el uso de plantas modificadas genéticamente para la fitoextracción *in situ* esta aun hoy rodeado de limitaciones normativas y de escasa aceptación pública.

Finalmente, se debe hacer frente al reto que supone la eliminación o reutilización de la biomasa vegetal rica en Pb sin producir contaminantes secundarios. La clave puede estar en la combinación del compostaje, la pirólisis y la incineración además de evaluar diferentes métodos de extracción.

Conclusiones

Los gestores de suelos contaminados en los campos de tiro deben conocer las condiciones edafoclimáticas específicas del emplazamiento que influyen en la meteorización y las transformaciones químicas del Pb para poder aplicar la estrategia de gestión más adecuada. La estabilización química y la fitorremediación han demostrado su potencial en campos con contaminación crónica, pero su aplicación *in situ* debe ser optimizada para cada emplazamiento particular. Se necesitan con urgencia proyectos de fitorremediación en los

propios campos de tiro y/o terrenos colindantes afectados que demuestren su aplicabilidad y eficiencia y que convalezcan a gestores, reguladores y al público en general.

Agradecimientos

Este trabajo se ha financiado con el Grupo de Investigación Consolidado del Gobierno Vasco (GV ITO18-16), el proyecto PRADA (PID2019-110055RB-C22) del MINECO, y el proyecto europeo Phy2SUDOE (SOE4/P5/E1021).

Referencias bibliográficas

- Bandara, T., & Vithanage, M. (2016). Phytoremediation of shooting range soils. En *Phytoremediation* (pp. 469-488). Springer, Cham.
- Cámara, A. (2020). *Evaluación de la estrategia de fitoextracción en continuo con Brassica juncea y Plantago lanceolata e inducida por diferentes agentes extractantes en suelos de un campo de tiro*. Trabajo Fin de Grado, UPV/EHU.
- Dinake, P., Kelebemang, R., & Sehube, N. (2019). A comprehensive approach to speciation of lead and its contamination of firing range soils: a review. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 28(4), 431-459. doi: 10.1080/15320383.2019.1597831.
- Gómez-Sagasti, M. T., Anza, M., Hidalgo, J., Artetxe, U., Garbisu, C., & Becerril, J. M. (2021). Recent trends in sustainable remediation of Pb-contaminated shooting range soils: Rethinking waste management within a circular economy. *Processes*, 9(4), 572. doi: /10.3390/pr9040572.
- Kim, S., Baek, K., & Lee, I. (2010). Phytoremediation and microbial community structure of soil from a metal-contaminated military shooting range: Comparisons of field and pot experiments. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 45(3), 389-394. doi: 10.1080/10934520903467832
- Rodríguez-Seijo, A., Lago-Vila, M., Andrade, M. L., & Vega, F. A. (2016). Pb pollution in soils from a trap shooting range and the phytoremediation ability of *Agrostis capillaris* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(2), 1312-1323. doi: 10.1007/s11356-015-5340-7.
- Sanderson, P., Qi, F., Seshadri, B., Wijayawardena, A., & Naidu, R. (2018). Contamination, fate and management of metals in shooting range soils-a review. *Current Pollution Reports*, 4(2), 175-187. doi: 10.1007/s40726-018-0089-5.
- Tariq, S. R., & Ashraf, A. (2016). Comparative evaluation of phytoremediation of metal contaminated soil of firing range by four different plant species. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(6), 806-814. doi: 10.1016/j.arabjc.2013.09.024.

Biorremediación de suelos contaminados con aceite de motor mediante bioestimulantes obtenidos de lodos de depuradora.

Bioremediation of motor oil contaminated soils using biostimulants obtained from sewage sludge

Gómez Parrales, Isidoro^{1*}, Paneque Macías, Patricia¹, del Toro Carrillo de Albornoz, Marina¹, Parrado Rubio, Juan², Tejada Moral, Manuel¹.

¹Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola. E.T.S.I.A. Universidad de Sevilla. Ctra. de Utrera Km. 1. 41013, Sevilla (España).

²Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, C/ Prof. García González 2, 41012.

*iangel@us.es

Resumen

El objetivo de este trabajo fue comprobar la capacidad biorremediadora de tres bioestimulantes (BS) producidos a partir de lodos de depuradora en un suelo contaminado por aceite de motor de gasolina. Dos de los bioestimulantes (BS1 y BS2) se obtuvieron por fermentación con *Bacillus licheniformis* y el tercero (BS3) por hidrólisis enzimática. El aceite de motor tiene un elevado contenido en hidrocarburos aromáticos políciclicos (PAH) y produjo una fuerte inhibición de la actividad microbiana del suelo. La degradación de estos hidrocarburos dependió del número de anillos aromáticos y en los suelos sin enmendar fue nula para los de 5 y 6 anillos. La aplicación de los tres BS conllevó al incremento de la actividad deshidrogenasa respecto al suelo contaminado sin enmendar, así como a un aumento de la degradación de los PAHs. El efecto de estas enmiendas sobre la degradación de los PAHs no solo dependió de su naturaleza, sino también del tipo de BS aplicado, siendo el hidrolizado enzimáticos el que arrojó los mejores resultados.

Palabras clave: Aceite de motor, bioestimulantes, biorremediación, PAH, actividad deshidrogenasa

Abstract

The aim of this work was to evaluate the bioremediation capacity of three biostimulants (BS) produced from sewage sludge in a motor oil contaminated soil. Two of the BS (BS1 and BS2) were obtained by a fermentation process with *Bacillus licheniformis* and the third (BS3) by enzymatic hydrolysis. Motor oil has a high content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and caused a strong inhibition of the soil microbial activity. The degradation of these PAHs depended on the number of aromatic rings, being observed that hydrocarbons with 5 and 6 aromatic rings were not degraded in non-organically amended soils. The soil dehydrogenase activity as well as the degradation of PAHs increased respect to the non-amended soil when the three BS were used. The effect of these amendments not only depended on the structure of PAHs but also on the chemical composition of BS, being the better results those of the soils amended with the enzymatic hydrolysate.

Keywords: Motor oil, biostimulants, bioremediation, PAH, dehydrogenase activity.

Introducción

Los aceites de motor usados son un residuo peligroso cuya gestión está regulada por el Real Decreto 679/2006, modificado por la Orden ARM/795/2011. Sin embargo, el manejo de pequeños volúmenes puede hacer que este residuo cause contaminación dispersa (Ramadass, et al., 2015). Estos residuos tienen un alto contenido en hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) debido al calentamiento y la oxidación a la que se ven sometidos durante su vida útil (Dindar, et al., 2015; Ramadass, et al., 2015). Estas sustancias no solo son tóxicas para la salud humana, por sus efectos mutagénicos y carcinogénicos, sino que también inhiben el desarrollo de los microrganismos del suelo (Rodríguez-Morgado, et al., 2015a).

Estudios recientes con bioestimulantes edáficos (BS) obtenidos por hidrólisis enzimática han mostrado su influencia positiva en la biorremediación de suelos con PAHs (Tejada, et al., 2011; Rodríguez-Morgado, et al., 2015a). Asimismo, Rodríguez-Morgado, et al. (2019) obtuvieron distintos bioestimulantes a partir de lodos de depuradora por fermentación con *Bacillus licheniformis*, que al ser aplicados al suelo estimularon significativamente la actividad microbiana.

La actividad deshidrogenasa ha resultado ser un buen bioindicador de la calidad de los suelos, dada su rápida respuesta ante cualquier cambio (Dindar, et al., 2015; Tejada, et al., 2011)

Por tanto, el objetivo de este trabajo es estudiar, en microcosmos, el efecto de diferentes BS, obtenidos de lodos de depuradora por fermentación e hidrólisis enzimática, en la biorremediación de suelos contaminados con aceite de motor de gasolina.

Material y métodos

El suelo usado en este trabajo fue un Calcaric Regosols (WRB, 2014) cuyas características físico-químicas se recogen en Rodríguez-Morgado, et al. (2015b)

Se utilizaron tres BS obtenidos de lodos de la depuradora del Centro de Nuevas

Tecnologías del Agua (CENTA), de Carrión de los Céspedes (Sevilla). La obtención de los BS se describe en Rodríguez-Morgado, et al. (2015b, 2019). Los BS fueron: BS1 (Fermentación con *B. licheniformis* y constituido por materia orgánica hidrolizada), BS2 (Fermentación con *B. licheniformis* y constituido por bacterias, enzimas y materia orgánica hidrolizada) y BS3 (Hidrólisis enzimática mediante una endoproteasa de *B. licheniformis*). Su composición química se recoge en la tabla 1.

Tabla 1. Características químicas y distribución del peso molecular de las proteínas (media ± desviación estándar, n=3) de los bioestimulantes obtenidos por fermentación y por hidrólisis enzimática

	BS1	BS2	BS3
pH	8.0±0.3	8.3±0.2	8.0±0.2
Materia orgánica (g kg ⁻¹)	475±11	468±19	748±12
N (g kg ⁻¹)	31.4±4.7	29.6±5.2	34.3±4.7
Distribución del peso molecular de proteína (D)			
> 10000	40.0±2.1	42.8±2.7	22.8±2.2
10000 – 5000	15.6±2.1	13.8±1.6	9.7±1.1
5000 – 1000	11.8±1.9	11.7±1.3	6.2±1.2
1000 – 300	1.6±0.4	2.0±0.5	2.0±0.4
< 300	31.0±2.5	29.7±3.2	59.3±4.7

El diseño experimental se realizó de la siguiente manera: 300 g de suelo tamizados (< 2 mm) y preincubados durante 7 días a 25 °C y al 30-40% de su capacidad de campo, se mezclaron con aceite de motor al 0,7% (p/p) en botes de vidrio de 1L (Ramadass, et al., 2015). A continuación, se añadieron los BS para conseguir un 1% de materia orgánica en los suelos (57.4 g de BS1, 59.3 g de BS2 and 35.8 g de BS3). Los tratamientos (tabla 1) se realizaron por triplicado y fueron: C (suelo no contaminado (snc) y no enmendado), C+BS1 (snc con BS1), C+BS2 (snc con BS2), C+BS3 (snc con BS3), C+O+BS1 (suelo contaminado (sc) con BS1), C+O+BS2 (sc con BS2), C+O+BS3 (sc con BS3)

Los PAHs se determinaron a los 2, 20 y 50 días de incubación. Se extrajeron en una mezcla de diclorometano/pentano 1/1. Tras agitarlo en ultrasonido y concentrarlo en rotavapor, se midieron en un CG 7890

AGILENT conectado a un detector de masas MS TRIPLE Q AGILENT 7000C. La actividad deshidrogenasa se determinó a los 2, 6, 9, 14, 20, 35 y 50 días de incubación, siguiendo el método descrito por García, et al. (1993).

Para comprobar si existían diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos se realizaron análisis de varianza, utilizando el paquete estadístico Statgraphics Plus 2.1

Resultados y discusión

La actividad deshidrogenasa experimentó un aumento significativo ($p<0,05$) desde el inicio del experimento, que dependió de la naturaleza del BS aplicado (figura 1). Los valores más altos se alcanzaron a los 6 días de incubación, siendo BS3 el que produjo la mayor estimulación. A partir de este día, la actividad disminuyó hasta igualar al control al final del experimento. La mayor actividad producida por los BS obtenidos por hidrólisis enzimática frente a los obtenidos por fermentación se debe a que tienen más cantidad de péptidos de bajo peso molecular (Orts, et al., 2019, Rodríguez-Morgado, et al., 2019).

La contaminación del suelo con el aceite de motor disminuyó significativamente ($p<0,05$) la actividad deshidrogenasa (54,3 %) al final del periodo experimental. La aplicación de los BS al suelo contaminado supuso una recuperación de la actividad metabólica del suelo, que fue mayor en los suelos tratados con BS3 frente a los tratados con BS1 y BS2. Tanto el efecto nocivo de los PAHs sobre la actividad deshidrogenasa, como la reducción en la inhibición al añadir diferentes BS también ha sido observado por otros autores (Tejada, et al., 2011; Rodríguez-Morgado, et al., 2015a).

La adición de los BS aumentó la degradación, siendo mayor para los suelos con BS3 que para los enmendados con BS1 y BS2. Así, se observó que en el tratamiento C+O+BS3, la concentración de naftaleno fue un 77% significativamente más baja al final del periodo experimental. Con respecto a los hidrocarburos de 3, 4, 5 y 6 anillos, se observó una bajada del 59%, 45%, 30% y 16%. En los suelos

enmendados con BS1 y BS2, la disminución de la concentración de los PAHs de 2, 3, 4, 5, y 6 anillos fue del 62%, 50%, 33%, 16% y 10%, respectivamente. Este comportamiento coincide con el observado por Rodríguez-Morgado, et al. (2015a) en un experimento con PAHs de 3, 4 y 5 anillos aromáticos. En este trabajo los BS con proteínas de menor peso molecular produjeron la mayor degradación. En nuestro caso, BS3 tiene el mayor contenido en proteína de peso molecular menor de 300 D (59,3%) respecto a BS1 (31%) y BS2 (29,7%) (tabla 1).

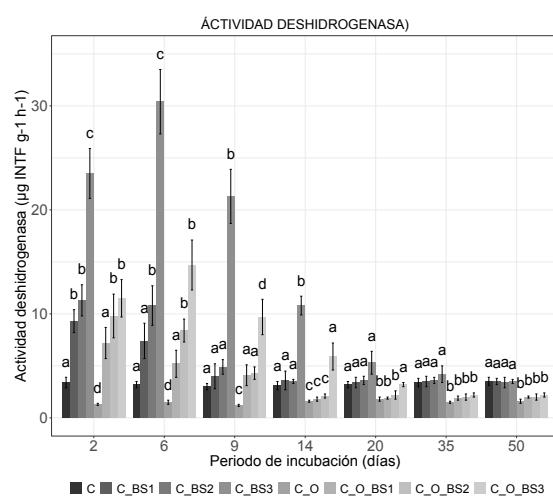


Figura 1. Evolución de la actividad deshidrogenasa (media ± desviación estándar, n=3) en suelos enmendados con los BS y contaminados con aceite de motor. Letras diferentes por cada día indican diferencias significativas ($p<0,05$)

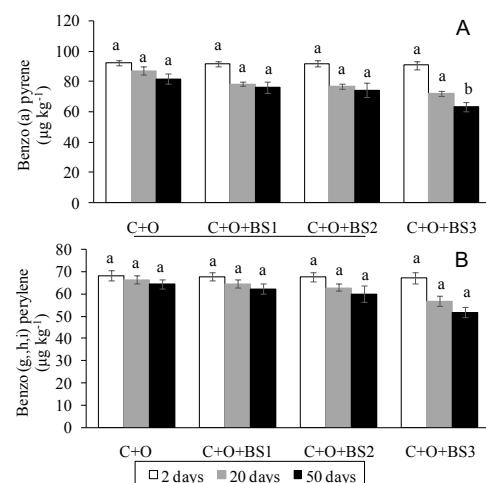


Figura 2. Evolución de PAHs con 5 (A) y 6 (B) anillos aromáticos (media ± desviación estándar, n=3). Letras diferentes por tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

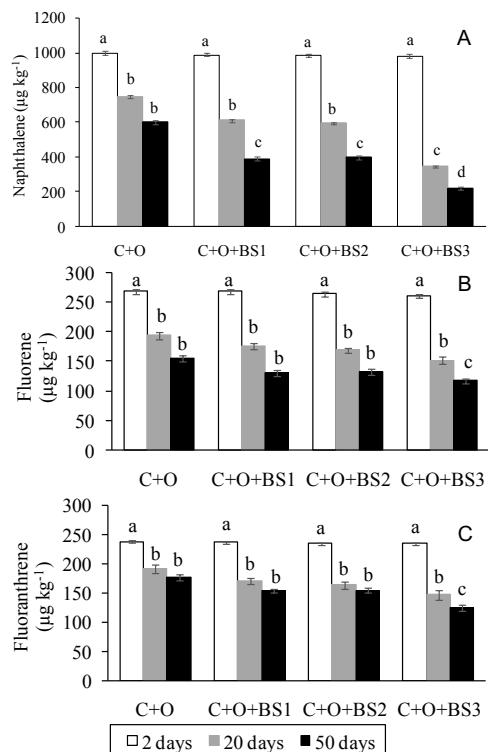


Figura 3. Evolución de PAHs con 2 (A), 3 (B) y 4 (C) anillos aromáticos (media ± desviación estándar, n=3). Letras diferentes por tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran que el aceite de motor de gasolina inhibe drásticamente la actividad microbiana del suelo. Por otro lado, los datos obtenidos tras la aplicación de BS revelan que la enmienda de suelos con estos productos es una buena estrategia para biorremediar suelos contaminados con PAHs. Finalmente, se confirma que los BS producidos por hidrólisis enzimática tienen una mayor capacidad biorremediadora que los procedente de fermentación, ya que tienen un mayor contenido en péptidos de bajo peso molecular.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (España), Plan Estatal 2017-2020, referencia RTI2018-097425-B-I00, y la Junta de Andalucía (Consejería de Economía y Educación), Proyectos I+D+i FEDER Andalucía 2014-2020, con

referencia US-1263885.

Referencias bibliográficas

- Dindar, E., Şagban, O.T. & Başkaya, H. (2015). Variations of soil enzyme activities in petroleum-hydrocarbon contaminated soil. International Biodeterioration & Biodegradation, 105, 268-275. doi: 10.1016/j.ibiod.2015.09.011
- García, C., Hernández T., Costa F., Ceccanti B. & Masciandaro, G. (1993). The dehydrogenase activity of soils an ecological marker in processes of perturbed system regeneration. In Proceedings of The XI International Symposium of Environmental Biogeochemistry, Gallardo-Lancho J (ed.) : Salamanca, Spain; 89-100
- Orts,A., Tejada, M. Parrado, J., Paneque, P., García, C., Hernández, T. & Gómez-Parrales, I. (2019). Production of biostimulants from okara through enzymatic hydrolysis and fermentation with *Bacillus licheniformis*: comparative effect on soil biological properties, Environmental Technology, 40:16, 2073-2084. doi: 10.1080/09593330.2018.1436596
- Ramadass, K., Megharaj, M., Venkateswarlu, K. & Naidu, R. (2015). Ecological implications of motor oil pollution: Earthworm survival and soil health. Soil Biology & Biochemistry, 85, 72-81. doi: 10.1016/j.soilbio.2015.02.026
- Rodríguez-Morgado, B., Gómez, I., Parrado, J., García, C., Hernández, T. & Tejada, M. (2015a). Accelerated degradation of PAHs using edaphic biostimulants obtained from sewage sludge and chicken feathers. Journal of Hazardous Materials, 300, 235-242. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.05.045
- Rodríguez-Morgado, B., Gómez, I., Parrado, J., García-Martínez,A.M., Aragón, C., Tejada, M. (2015b). Obtaining edaphic biostimulants/biofertilizers from different sewage sludges. Effects on soil biological properties. EnvironmentalTechnology, 36, 2217-2226. doi: 10.1080/09593330.2015.1024760
- Rodríguez-Morgado, B., Caballero, P., Paneque, P., Gómez, I., Parrado, J. & Tejada, M. (2019). Obtaining edaphic biostimulants/biofertilizers from sewage sludge using fermentative process. Short-time effects on soil biochemical properties. Environmental Technolgy, 40:3, 399-406 doi: 10.1080/09593330.2017.1393016
- Tejada, M., Benítez, C., Parrado, J. (2011). Application of biostimulants in benzo(a)pyrene polluted soils: Short-time effects on soil biochemical properties. Applied Soil Ecology, 50, 21-26. doi: 10.1016/j.apsoil.2011.08.002
- World Reference Base for Soil Resources (WRB) (2014). International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Roma; 192

Comportamiento de oxifluorfen en suelos enmendados con diferentes fuentes de materia orgánica y sometido a sequía severa.

Behaviour of oxifluorfen in soils amended with different sources of organic matter and subjected to severe drought

**Gómez Parrales, Isidoro^{1*}, Paneque Macías, Patricia¹, del Toro Carrillo de Albornoz, Marina¹,
Parrado Rubio, Juan², Tejada Moral, Manuel¹.**

¹Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola. E.T.S.I.A. Universidad de Sevilla. Ctra de Utrera Km. 1.
41013, Sevilla (España).

²Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, C/ Prof. García González 2,
41012.

*iangel@us.es

Resumen

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de dos enmiendas orgánica, estiércol de vaca (MC) y de oveja (MS), en un suelo contamiando con oxifluorfen y sometido a sequía severa. Para evaluar este efecto se dispusieron dos grupos de tratamientos, uno de los cuales se regó durante todo el periodo experimental y el otro se mantuvo seco. Los resultados mostraron que la actividad deshidrogenas era menor en los suelos secos que en los húmedos para todos los tratamientos. La presencia de oxifluorfen hizo bajar drásticamente la actividad microbiana del suelo en ambos escenarios. La adición de materia orgánica supuso el aumento de la actividad microbiana, siendo más alta para la enmienda MS que para MC. Esto podría deberse a que MS tiene más cantidad de ácidos fulvicos que MC, más disponibles para los microorganismos. Por otro lado, MS también tiene más ácido húmico que juegan un papel importante en la retención de oxifluorfen, retirándolo de la solución del suelo, reduciendo su disponibilidad para la microbiota del suelo. Asimismo, se observó una mayor degradación de oxifluorfen en los suelos con MS que con MC, tanto en suelos regados como no regados.

Palabras clave: oxifluorfen, enmiendas orgánicas, sequía severa, actividad deshidrogenasa.

Abstract

The objective of this work was to study the effect of two organic amendments in soils contaminated with oxyfluorfen and submitted to severe drought. Two groups of treatments were arranged. One of them was watered during the experimental period and the other was maintained dry. The results obtained showed that dehydrogenase activity was lower in dry soils compared with those watered for all the treatments. Oxyfluorfen made dehydrogenase activity decrease in both scenarios. The addition of organic matter supposed an increase of this parameter, being higher in soils with MS compared with MC. This behaviour could be due to the content of fulvic acid, which were higher in MS than in MC. Fulvic acids are the more labile fraction of organic matter and, therefore, more available for microorganisms. On the other hand, MS has a bigger content of humic acid, which played a key role in the adsorption of oxyfluorfen, making the xenobiotic less available for soil microbes. Likewise, a higher degradation of oxyfluorfen was observed in soils amended with MS than those with MC, either in watered or not watered soils.

Keywords: Oxyfluorfen, organic amendments, severe drought, dehydrogenase activity.

Introducción

El sexto informe de evaluación del IPCC (Climate Change, 2022) pone claramente de manifiesto que, si no se reduce drásticamente las emisiones de CO₂, los eventos extremos como sequías severas, inundaciones, lluvias torrenciales y olas de calor incrementarán su frecuencia y llegarán a superar la resiliencia de algunos ecosistemas, entre los que se encuentran los mediterráneos. Este escenario de cambio climático lleva al aumento de plagas y malas hierbas, con el consecuente incremento en el consumo de plaguicidas y herbicidas (Climate Change, 2022).

En este contexto, el uso de oxifluorfen (2-cloro-1-(3-etoxy-4-nitrofenoxo)-4-(trifluorometil) benceno), un difenil éter selectivo de contacto con actividad residual, se ha extendido ampliamente en los últimos años en el sur de Europa, sobre todo en el cultivo del olivar, lo que ha supuesto que se detecte su presencia en aguas, tanto superficiales como subsuperficiales (Hermosín et al., 2013; Franco-Andreu et al., 2016).

Por otro lado, el empleo de diferentes tipos de enmiendas orgánicas como estrategia de biorremediación de suelos húmedos y contaminados con oxifluorfen es una práctica habitual (Gómez et al., 2014). No obstante, no se ha estudiado el efecto de estas enmiendas en suelos contaminados sometidos a sequía severa.

Además, la medida de la actividad deshidrogenasa ha demostrado ser un buen bioindicador de la actividad microbiana del suelo, ya que informa sobre la presencia de microorganismos viables (García et al., 1993).

Atendiendo a lo expuesto hasta ahora, el objetivo de este trabajo es estudiar la evolución de la actividad deshidrogenasa y del contenido en oxifluorfen en un suelo bajo clima mediterráneo.

Material y métodos

En este trabajo se utilizó un suelo franco-arcillo-arenoso bajo olivar clasificado como Calcaric Regosols (WRB, 2014). Las fuentes de materia orgánica con las que se

enmedó el suelo fueron un estiércol de vaca (MC) y otro de oveja (MS), ambos compostados en una pila trapezoidal con humedad y temperatura controladas. Las principales características del suelo se recogen en el trabajo de Franco-Andreu et al. (2017) y las de las enmiendas en la tabla 1.

En este experimento se utilizó Fenfen (24% pv⁻¹ de oxifluorfen) de la empresa Lainco S.A. (España). La dosis de aplicación fue de 4 Lha⁻¹.

El diseño experimental se realizó durante 75 días en microcosmos en laboratorio para asegurar las condiciones de sequía severa. Se dispusieron en botes de vidrio 300 g de suelo tamizado a 2 mm, preincubados a 25°C durante 7 días al 30-40% de la capacidad de campo. A continuación, se contamianaron los suelos con oxifluorfen y poseteriormente se añadieron las enmiendas a las dosis de 67,41 Mgkg⁻¹ de MC y 52,55 Mgkg⁻¹ de SM, con el fin de que tuvieran la misma cantidad de materia. Los botes se separaron en dos grupos, uno se regó durante todo el experimento y otro se sometió a sequía extrema. Los suelos regados se etiquetaron con C (control), MC (suelo enmendado con MC), MS (suelo enmendado con MS), OX_MC (suelo con oxifluorfen y enmendado con MC) y OX_MS (suelo con oxifluorfen y enmendado con MS) y los no regados recibieron los mismos tratamientos y se etiquetaron con CD, MCD, MSD, OX_MCD y OX_MSD. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado.

Para realizar el análisis de los distintos parámetros bioquímicos y químicos, se tomaron muestras a los 10, 20, 50 y 75 días de incubación. La actividad deshidrogenasa (DHA) se determinó de acuerdo con el método propuesto por García et al. (1993). Para determinar el contenido de oxifluorfen en suelos, se siguió el método descrito por Anastassiades et al. (2003).

Para comprobar si existían diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos se realizó un Anova de medidas repetidas y, posteriormente, el test de Tukey, utilizando el software

estadístico R con los paquetes car y multcomp. Las diferencias entre días se analizaron mediante una t de Student.

Tabla 1. Principales características químicas de las enmiendas orgánicas utilizadas.

	MC	MS
Materia orgánica (g kg ⁻¹)	251±21	332±21
Nitrógeno (g kg ⁻¹)	6,8±1,8	8,5±1,2
Ácidos fúlvicos (mg kg ⁻¹)	4539±54	7375±57
Ácidos húmicos (mg kg ⁻¹)	6911±58	9365±75

Resultados y discusión

La presencia de oxifluorfen produjo una disminución de la actividad deshidrogenasa respecto al control, tanto en los suelos regados como en los no regados (tabla 2). Esto está de acuerdo con otros estudios donde se observó que este herbicida producía una fuerte inhibición de la actividad microbiana del suelo, tanto en suelos secos como húmedos (Franco-Andreu et al., 2016).

La adición de materia orgánica al suelo contaminado con el herbicida, tanto en los suelos regados como en los no regados, supuso una recuperación de la actividad microbiana, siendo mayor en los suelos enmendados con MS que con MC. Franco-Andreu et al. (2017) en un experimento de un año de duración encontraron el mismo comportamiento en suelos tratados con ambos residuos orgánicos y atribuyeron esta diferencia a la mayor concentración de ácidos fúlvicos en MS con respecto MC (tabla 1). Así pues, en los suelos regados se observa que al final del periodo experimental, los suelos contaminados y tratados con MS experimentan un aumento significativo del 80% en la actividad deshidrogenasa respecto al momento inicial. Asimismo, Rodrigues et al. (2021) constataron que la adsorción de oxifluorfen en un suelo dependía de la cantidad y estructura de los ácidos húmicos, de manera que, a mayor cantidad de estos componentes, menor cantidad de oxifluorfen en la solución del suelo disponible para los microorganismos.

En los suelos no regados, al contrario que en los regados, la actividad

deshidrogenasa disminuye a lo largo del tiempo, excepto en los suelos enmendados y contaminados, donde se produce un ligero aumento no significativo al final de periodo respecto al inicio. De nuevo, MS provoca un mayor aumento de la actividad microbiana en los suelos no contaminados que MC, sin embargo, en los contamiados no hay diferencias entre ambos residuos.

Tabla 2. Evolución de la actividad deshidrogenasa (media ± desviación estándar) ($\mu\text{g INTF g}^{-1} \text{h}^{-1}$) en suelos regados y no regados, con y sin oxifluorfen y con ambas enmiendas (MC y MS). Letras minúsculas y mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre tratamientos y entre días, respectivamente. INTF: 2-p-iodo-3-nitrofenil formazán.

	Suelos regados			
	Días de incubación			
	10	20	50	75
C	2,3±0,4 a A	2,4±0,4 a A	2,2±0,2 a A	2,3±0,4 a A
MC	5,0±0,2 b A	5,9±0,2 b B	8,2±0,6 b C	10,6±0,6 b D
MS	6,1±0,2 c A	8,4±0,6 c B	12,4±0,8 c C	15,9±0,7 c D
OX	1,1±0,2 d AB	0,8±0,2 d A	1,2±0,3 d B	1,4±0,2 d B
OX_MC	3,0±0,1 e A	2,8±0,3 e A	3,5±0,6 e B	4,4±0,3 e C
OX_MS	3,4±0,5 e A	3,4±0,8 f A	4,9±0,6 f B	6,1±0,5 f C
Suelos no regados				
CD	1,9±0,2 a A	1,7±0,4 a A	1,5±0,3 a A	1,4±0,2 a A
MCD	4,8±0,3 b A	4,2±0,6 b A	3,7±0,3 b A	3,5±0,4 b B
MSD	5,9±0,3 c A	4,9±0,2 b B	4,4±0,2 c B	4,3±0,3 c B
OXD	1,1±0,2 d A	0,9±0,2 c A	0,8±0,1 d A	0,8±0,1 d A
OXD_MC	2,3±0,2 ae A	1,9±0,4 a A	2,1±0,5 a A	2,9±0,4 e A
OXD_MS	2,6±0,3 e A	1,9±0,5 a B	1,8±0,4 a B	2,9±0,4 e A

El contenido de oxifluorfen en los suelos regados es significativamente menor que en los suelos no regados a partir de los 50 días de incubación (figura 1). En los suelos no enmendados y sometidos a sequía severa, la concentración de oxifluorfen al final del experimento es un 50% mayor que en los suelos regados. Esto está de acuerdo con lo encontrado por Franco-Andreu et al. (2016). La adición de materia orgánica supuso una disminución significativa del contenido de oxifluorfen tanto en suelos húmedos como secos, siendo más acusada para el tratamiento con MS, con un 35% de menos oxifluorfen

en suelos húmedos y un 49% menos en suelos secos respecto a los no enmendados.

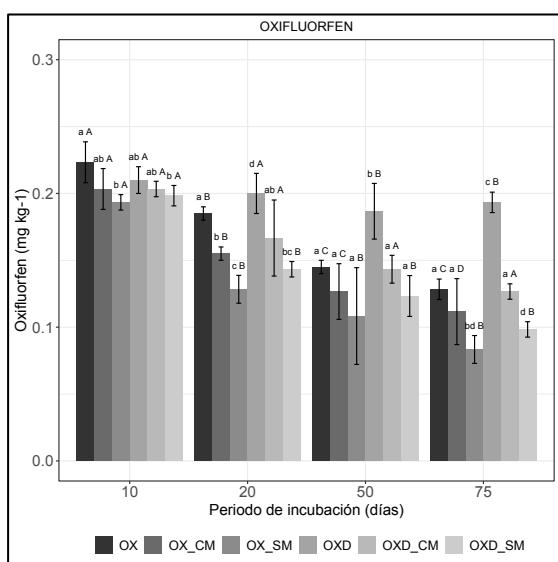


Fig. 1. Concentración de oxifluorfen (media ± desviación estándar) en suelos regados y no regados a lo largo del periodo de incubación. Letras minúsculas y mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos y días, respectivamente.

Estas diferencias podrían explicarse, como en el caso del comportamiento de la actividad deshidrogenasa, atendiendo a la mayor cantidad de ácidos fulvicos que aumentarían la actividad de los microorganismos degradadores de oxifluorfen en mayor medida en los suelos tratados con MS que con MC.

Conclusiones

Nuestros resultados muestran que la enmienda de suelos contaminados con oxifluorfen sometidos a sequía severa es una estrategia útil para disminuir los efectos nocivos de este compuesto sobre la actividad microbiana del suelo, así como, la cantidad del xenobiótico al final del periodo de incubación. Este efecto será tanto más importante, cuanto mayor cantidad de ácidos fulvicos y húmicos tenga el residuo orgánico, ya que, por un lado, los ácidos fulvicos se degradan más fácilmente y aportarán nutrientes para los microorganismos y, por otro lado, los ácidos húmicos retendrán más

intensamente el oxifluorfen, eliminándolo de la solución del suelo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (España), Plan Estatal 2017-2020, referencia RTI2018-097425-B-I00, y la Junta de Andalucía (Consejería de Economía y Educación), Proyectos I+D+i FEDER Andalucía 2014-2020, con referencia US-1263885.

Referencias bibliográficas

- Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D. & Shenck, F.J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing extraction/partitioning and dispersive solid phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86, 412–431
- Climate Change (2022). Impacts, Adaptation and Vulnerability. Working Group II Contribution to the IPCC Sixth Assessment Report
- Franco-Andreu, L., Gómez, I., Parrado, J., García, C., Hernández, T. & Tejada, M. (2016). Behaviour of two pesticides in a soil subjected to severe drought. Effects on soil biology. *Applied Soil Ecology*, 105, 17–24. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.04.001
- Franco-Andreu, L., Gómez, I., Parrado, J., García, C., Hernández, T. & Tejada, M. (2017). Soil biology changes as a consequence of organic amendments subjected to a severe drought. *Land Degradation & Development*, 28, 897–905. doi: 10.1002/lrd.2663
- García C, Hernández T., Costa F., Ceccanti B. & Masciandaro G. (1993). The dehydrogenase activity of soils an ecological marker in processes of perturbed system regeneration. In Proceedings of The XI International Symposium of Environmental Biogeochemistry, Gallardo-Lancho J (ed.) : Salamanca, Spain; 89-100
- Gómez, I., Rodríguez-Morgado, B., Parrado, J., García, C., Hernández, T. & Tejada, M. (2014). Behavior of oxyfluorfen in soils amended with different sources of organic matter. Effects on soil biology. *Journal of Hazardous Materials*, 273, 207–214. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.03.051
- Hermosin, M.C., Calderon, M.J., Real, M. & Cornejo, J., (2013). Impact of herbicides used in olive groves on waters of the Guadalquivir river basin (southern Spain). *Agriculture Ecosystems & Environment*, 164, 229–243. doi: 10.1016/j.agee.2012.09.021
- Rodrigues, D., Calderín, A., Costa, C. & Brasil do Amaral, N.M. (2021). Influence of humic acid structure on the accumulation of oxyfluorfen in tropical soils of mountain agroecosystems. *Environmental Pollution*, 284, 117380. doi: 10.1016/j.envpol.2021.117380
- World Reference Base for Soil Resources (WRB) (2014). International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Roma; 192

Soil and vegetation recovery in an area affected by residual pollution after remediation measures

Recuperación del suelo y la vegetación en una zona afectada por contaminación residual tras la aplicación de medidas de remediación

Paniagua-López, Mario^{1*}; García-Robles, Helena²; Aguilar-Garrido, Antonio¹; Romero-Freire, Ana¹; Lorite, Juan²; Sierra-Aragón, Manuel¹

¹ Departamento de Edafología y Química Agrícola, Universidad de Granada, Campus Fuentenueva s/n, 18071 Granada, Spain.

² Departamento de Botánica, Universidad de Granada, Campus Fuentenueva s/n, 18071 Granada, Spain. *mpaniagua@ugr.es

Abstract

The present study evaluates the effectiveness of remediation treatments applied to residual polluted soils affected by the Aznalcóllar mining spill occurred in 1998 (SW Spain). For this purpose, the influence of the treatments on the main soil properties and on the evolution of natural vegetation was studied. The results showed that amendments application improved the main soil properties and reduced soil toxicity, which led to a partial natural recovery of the vegetation cover and species richness in amended soils. *Spergularia rubra* and *Lamarckia aurea*, two of the main plant species present in the area and more strongly associated to high pollutant concentrations, showed a high bioaccumulation factor (BAF) for the main pollutants in the area (Pb and As) in shoots and, specially, in roots. *Lamarckia aurea* showed a remarkably high accumulation of these elements in roots, which is consistent with its distribution, strongly associated to areas where the vegetation growth is more restricted and where no other plant species are able to grow. Thus, both *Spergularia rubra* and *Lamarckia aurea* are important key species in this area, which may favour the subsequent colonization of the residual polluted soils by other less tolerant species to the pollutants present in these soils.

Keywords: Soil pollution, amendments, natural remediation, *Lamarckia aurea*, bioaccumulation factor

Resumen

El presente estudio evalúa la eficacia de diferentes tratamientos de remediación aplicados en suelos residualmente contaminados afectados por el vertido minero de Aznalcóllar, ocurrido en 1998 (SO de España). Se estudió la influencia de estos tratamientos sobre las principales propiedades del suelo y sobre la evolución de la vegetación. Los resultados mostraron que las enmiendas mejoraron las principales propiedades del suelo y redujeron su toxicidad, lo que condujo a una recuperación natural parcial de la cubierta vegetal y la riqueza de especies en los suelos enmendados. *Spergularia rubra* y *Lamarckia aurea*, dos de las principales especies vegetales presentes en la zona y más fuertemente asociadas a altas concentraciones de contaminantes, mostraron un elevado factor de bioacumulación (BAF) para los principales contaminantes en la zona (Pb y As) tanto en parte aérea como en raíz. *Lamarckia aurea* mostró una elevada acumulación de estos elementos en las raíces, lo que concuerda con su distribución, fuertemente asociada a zonas donde el crecimiento de la vegetación está más limitado. *Spergularia rubra* y *Lamarckia aurea*, por tanto, son especies clave en esta zona, ya que pueden favorecer la colonización posterior de estos suelos residualmente contaminados por parte de otras especies menos tolerantes a la contaminación.

Palabras clave: Contaminación del suelo, enmiendas, remediación natural, *Lamarckia aurea*, factor de bioacumulación

Introduction

Soil pollution by heavy metals is a worldwide problem which poses a risk to ecological systems and to human health and food production. Anthropogenic activities, such as mining, represent important potential sources of soil pollution (Dermont et al., 2008; Liu et al., 2018). One of the most important mining accidents worldwide associated with metal mining spill occurred in Aznalcóllar (SW Spain) on 25 April 1998, when the tailing dam collapsed and around $4.5 \times 10^6 \text{ m}^3$ of acidic waters and toxic tailings were spilled into the Agrio and Guadiamar river basins, affecting an area of over 43 km^2 (Simón et al., 1999).

A great variety of soil remediation techniques, both in-situ and ex-situ, have been developed and tested in contaminated soils with the aim of reducing the polluting effects (Liu et al., 2018). These techniques may be based on the addition of organic and inorganic amendments to assist the natural remediation processes of soils damaged or contaminated by pollutants (Adriano et al., 2004).

Plants, as an element of the ecosystem, play a significant role in the restoration of degraded or polluted areas, and may act as an indicator of the degree of contamination present in soils. They can accumulate trace elements, especially heavy metals, in or on their tissues, and have a great ability to adapt to variable degrees of pollution present in the environment (Kabata-Pendias, 2000). Also, passive restoration by native vegetation that spontaneously colonize a contaminated area, in improving conditions, is an important factor to consider when evaluating the success of remediation actions (Álvarez-Rogel et al., 2021), as they may act as nurse plants and thus facilitate the growth of less stress-tolerant species (Navarro-Cano et al., 2018).

The present study aims to evaluate the effectiveness of remediation treatments applied to residual polluted soils affected by the Aznalcóllar mining spill by analyzing their influence on the main soil properties, as well as in the spontaneous vegetation recovery.

Material and methods

The study site corresponds to the area affected by the toxic spill of the Aznalcóllar mine (SW Spain). The area nearby the tailing dam where the spill occurred is characterised by the existence of numerous randomly distributed unvegetated patches. For this study, three unvegetated patches of soils which remained affected by residual pollution were selected. In each of them, an experimental plot of 24 m^2 was established, subdivided into 6 subplots where six different treatments were applied. The treatments consisted of: BS: Biopile, which consisted of a mixture of contaminated soil affected by the spill with the adjacent recovered soil in a proportion of 50% (w/w); BVS: Biopile + vermicompost; GS: Gypsum mining spoil; GVS: Gypsum mining spoil + vermicompost; MS: Marble sludge; MVS: Marble sludge + vermicompost.

Eighteen months after the application of the treatments, composite samples of the topsoil (0 – 10 cm) for each of the treatments were taken, and the main soil properties were analyzed. Also, the vegetation present in the plots was monitored, by measuring the vegetation cover and the plant species richness on every treatment applied. For this purpose, a 0.25 m^2 grid divided into 100 cells was used, and the number of cells occupied by herbaceous species, both as total cover and as cover per species, as well as the total number of different species present on the grid, were counted. This was replicated three times per experimental plot and treatment. Finally, vegetation samples of the most frequent plant species were collected to analyze the pollutant elements uptake by these colonizing species. Bioaccumulation factor (BAF), both for aerial part and for roots, was calculated to determine the plant's capacity to take up metal from the soil and to either transport it to the aboveground parts or to accumulate it in the roots. To do so, the different parts of the plant samples were digested in a microwave XP1500Plus (Mars®) in HNO_3 : H_2O_2 (1:1), and concentrations of potential pollutants (Pb, As, Zn, Cu) were measured by ICP-MS in a PE SCIEX ELAN-5000A spectrometer. The plant-available (EDTA-extractable) metal fraction in soils samples

was also calculated for this end. Finally, translocation factor (TF) was estimated as the ratio between trace element content in aboveground parts of the plants and trace element content in roots, to determine the degree of element migration from the roots to the aerial part of the plant.

Results and discussion

Main soil properties related to contamination

Table 1 shows the values of the main soil properties related to the contamination due to the Aznalcóllar mining spill. The soils in which a high degree of contamination persists (CS) were characterized mainly by a strong acid pH and high salinity (EC), as well as by a low organic matter content due to the absence of vegetation cover. Compared to CS, recovered soils (RS) and soils not affected by the spill (US) showed a less acidic pH, but specially a significantly lower salinity and a higher organic matter content. As for the amended soils, pH increased in all cases compared to CS, and reached values even higher than US for treatments with marble (MS and MVS) and gypsum (GS and GVS). EC and organic carbon (OC) content slightly improved under treatments, although OC was higher in soils in which vermicompost was added.

Table 1. Main soil properties (EC: Electrical conductivity; OC: Organic carbon content) related to the Aznalcóllar mining accident.

	pH		EC (dS/m)		OC (%)	
	Mean	sd	Mean	sd	Mean	sd
US	6,06de	0,28	0,08a	0,06	2,32bc	1,60
RS	4,28ab	0,48	0,98b	0,61	3,68c	1,46
CS	3,49a	0,23	3,12d	0,63	0,61a	0,09
BS	5,37cd	0,87	2,35cd	0,30	1,14ab	0,16
BVS	4,96bc	0,41	2,15c	0,51	1,62ab	0,38
GS	6,22def	0,29	2,38cd	0,06	0,89a	0,11
GVS	6,41ef	0,19	2,36cd	0,04	1,67ab	0,26
MS	6,78ef	0,19	2,29c	0,07	1,20ab	0,24
MVS	7,07f	0,07	2,14c	0,26	1,41ab	0,24

US: uncontaminated soil; RS: Recovered soil; CS: Contaminated soil; BS: Biopile soil; BVS: Biopile soil + vermicompost addition; GS: Gypsum amended soil; GSV: GS + vermicompost addition; MS: Marbel amended soil; MVS: MS + vermicompost addition. sd: standard deviation (n=6). Lowercase letters represent significant differences among soils (Kruskal-Wallis, P < 0.05).

Plant cover and richness and pollutants concentration in plants

Both in US and RS the vegetation cover was total, unlike CS where the vegetation growth was completely inhibited. Species richness compared to US was slightly reduced in RS, while in treated soils it was about half of it. The treatments applied on CS, however, improved soil properties and reduced soil toxicity, allowing vegetation to develop, with a higher percentage of cover and species richness in the vermicompost treatments (Fig. 1).

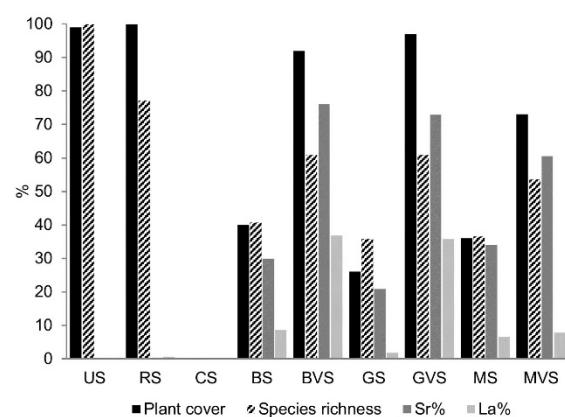


Fig. 1 - Plant cover and species richness under treatments.

US: uncontaminated soil; RS: Recovered soil; CS: Contaminated soil; BS: Biopile soil; BVS: Biopile soil + vermicompost addition; GS: Gypsum amended soil; GSV: GS + vermicompost addition; MS: Marbel amended soil; MVS: MS + vermicompost addition. Sr: *Spergularia rubra*; La: *Lamarckia aurea*.

Spergularia rubra and *Lamarckia aurea* are two species frequently identified in the soils affected by the Aznalcóllar spill associated with areas where pollutant concentrations are high, with acid pH and high salinity. Thus, the capacity of these species as accumulators of pollutants was analyzed. The bioaccumulation factor (BAF) showed that both *S. rubra* and *L. aurea* are potent accumulators of Pb and As, both in the aerial part and, above all, in roots (Table 2). However, for these elements, *L. aurea* showed a higher BAF than *S. rubra*, specially in roots, although the abundance of the latter was higher in all treatments (Fig. 1). This indicates that *L. aurea* is highly tolerant to great concentrations of pollutants, and that the conditions on the amended soils after the treatments has improved, allowing vegetation less tolerant to higher contamination levels to colonize them and to be present at higher rate. This is consistent with previous studies in the

area, that indicated that *L. aurea* has a greater presence in the areas with higher levels of pollution (García-Carmona et al., 2019). For Zn, both species showed BAF values greater than unity, but to a lesser extent than for Pb and As, and none of them showed a significant accumulation capacity for Cu. In addition, the translocation factor (TF) was lower than one in all cases, indicating that there was no migration of these elements from roots to the aboveground parts of these species (Table 2). However, it was observed that TF in *S. rubra* was about twice as high as in *L. aurea* for all elements. This indicates that migration of elements to aerial part in *S. rubra* is higher than in *L. aurea*, where accumulation in roots is greater, which may allow this species to be present in soils with a higher degree of pollution.

Table 2 – Bioaccumulation factor (BAF) and translocation factor (TF) for main plant species present in the study area

	<i>S. rubra</i>		<i>L. aurea</i>		
	mean	sd	mean	sd	
BAF	Pb_shoot	32,8	51,2	41,8	55,7
	Pb_root	42,8	42,7	136,7	150,9
TF	Pb	0,6	0,4	0,3	0,2
	As_shoot	14,1	13,6	15	10,9
BAF	As_root	19,1	15,5	39,1	27,9
	TF	As	0,7	0,4	0,4
BAF	Zn_shoot	5,6	4,5	2,9	2,1
	Zn_root	5,0	3,3	4,1	2,2
TF	Zn	1,0	0,5	0,6	0,4
BAF	Cu_shoot	0,8	0,4	0,7	0,5
	Cu_root	0,8	0,4	1,5	0,8
TF	Cu	0,8	0,5	0,4	0,2

Conclusions

The remediation treatments improved the main soil properties by increasing soil pH value, organic carbon content and reducing salinity. Thus, treatments were also effective in enhancing the spontaneous vegetation recovery of the contaminated soil patches. Vermicompost amendment treatments showed the greatest effectiveness in vegetation recovery, leading to a higher species richness and plant cover in the amended soils. *S. rubra* and *L. aurea* showed a great capacity to accumulate Pb and As both in shoots and roots, which leads them to have a high tolerance to the high concentration of pollutants present in the studied soils. This

points to these species as a key species, as they may act as pioneer species and thus facilitate the secondary succession of the residual polluted soils which remain in the area.

Acknowledgements

This work was supported by the Research Project RTI 2018-094327-B-I00 (Ministry of Science, Innovation and Universities).

References

- Adriano, D. C., Wenzel, W. W., Vangronsveld, J., & Bolan, N. S. (2004). Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma*, 122(2-4), 121-142. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.003>
- Álvarez-Rogel, J., Peñalver-Alcalá, A., Jiménez-Cárceles, F. J., Tercero, M. C., & González-Alcaraz, M. N. (2021). Evidence supporting the value of spontaneous vegetation for phytomanagement of soil ecosystem functions in abandoned metal(loid) mine tailings. *Catena*, 201, 105191. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2021.105191>
- Dermont, G., Bergeron, M., Mercier, G., & Richer-Laflèche, M. (2008). Metal-contaminated soils: remediation practices and treatment technologies. *Practice periodical of hazardous, toxic, and radioactive waste management*, 12(3), 188-209. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-025X\(2008\)12:3\(188\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-025X(2008)12:3(188))
- García-Carmona, M., García-Robles, H., Torrano, C. T., Ondoño, E. F., Moreno, J. L., Aragón, M. S., & Peinado, F. M. (2019). Residual pollution and vegetation distribution in amended soils 20 years after a pyrite mine tailings spill (Aznalcóllar, Spain). *Science of the Total Environment*, 650, 933-940. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.092>
- Kabata-Pendias, A. (2000). *Trace elements in soils and plants*. Third Edition. CRC Press, Inc. Boca Raton. USA. pp. 365, 413. <https://doi.org/10.1201/9781420039900>
- Liu, L., Li, W., Song, W., & Guo, M. (2018). Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. *Science of the Total Environment*, 633, 206-219. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.161>
- Navarro-Cano, J. A., Verdú, M., & Goberna, M. (2018). Trait-based selection of nurse plants to restore ecosystem functions in mine tailings. *Journal of Applied Ecology*, 55(3), 1195-1206. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13094>
- Simón, M., Ortíz, I., García, I., Fernández, E., Fernández, J., Dorronsoro, C., & Aguilar, J. (1999). Pollution of soils by the toxic spill of a pyrite mine (Aznalcóllar, Spain). *Science of the Total Environment*, 242(1-3), 105-115. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00378-2](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00378-2)

Utilização de parâmetros físico-químicos e ecotoxicológicos na avaliação da remediação de solos degradados por atividades mineiras

Use of physical-chemical and ecotoxicological parameters in the evaluation of remediation of soils degraded by mining activities

Mourinha, Clarisse^{1*}; Catarino, Adriana^{1,2}; Martins, Inês¹; Alvarenga, Paula³; Palma, Patrícia^{1,2};
Alexandre, Carlos⁴; Rodrigues, Sónia Moraes⁵

¹ DTCA, Departamento de Tecnologias e Ciências Aplicadas, Escola Superior Agrária de Beja, 7801-295, Beja, Portugal

² ICT, Instituto de Ciências da Terra, Universidade de Évora, Rua Romão Ramalho 59, 7000-671, Évora, Portugal

³ LEAF, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda 1349-017, Lisboa, Portugal

⁴ Dept. de Geociências e MED, Universidade de Évora, apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal

⁵ CESAM & Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3810-193, Aveiro, Portugal

*clarissemourinha_17@hotmail.com

Resumo

Na remediação de solos potencialmente contaminados por atividades mineiras, é importante considerar tecnologias ambientalmente sustentáveis, aplicáveis a áreas extensas. A estratégia de remediação *in situ*, que recorre à adição de corretivos orgânicos, ou inorgânicos, permite a reabilitação destes solos, melhorando as suas características e imobilizando os contaminantes, colocando-os em formas menos biodisponíveis. Os corretivos adicionados ao solo podem ser, preferencialmente, resíduos, cuja valorização vai ao encontro das metas Europeias estabelecidas relativamente à deposição de resíduos em aterros. De facto, é fundamental a diminuição dessas quantidades, valorizando os resíduos, e promovendo a sua integração no sistema produtivo. Este estudo teve como objetivo avaliar o uso sustentável de materiais provenientes da indústria da pasta de papel e do papel (cinzas de biomassa e lamas biológicas) na melhoria da qualidade de solos contaminados por atividades mineiras na Faixa Piritosa Ibérica (FPI): Minas de Aljustrel, Lousal e São Domingos), em dois tempos distintos: 1 e 25 meses após a aplicação dos materiais. Foram utilizados parâmetros físico-químicos e ecotoxicológicos. Os resultados sugerem que os aditivos testados permitiram uma clara melhoria nas propriedades físico-químicas dos solos, essenciais para a recuperação das suas características e funções, e diminuição nas respostas tóxicas para vários organismos-teste, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Thamnocephalus platyurus* e *Daphnia magna*, quando expostos a extratos dos solos corrigidos.

Palavras-chave: solo contaminado por minas; remediação do solo; valorização de resíduos; cinzas de biomassa; lamas biológicas.

Abstract

In the remediation of soils potentially contaminated by mining activities, it is important to consider environmentally sustainable technologies, applicable to large areas. The *in situ* remediation strategy that consists in the addition of organic, or inorganic, amendments, allows the rehabilitation of these soils, improving soil characteristics and immobilizing contaminants, turning them into less bioavailable forms. The recovery of this type of materials meets the European goals established for the disposal of waste in landfills, considering that it is essential to reduce the quantities deposited in landfills and increase their recovery, promoting their integration into the production system. This study aimed to evaluate the sustainable use of materials from the pulp and paper industry (biomass ashes and biological sludge) in improving the quality of soils contaminated by mining activities in the Iberian Pyrite Belt (IPB: Aljustrel, Lousal and São Domingos Mines), at two different times: 1 and 25 months after application of the materials. Physicochemical and ecotoxicological parameters were used in that evaluation. The results suggested that the tested amendments allowed a clear improvement in the physicochemical properties of the soils, essential for the recovery of their characteristics and functions, and a reduction of the toxic response of several test organisms, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Thamnocephalus platyurus* and *Daphnia magna*, when exposed to the soil-water extracts of amended soils.

Keywords: mine-contaminated soil; soil remediation; waste valorisation; biomass ash; biologic sludge form pulp and paper industry.

Introdução

As atividades mineiras são uma das causas antrópicas mais importantes de degradação e contaminação de solos a nível mundial (Protano e Nannoni, 2018). Esses solos apresentam diversas limitações físicas, químicas e biológicas, que proporcionam más condições nutricionais, altas concentrações de elementos potencialmente tóxicos (EPTs) e vegetação escassa (Alvarenga *et al.*, 2019). Neste sentido, é de grande importância a recuperação destes solos, de modo a controlar os riscos e, eventualmente, repor a sua capacidade de uso, de uma forma equilibrada (Feng *et al.*, 2019), com recurso a tecnologias de baixo custo, ambientalmente sustentáveis (Alvarenga *et al.*, 2014).

Os resíduos produzidos na indústria da pasta de papel e papel (RIPPP) têm uma composição interessante para serem utilizados na remediação de solos potencialmente contaminados por atividades mineiras, em alternativa à sua deposição em aterros sanitários. As cinzas de biomassa (provenientes da combustão de resíduos florestais) podem ser utilizadas para fertilização dos solos, corrigindo algumas deficiências de nutrientes (K, P, Mg e Ca), e podem melhorar a capacidade tampão de solos ácidos, visto que são alcalinas (pH 12-13,5). Contudo, as cinzas são pobres em matéria orgânica (MO) e azoto (N). A correção dessa deficiência pode ser feita através da combinação das cinzas com lamas biológicas da estação de tratamento de efluentes dessa indústria (Alvarenga *et al.*, 2019).

Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de RIPPP para melhorar as propriedades de solos provenientes de três minas da Faixa Piritosa Ibérica (FPI): Aljustrel, Lousal e São Domingos.

Material e métodos

Foi estabelecido um ensaio piloto na mina de São Domingos (Fig. 1), com solos de três minas da FPI: Aljustrel (A), Lousal (L) e São Domingos (SD). O ensaio piloto incluiu a construção de 12 parcelas com 100 m² cada, preparadas com solo de cada

mina, o controlo (C); e com a adição de: (1) grânulos de cinzas de biomassa (GCB), estabilizados cerca de 6 meses ao ar livre; (2) GCB e lamas biológicas compostadas (GCB+LBC); e (3) uma mistura 1:3 (base volumétrica) de “materiais frescos”, cinzas de biomassa e lamas biológicas sem estabilização (CB+LB).



Fig. 1 – Vista aérea do ensaio piloto desenvolvido na Mina de São Domingos: quatro talhões com os solos de cada uma das minas, e com os respectivos tratamentos (<https://www.lifenowaste.pt/s/>). As letras A, L e SD, corresponde os iniciais das minas, Aljustrel, Lousal e São Domingos e os números, 1, 2 e 3, os tipos de tratamentos (GCB, GCB+LBC e CB+LB), respetivamente. 0 - amostras de solos das minas utilizadas como controlo (sem tratamento).

Os solos foram amostrados em tempos distintos após a aplicação dos corretivos, avaliando-se: pH (1:2,5 p/v, em água desionizada), MO (Walkley-Black), N Kjeldahl e teor em P e K extraíveis (Egner-Rhiem).

A diminuição da fitotoxicidade do solo foi avaliada por testes de germinação e crescimento com agrião (*Lepidium sativum*), uma dicotiledónea, e com cevada (*Hordeum vulgare*), uma monocotiledónea, sendo calculada a sua germinação relativa (RSG, %); e através de testes de mortalidade com *Eisenia fetida*.

A ecotoxicidade dos extractos de água do solo compreendeu bioensaios com organismos representativos de diferentes níveis tróficos: inibição da luminescência de *Vibrio fischeri*; inibição do crescimento da microalga verde *Pseudokirchneriella subcapitata*; e mortalidade de *Thamnocephalus platyurus* e *Daphnia magna*.

Neste trabalho são apresentados os resultados para o solo de São Domingos, 1 mês (T1) e 25 meses (T4) após a aplicação dos materiais.

Resultados e discussão

Parâmetros físico-químicos

Verificaram-se melhorias significativas nas propriedades físico-químicas do solo SD. Destaca-se o aumento do pH, de valores ácidos (3,5-3,9) para valores na zona da neutralidade (7,2-7,7) e do teor de MO de 0,2-0,3% para 2,0-3,1%, com a aplicação de GCB+LBC e CB+LB, respetivamente (Fig. 2).

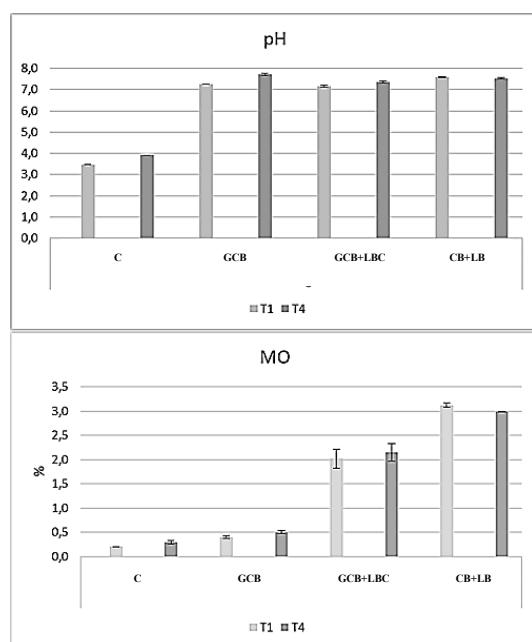


Fig. 2 – Parâmetros utilizados para avaliar fertilidade do solo (média±desvio padrão; n=3).

Parâmetros ecotoxicológicos

Nos ensaios de germinação e de crescimento com *L. sativum* e *H. vulgare*, verificou-se uma boa resposta das plantas aos corretivos aplicados, com aumento da germinação relativa e crescimento nos solos tratados (Fig. 3).

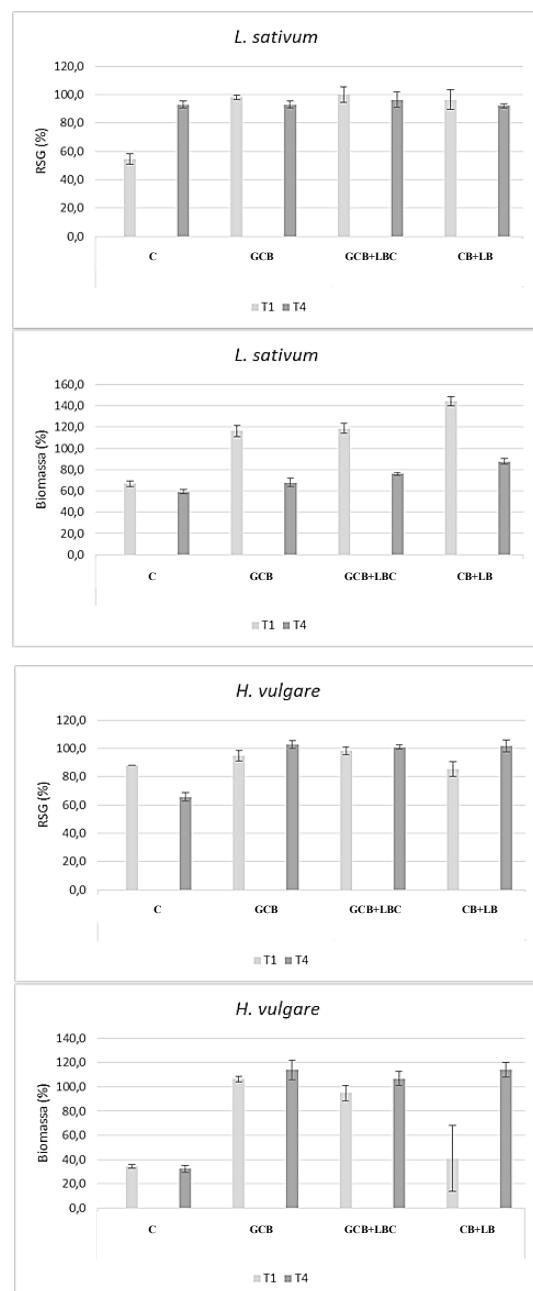


Fig. 3 – Resultados dos ensaios de germinação e crescimento com *L. sativum* e *H. vulgare* (média±desvio padrão; n=3).

Verificou-se uma diminuição nas respostas tóxicas para a alga verde *P. subcapitata*, com diminuição da inibição de crescimento (Fig. 4).

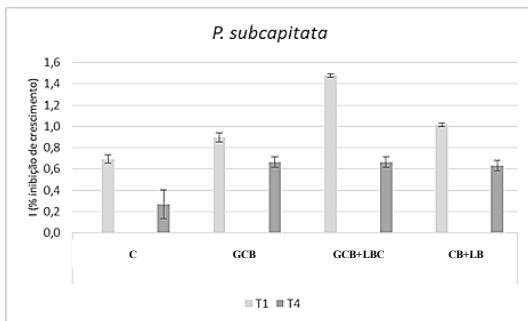


Fig. 4 – Resultados dos ensaios de inibição de crescimento com *P. subcapitata* (média±desvio padrão; n=6).

Para os organismos *D. magna* e *T. platyurus* (Quadro 1), a resposta tóxica também diminuiu, verificando-se toxicidade apenas nos solos em que não foi aplicado qualquer um dos tratamentos. Para *D. magna* os valores de EC₅₀ (concentração do extrato de solo que promove efeito tóxico em 50% dos organismos expostos; %, v/v) foram de 1,37 (T1) e 17,71% (T4). Para *T. platyurus* os valores de EC₅₀ foram de 2,83 (T1) e 9,94% (T4) (Quadro 1).

Quadro 1 – Resultados dos ensaios de mortalidade com *D. magna* e *T. platyurus*.

Ensaio de mortalidade <i>D. magna</i> (EC ₅₀ ; %)		
	T1	T4
C	1,37 [0,77; 1,90]	17,71 [14,85; 21,33]
GCB	nt	nt
GCB+LBC	nt	nt
CB+LB	nt	nt

Ensaio de mortalidade <i>T. platyurus</i> (EC ₅₀ ; %)		
	T1	T4
C	2,83 [2,53; 3,15]	9,94 [8,81; 11,0]
GCB	nt	nt
GCB+LBC	nt	nt
CB+LB	nt	nt

*EC₅₀ (concentração do extrato de solo que promove efeito tóxico em 50% dos organismos expostos; %, v/v).

Conclusões

Os resultados apresentados indicam que os aditivos à base de RIPPP são adequados para serem usados como corretivos para solos degradados com atividades mineiras, destacando-se a aplicação de GCB+LBC e CB+LB. Um dos fatores essenciais para a diminuição da toxicidade pode estar correlacionado com a correção da acidez do solo, conseguida de forma eficaz por todos os corretivos avaliados, sendo que a neutralidade na reação dos solos se manteve durante os 25 meses de duração do ensaio.

Agradecimentos

Este estudo foi suportado pelo projeto Life No_Waste LIFE14 ENV/PT/000369 – “Management of biomass ash and organic waste in the recovery of degraded soils: a pilot project set in Portugal”.

Referências bibliográficas

- Alvarenga, P., Rodrigues, D., Mourinha, C., Palma, P., de Varennes, A., Cruz, N., Tarelho, L.A.C., Rodrigues, S. (2019). Use of wastes from the pulp and paper industry for the remediation of soils degraded by mining activities: Chemical, biochemical and ecotoxicological effects. *Sci. Total Environ.*, 686, 1152–1163. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.038>.
- Alvarenga, P., Varennes, A. de, Cunha-Queda, A.C. (2014). The Effect of Compost Treatments and A Plant Cover with *Agrostis tenuis* on the Immobilization/Mobilization of Trace Elements in a Mine-Contaminated Soil. *Int. J. Phytoremediation*, 16, 138–154. 10.1080/15226514.2012.759533.
- Feng, Y., Wang, J., Baia, Z., Reading, L. (2019). Effects of surface coal mining and land reclamation on soil properties: A review. *Earth-Science Reviews*, s, <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2019.02.015>.
- Protano, G., Nannoni, F. (2018). Influence of ore processing activity on Hg, As and Sb contamination and fractionation in soils in a former mining site of Monte Amiata ore district (Italy). *Chemosphere*, 199, 320–330. 10.1016/j.chemosphere.2018.02.051.

Cu e Zn em frações físicas de solos de vinhedos no Sul do Brasil

Cu and Zn in soil physical fractions of vineyards in southern Brazil

Lourenzi, Cledimar Rogério^{1*}; López-Núñez, Rafael²; Fernández, Ángela María Benítez³; Knicker, Heike²

¹ Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, 88034-000, Florianópolis, Brasil.

² Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC), Avda, Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla, Espanha.

³ Universidad de Sevilla, Facultad de Química, Calle Prof. García González, s/n, 41012 Sevilla, Espanha.

*Autor correspondente: lourenzi.c.r@ufsc.br

Resumo

O cultivo de videiras em regiões com elevadas precipitações pluviométricas, como no sul do Brasil, envolve o uso de fungicidas para o controle das doenças fúngicas foliares. Estes fungicidas, normalmente, contém em sua composição cobre (Cu) e zinco (Zn), promovendo o acúmulo desses metais no solo. O objetivo do trabalho foi avaliar a distribuição de Cu e Zn nas frações físicas granulométricas em solos de vinhedos do sul do Brasil. Foram coletadas amostras de solo (0-5 e 10-20 cm), em duas áreas de vinhedos e uma área de mata em três regiões do sul do Brasil, sendo uma no estado de Santa Catarina e duas no Rio Grande do Sul. As amostras da camada de 0-5 cm foram fracionadas em > 50 µm e < 50 µm. Nas amostras de solo e nas frações foram determinados os teores totais de Cu e Zn por fluorescência de raio-X. As áreas de vinhedos do sul do Brasil apresentam grandes variações nos teores totais de Cu e Zn, devido as distintas características dos solos e ao histórico de cultivo. Para o Cu não há distinção entre as frações, mas o Zn acumula, preferencialmente, na fração <50 µm.

Palavras-chave: metais pesados, *Vitis* sp., fluorescência de raio-X.

Abstract

The cultivation of vines in regions with high rainfall, as in southern Brazil, involves the use of fungicides to control foliar fungal diseases. These fungicides normally contain copper (Cu) and zinc (Zn) in their composition, promoting the accumulation of these metals in the soil. The objective of this work was to evaluate the distribution of Cu and Zn in the granulometric physical fractions in soils from vineyards in southern Brazil. Soil samples (0-5 and 10-20 cm) were collected in two areas of vineyards and a forest area in three regions of southern Brazil, one in Santa Catarina and two in Rio Grande do Sul states. Samples from the 0-5 cm layer were fractionated into > 50 µm and < 50 µm. In the soil samples and in the fractions, the total contents of Cu and Zn were determined by X-ray fluorescence. Vineyard areas in southern Brazil show great variations in total Cu and Zn contents, due to different soil characteristics and cultivation history. For Cu, there is no distinction between the fractions, but Zn accumulates, preferentially, in the fraction <50 µm.

Keywords: heavy metals, *Vitis* sp., x-ray fluorescence.

Introdução

A região Sul do Brasil é a principal responsável pelo cultivo de videiras, especialmente de uvas viníferas, com grande destaque para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, responsáveis por, aproximadamente, 66% da produção nacional de uvas. O cultivo de videiras em regiões com elevadas precipitações pluviométricas, como ocorre no sul do Brasil, envolve o uso de fungicidas para o controle das doenças fúngicas foliares, como o mísio (*Plamopara vitícola*) (Jermini, et al., 2010; Brunetto, et al., 2016).

Alguns dos principais fungicidas utilizados na viticultura possuem em sua composição elementos metálicos como cobre (Cu), na calda bordalesa $[Ca(OH)_2 + CuSO_4]$, e Zinco (Zn), no Mancozeb ($C_8H_{12}MnN_4S_8Zn$). Estes fungicidas são aplicados com elevada frequência durante um único ciclo de produção e, ao longo dos anos, esses produtos acabam sendo transportados para a superfície do solo, promovendo incremento nos teores de Cu e Zn nos solos (Couto, et al., 2015; Tiecher, et al., 2017).

No solo, o Cu e o Zn são retidos por ligações físico-químicas e sua labilidade é dependente do ligante. O teor máximo de Cu e Zn de um solo está relacionado com a sua capacidade de sorção que depende de diversos componentes. Em geral, a capacidade de sorção é maior quanto maior for o conteúdo de argilominerais, óxidos e hidróxidos de Fe, Al e Mn, carbonatos e matéria orgânica. O pH, a capacidade de troca de cátions (CTC) e a qualidade da MOS são importantes fatores que regulam a sorção e de Cu e Zn no solo (Brunetto, et al., 2018).

O Cu tende a ser preferencialmente adsorvido em grupos funcionais de constituintes orgânicos, por causa da sua configuração eletrônica, sendo o Zn, adsorvido, preferencialmente, em constituintes minerais (Croué, et al., 2003; Brunetto, et al., 2018). Somado a isso, o acúmulo de Cu e Zn no solo depende da interação competitiva dos mesmos pelos sítios de adsorção, bem como pelas

demais espécies químicas presentes no meio (Tiecher, et al., 2017). O objetivo do trabalho foi avaliar a distribuição de Cu e Zn nas frações físicas granulométricas em solos de vinhedos do sul do Brasil.

Material e métodos

Para a realização deste trabalho foram selecionadas áreas de vinhedos no Vale da Uva Goethe (VUG), no estado de Santa Catarina (SC), e nas regiões da Serra Gaúcha (SG) e Campanha Gaúcha (CG), no estado do Rio Grande do Sul (RS) (Fig. 1).

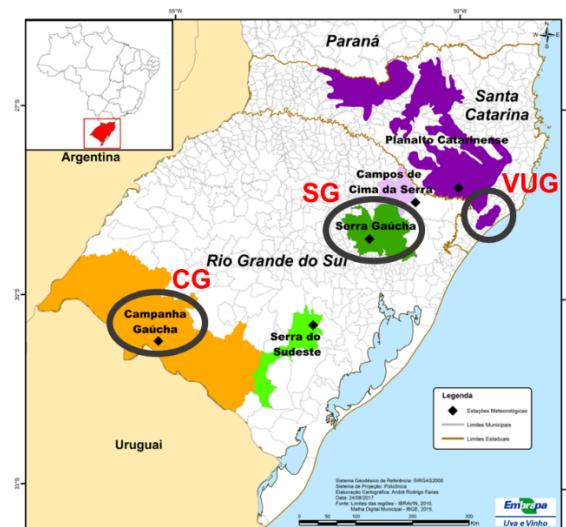


Fig. 1 – Região Sul do Brasil e indicação das regiões onde estão inseridas as áreas de vinhedos estudados.

O VUG está localizado em altitude média de 49 m, com médias anuais de precipitação, temperatura e umidade relativa do ar de 1.540 mm, 19,2°C e 81,5%, respectivamente. A região da SG está localizada em altitude de 600 a 800 m, com médias anuais de precipitação, temperatura e umidade relativa do ar de 1.700 mm, 17,2°C e 76%, respectivamente. Já a região da CG está localizada em altitude de 100 a 300 m, com médias anuais de precipitação, temperatura e umidade relativa do ar de 1.370 mm, 18,4°C e 75%, respectivamente. Os solos do VUG, SG e CG são classificados como Cambissolo Húmico, Neossolo Litólico e Argissolo

Vermelho (Santos, et al., 2018), e Inceptisol, Entisol e Alfisol (Soil Survey Staff, 2006), respectivamente.

Em cada região foram selecionadas duas áreas de vinhedos (V), com diferentes históricos de cultivo, além de uma área de mata (M) adjacente aos vinhedos, que será utilizada como referência às condições naturais do solo. O solo foi coletado na linha de cultivo das videiras, em triplicata, nas camadas de 0-5, 5-10 e 10-20 cm, sendo que para o presente trabalho foram utilizadas as camadas 0-5 e 10-20 cm. Nas regiões da Serra Gaúcha e Campanha Gaúcha, também foram realizadas coletas nas entrelinhas das videiras do vinhedo com maior histórico de cultivo. As amostras foram secas ao ar, moídas e passadas em peneiras de 2 mm.

As amostras de solo, da camada de 0-5 cm, foram fracionadas com base no método “Par-Den 5”, conforme Poeplau et al. (2018). Para isso, 20 g de solo foram dispersadas com 100 mL de água destilada e esferas metálicas de 5 mm de diâmetro durante 16 h, em um agitador a 200 rpm. Posteriormente, a suspensão do solo foi peneirada a 50 µm, sendo separada em fração > 50 µm e < 50 µm, e secas a 105°C por 24 horas.

As amostras de solo, de todas as áreas e profundidades, e também as frações > e < 50 µm, da camada de 0-5 cm, foram submetidas a determinação dos teores totais de Cu e Zn por fluorescência de raio-X (Niton XL3t 950s GOLDD+ XRF - Thermo Scientific Inc., Billerica, MA, EUA).

Para a análise estatística as amostras das três regiões de estudo foram agrupadas em mata, vinhedo e entrelinha e as comparações foram realizadas entre os grupos. Além disso, as frações > 50 µm e < 50 µm foram comparadas entre si utilizando todo o conjunto de dados, sem distinção entre as áreas. Para as comparações entre as áreas foi utilizado o teste de Tukey, enquanto para a comparação entre as frações foi utilizado o teste t, ambos ao nível de 0,05. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o IBM@ SPSS@ Statistics.

Resultados e discussão

Os teores totais de Cu e Zn não apresentaram diferença entre as áreas em nenhuma das camadas avaliadas (Quadro 1). No entanto, devido as características distintas entre as áreas quanto ao tipo de solo, os teores de Cu e Zn apresentaram grandes variações, o que justifica os resultados obtidos. Para a camada de 0-5 cm, por exemplo, área de mata apresentou teores de Cu que variaram de 0 a 61 mg kg⁻¹, enquanto as áreas de vinhedo e entrelinha apresentaram teores de 28,6 a 1672,9 mg kg⁻¹. Já para o Zn, nessa mesma camada, a área de mata apresentou teores de 14,2 a 95,1 mg kg⁻¹, enquanto as áreas de vinhedo e entrelinha apresentaram teores que variaram de 39,7 a 179,6 mg kg⁻¹.

Quadro 1 – Teores totais de Cu e Zn nas amostras de solo de áreas de vinhedos e mata do sul do Brasil.

Área	Cu total	Zn total
	mg kg ⁻¹	
0-5 cm		
Mata	28,4	47,5
Vinhedo	464,0	100,7
Entrelinhas	572,4	109,0
Sig.*	0,521	0,599
10-20 cm		
Mata	31,6	39,8
Vinhedo	115,2	60,2
Entrelinhas	117,6	48,6
Sig.	0,632	0,809

*Diferença significativa entre as áreas pelo teste Tukey quando valor < 0,05.

Nas frações físicas avaliadas, também não foram observadas diferenças entre as áreas para os teores totais de Cu e Zn (Quadro 2).

Quadro 2 – Teores totais de Cu e Zn nas frações > 50 µm e < 50 µm de amostras de solo de áreas de vinhedos e mata do sul do Brasil.

Área	Cu	Zn
	mg kg ⁻¹	
> 50 µm		
Mata	21,0	33,0
Vinhedo	784,6	92,2
Entrelinhas	886,2	104,1
Sig.	0,376	0,474
< 50 µm		
Mata	39,0	80,4
Vinhedo	680,6	199,4
Entrelinhas	459,9	169,0
Sig.	0,249	0,110

*Diferença significativa entre as áreas pelo teste Tukey quando valor < 0,05.

Entretanto, semelhante ao observado para os teores totais do solo, as variações nos teores de Cu e Zn entre as áreas explica os resultados. É importante destacar, no entanto, que as áreas de vinhedos e as entrelinhas apresentam teores totais elevados, especialmente de Cu.

Na comparação entre as frações avaliadas, não foram observadas diferenças para os teores de Cu. No entanto, para o Zn os maiores teores foram observados na fração < 50 µm (Quadro 3).

Quadro 3 – Teores totais de Cu e Zn nas frações > 50 µm e < 50 µm de amostras de solo de áreas de vinhedos e mata do sul do Brasil.

Fração	Cu (mg kg ⁻¹)	p*	Zn (mg kg ⁻¹)	p
< 50 µm	444,0		157,6	
> 50 µm	575,9	0,214	76,9	0,014

*Diferença significativa entre as áreas pelo teste t quando valor p < 0,05.

Como o Cu tende a ser, preferencialmente, adsorvido aos grupos funcionais de constituintes orgânicos, a separação granulométrica não afetou a sua distribuição nas frações, enquanto o Zn, por ser adsorvido preferencialmente aos constituintes minerais, apresentou maiores teores nas partículas mais finas que, normalmente, são mais reativas no solo.

Conclusões

As áreas de vinhedos do sul do Brasil apresentam grandes variações nos teores totais de Cu e Zn, devido as distintas características dos solos e ao histórico de cultivo. No entanto, as áreas de vinhedos apresentam teores elevados desses metais devido as aplicações de fungicidas ao longo dos anos. Para o Cu não há distinção entre as frações, mas o Zn acumula, preferencialmente, na fração <50 µm.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de Pós-Doutorado. Ao Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, por

disponibilizar sua infraestrutura para o desenvolvimento do projeto de Pós-Doutorado.

Referências bibliográficas

- Brunetto, G., Melo, G.W.B., Terzano, R., Del Buono, D., Astolfi, S., Tomasi, N., Youry P., Mimmo, T., Cesco, S. (2016). Copper accumulation in vineyard soils: Rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity. *Chemosphere*, 162, 293-307. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.07.104
- Brunetto, G., Benedet, L., Ambrosini, V.G., Comin, J.J., Melo, G.W.B., Santos, M.A., Lourenzi, C.R., Loss, A., Belli Filho, P., Schmitt, D.E., Couto, R. (2018). Copper and zinc fractions in the profile of an Inceptisol cultivated with apple in southern Brazil. *Bragantia*, 77(2), 333-347. doi: 10.1590/1678-4499.2017033
- Couto, R.R., Benedet, L., Comin, J.J., Belli Filho, P., Martins, S.R., Gatiboni, L.C., Radetski, M., Valois, C.M., Ambrosini, V.G., Brunetto, G. (2015). Accumulation of copper and zinc fractions in vineyard soil in the midwestern region of Santa Catarina, Brazil. *Environmental Earth Sciences*, 73(10), 6379-6386. doi: 10.1007/s12665-014-3861-x
- Croué, J.P., Benedetti, M.F., Violleau, D., Leenheer, J.A., (2003). Characterization and copper binding of humic and nonhumic organic matter isolated from the south platte river: Evidence for the presence of nitrogenous binding site. *Environmental Science & Technology*, 37, 328-336. doi: 10.1021/es020676p
- Jermini, M., Blaise, P., Gessler, C. (2010). Quantification of the influence of the downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on the compensatory capacities of *Vitis vinifera* 'Merlot' to limit the qualitative yield damage. *Vitis*, 49(4), 153-160. doi: 10.5073/vitis.2010.49.153-160
- Poeplau, C., Don, A., Six, J., Kaiser, M., Benbi, D., Chenu, C., Cotrufo, M.F., Derrien, D., Gioacchini, P., Grand, S., Gregorich, E., Griepentrog, M., Gunina, A., Haddix, M., Kuzyakov, Y., Kühnel, A., Macdonald, L.M., Soong, J., Trigalet, S., Vermeire, M.L., Rovira, P., van Wesemael, B., Wiesmeier, M., Yeasmin, S., Yevdokimov, I., Nieder, R. (2018). Isolating organic carbon fractions with varying turnover rates in temperate agricultural soils – A comprehensive method comparison. *Soil Biology and Biochemistry*, 125, 10–26. doi: 10.1016/j.soilbio.2018.06.025
- Santos, H.G., Jacomine, P.K.T., Anjos, L.H.C., Oliveira, V.Á., Lumbreras, J.F., Coelho, M.R., Almeida, J.A.; Araújo Filho, J.C., Oliveira, J.B.; Cunha, T.J.F. (2018). Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 5.ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa.
- Soil Survey Staff (2006). Soil Taxonomy: A Basic System of Soil Classification for Making and interpreting Soil Surveys, 2nd ed. US Government Printing Office, Washington DC.
- Tiecher, T.L., Tiecher T., Ceretta, C.A., Ferreira, P.A., Nicoloso, F.T., Soriani, H.H., De Conti, L., Kulmann, M.S.S., Schneider, R.O., Brunetto, G. (2017) Tolerance and translocation of heavy metals in younger grapevine (*Vitis vinifera*) grown in sandy acidic soil with interaction of high doses of copper and zinc. *Scientia Horticulturae*, 222, 203-2012, 2017. doi: 10.1016/j.scientia.2017.05.026

Toxicidad de amoxicilina sobre las comunidades bacterianas del suelo en suelos agrícolas

Toxicity of amoxicillin on soil bacterial communities in agricultural soils

Rodríguez-González Laura¹, Núñez-Delgado Avelino², Álvarez-Rodríguez Esperanza², Cela-Dablanca Raquel², Barreiro Ana², Díaz-Raviña Montserrat³, Arias-Estévez Manuel¹, Fernández-Calviño David¹ Santás-Miguel Vanesa¹

¹ Área de Edafología e Química Agrícola. Facultade de Ciencias. Universidade de Vigo. As Lagoas 1, 32004 Ourense. Spain

² Departamento de Edafología e Química Agrícola, Escola Politécnica Superior de Enxeñaría, Universidade de Santiago de Compostela. Lugo. Spain

³ Departamento de Bioquímica del Suelo, Misión Biológica de Galicia (MBG-CSIC), Apartado 122, 15780 Santiago de Compostela, Spain

*e-mail:vsantas@uvigo.es

Resumen

La presencia de contaminantes emergentes, y en concreto de antibióticos, en suelos agrícolas se ha incrementado notablemente en las últimas décadas, generando una creciente preocupación en cuanto a posibles problemas ambientales y de salud. Con esto en mente, el presente estudio se enfoca en evaluar la toxicidad que ejerce la amoxicilina (AMX) sobre el crecimiento de las comunidades bacterianas del suelo, cuando este contaminante está presente en diferentes dosis a corto, mediano y largo plazo (1, 8 y 42 días de incubación). En concreto, la investigación se llevó a cabo en 12 suelos agrícolas de diferentes características fisicoquímicas y se realizó mediante el método de incorporación de leucina (^{3}H). Los principales resultados muestran que la toxicidad de AMX disminuye con el tiempo, con valores de Log IC₅₀ que van de 0.07 ± 0.05 a 3.43 ± 0.08 para el día 1 (n=11), de 0.95 ± 0.07 a 3.97 ± 0.15 para el día 8 (n=9), y de 2.05 ± 0.03 a 3.18 ± 0.04 para el día 42 (n=2), durante el período de incubación. Sin embargo, la toxicidad de AMX sobre las comunidades bacterianas del suelo no es persistente a 42 días de incubación ya que son muchos los suelos que presentan una recuperación total del crecimiento bacteriano.

Palabras clave: Antibiótico, incorporación de leucina, suelo contaminado, comunidades microbianas del suelo

Abstract

The presence of emerging pollutants, and specifically antibiotics, in agricultural soils has increased notably in recent decades, causing growing concern as regards potential environmental and health issues. With this in mind, the current study focuses on evaluating the toxicity exerted by amoxicillin (AMX) on the growth of soil bacterial communities, when these pollutant is present at different doses, and considered in the short, medium, and long terms (1, 8 and 42 days of incubation). Specifically, the research was carried out in 12 agricultural soils having different physicochemical characteristics and was performed by means of the leucine (^{3}H) incorporation method. The main results show that the toxicity of AMX decreases with time, with values of Log IC₅₀ ranging from 0.07 ± 0.05 to 3.43 ± 0.08 for day 1 (n=11), from 0.95 ± 0.07 to 3.97 ± 0.15 for day 8 (n=9), and from 2.05 ± 0.03 to 3.18 ± 0.04 for day 42 (n=2), during the incubation period. However, on day 42 of incubation, many soils show complete recovery of bacterial growth. However, the toxicity of AMX on bacterial communities in soil is not persistent after 42 days of incubation, since many soils present a complete recovery of bacterial growth.

Keywords: Antibiotic, leucine incorporation, polluted soil, soil microbial communities

Introducción

El elevado consumo de antibioticos de uso humano para el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas y su posterior presencia en diferentes compartimentos ambientales hace que estos compuestos se incluyan dentro de los denominados contaminantes emergentes.

Los antibióticos son poco metabolizados por los seres humanos e ingresan en las plantas de tratamiento de aguas residuales (EDAR) donde estos compuestos no se eliminan fácilmente y, por tanto, altas cantidades de estas sustancias se acumulan en lodos de depuradora (Sorinolu, et al., 2021). Posteriormente, estos lodos de depuradora serán utilizados como enmiendas orgánicas en suelos agrícolas, constituyendo una de las principales vías de entrada de estos antibióticos en los suelos (Du & Liu, 2012).

La amoxicilina (AMX) es un antibiótico que pertenece a la familia de las penicilinas y es uno de los antibióticos más ampliamente utilizado. Además, aparece en altas concentraciones tanto en suelos como en aguas (Kemper, 2008).

Una vez que los antibióticos alcanzan los suelos, pueden afectar a la estructura y la función de las comunidades bacterianas del suelo. Sin embargo, el efecto que causa la amoxicilina en el crecimiento de las comunidades bacterianas del suelo no se ha estudiado de forma exhaustiva.

El objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de la adición de amoxicilina sobre las comunidades bacterianas del suelo. Para ello, se determinará el efecto directo de la amoxicilina sobre las comunidades bacterianas de 12 suelos agrícolas a corto, medio y largo plazo (1, 8 y 42 días) usando el método de incorporación de la leucina marcada con tritio (^{3}H).

Material y métodos

Muestras de suelo

Doce muestras de suelo agrícola de horizonte subsuperficial (0-20 cm) han sido recolectadas en Galicia (Noroeste de la Península Ibérica).

Diseño experimental

Las 12 muestras de suelo fueron rehumedecidas entre 60 y 80% de la capacidad de campo e incubadas en oscuridad a 22°C durante 15 días para la reactivación de las comunidades bacterianas del suelo. Posteriormente, las muestras de suelo fueron contaminadas por triplicado con 8 concentraciones (0, 0,5, 2, 7,8, 31,3, 125, 500, 2000 mg kg $^{-1}$) de AMX (CAS: 61336-70-7, 95% purity). Los 288 microcosmos obtenidos fueron incubados a 22°C en oscuridad y se les determinó el crecimiento bacteriano a corto, medio y largo plazo (1, 8 y 42 días) usando la técnica de incorporación de la leucina marcada con tritio (^{3}H) (Bååth, et al., 2001). La cantidad de Leu incorporada se determinó usando un Analizador de Centelleo Líquido (Tri-Carb 2810 TR).

Estadística

El logaritmo de la concentración de AMX que inhibe el 50% del crecimiento bacteriano (Log IC $_{50}$) fue calculado mediante el programa KaleidaGraph usando el siguiente modelo logístico, $Y = c/[1+e^{b(a-x)}]$, donde Y es la incorporación de Leu para cada concentración de AMX, X es el logaritmo de la concentración de AMX añadida, a es valor del log IC $_{50}$, b es el parámetro relacionado con la pendiente de la curva de inhibición, y c es el crecimiento bacteriano sin adición de antibiótico.

Además, se realizaron comparaciones de los valores medios de Log IC $_{50}$ obtenidos para los diferentes tiempos de incubación mediante una prueba t para muestras relacionadas.

Resultados y discusión

Características generales de los suelos

Las características generales de los suelos se muestran en la Tabla 1. Los valores de %C están comprendidos entre 0,6 y 6,8% y los valores de %N están comprendidos entre 0,06 y 0,59. Las muestras de suelo estudiadas mostraron valores de pH en agua de 4,1 a 6,1 y valores de pH medidos en KCl de 3,7 a 5,3. La textura del suelo muestra contenidos en arena, limo y arcillas que varía entre valores mínimos y máximos de 34 a 81% para arena, 10 a 38% para limo y de 9 a 28% para arcilla. Por último, los valores de CICe están comprendidos entre 3,7 a 5,3 cmol_c kg⁻¹.

Tabla 1 - Características generales de los 12 suelos agrícolas estudiados (n=12)

	Mínimo	Máximo	Media	Mediana
% Arena	34	81	60	61
% Limo	10	38	23	21
% Arcilla	9	28	17	18
%C	0,6	6,8	3,5	3,3
%N	0,06	0,59	0,34	0,36
pH _w	4,1	6,1	5,3	5,5
pH _{KCl}	3,7	5,3	4,6	4,6
CICe (cmol _c /kg)	3,7	5,3	4,6	4,6

pH_w es pH medido en agua; pH_{KCl} es pH medido en 0,1M KCl; %C es carbono total; %N es nitrógeno total; CICe es la capacidad de intercambio catiónico efectiva.

Efecto de amoxicilina sobre el crecimiento bacteriano

Los resultados del crecimiento bacteriano obtenidos para las 8 concentraciones de antibiótico añadida en los 12 suelos estudiados y en los 3 tiempos de incubación medidos, fueron normalizados con respecto al control con el fin de poder comparar los resultados obtenidos.

La Figura 1 muestra un ejemplo de las curvas dosis-respuesta a corto, medio y largo plazo (1, 8 y 42 días) para 2 suelos estudiados.

Se observa que las curvas dosis-respuesta para los 3 tiempos de incubación son de tipo sigmoidal, es decir, a medida que se incrementa la concentración de AMX añadida al suelo aumenta la inhibición del crecimiento bacteriano. Las curvas de inhibición muestran un desplazamiento hacia la derecha a medida que

incrementamos el tiempo de incubación, es decir, la toxicidad de AMX disminuye con el tiempo. Esta toxicidad no es persistente en el tiempo ya que a día 42 de incubación existe una recuperación casi total del crecimiento bacteriano en la mayoría de los suelos (ejemplo suelo 3).

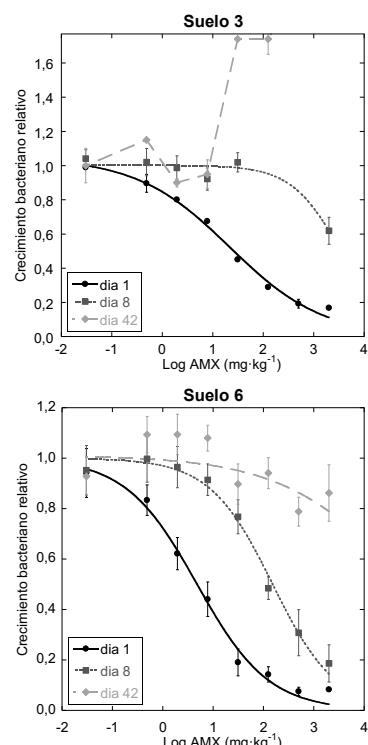


Fig. 1 - Curvas dosis-respuesta en dos suelos representativo tras la adición de amoxicilina (AMX) a 1, 8 y 42 días de incubación.

A partir de las curvas dosis-respuesta se han estimado los valores de Log IC₅₀ para las 12 muestras de suelo y tiempos de incubación ensayados, recodigos en la Tabla 2.

Tabla 2 - Valores de Log IC₅₀ estimados a 1, 8 y 42 días para las 12 muestras de suelo agrícola estudiadas.

	Log IC ₅₀			
	Mínimo	Máximo	Media	Mediana
Día 1 (n=11)	0,07	3,43	1,90	1,85
Día 8 (n=9)	0,95	3,97	2,70	2,95
Día 42 (n=2)	2,05	3,18	2,62	2,62

Se puede observar que los valores de Log IC₅₀ estimados para día 1 están comprendidos entre 0,07 y 3,43, para día 8 entre 0,95 y 3,97 y para día 42 de

incubación entre 2,05 y 3,18. En general podemos observar como existe un incremento de los valores de Log IC₅₀ con el tiempo, es decir, como se observa en las curvas de inhibición, la toxicidad que ejerce AMX sobre las comunidades bacterianas del suelo disminuye con el tiempo de incubación. Para comprobar que existen diferencias significativas entre los valores de Log IC₅₀ obtenidos a 1, 8 y 42 días de incubación se ha realizado una prueba t para muestras relacionadas.

Los resultados de esta prueba junto con el análisis gráfico muestran que la toxicidad de AMX disminuye con el tiempo. Esto es evidente a los 42 días de incubación cuando la mayoría de los suelos muestran recuperación del crecimiento bacteriano. En cuanto a los valores medios de Log IC₅₀ obtenidos para día 1 y 8 de incubación, se observa que existen diferencias significativas entre ellos ($t=-3,021$; $P<0,05$). Por tanto, podemos decir que la toxicidad de AMX sobre las comunidades bacterianas del suelo disminuye significativamente con el tiempo. Estos resultados son similares a los encontrados por Santás-Miguel, et al (2020a; 2020b) para antibióticos de tetraciclina (tetraciclina y clorotetraciclina) que observaron que la adición de estos antibióticos al suelo disminuía con el tiempo, aunque su toxicidad era persistente a los 42 días de incubación. Además, la baja persistencia de la toxicidad que muestra AMX en los suelos puede ser debida a las bajas vidas medias que tienen estos antibioticos en el suelo (0,4 a 1,7 días) (Braschi et al., 2013).

Conclusiones

La toxicidad de amoxicilina sobre las comunidades bacterianas del suelo disminuye significativamente con el tiempo. Esta toxicidad no es persistente a 42 días de incubación, ya que en la mayoría de los suelos estudiados se observa una recuperación total del crecimiento bacteriano.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio Español de Ciencia, Innovación y Universidades a través del proyecto RTI2018-099574-B-C21 and RTI2018-099574-B-C22 (FEDER Funds). David Fernández Calviño posee un contrato Ramón y Cajal (RYC-2016-20411) financiado por el Ministerio Español de Economía, Industria y competitividad y Laura Rodríguez González posee una ayuda pre-doctoral (ED481A 2021/309) financiada por Xunta de Galicia.

Referencias

- Sorinolu, A.J., Neha Tyagi, Arun Kumar & Mariya Munir, M. (2021). Antibiotic resistance development and human health risks during wastewater reuse and biosolids application in agriculture. *Chemosphere* 265, 129032. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129032>.
- Du, L. & Liu, W., (2012). Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32(2), 309-327. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0062-9>
- Kemper, N., (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological indicators* 8, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2007.06.002S>
- Santás-Miguel, V., Arias-Estevez, M., Díaz-Ravíña, M., Fernández-Sanjurjo, M.J., Álvarez-Rodríguez, E., Núñez-Delgado, A. & Fernández-Calviño, D., (2020a). Effect of oxytetracycline and chlortetracycline on bacterial community growth in agricultural soils. *Agronomy* 10(7), 1011. <https://doi.org/10.3390/agronomy10071011>
- Santás-Miguel, V., Arias-Estevez, M., Díaz-Ravíña, M., Fernández-Sanjurjo, M. J., Álvarez-Rodríguez, E., Núñez-Delgado, A., & Fernández-Calviño, D. (2020b). Interactions between soil properties and tetracycline toxicity affecting to bacterial community growth in agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, 147, 103437. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103437>
- Braschi, I., Blasioli, S., Fellet, C., Lorenzini, R., Garelli, A., Pori, M. & Giacomini, D., (2013). Persistence and degradation of new β-lactam antibiotics in the soil and water environment. *Chemosphere* 93(1), 152-159. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.016>

Disipación asistida de un mix de PAHs en suelos contaminados. Efecto del tipo de suelo y compuestos que incrementan su disponibilidad

Assisted dissipation of a mix of PAHs in contaminated soils. Effect of soil type and availability enhancers

Madrid F.^{1*}, **Florido M.C.**², **Rubio-Bellido M.**¹, **Villaverde J.**¹, **Morillo E.**¹

¹ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IRNAS-CSIC). Sevilla, Spain. fmadrid@irnase.csic.es

² Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola, Universidad de Sevilla. Sevilla, Spain.

Resumen

A varios suelos contaminados artificialmente con una mezcla de 14 hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) considerados contaminantes prioritarios (de 3 a 6 anillos) se les aplicó una estrategia de recuperación utilizando tres compuestos no tóxicos que aumentan su disponibilidad (dos ciclodextrinas y un biosurfactante rammolípido). El elevado número de factores experimentales (tipo de suelo, potenciadores de la disponibilidad y tiempo de incubación), y contaminantes permitió realizar un análisis estadístico multivariante. El análisis de componentes principales separó los PAHs estudiados en 3 grupos, en relación con su peso molecular y Kow. El primer componente principal (PC1), se relacionó con los PAHs de menor peso molecular, aquellos con menor Kow y los que habían mostrado una alta tasa de disipación con muy bajos contenidos finales. De este modo, PC1 se relacionó con los PAHs disipados durante el proceso de recuperación, y, en consecuencia, el efecto del tiempo de incubación se asoció significativamente a PC1 con valores decrecientes conforme aumenta el tiempo. Además, este componente fue capaz de separar claramente la RAMEB (β -ciclodextrina aleatoriamene metilada) de los otros compuestos utilizados para aumentar la disponibilidad. Por otra parte, el segundo componente principal se correlacionó con los PAHs de mayor peso molecular (5 y 6 anillos) y fue capaz de separar suelos con características diferentes. El tercer componente principal agrupó a dos PAHs de peso molecular intermedio y con un patrón de disipación más errático.

Palabras clave: recuperación de suelos, biodegradación, análisis de componentes principales, ciclodextrinas, biosurfactante rammolípido.

Abstract

A remediation strategy using three non-toxic availability enhancers (two cyclodextrins and a rhamnolipid biosurfactant) was applied to various soils artificially contaminated with a mix of 14 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) considered priority pollutants—from 3 to 6 rings). The high number of experimental factors (soil type, availability enhancers and incubation time) allowed to conduct a multivariate statistical analysis. Principal Component Analysis separated the studied PAHs in 3 groups, in relation with their molecular weight and Kow. The first principal component (PC1) was related with lower molecular weight PAHs, those with lower Kow and that have shown a high dissipation rate with final negligible contents. In this way, PC1 was related with the PAHs dissipated during the remediation process, and accordingly, the effect of incubation time was significantly associated to PC1, with decreasing values whereas time increases. Even more, this component was able to clearly separate the RAMEB (randomized methyl- β -cyclodextrin) from the other availability enhancers used. Otherwise, the second principal component was correlated with the higher molecular weight PAHs (5 and 6 rings) and was able to separate soils with different characteristics. The third principal component grouped two PAHs with intermediate molecular weight and more erratic dissipation pattern.

Keywords: soil remediation, biodegradation, principal component analysis, cyclodextrins, rhamnolipid biosurfactant.

Introduction

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are chemical substances characterized by two or more fused benzene rings. The aromatic structure of these rings gives rise to very stable compounds, so, they show a low degradability and high persistence in the environment, being considered priority pollutants.

PAHs can be grouped in Low Molecular Weight PAHs (LMW, 2-3 rings) and High Molecular Weight PAHs (HMW, 4 or more rings), showing different properties. LMW PAHs are easier to be dissipated from soils by volatilization or biodegradation, contrary to HMW PAHs, which are more recalcitrant to microbial attack (Leech et al, 2020). This different behavior affects the capacity to remediate PAHs polluted soils. In order to increase their bioavailability for soil microorganisms, extractants and solubilizing agents are used, and non-toxic solubility enhancers such as cyclodextrins (CDs) and biosurfactants (BSs) have been increasingly used in the last years.

In the present study, a 120-days incubation in microcosm experiment was conducted on three soils with different properties, artificially contaminated with 14 PAHs (from 3 to 6 rings) to investigate the effect on their dissipation of: i) the soil properties; ii) three availability enhancers (two CDs and a rhamnolipid BS).

Materials and Methods

Soils

Three agricultural soils (CR, CN and TM) of different textures and properties were selected. They were sampled from different areas of Southwest Spain showing a background of several pesticides application. Soils were sampled from the 0–10 cm layer, dried at room temperature, sieved by 2 mm, and stored at 4°C. Physicochemical characteristics are shown in Table 1. The three soils were selected because they showed in preliminary tests a microbial flora capable of provoking the natural attenuation of pyrene when they were artificially contaminated (data not shown).

Table 1 – Physicochemical characteristics of soils

Soil	pH	CO ₃ ²⁻	OM (%)	Water				Textural class
				field capacity (%)	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	
CR	8.70	17.0	1.04	46.5	59.6	19.4	21.0	Sandy Clay Loam
CN	5.5	1.1	1.91	39.3	50.5	39.3	10.2	Loam
TM	7.84	25.4	2.36	41.4	6.8	33.6	59.6	Clay

Incubation assay

Incubation experiments were carried out in glass containers (300 mL) in triplicate for each treatment. The 3 soils were spiked with a mix of 14 PAHs (40 mg kg⁻¹ Σ14PAHs from 3 to 6 rings; (acenaphthylene (ACL), acenaphthene (ACE), anthracene (ANT), fluorene (FLU), phenanthrene (PHE), fluoranthene (FLT), pyrene (PYR), benzo[a]anthracene (BANT), chrysene (CHR), benzo[a]pyrene (BPYR), benzo[b]fluoranthene (BFLT), dibenzo[a,h]anthracene (DBANT), benzo [g,h,i]perylene (BPER), and indeno[1,2,3-c,d]pyrene (IPYR)). Two CDs (2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP) and randomly methylated-β-cyclodextrin (RAMEB)) and a rhamnolipid (RL) were used as availability enhancers at a dose of 1% (dry soil basis). Samples were taken at 1, 15, 30, 60 and 120 days for individual PAHs content analysis.

Statistical analysis

Data of the 14 PAHs studied contents at every incubation time were statistically analysed using IBM SPSS Statistics v.25. Varimax-rotated principal components analysis (PCA) was used to ascertain the existence of possible associations among variables (PAHs contents) in order to get a dimensionality reduction associated to the evolution of the 14 PAHs studied affected by the 3 experimental factors: soil (CR, CN, TM), availability enhancer (control, HP, RAMEB, RL) and incubation time (1, 15, 30, 60, 120 days)).

Results and discussion

Natural attenuation of PAHs in all soils showed high degradation capacity for 7 of the lower molecular weight PAHs (ACL,

ACE, ANT, FLU, PHE, FLT, and PYR), with a final content < 5% of their initial concentration. Conversely, for the rest of the PAHs (high molecular weight PAHs, HMW) biodegradation is considered almost negligible, remaining in the soils (from 61% - 83.5%), with a percentage of abiotic dissipation directly related with the OM content of the soils, due to formation of non-extractable residues.

PCA is a useful tool for treating a large amount of data, as in this assay. For this analysis, individual PAH contents at every incubation time and treatment have been included. PCA grouped the PAHs into three principal components (PCs) that explain 82.0% of the total variance observed (Table 2).

Table 2 – Correlation coefficients between the content of PAHs and the first three principal components resulting from PCA, eigenvalues and percentage of variance accounted for.

PAH	Component			Communalities
	PC1	PC2	PC3	
FLU	0.914	0.044	0.097	0.846
ACE	0.889	0.087	-0.133	0.815
FLT	0.872	0.205	0.173	0.833
ANT	0.858	-0.020	0.250	0.798
ACL	0.842	0.057	-0.104	0.722
PYR	0.818	0.168	0.125	0.713
PHE	0.803	0.374	-0.212	0.830
IND	0.065	0.958	0.033	0.922
DBANT	0.005	0.890	0.238	0.848
BPER	0.060	0.877	0.049	0.776
BFLT	0.211	0.775	0.138	0.664
BPYR	0.556	0.719	-0.067	0.831
CHR	-0.100	0.070	0.959	0.934
BANT	0.229	0.255	0.909	0.944
Eigenvalue	5.567	3.890	2.020	
Variance (%)	39.764	27.784	14.427	
Cumulative	39.764	67.548	81.975	

The first component (PC1) explained 39.8% of the variance and was associated with 3-rings PAHs (FLU, ACE, ANT, ACL, and PHE) and two 4-rings PAHs (FLT and PYR). In this way, among the PAHs studied, PC1 has grouped those 7 with $\log K_{ow} \leq 5.2$ which have shown higher dissipation rates (Madrid et al. 2021). This means that, probably, their dissipation processes were affected by similar factors. All other PAHs included in the analysis have $\log K_{ow} \geq 5.6$ and were mainly

associated to the other PCs. PC2 explained 27.8 % of the variance and grouped the heavier PAHs, those that have 5- (BFLT, BPYR, and DBANT) or 6-rings (IPYR and BPER) and $\log K_{ow} \geq 6.2$. This could be related with the high adsorption capacity of these PAHs. In this group of PAHs, BPYR showed a lower correlation value with PC2 and a higher value with PC1 than the others, probably because of the moderate dissipation that this PAH showed in the 3 soils. On the contrary, the other PAHs grouped by PC2 have shown very low dissipation rate after 120 days. Finally, the third Principal Component extracted (PC3) explains 14.4% of the variance and directly groups the other 4-rings PAHs not included in PC1, CHR and BANT. Their behaviors have been more erratic than PYR and FLT, probably related with the higher $\log K_{ow}$. Golobocanin et al. (2004) applied PCA analysis to a wide set of PAHs contaminated soils. These authors also found an influence of the number of rings in the distribution of the different PAHs among the extracted components.

To describe the global effect of the availability enhancers used for every soil, Figure 1 shows the mean scores of each treatment plotted on the plane PC1 vs. PC2. It is observed that RAMEB treatments (that retarded the dissipation of PAHs, Madrid et al. 2021) showed the highest values in PC1 for the three soils. Other treatments (HP, RL, and control), with higher dissipation rates of the lighter 7-PAHs, show negative mean scores in this component. In summary, lower values in PC1 is related with decreasing PAH content along the incubation period.

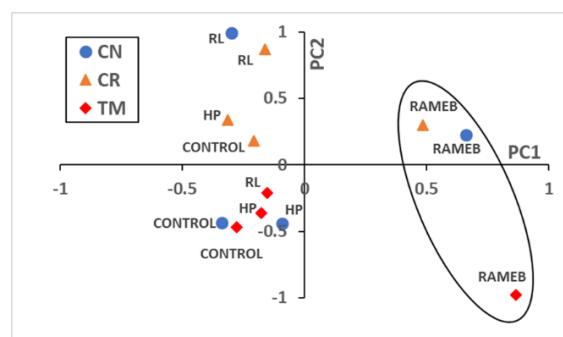


Figure 1. Scatter of the data obtained in PCA for each soil and treatment on the plane (PC1 vs PC2).

It is corroborated in Figure 2 representing the evolution of the centroid values at every incubation time for the three soils and for all treatments simultaneously. Decreasing values can be observed in PC1 of centroids, as incubation time increases, from the highest value at time 1 to negative values in this component at 30, 60 and 120 days.

Otherwise, the effect of soil characteristics is mainly shown in PC2 (Figure 3, mean scores of each treatment plotted on the plane PC2 vs. PC3), where all treatments with soil CR (soil with the lowest OM) showed positive data in this PC2 and were clearly separated from treatments with soil TM (soil with the highest OM), that show negative values in all cases.

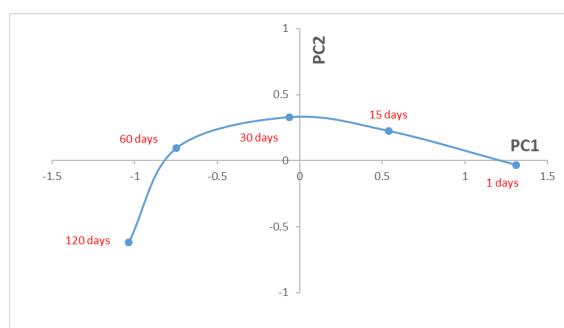


Figure 2. Evolution of scores corresponding to the whole set of data (centroid value at each incubation time for all the treatments simultaneously) plotted in the plane PC1 versus PC2.

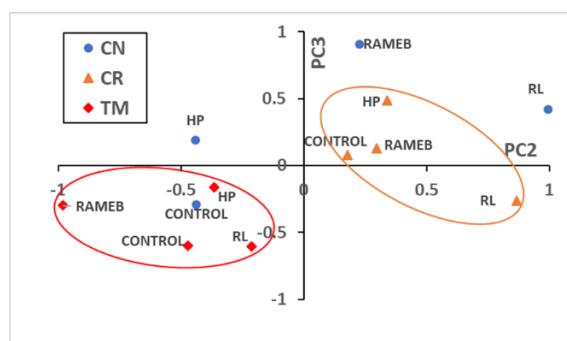


Figure 3. Scatter of the data obtained in PCA for each soil and treatment on the plane PC2 vs PC3.

Although OM is the main soil component responsible of increasing adsorption capacity of hydrophobic pollutants, our results (higher dissipation rates in TM) indicate that other soil properties should be considered, such as native degrader microorganisms. The points corresponding

to treatments with soil CN (acidic pH, low clay, and medium OM content), have more disperse values and are not separated in PC2 from the other soils. The importance of these two factors (incubation time and soil type) in PAH dissipation agrees with results of Wu et al. (2014) that applied conjoint statistical analysis to PAHs amended contaminated soils. They also found these characteristics as the most significant factors in PAHs bioavailability.

Conclusions

PCA applied to PAHs assisted remediation of polluted soils, identified incubation time as the main factor affecting PAHs dissipation process, whereas the effect of availability enhancer and soil type are also significant.

Acknowledgments

This work was supported by the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities under the research project CTM2017-82472-C2-1-R (AEI/FEDER, UE).

References

- Golobocanin, D.D., Skrbic, B.D., Miljevic, N.R. (2004). Principal component analysis for soil contamination with PAHs. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 72: 219– 223. doi:10.1016/j.chemolab.2004.01.017
- Leech, C., Tighe, M.K., Pereg, L., Winter, G., McMillan, M., Esmaeili, A., Wilson, S.C. (2020). Bioaccessibility constrains the co-composting bioremediation of field aged PAH contaminated soils. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 149, 104922. doi: 10.1016/j.ibiod.2020.104922.
- Madrid, F., Rubio-Bellido, M., Villaverde, J., Morillo E. (2021). Biodegradación asistida de PAHs en suelos contaminados usando ciclodextrinas y ramnolípidos. IX Simposio Nacional sobre Control de la Degradación y Recuperación de Suelos (CONDEGRES 2021). Presentación P1-42.
- Wu, G., Li X., Kechavarzi C., Sakrabani R., Sui H., Coulon F. (2014). Influence and interactions of multi-factors on the bioavailability of PAHs in compost amended contaminated soils. *Chemosphere* 107, 43–50. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.03.035

Nematodes as soil status bioindicators: MaisSolo project

Os nemátodes como bioindicadores do status do solo: o projeto MaisSolo

**Maria Lurdes Inácio^{1, 2*}, Maria João Camacho^{1,3}, Leidy Rusinque¹, Filomena Nóbrega¹,
Susete Matos⁴, Maria Lurdes Almeida⁵, Ana Paula Nunes⁶**

1Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, I.P.), 2780-159 Oeiras, Portugal

2GREEN-IT Bioresources for Sustainability, ITQB NOVA, Av. da República, 2780-157 Oeiras Portugal.

3Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development (MED), University of Évora, Pólo da Mira,
Apartado 94, 7006-554 Évora, Portugal

4AgroMais, Entreposto Comercial Agrícola, CRL, Zona Industrial de Riachos – Apartado 24 - 2354-908 Riachos,
Portugal

5Torriba, Organização de Produtores de Hortofrutícolas, S.A., Estrada Municipal 589, Herdade Convento da Serra,
2080-401 Raposa, Portugal

6COTHN - Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional – Centro de Competências, Estrada de Leiria, S/N,
2460 059 Alcobaça, Portugal.

*lurdes.inacio@iniav.pt

Resumo

Os sistemas de produção intensivos hortoindustriais do Ribatejo (centro de Portugal) baseiam-se no recurso à monocultura e num elevado grau de intervenções culturais. O projeto MaisSolo, um consórcio formado por agricultores, associações de produtores, investigadores e a academia, teve por objetivo demonstrar que a introdução de culturas de cobertura contribui para a melhoria da estrutura do solo e da sua capacidade de retenção da água, melhorando a reciclagem de nutrientes e reduzindo a necessidade de agroquímicos, com impacto positivo na diminuição da prevalência de pragas e doenças. Os nemátodes, pequenos animais que habitam em todos os tipos de solo, são cada vez mais usados como bioindicadores do status do solo. Neste projeto, efetuou-se a avaliação das comunidades de nemátodes presentes em solos sujeitos a diferentes tratamentos: 1) consociação de leguminosas e gramíneas; 2) azevém anual e 3) biofumigaçāo. Na parcela de controlo não se instalou qualquer cultura de cobertura.

No final do período experimental (4 anos: 2017-2021), as populações de nemátodes de vida livre no solo aumentaram em todos os tratamentos comparativamente às parcelas de controlo, nomeadamente dos nemátodes bacteriófagos, o que indica uma melhoria do teor de matérias orgânicas em cada um dos talhões, sobretudo naqueles com instalação de consociação.

Palavras-chave: nematofauna, bioindicadores, biodiversidade

Abstract

The intensive horticultural production systems in Ribatejo (central Portugal) are mostly based in monoculture with a high degree of technical intervention. In the project MaisSolo, a consortium comprising growers, farmers' associations, researchers and academia, we aimed to demonstrate that the introduction of cover crops will help to improve soil structure and soil water properties (water infiltration and retention), enhance nutrient recycling and reduce agrochemical needs, with impact on pests and diseases cycle break. Nematodes inhabit all type of soils and are often used as soil status bioindicators. In this work, the evaluation of nematode communities was used to assess the effects on soil status of the proposed alternative practices: 1) biodiverse mixture of grasses and legumes 2) annual ryegrass and 3) biofumigation (forage turnip). In the control plot no cover crop was set.

At the end of the 4-year experimental period, the number of free-living nematodes increased in all treatments compared with the control plot, namely the bacteriophagous group, in the mixture treatment, indicating an improvement in the organic matter content of each plot.

Keywords: Nematofauna, biological indicators, soil; agrobiodiversity

INTRODUCTION

The intensification of crop production frequently leads to soil imbalances, both in terms of physical properties and the biodiversity it harbors, with repercussions on plant health and yielding. This is the case of the intensive horticultural production systems in Ribatejo (central Portugal), mostly dedicated to the monoculture of tomato and potato, with a high degree of technical interventions.

Nematodes, small animals inhabiting all ecosystems, are often used as soil status bioindicators (Neher, 2001) namely the free-living nematodes (e.g., nematodes that live free in the soil and not parasitizing plants) because:

- i) they are numerous in soils;
- ii) they are easily retrieved from soil samples and sorted by their trophic group (bacteriophagous, mycetophagous, etc.)
- iii) their numbers reflect the microorganisms on which they feed upon and the balance of the different populations;
- iv) their numbers fluctuate according to the dynamics of these populations and the physical and chemical soil proprieties.

At the soil nematofauna level, intensive agricultural practices such intensive mobilizations and pesticide applications result in biodiversity disruption and lead to the emergence of serious phytosanitary problems for which there is a growing lack of control methods. Pesticides can act directly on nematodes or on the soil's microfauna, in both cases causing disturbance of the nematofauna since free living nematodes feed upon bacteria and fungi, naturally controlling these populations.

This work evaluated the community of nematodes in experimental plots, for the period 2017-2021, where different cover crops were installed prior to main crop cultivation: 1) biodiverse mixture of grasses and legumes; 2) annual ryegrass and 3) forage turnip, a biofumigant. In the control plot no cover crop was set. The conclusion was that free-living nematodes increased in all treatments compared with the control plot, in particular the in mixture treatment, indicating an improvement in the organic matter content of plots.

Material and methods

Three experimental plots and a control were set up in each one of the two selected locations – Golegā (S. João de Brito) and Vila Franca (Manique). Three samples of rhizospheric soil were collected in each of the 3 plots and the test, where different cover crops were installed prior to main crop cultivation: 1) biodiverse mixture of grasses and legumes, including *Trifolium resupinatum* inoculated with nitrogen-fixing rhizobia (40kg/ha); 2) *Lolium multiflorum* (annual ryegrass 35kg/ha), a mycotrophic grass favouring soil enrichment in endemic mycorrhizal fungi; and 3) *Raphanus sativus* (forage turnip 25kg/ha), a biofumigant species contributing to the suppression of pathogens when incorporated into soil. In the control plot no cover crop was set. Soil

samples collected after the experimental period were immediately brought to the nematology lab of INIAV (Campus Oeiras) and processed in the next few days. Extraction of nematodes from these samples was performed using the Baermann funnel technique and the centrifugal flotation method (EPPO, 2013). The different nematode trophic groups were evaluated by morphological observation under a stereomicroscope (Nikon SMZ1500, Tokyo, Japan) followed by light microscope (Olympus BX-51, Hamburg, Germany) observations. Species identification was confirmed by molecular analyses (data not shown).

Results and discussion

Results for the two locations were pooled. A high proportion of bacteriophagous was detected in all treatments compared with the control plots. This trend was further observed for the mixture plots (Figure 1).

Omnivorous and predatory nematodes were found less. The reduced number of omnivorous and predatory nematodes confirms the type of farming with cultural intensification (annual crop), in which fallow period is short and probably enough for nematodes populations to recover after imbalance factors (mobilizations, application of pesticides, etc.).

The proportion of the different trophic groups in a soil nematofauna can be

converted into relevant information regarding its biological status. The prevalence of bacteriophagous over the other groups indicates a fast nutrient recycling through decomposition done by bacterial populations. This group of nematodes tends to increase their numbers with the increase of soil organic matter.

In what concerns plant parasitic nematodes, namely *Meloidogyne* and *Globodera* species spp., their detection was performed according to Conceição et al. (2009), Leidy et. al. (2022), and Camacho et al. (2020), respectively. The number of parasitic nematodes fluctuated according to the crop cycle and were not considered in this analysis.

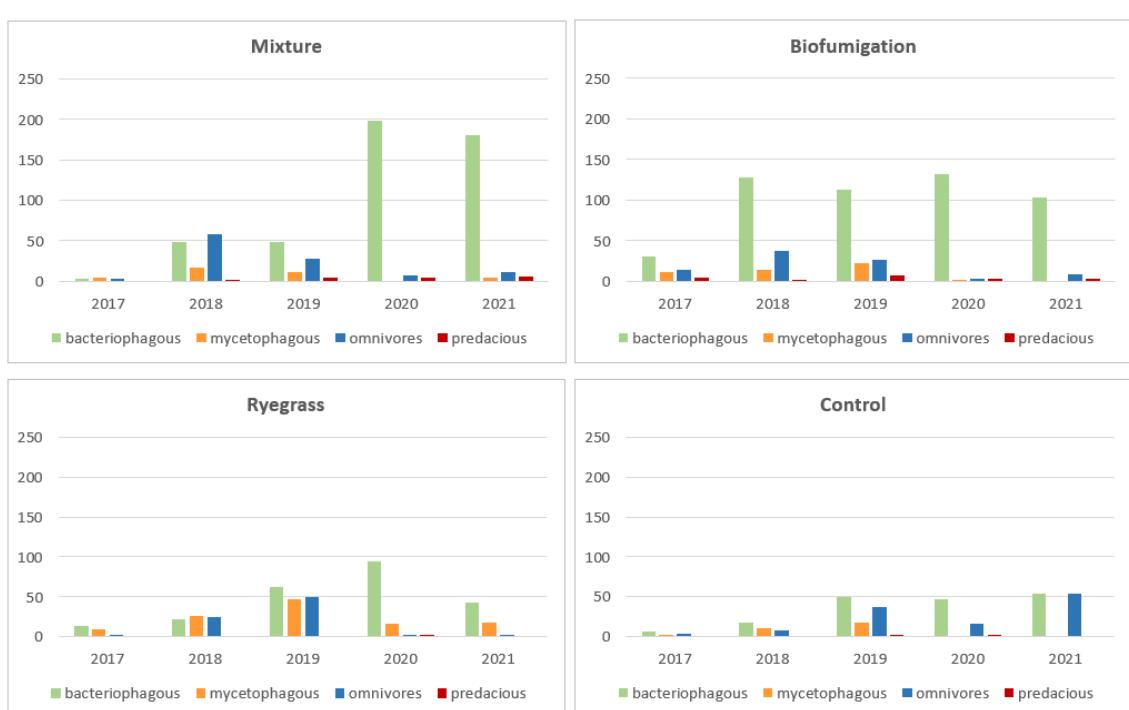


Figure 1. Nematodes distribution by trophic groups present in soils of each treatment (mixture, biofumigation, ryegrass and control) (2017–2021), in the study plots at Ribatejo.

Conclusion

Nematodes can be used as indicators of soil status because their populations are easily disturbed by bad soil practices. Introducing best soil management practices is expected to have a positive impact on nematodes' populations, which was observed with the incorporation of biodiverse mixtures into the cultural scheme. The project MaisSolo aimed at demonstrate the

advantages of introducing modifications in the current monoculture systems to practices such as the installation of cover crops during the fall-winter period, preceding the main crop in the production year. The results obtained constitute a relevant contribution for the implementation of nature-based solutions alternative to the intensification and overuse of pesticides in Ribatejo producing region

Acknowledgements

Funded by project PDR 2020-101-030821
(MaisSolo).

References

- Camacho, M.J., Andrade, E., Mota, M., Nobrega, F., Vicente, C., Rusinque, & Inácio, M.L. (2020) Potato Cyst Nematodes: Geographical Distribution, Phylogenetic Relationships and Integrated Pest Management Outcomes in Portugal. *Front Plant Sci.* 11:606178. doi.org/10.3389/fpls.2020.606178
- Conceição, I.P.M., Cunha, M.J.M., Feio, G., Correia, M., Santos, M.C.V., Abrantes, M.I.O., Santos, M.S. A. (2009) Root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., on potato in Portugal. *Nematology* 11: 311-313. doi.org/10.1163/156854109X415515
- EPPO Bulletin (2013) nematode extraction. *EPPO Bulletin* 43 (3), 471–495. doi.org/10.1111/epp.12077
- Neher, (2001) Role of Nematodes in Soil Health and Their Use as Indicators. *Journal of Nematology* 33:161–168.
- Rusinque, L., Nóbrega, F., Cordeiro, L., Lima, A., Andrade, S., & Inácio, M. L. (2022) Root-Knot Nematode Species Associated with Horticultural Crops in the Island of Azores, Portugal. *Horticulturae*, 8(2). doi.org/10.3390/horticulturae8020101

Distribución espacial de metales contaminantes procedentes de la minería

Spatial distribution of polluting metals from mining

González-Morales, M.¹, Gago, I.¹ Urbano, J.¹, Fernández-Pozo. L.¹, Rodríguez, M^a A.^{1*}

¹ Grupo de investigación Análisis de Recursos Ambientales. Universidad de Extremadura. Avda. Elvas, s.n. 06071, Badajoz

*marodgon@unex.es

Resumen

Las actividades extractivas de recursos metálicos generan gran cantidad de residuos que se acumulan en escombreras sólidas en las proximidades de la explotación. En este trabajo se ha estudiado la contaminación generada tras el abandono de la mina San Rafael, uno de los más de 60 yacimientos que fueron explotados en el entorno de Azuaga (Badajoz).

Se estudiaron 320 ha alrededor de la mina, recogiéndose 40 muestras de lodo y suelo a 30 cm de profundidad, tanto en los alrededores del pozo (foco principal de contaminación) como en la escombrera y zonas más alejadas. El contenido total de elementos tóxicos presentes se determinó mediante ICP-MS tras digestión ácida (HNO₃ y HCl).

El estudio geoestadístico mediante krigeadó marcó los niveles de contaminación existentes en toda la zona estudiada, deduciéndose que el entorno minero se encuentra altamente contaminado por elementos como Zn, Pb y Ti, al superar las concentraciones de los Niveles de Referencia Genéricos (NGR) establecidos para la salud de los ecosistemas (DOE, 2015; CCME, 2006). A la vista de estos resultados se aconseja acometer diferentes actuaciones que conduzcan a la minimización de dicha contaminación a fin de evitar la transferencia a la cadena trófica.

Palabras clave: Minería, Contaminación, metal(oides), Krigeadó

Abstract

The extractive activities of metal resources generate a large amount of waste that accumulates in solid dumps in the vicinity of the operation. In this work, the contamination generated after the abandonment of the San Rafael mine, one of the more than 60 deposits that were exploited in the area of Azuaga (Badajoz), has been studied.

320 ha around the mine were studied, collecting 40 mud and soil samples at a depth of 30 cm, both in the surroundings of the well (main source of contamination) and in the dump and more distant areas. The total content of toxic elements present was determined by ICP-MS after acid digestion (HNO₃ and HCl).

The geostatistical study using kriging marked the existing contamination levels throughout the studied area, deducing that the mining environment is highly contaminated by elements such as Zn, Pb and Ti, exceeding the concentrations of the Generic Reference Levels (NGR) established for ecosystem health (DOE, 2015; CCME, 2006). In view of these results, it is advisable to undertake different actions that lead to the minimization of said contamination in order to avoid transfer to the food chain.

Keywords: Mining, Pollution, metal(oids), Kriging

Introducción

La mayoría de las minas explotadas en el siglo pasado, dejaron tras el cese de su actividad, acúmulos importantes de minerales metálicos expuestos a la intemperie y susceptibles de meteorización, lo cual influye de manera significativa en la salud del medio ambiente circundante.

El declive de la minería metálica en Extremadura desde 1940, ha ocasionado el abandono de muchas explotaciones mineras durante el siglo pasado. En la mayoría de los casos, los residuos no fueron gestionados adecuadamente tras el cese de las actividades extractivas, siendo acumulados en las proximidades de las explotaciones. Esto ha convertido estas zonas en lugares contaminados por metal(oides) (Alloway 1995). Los metales y metaloides se consideran problemáticos en términos de contaminación ambiental y toxicidad (Anjos et al. 2012). Elementos como Pb, Cd, Hg o Sb pueden ser altamente tóxicos para los ecosistemas y para la salud humana (Alcalá et al. 2009) incluso en concentraciones bajas (Li et al. 2019).

La mina San Rafael es uno de los más de 60 yacimientos que fueron explotados en el entorno de Azuaga (Badajoz). Aunque los minerales explotados fueron sulfuros de plomo y cinc, se han encontrado concentraciones significativas de otros elementos potencialmente tóxicos, tales como Sb, As, Cr, Cu, Ni, Co y Tl, especialmente en las proximidades del pozo extractivo y las escombreras.

En este trabajo se ha determinado la distribución de Pb, Zn, Sb, As, Cr, Cu, Ni, Co y Tl, a lo largo de 320 ha alrededor de la mina abandonada San Rafael, utilizando el índice de geoacumulación Igeo (Müller, 1969).

El área de estudio es una zona agrícola, parcialmente deforestada, con grandes extensiones de encinar y otras especies arbustivas. Dado que la economía se basa en la agricultura y la ganadería, es probable que la contaminación alcance la cadena trófica, con las repercusiones que ello tendría sobre la salud. Por ello es

importante conocer la distribución espacial de los contaminantes en toda la aureola de dispersión alrededor de la mina.

Se recogieron 40 muestras de lodo y suelo a 30 cm de profundidad, tanto en los alrededores del pozo (foco principal de contaminación) como en la escombrera y zonas más alejadas. El contenido total de elementos tóxicos presentes se determinó mediante ICP-MS tras digestión ácida (HNO_3 y HCl).

El estudio geoestadístico mediante krigado marcó los niveles de contaminación existentes en toda la zona estudiada, de los que se deduce que para metales como Zn, Pb y Tl, el entorno minero se encuentra altamente contaminado, pues sus concentraciones superan los Niveles de Referencia Genéricos (NGR) establecidos para la salud de los ecosistemas (DOE, 2015; CCME, 2006). A la vista de estos resultados se aconseja acometer diferentes actuaciones que conduzcan a la minimización de dicha contaminación a fin de evitar la transferencia a la cadena trófica.

Material y métodos

El área de estudio está ubicada en el complejo minero Azuaga-Berlanga, al SW de la Península Ibérica, abandonada desde mediados del siglo XX. Esta mina supone uno de los yacimientos de Pb-Zn más importantes del entorno.

El depósito está formado por filitas arenosas con intercalaciones de cuarcitas y grauvacas. Presenta mineralización hipoabidal asociada al Cámbrico Medio-Inferior, cuya paragénesis consiste en esfalerita (ZnS), galena (PbS), pirita (FeS_2) y calcopirita (CuFeS_2), así como minerales traza de potencial toxicidad (Cu o Tl) y ganga de cuarzo y calcita (Santos et al., 2007).

Por la zona discurren dos arroyos estacionales que desembocan en el río Bembézar. La región tiene un clima mediterráneo con influencia atlántica, escasas precipitaciones (promedio de 514 mm/año) y marcadas variaciones térmicas entre invierno y verano (8°C y 26°C). Los

inviernos son cortos, pero con heladas intensas. Las temperaturas de primavera y otoño son suaves.

Se recogieron 40 muestras a 30 cm de profundidad, 2 muestras de residuos minerales en los alrededores del pozo de extracción, 5 de lodos en la escombrera y las 33 restantes fueron muestras de suelos en zonas más alejadas del foco principal de contaminación (pozo extractivo), denominadas zona 1, zona 2 y zona 3 (figura 1). El muestreo se realizó de manera semidirigida, en función de la ubicación de la vegetación presente. Los suelos dominantes son Regosoles eútricos. Previo a la cuantificación de los metal(oides), las muestras fueron secadas a temperatura ambiente, molidas y tamizadas a 0,25 mm.

El contenido total de elementos tóxicos presentes se determinó por ICP-MS utilizando un sistema Agilent Tech modelo 7900. Para ello, las muestras fueron sometidas a digestión ácida (HNO_3 y HCl) utilizando una relación suelo:extractante de 1:10 (m:v).

Utilizando la escala cualitativa que determina el índice de geoacumulación (I_{geo}), se calcularon los intervalos para los cuales el suelo se considera contaminado. Se utilizó la escala de Müller (1969) según la ecuación:

$$I_{geo} = \log_2 \left(\frac{C_n}{1,5B_n} \right)$$

Donde C_n : concentración del metal n en el suelo y B_n : fondo geoquímico para el metal(oxide) encontrados en la corteza terrestre.

Según los valores medidos de I_{geo} , los suelos se clasifican como: No contaminados ($I_{geo} \leq 0$), No contaminados a moderadamente contaminados ($0 \leq I_{geo} \leq 1$), Moderadamente contaminados ($1 \leq I_{geo} \leq 2$), Moderado a fuertemente contaminados ($2 \leq I_{geo} \leq 3$), Fuertemente contaminados ($3 \leq I_{geo} \leq 4$), Fuerte a extremadamente contaminado ($4 \leq I_{geo} \leq 5$), Extremadamente contaminados ($I_{geo} \geq 5$),

A partir de los datos de I_{geo} , la distribución espacial de la contaminación se modeló utilizando el software ArcGIS (2019). Se

construyó un semivariograma de los datos, seguido de kriging ordinario (Goovaerts 1997; Gallardo et al. 2000). Los mapas se construyeron utilizando ArcMap v. 10.7.1 (ESRI 2019).

Resultados y discusión

En la figura 1 se representa la distribución de la contaminación para todos los metales estudiados en el área minera objeto de estudio, a partir de los datos recogidos en la tabla 1, donde se muestran también los valores genéricos de referencia para suelos de Extremadura (NGR). Se observa que la contaminación por Co, Cu, Ni y As no es significativa, ni siquiera en las zonas más próximas al foco de contaminación (pozo extracción y escombreras). La presencia de algunos de estos elementos puede deberse al uso de fertilizantes o abonos de origen animal (Smith, 1996) utilizados en las labores agrícolas del entorno.

Tabla 1. Concentración de metal(oides) en el área minera estudiada

Elemento	Concentración (mg/kg)					
	Pozo	Escombrera	Zona 1	Zona 2	Zona 3	NGR ecosistemas
Pb	11740	322	5875	390	1903	48
Zn	12853	1869	4570	781	782	281
Sb	27	10	22	2	2	1
As	11	4	14	31	32	61
Cr	38	426	190	240	141	95
Tl	177	93	276	258	374	1
Co	20	17	33	33	33	33
Cu	94	12	78	59	53	67
Ni	28	230	112	124	92	56

El Sb es un elemento habitual en depósitos minerales de Pb-Zn, y aunque el contenido en Sb encontrado es relativamente bajo, el grado de contaminación I_{geo} muestra contaminación de moderada a alta en los alrededores de la escombrera, especialmente hacia el NE, seguramente arrastrado por lixiviación hacia un arroyo estacional que se encuentra en dicha localización.

La contaminación por Pb-Zn se extiende más allá del principal foco de contaminación (pozo extractivo), alcanzando zonas adehesadas (zona 3) donde se llevan a cabo actividades agropastoriles y cinegéticas. El origen de

esta contaminación es claramente geológico, dada la mineralización de esta mina (sulfuros metálicos de Pb y Zn).

El área de estudio se muestra extremadamente contaminada por talio. A pesar de que este metal es altamente tóxico, se encuentra retenido en las arcillas y materia orgánica de estos suelos, lo que dificulta su movilidad y lixiviación por escorrentías pluviales. El origen de la contaminación por talio no es geológico, atribuyéndose a una contaminación difusa procedente de una central eléctrica próxima a la zona que ha trabajado hasta hace unos pocos años (Vanek et al., 2016).

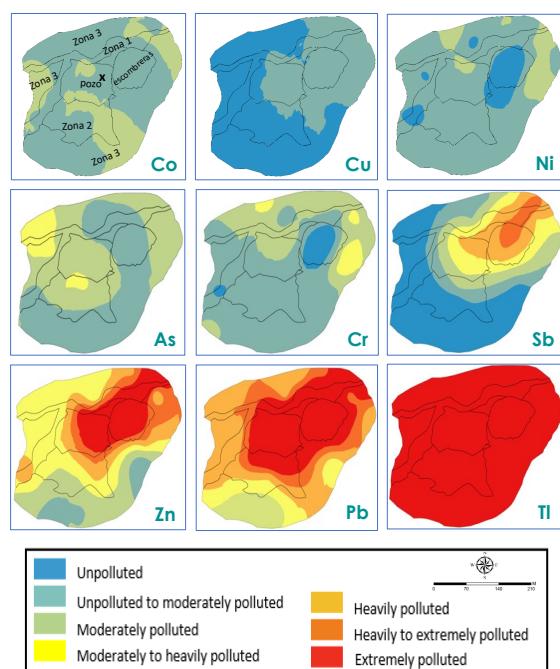


Figura 1. Distribución espacial de los contaminantes metálicos según Igeo

A la vista de estos resultados, se puede afirmar que el abandono sin control de actividades extractivas provoca contaminación del entorno, pudiendo verse acentuada por las características edafoclimáticas del territorio y las aguas de lluvia. Esta situación conduce a la degradación de la salud de los suelos y, por lo tanto, impacta negativamente en sus servicios ecosistémicos.

Conclusiones

Los contenidos de metales pesados en el área minera superan los niveles de

toxicidad permitidos para suelos de Extremadura (NGRs), alcanzándose cantidades especialmente elevadas para Pb, Zn y Tl. Sería aconsejable implementar programas de manejo/(fito)remediación que eviten el paso de la contaminación a la cadena trófica y garanticen la seguridad tanto del ecosistema como de la salud humana.

Agradecimientos

Este estudio ha contado con el apoyo de la Junta de Extremadura/FEDER, a través del proyecto IB18074.

Referencias bibliográficas

- Alcalá, J., Sosa, M., Moreno, M., Rodríguez, J., Quintana, C., Terrazas, C., et al. (2009). Metales pesados en suelo urbano como un indicador de la calidad ambiental: ciudad de Chihuahua, México. Multequina, 18, 53-59.
- Alloway, B.J. (1995). Heavy Metals in Soils. London: Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall.
- Anjos, C., Magalhaes, M. C., Abreu, M. M. (2012). Metal (Al, Mn, Pb Zn) soils extractable reagents for available fraction assessment: Comparison using plants, and dry and moist soils from the Braçal abandoned lead mine area, Portugal. J. Geochem. Exploration, <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2011.07.004>
- DOE, 2015. Decreto 49/2015, de 30 de marzo, por el que se regula el régimen jurídico de los suelos contaminados en la Comunidad Autónoma de Extremadura. Diario Oficial de Extremadura (DOE) de 06 de abril de 2015, núm. 64.
- ESRI, 2019. Instituto de Investigación de Sistemas Ambientales. <https://www.esri.es/es-es/home>. Accessed on February 12, 2020.
- Gallardo, A., Rodríguez-Saucedo, J., Covelo, F., Fernández-Alés, R., 2000. Soil nitrogen heterogeneity in a Dehesa ecosystem. Plant and Soil, <https://doi.org/10.1023/A:1004725927358>
- Goovaerts, P., 1997. Geostatistics for natural resources evaluation. United States, New York: Oxford University Press.
- Li, C., Zhou, K., Qin, W., Tian, C., Qi, M., Yan, X., et al. (2019). A Review on Heavy Metals Contamination in Soil: Effects, Sources, and Remediation Techniques. Soil and Sediment Contamination: An International Journal, <https://doi.org/10.1080/15320383.2019.1592108>
- Muller, G. (1969). Index of Geoaccumulation in Sediments of the Rhine River. Geo Journal, 2, 109-118.
- Smith, R., & Bradshaw, A., 1996. The Use of Metal Tolerant Plant Populations for the Reclamation of Metalliferous Wastes. J. Appl. Ecology, <https://doi.org/10.2307/2402534>
- Vanek, A., Grösslova, Z., Mihaljevic, M., Trubac, J., Ettler, V., Teper, L., Cabala, J., Rohovec, J., Zadorova, T., Penizek, V., Pavlu, L., Holubik, O., Nemecek, K., Houska, J., Drabek, O., Ash, C. (2016). Isotopic tracing of thallium contamination in soils affected by emissions from coal-fired power plants. Environ. Sci. Technol. 50, 9864-9871. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01751>.

Lavandula stoechas L. como especie fitorremediadora.***Lavandula stoechas L. as phytoremedian specie.*****Gago, I.*, González-Morales, M., Urbano, J., Fernández-Pozo, L., Rodríguez, Mª A.**

Grupo de investigación Análisis de Recursos Ambientales. Universidad de Extremadura. Avda. Elvas, s.n. 06071 Badajoz

* igagom14@gmail.com**Resumen**

Una de las problemáticas medioambientales actuales es el incremento de la concentración de contaminantes en el medio ambiente. Las actividades mineras pueden generar contaminantes que se acumulan en el suelo. Este problema desemboca en un deterioro de los ecosistemas en los que aparece una gran acumulación de metaloides, afectando gravemente tanto a los seres vivos como al biotopo. Algunas especies de plantas han conseguido desarrollar tolerancia a estos contaminantes, absorbiéndolos o estabilizándolos, siendo capaces de mejorar la calidad del ecosistema. Algunas especies vegetales pueden ser utilizadas como método efectivo y seguro para recuperar zonas vulnerables o susceptibles de acumulación de elementos potencialmente tóxicos.

El presente estudio aborda la posible utilización de *Lavandula stoechas* L. como planta fitoextractora para reducir la contaminación de elementos potencialmente tóxicos. Se ha evaluado la capacidad de fitoextracción para dos elementos (Pb y Zn) en una zona minera abandonada en el SW de la Península Ibérica, llamada mina La Sierra, donde se ha visto que la lavanda es capaz de desarrollarse en suelos donde la concentración de Zn y Pb es 506,05 y 461,41 mg/kg respectivamente. Se propone la utilización de esta especie para la minimización de metal(oid)es.

Palabras clave: *Lavandula stoechas*. L, Fitorremediación, Fitoextracción, Minería, Metal(oid)es.

Abstract

One of the current environmental problems is the increase in the concentration of pollutants in the environment. Mining activities can generate pollutants that accumulate in the soil. This problem leads to a deterioration of the ecosystems in which a large accumulation of metalloids appears, seriously affecting both living beings and the biotope. Some plant species have managed to develop tolerance to these pollutants, absorbing or stabilizing them, being able to improve the quality of the ecosystem. Some plant species can be used as an effective and safe method to recover vulnerable areas or those susceptible to the accumulation of potentially toxic elements.

The present study deals with the possible use of *Lavandula stoechas* L. as a phytoextracting plant to reduce the contamination of potentially toxic elements. The phytoextraction capacity for two elements (Pb and Zn) has been evaluated in an abandoned mining area in the SW of the Iberian Peninsula, called La Sierra mine, where it has been seen that lavanda can develop in soils where the concentration of Zn and Pb is 506.05 and 461.41 mg/kg respectively. The use of this species is proposed for the minimization of metal(oid)s.

Keywords: *Lavandula stoechas*. L, Phytoremediation, Phytoextraction, Mining, Metal(oid)es.

Introducción

La contaminación de suelos por metales pesados se considera un problema global (dos Santos et al., 2016), generado principalmente por actividades humanas. Tanto la minería como el procesamiento de minerales suponen las principales fuentes de contaminación de suelos (Pérez Sirvent et al., 2017). Además, esta contaminación tiende a generar serios problemas a la salud humana y al balance local de los ecosistemas (Doležalová et al., 2019), ya que se trata de elementos bioacumulables, pudiéndose infiltrar en la cadena trófica.

Pequeñas concentraciones de algunos metales (Zn) son importantes para funciones metabólicas en los humanos (Barraza et al., 2018). Otros sin embargo (Pb), son considerados como posiblemente cancerígeno (Kim et al., 2015).

Una excesiva exposición a metales pesados puede tener efectos crónicos (no cancerígenos) en la salud humana (Xiao et al., 2017).

Algunas plantas se han adaptado a vivir en estos ambientes contaminados por elementos potencialmente tóxicos, por lo que pueden ser utilizadas como plantas fitorremediadoras.

La fitorremediación es un conjunto de tecnologías “in situ” o “ex situ” que comprende el uso de plantas para degradar, asimilar, metabolizar o detoxificar elementos potencialmente tóxicos y compuestos orgánicos en el suelo (Sarma, 2011).

En este estudio se utiliza la especie autóctona *Lavandula stoechas* L. como posible planta fitorremediadora para suelos contaminados por elementos potencialmente tóxicos.

Material y métodos

Se han estudiado 20 ha alrededor de la mina La Sierra situada al SW de la Península Ibérica. Las actividades mineras se abandonaron en el siglo pasado. Esta mina es uno de los múltiples yacimientos de Pb-Zn del entorno. Su mineralización consiste en esfalerita (ZnS) y galena (PbS),

así como gangas de cuarzo y calcita (Santos et al, 2007).

Por la zona discurren dos arroyos estacionales que desembocan en el embalse de Azuaga (Badajoz).

La comarca presenta un clima mediterráneo con influencia atlántica, escasas precipitaciones (514 mm año⁻¹), y fuerte oscilación térmica entre invierno y verano (8 y 26 °C, respectivamente). Los inviernos son cortos, pero con intensas heladas. Los suelos dominantes son Regosoles eútricos a los que acompañan Cambisoles calcáricos y Luvisoles crómicos (EC, 2005), de escaso contenido en materia orgánica y textura ligera.

Se recogieron 19 muestras de suelo a 30 cm de profundidad con ayuda de una barrena y 10 muestras de vegetación extrayendo las raíces con ayuda de una pala. El muestreo fue semidirigido, entre junio de 2020 y julio de 2021.

Una vez en el laboratorio, las muestras de suelo se dejaron secar durante 48 horas a temperatura ambiente, para su posterior tamizado a 2 mm.

Se realizó el análisis físico-químico del suelo determinando el potencial redox (Eh) y pH en agua 1:1 (Soil Survey Staff, 2014).

El nivel de contaminación del suelo se determinó mediante el índice de geoacumulación I_{geo} , propuesto por Müller (1969), según la ecuación que se muestra más abajo, mediante la cual se establece una comparación entre la concentración de metales encontrados en lugares contaminados con concentraciones de referencia de lugares no contaminados.

$$I_{geo} = \log_2 \left(\frac{C_n}{1.5B_n} \right)$$

Donde C_n es la concentración del metal en el área de estudio; y B_n los valores de concentración de referencia encontrados en la corteza terrestre.

$I_{geo} \leq 0$ no contaminado; $0 < I_{geo} \leq 1$ no contaminado a moderadamente contaminado; $1 < I_{geo} \leq 2$ moderadamente contaminado; $2 < I_{geo} \leq 3$ de moderado a muy contaminado; $3 < I_{geo} \leq 4$ muy contaminado; $4 < I_{geo} \leq 5$ de muy a extremadamente

contaminado; $I_{geo} > 5$ extremadamente contaminado.

La vegetación recolectada se lavó con agua destilada y se dejó secar en estufa, durante una semana, a 60°C. Posteriormente, se molinaron y tamizaron a 0,25 mm. El contenido total de Pb y Zn de las diferentes partes de la planta (parte aérea y radicular) se determinó mediante ICP-MS tras una digestión ácida utilizando una relación suelo/extractante de 1/10 (m/v).

El factor de translocación (FT), indicativo de la capacidad de la planta para transportar los metal(oid)es desde las raíces a la parte aérea, se determinó calculando el cociente entre la concentración de Pb y Zn en la parte aérea y radicular (Olivares et al., 2009).

Resultados y discusión

El diagrama pH-Eh (Figura 1) sugiere que las condiciones edáficas favorecen la presencia de formas solubles del Zn y Pb (Pourbaix, 1966).

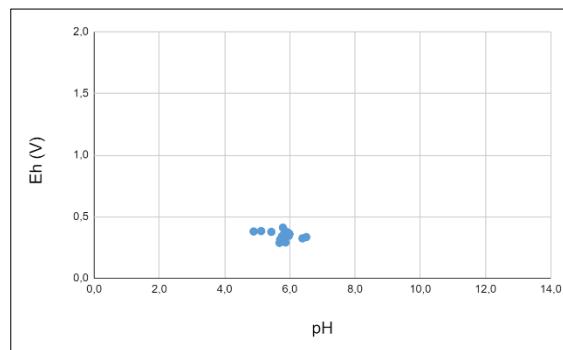


Figura 1. Representación Eh frente a pH.

En la Figura 2 se muestran los valores I_{geo} para los suelos estudiados, resaltando mediante colores el grado de contaminación por Pb y Zn. Se observa que el nivel de contaminación por Pb es más alto que el de Zn, alcanzándose valores que oscilan desde suelos muy a extremadamente contaminados.

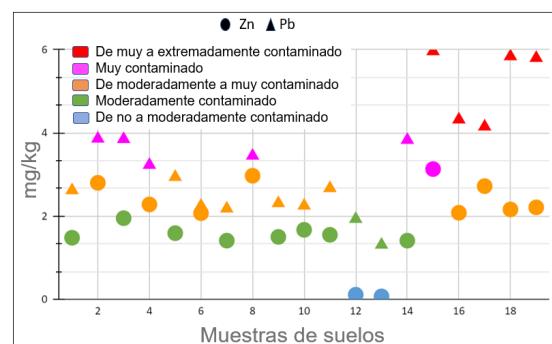


Figura 2. Valores I_{geo} para Pb y Zn en suelos.

El contenido total de Zn y Pb tanto en suelo como en vegetación (parte aérea, radicular y total) se presentan en la Figura 3. La concentración de Zn y Pb es mayor en suelos que en la vegetación.

Esta última, alcanza mayores niveles de contaminación por Zn, acumulándose preferentemente en la parte aérea. Por el contrario, la acumulación Pb es menor, acumulándose mayoritariamente en la parte radicular.

Podría ser debido a la nula solubilidad del Pb en agua, dificultando la captación de este elemento por las plantas.

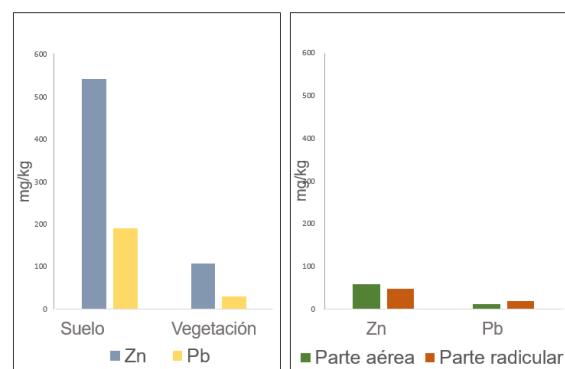


Figura 3. Concentraciones de Zn y Pb en suelo y vegetación.

Los datos obtenidos referentes al factor de translocación (FT) se representan en la Tabla 1. Cuando estos son superiores a 1 la planta presenta gran capacidad para dicho transporte, siendo considerada como hiperacumuladora.

Esta capacidad puede ser debida a eficientes sistemas de transporte de metales (Zhao, 2002) o por secuestro de metales en las vacuolas de las hojas y en el apoplasto (Lasat, 2000).

Según los resultados mostrados en la Tabla 1, el factor de traslocación para el Zn

es mayor a uno. Por ello, se podría afirmar que *Lavandula stoechas* L. puede ser considerada como planta hiperacumuladora para el Zn, transportándolo desde las raíces a la parte aérea.

Tabla 1. Factor de traslocación (FT).

Lavándula	Parámetros	Zn (mg/kg)	Pb (mg/kg)
1	P.Aérea	44,63	11,531
	P.Radicular	31,6	8,62
	FT	1,41	0,621
2	P.Aérea	73,43	11,37
	P.Radicular	63,8	31,93
	FT	1,151	0,36
Promedio FT		1,28	0,49

Conclusiones

Según el índice de geoacumulación las muestras de suelo presentan niveles de contaminación que oscilan entre moderadamente a extremadamente contaminados por Zn y Pb.

De acuerdo con los resultados obtenidos, *L. stoechas* extrae y acumula en su parte aérea Zn por lo que podría ser utilizada como planta fitoextractora en áreas contaminadas por este elemento.

Sería necesario estudiar la fisiología de *L. stoechas* para determinar los mecanismos que se desencadenan frente al estrés provocado por elevadas concentraciones de metal(oid)es en el medio.

Agradecimientos

Este estudio ha contado con el apoyo de la Junta de Extremadura/FEDER, a través del proyecto IB18074.

Bibliografía

- Barraza, F., Maurice, L., Uzu, G., Becerra, S., López, F., Ochoa-Herrera, V., Ruales, V., Schreck, E. (2018). Distribution, contents and health risk assessment of metal(loid)s in small-scale farms in the Ecuadorian Amazon: An insight into impacts of oil activities. *Science of the Total Environment* 622-623: 106-120.
- Doležalová, H., Mihočová, S., Chovanec, P., Pavlovský, J. (2019). Potential Ecological Risk and Human Health Risk Assessment of Heavy Metal Pollution in Industrial Affected Soils by Coal Mining and Metallurgy in Ostrava, Czech Republic. *International journal of environmental research and public health* 16(22): 4495.
- Dos Santos, V., Varón-López, J., Fonsêca, C., Lopes, P., Siqueira, J., de Souza, F. (2016). Biological attributes of rehabilitated soils contaminated with heavy metals. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 6735-6748.
- Ec. (2012a). Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and Committee of the Regions, A Blueprint to Safeguard Europe's Water Resources, Brussels, 14.11.2012, Com (2012)673 final.
- Kim, H., Kim, Y., Seo, Y. (2015). An Overview of Carcinogenic Heavy Metal: Molecular ToxicityMechanism and Prevention. *Journal of Cancer Prevention* 20(4): 232-240.
- Lasat, M.M., N.S. Pence., D.F. Garvin., S.D. Ebbs & L.V. Kochian. (2000). Molecular Physiology of zinc transport in the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. Available at: <http://jxb.oxfordjournals.org/content/51/342/71.full.pdf>.
- Muller, G. (1969). Index of Geoaccumulation in Sediments of the Rhine River. *Geo Journal*, 2, 109-118.
- Olivares, Elizabeth & Peña, Eder. (2009). Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. Available at: <http://www.scielo.org.ve/pdf/inci/v34n9/art04.pdf>.
- Pérez-Sirvent, C., Hernández-Pérez, C., MartínezSánchez, M., García-Lorenzo, M., Bech, J. (2017). Metal uptake by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Journal of Soils and Sediments* 17: 1384–1393.
- Pourbaix, M. (1966). Atlas of electrochemical equilibria in aqueous solutions. National Association of Corrosion Engineers.
- Santos, J. F., Guinea, A., Ábalos, B., Gil, J. I., (2007). Composición isotópica del Pb en galenas de la región de la Falla de Azuaga. Aportaciones al modelo plumbotectónico de la Zona de Ossa-Morena. *Geogaceta* 43, 7-10.
- Sarma, H. (2011). Metal hyperaccumulation in plants: A review focusing on phytoremediation technology. *Journal of Environmental Science and Technology*, 4(2), 118– 138. doi: 10.3923/jest.2011.118.138.
- Soil Survey Staff. (2014). Soil Survey Field and Laboratory Methods Manual. Soil Survey Investigations Report No. 51, Version 2.0. R. Burt and Soil Survey Staff (ed.). U.S. Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service.
- Xiao, R., Wang, S., Li, R., Wang, J. (2017). Soil heavy metal contamination and health risks associated with artisanal gold mining in Tongguan, Shaanxi, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 141: 17-24.
- Zhao, F.J., R.E. Hamon, E. Lombi, M.J. McLaughlin & S.P. McGrath. (2002). Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. Available at:<http://jxb.oxfordjournals.org/content/53/368/535.full.pdf>

Efecto de la reducción de lluvia y el tipo de laboreo en el suelo y cultivo de haba (*Vicia faba* L.)

Effect of reduced rainfall and the type of tillage on the soil and broad bean (*Vicia faba* L.) cultivation

Domínguez, María T¹., Madejón, Engracia^{2*}, Madejón, Paula²., Fernández-Boy, Elena¹., Morales, Laura¹., Navarro-Fernández, Carmen M.², de Bethencourt, Rodrigo^{1*}

¹ Departamento de Cristalografía, Mineralología y Química Agrícola, Universidad de Sevilla. Calle Profesor García González s/n. 41012, Sevilla

² Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC). Avenida de Reina Mercedes, 10. 41012, Sevilla.

* emadejon@irnase.csic.es

Resumen

La agricultura es una de los principales actividades económicas del sur de la Península Ibérica, muy vulnerable a los cambios climáticos pronosticados. En este trabajo se evalúa la resistencia a la sequía de un cultivo de secano (*Vicia faba* L.) bajo distintas alternativas de laboreo. En 2020 se implementó un experimento de sequía en un ensayo de laboreo de larga duración (en marcha desde 2008) en el que se evalúan tres tipos de manejo: laboreo tradicional (LT), laboreo reducido (LR) y no laboreo (NL). La sequía provocó una reducción de la producción de vainas de haba del 41 % en LR, y del 9 % en LT y el NL. El tipo de laboreo influenció el contenido de nitrógeno del suelo, siendo mayor en NL que en LT. El tratamiento de exclusión de lluvia tuvo, por el momento, un efecto marginalmente significativo sobre el contenido en carbono orgánico de los suelos superficiales, siendo ligeramente superior en los suelos del tratamiento de exclusión de lluvia. Los resultados cultivo sugieren que en el LR sería necesario ejercer un mayor control de malas hierbas para poder mantener los beneficios agronómicos de este tipo de laboreo en un contexto de sequía.

Abstract

Agriculture is one of the main economic activities in the South of the Iberian Peninsula, which it is very vulnerable to the projected changes in climate. In this work we evaluated the resistance to drought of rainfed crops (*Vicia faba* L.) under different tillage systems. In 2020 a rainfall exclusion experiment was established on a long-term tillage experiment testing three tillage types: traditional tillage (TT), reduced tillage (RT) and no-tillage (NT). Drought provoked a reduction of fruit production of 41 % in RT, and of 9 % in TT and NT. Tillage type influenced soil N content, being higher in the NT in comparison to the TT treatment. Drought provoked so far a marginally significant effect on organic C content in the soil surface, being slightly higher in soils from the rainfall exclusion treatment. Results suggest that a more intensive weed control would be needed to maintain the agronomic benefits of reduced tillage in a context of reduced rainfall.

Palabras clave: Cambio climático, producción, laboreo de conservación, laboreo tradicional

Introducción

La agricultura es uno de los principales motores de la economía en el sur de la Península Ibérica, y uno de los sectores económicos potencialmente más vulnerables a los cambios climáticos pronosticados en el actual contexto de cambio global, que apuntan a un descenso significativo de las precipitaciones anuales en la región para final de siglo (entre 20 % y 30 %), así como a un aumento en la recurrencia de fenómenos extremos, como episodios de sequía intensa. Las características físico-químicas y biológicas de los suelos influyen de manera decisiva en el balance hídrico de los sistemas agrícolas y en su respuesta a estos episodios. Diferentes tipos de manejo del suelo pueden influir profundamente en estas características, determinando en buena medida la resistencia del sistema a una disminución de los recursos hídricos.

En particular, el laboreo de conservación, la aplicación de mulch o acolchamiento superficial, y la incorporación de enmiendas orgánicas al suelo son algunas de las medidas agroambientales incluidas en los ecoesquemas de la nueva PAC 2023-2027 que pueden aumentar la resistencia del suelo a las sequías en climas áridos y semiáridos (revisado en Bot y Benites, 2005), debido a sus efectos en la cantidad de materia orgánica del suelo, la porosidad y la estabilidad de los agregados del mismo.

En este trabajo se resumen los primeros resultados de un ensayo en condiciones de campo con el que se pretende evaluar si las técnicas de laboreo de conservación (no laboreo y laboreo reducido) aumentan la resistencia del funcionamiento de suelos de secano en un escenario probable de reducción de precipitaciones. Se estableció un experimento de manipulación de lluvia en un ensayo de laboreo de conservación comenzado en 2008 en el que se comparan tres alternativas de laboreo (tradicional, reducido y no laboreo) en suelos de secano característicos del Valle del Guadalquivir.

Material y métodos

El ensayo se desarrolla en la finca experimental La Hampa (Coria del Río, Sevilla), perteneciente al CSIC. El clima de la zona es el típico del Valle del Guadalquivir, con una precipitación anual media de 496 mm (período 1971-2012), y una temperatura anual media de 17 °C. El suelo de la finca se clasifica como Xerofluvent, con una textura franco-arenocarcillosa, un pH de 8, un contenido en carbonatos del 30 %, y contenido en carbono orgánico inferior al 2 % en su horizonte Ap.

El ensayo de laboreo fue establecido en 2008 en una superficie de 2000 m² dividida en parcelas de 60 m x 5 m asignadas a tres tipos de laboreo (tres parcelas por tratamiento): laboreo tradicional (LT), laboreo reducido (LR) y no laboreo (NL). El laboreo LT es el típico de la zona para la agricultura de secano, e incluye el uso de vertedera que voltea el suelo hasta una profundidad de 25-30 cm. Los otros dos tratamientos (LR y NL) prescinden del uso de la vertedera e incluyen al menos un 30 % de superficie cubierta por los restos del cultivo anterior. El tratamiento LR sustituye la vertedera por un pase de chisel (15-20 cm de profundidad) y un pase de grada superficial antes de la siembra. El laboreo NL reduce el tratamiento del suelo a una perturbación muy superficial (5 cm de profundidad) de la máquina sembradora para incorporar las semillas al suelo. Más detalles sobre la historia de manejo de este ensayo de laboreo puede consultarse en Panettieri et al. (2015; 2020).

En el otoño de 2020 se instalaron en cada parcela experimental de laboreo dos cajas de exclusión de lluvia para manipular la precipitación recibida. Cada una de estas cajas cubre una superficie de 5 m x 2.5 m, con una altura máxima de 1.5 m, y una altura mínima de 1 m. Las cajas constan de canaletas transparentes de metacrilato que interceptan aproximadamente un 33 % de la precipitación recibida, para simular condiciones de sequía en línea con las predicciones de disminución de la precipitación pronosticadas para la región

mediterránea para el período 2081-2100 (IPCC, 2013).

En este trabajo se resumen los datos referidos al primer año de cultivo bajo las condiciones experimentales de sequía, siendo el cultivo de haba (*Vicia faba* L.) el correspondiente dentro de la rotación cereal-leguminosa.

Las condiciones de humedad a lo largo del perfil de suelo (0-100 cm) fueron registradas periódicamente mediante tubos permanentes para la inserción de una sonda de humedad FDR (PR2-4, Delta T Devices). En el momento de cosecha del cultivo (mayo de 2021) se cuantificó la biomasa vegetal producida en cada unidad experimental, tanto de haba como de especies arvenses. Para las plantas de haba se separaron las vainas y granos, y se secaron y pesaron por separado.

Al comienzo del proyecto (otoño 2020) y al final del cultivo (primavera 2021) se tomaron muestras de suelo (0 -10 cm) para analizar carbono y nitrógeno total (en analizador elemental, método Dumas), así como la disponibilidad de los principales nutrientes para las plantas. Se analizó el contenido en carbonatos mediante el método del calcímetro; restando el contenido en carbono procedente de los carbonatos al contenido de carbono total se obtuvo el contenido en carbono orgánico. Se analizó el contenido de P disponible mediante el método Olsen, así como las concentraciones disponibles de K, Ca y Mg mediante extracción con acetato amónico a pH 7 y determinación por espectroscopía de emisión/absorción atómica, dependiendo del elemento. La disponibilidad de oligoelementos como Cu, Fe, Mn y Zn fue analizada en extractos de AEDT 0.05 N a pH 7 mediante espectroscopía de absorción atómica.

Resultados y discusión

El tratamiento de exclusión de lluvia tuvo en efecto marcado en la producción de biomasa de haba en LR, resultando en una disminución de la cosecha tanto en términos de biomasa total como en producción de vainas de haba (Fig. 1a). En comparación con el tratamiento control, en

condiciones de sequía se observó una reducción de la cosecha (vainas de haba) del 41 % en LR, mientras que en LT y el NL estuvo en torno al 9 %. Este efecto pudo estar relacionado con la competencia con especies herbáceas espontáneas en los distintos tipos de laboreo; en el laboreo reducido aumentó la biomasa de malas hierbas en las casetas de exclusión, mientras que en los otros dos tipos de laboreo la biomasa de estas especies fue muy similar en comparación con el tratamiento control (Fig. 1b). Considerando sólo el tratamiento control, no expuesto a la exclusión de lluvia, lo mejores datos de producción se obtuvieron en el tratamiento LR (Figura 1a). Trabajos previos en este ensayo de laboreo también mostraron que la adopción de LR favorece la producción agrícola en estos suelos en comparación con el laboreo tradicional, mientras que el NL puede resultar en un aumento de la compactación del suelo que dificulte la germinación y enraizamiento de las plantas (López-Garrido et al., 2014). Sin embargo, los resultados sugieren que en condiciones de sequía la competencia con las herbáceas es máxima en el tratamiento LR, debido a la menor perturbación mecánica en comparación con el LT, y a que en el tratamiento NL se realiza una aplicación de herbicida previa a la siembra.

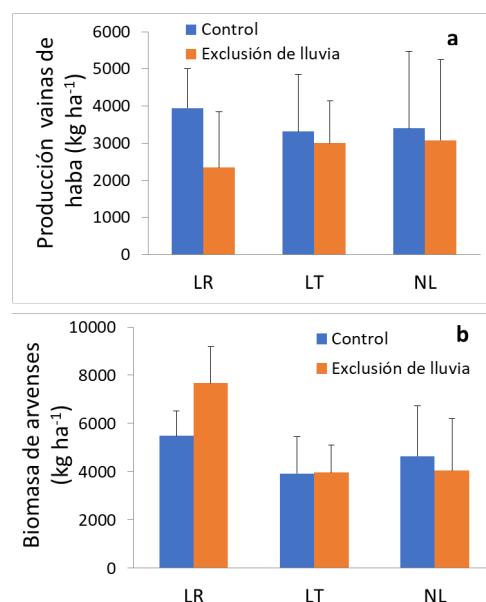


Fig. 1 – a) Producción de las vainas de habas y b) biomasa de arvenses en los diferentes laboreos en condiciones de exclusión de lluvia y control.

En cuanto al efecto de los tratamientos en los suelos, el efecto más destacable del tipo de laboreo se observó en el contenido de nitrógeno total del suelo. En NL el contenido de nitrógeno fue significativamente mayor que en el tratamiento LT en el muestreo de otoño, previo a la siembra. En el muestreo de primavera previo a la cosecha se observó una tendencia hacia un mayor contenido en nitrógeno del suelo, independiente del tratamiento hídrico, debido a la presencia de la leguminosa y su asociación con bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico. Este efecto positivo del NL sobre el contenido de nitrógeno del suelo es uno de los principales beneficios de esta alternativa de manejo en los suelos agrícolas, y también observado en muestreos anteriores en este mismo ensayo de laboreo de larga duración (Panettieri et. al., 2020). El tratamiento de exclusión de lluvia tuvo, por el momento, un efecto marginalmente significativo sobre el contenido en carbono orgánico de los suelos superficiales; éste tendió a ser ligeramente superior en los suelos del tratamiento de exclusión de lluvia, posiblemente debido a las menores tasas de actividad microbiana y mineralización de carbono en los suelos afectados por la sequía.

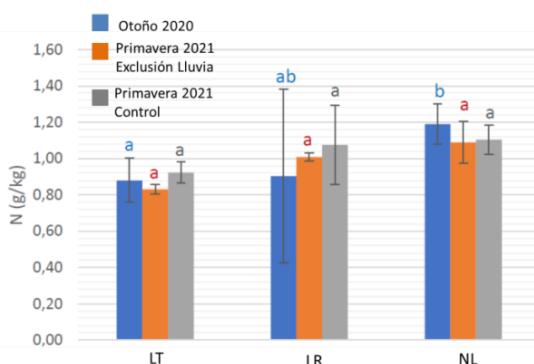


Fig. 2 – Concentración de N total en los suelos en el muestreo inicial y después del cultivo. Para cada muestreo, letras distintas entre tipos de laboreo indican diferencias significativas.

Conclusiones

Este trabajo resume los principales resultados del primer año de un proyecto que evalúa la sensibilidad de cultivos de secano a la sequía bajo distintas alternativas de manejo del suelo (tipos de

laboreo). Después de un ciclo de cultivo de haba se ha podido constatar una reducción muy acusada en la producción debido a la sequía en las parcelas de LR, debido a un aumento de la competencia con las herbáceas arvenses. En el tratamiento sin reducción de lluvia, el LR presentó sin embargo los mejores datos de producción. La producción de haba en las parcelas NL fue bastante resistente a la sequía; en este tratamiento se observó un aumento en el contenido de N del suelo con respecto al laboreo tradicional. Los resultados para este cultivo sugieren que en el LR sería necesario ejercer un mayor control de malas hierbas para poder mantener los beneficios agronómicos de este tipo de laboreo en un contexto de precipitaciones reducidas.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado en el marco del proyecto LABORSEQ de la Universidad de Sevilla (US-1260627) financiado gracias al Programa Operativo FEDER de la Junta de Andalucía. Agradecemos a Ignacio Girón su colaboración en la gestión del cultivo experimental.

Referencias

- Bot, A., & Benites, J. (2005). *The importance of soil organic matter. Key to drought-resistant soil and sustained food and production*. FAO Land and Plant Nutrition. Management Service. Rome: FAO.
- IPCC(2013) *Climate change 2013*. Cambridge: Cambridge University Press.
- López-Garrido, R., et al. (2014). Reduced tillage as an alternative to no-tillage under Mediterranean conditions: A case study. *Soil Tillage Research*, 140, 40–47. doi: 10.1016/j.still.2014.02.008.
- Panettieri, M., et al. (2015). Evaluation of seasonal variability of soil biogeochemical properties in aggregate-size fractionated soil under different tillages. *Soil Tillage Research* 151, 39–49. doi: 10.1016/j.still.2015.02.008.
- Panettieri, M., et al. (2020). Long-term impacts of conservation tillage on Mediterranean agricultural soils: shifts in microbial communities despite limited effects on chemical properties. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 304, 107144. doi:10.1016/j.apsoil.2022.104462.

Red de estaciones de medida de parámetros físicos del suelo

Boquera, Lola; ¹Lladós, Agnès; Jara, José Antonio

¹ Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya (www.icgc.cat), dolores.boquera@icgc.cat.

Resumen

El Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya (ICGC) actualmente tiene una red formada por 14 estaciones automáticas que miden los parámetros físicos de contenido de agua y temperatura del suelo. Estas estaciones están situadas en campos de cultivo de viña que han emigrado hacia cotas más altas para buscar condiciones climáticas más húmedas y frías (adaptación al cambio climático). Las estaciones están formadas por varios sensores ambientales (pluviometría, radiación solar, temperatura i humedad del aire) y por sensores enterrados en el suelo que miden el contenido de agua y la temperatura, situados a 5, 20, 50 y 100 cm de profundidad, y así poder contrastar los parámetros ambientales con los físicos del suelo. Son estaciones autónomas alimentadas por energía solar que, a través de un módem, transfieren los datos periódicamente a una base de datos remota situada en la sede central del ICGC. Estos datos son accesibles a través de un visor público en el cual se pueden consultar también la información edafológica donde están situados los sensores. Los datos obtenidos de los sensores se pueden descargar en formato csv o visualizar gráficamente. Estos datos se pueden visualizar gráficamente y descargar a través de un visor web de acceso público, el cual también permite consultar la información edafológica del lugar donde está situada la estación. Los datos, además de permitir determinar los régimenes climáticos de los suelos, a medio plazo también serán útiles realizar estudios hidrológicos y de cambio climático; aunque para esto último se necesitan registro de los datos de intervalos de tiempo mayores, por lo que todavía quedará esperar ya que las primeras estaciones automáticas se instalaron en el 2017.

Contenido de agua en el suelo, temperatura del suelo, monitoraje del suelo, régimenes climáticos del suelo, cambio climático.

Abstract (English)**

The Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya (ICGC) currently has a network of 14 automatic stations that measure the soil water content and temperature. These stations are installed in vineyards that have migrated to higher levels to search for more humid and colder climatic conditions (adaptation to climate change). Stations consist of various environmental sensors (rainfall, solar radiation, air temperature and humidity) and a set of sensors, buried into the ground at 5, 20, 50 and 100 cm depths, to measure water content and temperature, enabling to compare the environmental parameters with the physical ones of the soil. They are autonomous stations powered by solar energy that, through a modem, periodically transfer data to a remote database located at the ICGC headquarters. These data are displayed graphically and downloaded through an open web app, which also provides information about the soil where the station is located. Obtained data, in addition to compute the climatic regimes of soils, in the medium term will be useful to carry out hydrological and climate change studies; although for the latter, at least longer years of registration are needed, so it will still have to wait since because the first automatic stations were installed in 2017.

Soil water content, temperature soil, monitoring soil, soil climatic regimes, climate change.

Introducción

Desde el año el año 2010, dentro del proyecto Base de Datos de Suelos del Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya (ICGC), se ubicaron un conjunto de sensores de temperatura y humedad del suelo a diferentes profundidades en varias ubicaciones del territorio de Cataluña. Estos sensores se instalaron, junto con técnicos del Natural Resource Conservation Service del Departamento de Agricultura de Estados Unidos de América, con el fin de establecer los régimenes de temperatura y humedad de los suelos de Cataluña.

La experiencia acumulada durante el seguimiento de dichos sensores hizo que afloraran una serie de problemas relacionados, principalmente, con la recopilación de los datos, con las necesidades de mantenimiento y con la reposición de los equipos deteriorados.

Para encontrar soluciones a estos problemas y dar continuidad al proyecto de establecimiento de los régimenes de temperatura y humedad de los suelos de Cataluña se planteó la creación de una red de estaciones automáticas de medida de parámetros físicos de los suelos.

Uno de los principales beneficios es que de este modo no es necesario desplazarse para recoger los datos y se pueden detectar las sondas que no funcionan con mayor facilidad. Esto permite tener un registro continuo de todos los datos y facilita el mantenimiento de la red.

Descripción de las estaciones y tipo de sensores.

Las estaciones automáticas están formadas por 4 sensores multiparamétricos que miden la temperatura y humedad del suelo, instalados a 5, 20, 50 y 100 cm de profundidad. Adicionalmente se dispone de sensores ambientales que permiten contrastar los parámetros del suelo y que consisten en un pluviómetro, un piranómetro y una sonda de temperatura y humedad ambiental.

Para su correcto funcionamiento las estaciones también tienen incorporado, un sistema de adquisición de datos, un sistema de alimentación y un sistema de comunicación de datos.



Fig. 1 – Vista de una de las estaciones de la red de medida de parámetros físicos del suelo.

Cuadro 1 – Detalle cada uno de los sensores instalados en las estaciones.

ID	Sensor	Model	Descripción	Precisión
1	Pluviómetro	Young 52203	Pluviómetro incremental basculante	± 2% con intensidad de corrección
2	Piranómetro	Hukseflux P02-05	Sensor de radiación global. S=11.83 μ V/(W/m ²)	< ± 1.5 %
3	T/H	Campbell CS215	Sonda de temperatura y humedad relativa del aire	Temperatura: ±0.3°C a 25°C, ±0.4°C de +5° a +40°C, ±0.9°C de -40° a +70°C. Humedad: ±2% de 10 a 90%, ±4% de 0 a 100%
4	T/H Suelo_05	Campbell CS655	Sonda multiparamétrica del suelo instalada a 5cm de profundidad	Temperatura: ±0.5°C. Humedad: 3 % entre 0 y 50% VWC (suelo mineral estándar, EC < 5 mS/cm)
5	T/H Suelo_20	Campbell CS655	Sonda multiparamétrica del suelo instalada a 20cm de profundidad	Temperatura: ±0.5°C. Humedad: 3 % entre 0 y 50% VWC (suelo mineral estándar, EC < 5 mS/cm)
6	T/H Suelo_50	Campbell CS655	Sonda multiparamétrica del suelo instalada a 50cm de profundidad	Temperatura: ±0.5°C. Humedad: 3 % entre 0 y 50% VWC (suelo mineral estándar, EC < 5 mS/cm)
7	T/H Suelo_100	Campbell CS655	Sonda multiparamétrica del suelo instalada a 1m de profundidad	Temperatura: ±0.5°C. Humedad: 3 % entre 0 y 50% VWC (suelo mineral estándar, EC < 5 mS/cm)

Sistema de adquisición de datos

La adquisición de los datos medidos por los sensores se realiza mediante un datalogger de la marca Campbell Scientific, modelo CR800. La estación

extrae los datos que miden los sensores y cada 30 minutos registra sus valores de acuerdo con el Cuadro 2.

Cuadro 2 – Principales medidas registradas cada 30 minutos en las estaciones automáticas.

Parámetro	Descripción	Tipo de medida	Unidades
TmStamp	Tiempo UTC en que se registra la medida	-	-
RecNum	Número de la medida	-	-
Bateria_Avg	Tensión de la batería	Media	Volts
PTemp_Avg	Temperatura interior del armario	Media	°C
Temp_aire_Avg	Temperatura del aire	Media	°C
H_R_Avg	Humedad relativa del aire	Media	%H ₂ O
Pluja_Tot	Lluvia acumulada cada media hora	Total	l/m ²
VWC_005	Contenido del agua del suelo a 5cm	Muestra	m ³ /m ³
VWC_020	Contenido del agua del suelo a 20cm	Muestra	m ³ /m ³
VWC_050	Contenido del agua del suelo a 50cm	Muestra	m ³ /m ³
VWC_100	Contenido del agua del suelo a 1m	Muestra	m ³ /m ³
TSoil_005	Temperatura del suelo a 5cm	Muestra	°C
TSoil_020	Temperatura del suelo a 20cm	Muestra	°C
TSoil_050	Temperatura del suelo a 50cm	Muestra	°C
TSoil_100	Temperatura del suelo a 1m	Muestra	°C
RS_Avg	Radiación global	Media	W/m ²

Sistema de comunicación de datos

El sistema de comunicación de datos está basado en un módem, que mediante la pila TCP/IP del datalogger permite establecer una conexión a Internet.

Periódicamente los datos se descargan del datalogger, utilizando la conexión a Internet de la estación, y se almacenan en una base de datos ubicada en la sede del ICGC. Actualmente se realizan dos descargas diarias de datos, una a las 00:10 (UTC) y una segunda a las 12:10 (UTC).

Una vez descargados los datos y almacenados en la base de datos, éstos son accesibles mediante la aplicación web NetMon (<http://netmon.icgc.cat/netmon>) para los propietarios o bien de manera pública a través del visor del ICGC <https://visors.icgc.cat/mesurasols/>

Acceso a los datos y visualización.

Los datos obtenidos por los sensores y descargados en la base de datos remota se pueden consultar a través del visor del ICGC <https://visors.icgc.cat/mesurasols/> bien descargándolos en un archivo .csv o bien visualizándolos gráficamente. A su

Sistema de alimentación

El sistema de alimentación es de tipo fotovoltaico lo cual hace que sea completamente autosuficiente, y está formado por los siguientes elementos:

- Placa fotovoltaica 40W a 12V monocristalino
- Regulador de 6A y 12V
- Batería solar.

El sistema de alimentación suministra energía al módem de comunicaciones y al datalogger, siendo este último el encargado de alimentar adecuadamente al resto de sensores de la estación.

vez, se puede consultar la información edafológica de cada estación ya que en el momento de la instalación se realiza una descripción y clasificación del suelo, así como un análisis de laboratorio de los diferentes horizontes.

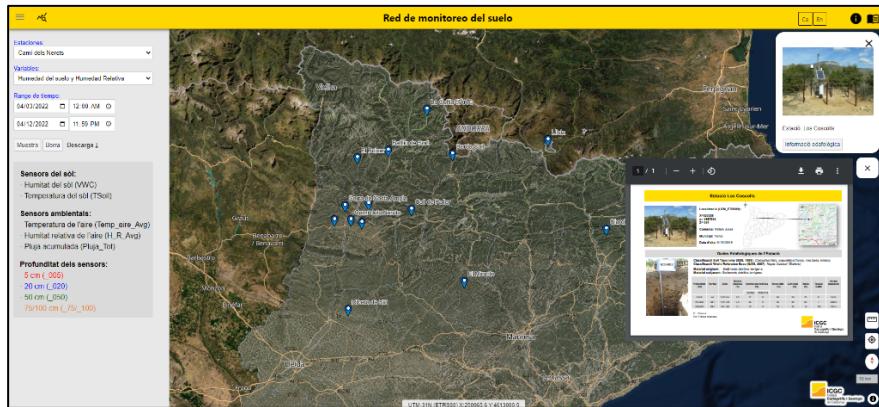


Fig. 2 – Localización de las estaciones en funcionamiento en el visor del ICGC.

A partir de estos datos se pueden calcular los régimes climáticos de los suelos. Por otro lado, cuando se disponga de un registro de tiempo de más años, estos datos podrán utilizarse para realizar estudios de cambio climático.

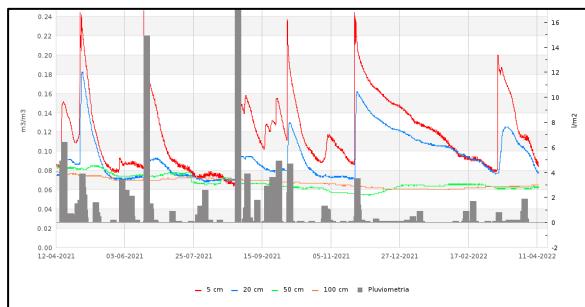


Fig.3 – Ejemplo de gráfica de humedad del suelo a diferentes profundidades junto con la pluviometría total.

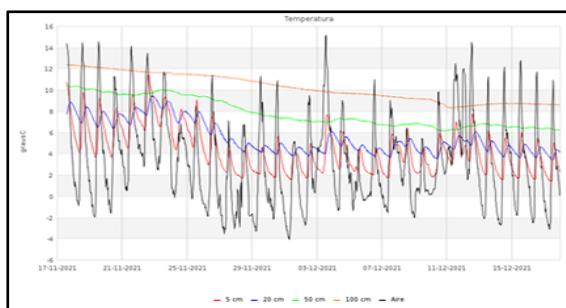


Fig.4 – Gráfica de temperatura del suelo a diferentes profundidades junto con la temperatura del aire.

Conclusiones

Después de 5 años desde la instalación de la primera estación automática, se llega a la conclusión que este tipo de estaciones son totalmente válidas y que ofrecen datos fiables y constantes los cuales permiten

realizar cálculos para el establecimiento de los régimes climáticos de los suelos y la realización de estudios de cambio climático.

El uso de un visor para la divulgación de los datos ha resultado muy útil para la accesibilidad a la información, así como una visualización más gráfica.

Agradecimientos

A todos los propietarios de los campos de viña que nos han cedido el espacio para poder instalar las estaciones automáticas.

A la Unidad de Instrumentación del ICGC por la implicación y dedicación en la instalación, mantenimiento y revisión de las estaciones.

A la Unidad de suelos del ICGC por su apoyo incondicional en la descripción y clasificación de suelos.

A la Unidad de Geostart por su colaboración en la elaboración del visor.

Referencias bibliográficas

- Adell, J.; Jiménez, E.; Vicencs, M.; Ascaso, E. 2014. Règims de temperatura i humitat als sòls de Catalunya. Institut Cartogràfic i Geològic, Barcelona.
- Porta J, Ballesta A, Martín-Sánchez JA (coord.). 2013. L'Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària de Lleida 1972-2012. Un valor al servei de la societat. Lleida: Fundació Pública Institut d'Estudis Ilerdencs. 335 p.

Concentración y reservorio de Hg en el sistema suelo-planta en el bosque caducifolio Mediterráneo nativo del NE de Portugal

Concentration and pool of Hg in the soil-plant system of the Mediterranean native deciduous forest from NE Portugal

Parente-Sendín, Andrea^{1,2}, Méndez-López, Melissa^{1,2*}, Calvo-Portela, Noemí^{1,2}, Fonseca, Felicia³, de Figueiredo, Tomás³, Nunes, Luís³, Pontevedra-Pombal, Xabier⁴; Alonso-Vega, Flora^{1,2}, Nóbua-Muñoz, Juan Carlos^{1,2}

¹ Universidade de Vigo, Departamento de Biología Vegetal e Ciencia do Solo, Área de Edafología e Química Agrícola, Facultade de Ciencias. As Lagoas s/n, 32004 Ourense, España

² Campus da Auga, Universidade de Vigo, Laboratorio de Tecnología e Diagnose Ambiental. Rúa Canella da Costa da Vela 12, 32004, Ourense, España.

³ Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Sta Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

⁴ Departamento de Edafología e Química Agrícola, Facultade de Biología, Universidade de Santiago de Compostela. Rúa Lope Gómez de Marzoa s/n, 15786 Santiago de Compostela, España.

*memendez@uvigo.es.

Resumen

Este estudio se desarrolló en parcelas de bosque nativo mediterráneo, dominado por *Quercus pyrenaica*, situadas al noreste de Portugal. Se determina la concentración y reservorio de mercurio (Hg) en la biomasa aérea (hojas, ramas y tronco) y en horizontes orgánicos (OL, OF y OH) y minerales (hasta 30 cm) del suelo. La acumulación de Hg en la biomasa aérea es 0,22, 0,10 y 0,5 g ha⁻¹ en hojas, ramas y madera de tronco, respectivamente. El rango de concentración de Hg total (THg) en los horizontes orgánicos fue de 75-122 µg kg⁻¹ y 78-112 µg kg⁻¹ en el suelo mineral. El Hg almacenado (RHg) en los horizontes O (OL+OF+OH) y suelo mineral (hasta 30 cm) es 1,9 y 255 g ha⁻¹, respectivamente. Las correlaciones de THg y RHg con C orgánico total, N total y la relación C/N, apuntan a la dinámica de la materia orgánica como principal factor de influencia en la presencia y almacenamiento de Hg en el suelo. La alteración del ciclo del C afectaría al papel del suelo como sumidero de Hg, promoviendo un mayor riesgo de movilización de Hg hacia componentes más sensibles de los ecosistemas terrestres como la biota y aguas superficiales y freáticas.

Palabras clave: mercurio, horizonte, reservorio, biomasa aérea, materia orgánica.

Abstract

The present study was carried out in native forest plots, dominated by *Quercus pyrenaica*, located in northeastern Portugal. The concentrations and reservoirs of mercury (Hg) in different plant compartments (leaves, branches, and bole wood), organic horizons (OL, OF, and OH sub horizons) and mineral soil (up to 30 cm depth) were determined. The accumulation of Hg in aboveground biomass is 0.22, 0.10, and 0.50 g ha⁻¹ in leaves, branches and bole wood, respectively. Ranges of total Hg concentration (THg) were 75-122 µg kg⁻¹ and 78-112 µg kg⁻¹ for organic horizons and mineral soil respectively. Mercury stored in soil (RHg) is 1.9 g ha⁻¹ for O horizons (OL+OF+OH) and 255 g ha⁻¹ for mineral soil (up to 30 cm depth). The correlations between THg and RHg with total organic C, total N and the C/N ratio suggest that soil organic matter dynamic is the main responsible for the occurrence and storage of Hg in soil. Changes in the C cycle would affect the role of soils as Hg sink, promoting a greater risk of Hg mobilization to more sensitive components of the terrestrial ecosystems such as wildlife, surface waters and groundwater.

Keywords: mercury, horizon, pool, aboveground biomass, organic matter.

Introducción

El mercurio está considerado como un contaminante global, altamente tóxico y circula a través de la atmósfera hasta llegar a zonas muy alejadas de sus fuentes de emisión (Gong et al., 2014).

Los ecosistemas terrestres son un componente importante en el ciclo global del Hg. Los suelos reciben anualmente el equivalente a la mitad de todas las emisiones de Hg de fuentes naturales y antrópicas (Zhou & Obrist, 2021). El Hg llega a los suelos por deposición húmeda y/o seca, siendo este último el mecanismo dominante en los ecosistemas terrestres ya que una importante fracción del Hg atmosférico es absorbida por la vegetación y luego transferido al suelo mediante la caída de la biomasa senescente. Esto convierte al suelo en el principal reservorio de Hg en los ecosistemas terrestres a nivel global (Wang et al., 2019), facilitado por la afinidad del Hg por la materia orgánica del suelo (Du et al., 2019).

No obstante, estudios recientes indican que la biomasa aérea también acumula una fracción considerable de Hg atmosférico, convirtiendo a la vegetación en el segundo reservorio de Hg en los medios terrestres (Zhou et al., 2021).

El objetivo de este trabajo es determinar el contenido y acumulación de Hg en el sistema suelo-planta de un bosque caducifolio mediterráneo nativo situado al NE de Portugal.

Material y métodos

El área de estudio se localiza en Serra da Nogueira (NE Portugal) a unos 1300 de altitud. Se trata de una zona mediterránea (temperatura media anual de 12°C y precipitación total anual de 1100 mm). *Quercus pyrenaica* es la especie arbórea (caducifolia) nativa dominante. La litología de la zona está dominada por esquistos.

En el área de estudio se seleccionaron tres parcelas circulares (314 m²) representativas del bosque de *Q. pyrenaica*, tomando datos de altura y diámetro de los árboles. En cada parcela se dispusieron 5 subparcelas, recogiendo

en ellas muestras de los horizontes orgánicos (OL, OF y OH) y del suelo mineral (0-5, 5-10, 10-15, 15-20 y 20-30 cm). La densidad aparente en los horizontes orgánicos se estimó a partir de su espesor y masa por unidad de superficie, y mediante camisas de densidad en el suelo mineral. En cada una de las tres parcelas se recogieron 15 muestras de hojas y de ramas (2-7 cm de grosor). En total se obtuvieron 45 muestras de hojas, 45 de ramas y 120 de suelo.

Tras su secado, las muestras de vegetación y horizontes orgánicos se trituraron (4 mm) y se obtuvo la fracción < 2mm del suelo mineral. En los horizontes orgánicos y suelo minerales se midieron pH en agua (pHw), C orgánico y N total y capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICe) (Méndez-López et al., 2022). El contenido de Hg total (THg) se determinó, por duplicado, en submuestras molidas de suelo y vegetación mediante un Analizador Directo de Mercurio (DMA-80).

Los reservorios de Hg (RHg) del suelo se calcularon a partir del THg, espesor y densidad aparente de cada horizonte. En la biomasa aérea, el RHg en hojas, ramas y tronco se utilizaron ecuaciones alejométricas definidas para *Q. pyrenaica* (Ruiz-Peinado et al., 2012; Mendes et al., 2013), asumiendo el mismo valor de THg en madera de ramas para la estimación en tronco.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando SPSS v. 25.

Resultados y discusión

Características generales de los suelos

Los valores de algunas propiedades de los suelos se presentan en la Tabla 1. Son suelos ligeramente ácidos (pHw 5,0-5,6), ricos en C orgánico total (47 g kg⁻¹ a 30 cm de profundidad) y una relación C/N y CICe que disminuyen con la profundidad.

Niveles de Hg total y reservorios de Hg en la biomasa aérea y en suelos

Los valores de Hg total (THg) y su reservorio (RHg) en la biomasa aérea se presentan en la Tabla 2. El promedio de

THg en hojas fue de $23 \mu\text{g kg}^{-1}$, considerablemente mayor que en la madera de ramas ($2,0$ - $7,9 \mu\text{g kg}^{-1}$).

Tabla 1 – Promedio de diferentes características de los horizontes orgánicos y minerales de los suelos de bosque de *Q. pyrenaica*.

Horizonte	ρ_b^*	pHw	C**	N	C/N	ClCe***
OL	0,01	5,1	450	14,7	32	37,2
OF	0,01	5,3	476	15,9	30	41,5
OH	0,02	5,6	345	14,1	24	37,8
0-5 cm	0,84	5,2	88	6,1	14	13,3
5-10 cm	0,84	5,0	64	4,6	13	10,1
10-15 cm	0,94	5,3	63	4,6	14	9,0
15-20 cm	1,03	5,3	54	4,0	14	7,8
20-30 cm	1,08	5,3	47	3,5	13	6,2

* ρ_b , densidad aparente (g cm^{-3}). ** valores de C y N en g kg^{-1} . *** ClCe: capacidad de intercambio catiónico efectiva (incluye Al intercambiable en el suelo mineral).

El promedio para el reservorio de Hg (RHg) en la biomasa foliar fue de $0,22 \text{ g ha}^{-1}$, doble del acumulado en la madera de las ramas ($0,10 \text{ g ha}^{-1}$) y la mitad del estimado para la madera del tronco de *Q. pyrenaica* ($0,50 \text{ g ha}^{-1}$). Valores semejantes de RHg en la biomasa foliar ($0,20 \text{ g ha}^{-1}$) fueron obtenidos en *Quercus liaotungensis* (Zhou et al., 2017), aunque los valores de RHg en ramas y tronco en ese estudio ($0,7$ y $0,1 \text{ g ha}^{-1}$) difieren de nuestros resultados.

Tabla 2 – Promedios, desviación estándar, máximos y mínimos de Hg total (THg, $\mu\text{g kg}^{-1}$) y del reservorio de Hg (RHg, g ha^{-1}) en la biomasa de hojas, ramas y tronco de parcelas de bosque de *Q. pyrenaica*.

	Hojas		Ramas		Tronco	
	THg	RHg	THg	RHg	THg	RHg
promedio	23,0	0,22	4,8	0,10	n.d.	0,50
des. est.	3,1	0,03	1,4	0,03	n.d.	0,25
máximo	30,0	0,31	7,9	0,15	n.d.	1,14
mínimo	17,9	0,17	2,0	0,05	n.d.	0,12

n.d. no determinado

Los niveles de THg en los horizontes orgánicos siguieron la secuencia OL<OF<OH, con promedios de 75, 106 y $122 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente (Fig. 1). El promedio de RHg fue de 0,45, 0,40 y 1,0 g

ha^{-1} para OL, OF y OH, respectivamente. Los valores más elevados de THg y RHg se encontraron en la capa orgánica más humificada (OH), justificable por la correlación negativa entre THg y C/N ($r=-0,587$; $p=0,000$; $n=45$) y entre RHg y C/N ($r=-0,567$; $p=0,000$; $n=45$). Estudios previos confirman la influencia de la relación C/N en los niveles de Hg en horizontes O de suelos de bosque (Méndez-López et al., 2022).

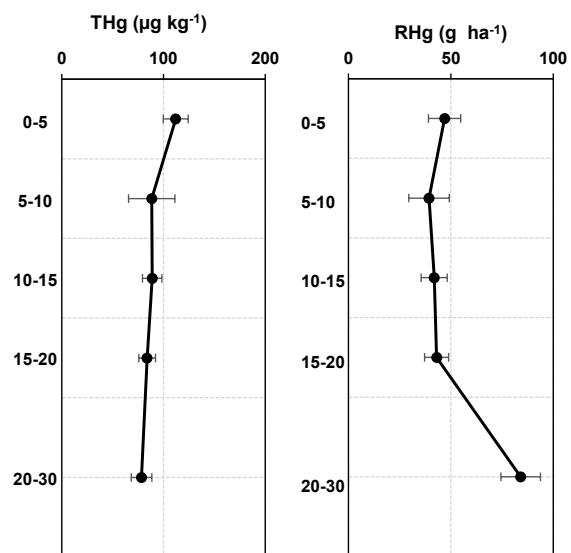


Fig 1: Distribución en profundidad de la concentración de Hg (THg) y reservorio de Hg (RHg).

Los valores de THg en el suelo mineral disminuyen con la profundidad (Fig. 1), desde $112 \mu\text{g kg}^{-1}$ (a 0-5 cm) hasta $78 \mu\text{g kg}^{-1}$ (a 20-30 cm). Al contrario, los valores medios de RHg en el suelo mineral aumentan con la profundidad hasta un máximo de 84 g ha^{-1} a 20-30 cm (Fig. 1). El promedio de RHg para todo el suelo mineral (0-30 cm) en las diferentes subparcelas es de 257 g ha^{-1} . Los valores de THg son ligeramente más altos que los publicados por Gómez-Armesto et al. (2020) en suelos de *Q. robur* en Galicia (rango 32 - $74 \mu\text{g kg}^{-1}$), pero los valores de RHg casi duplican los niveles obtenidos en ese estudio para los 33 cm superficiales del suelo. El THg en el suelo mineral se correlaciona con el C orgánico y con la relación C/N ($r=0,736$; $p=0,000$ y $r=0,584$; $p=0,000$; $n=49$). Esto indica que el grado de humificación de la materia orgánica influye distintamente en el THg dependiendo del tipo de horizonte. De hecho, el RHg en el

suelo mineral no se correlaciona positivamente con el C orgánico, sino que este que viene determinado en mayor medida por la relación Hg/C ($r=0,419$; $p=0,003$; $n=49$), indicativa de la capacidad de la materia orgánica para complejear el Hg y contribuir a su almacenamiento en el suelo. No obstante, otros componentes del suelo como los oxihidróxidos de Fe y Al también estarían contribuyendo a la acumulación de Hg.

Conclusiones

El suelo mineral almacena el 99% del Hg de los bosques de *Q. pyrenaica* y su dinámica está influenciada, a medio y largo plazo, por procesos biogeoquímicos asociados al ciclo del C en el suelo. El RHg en los horizontes O, dos órdenes de magnitud menor que en el suelo mineral, sugiere un mayor dinamismo del Hg a través de su incorporación al suelo mineral, revolatilización o pérdida por escorrentía o lixiviado.

La madera de los troncos de *Q. pyrenaica* es el principal reservorio de Hg en la biomasa aérea, pero su contribución al ciclo del Hg en el suelo se espera más lenta que el RHg de las hojas. Teniendo en cuenta que el Hg almacenado en las hojas de *Q. pyrenaica* llega al suelo anualmente, si se excluyen pérdidas, bastarían 6 años para justificar el RHg de los horizontes O.

El estrecho nexo de unión entre los ciclos de Hg y C llevaría a que una alteración de la dinámica del C en el suelo, como el cambio climático o el cambio de uso del suelo, podrían afectar al papel del suelo como sumidero de Hg, incrementando los riesgos de toxicidad a través de su movilización hacia otros compartimentos de los ecosistemas terrestres más sensibles como la biota y los ecosistemas acuáticos de agua dulce.

Agradecimientos

M. Méndez-López agradece al Ministerio de Educación y Formación Profesional el contrato FPU17/05484. A la Consellería de Cultura, Educación e Universidade (Xunta de Galicia) por la financiación a través de

los contratos ED431C 2021/46-GRC y ED431F2018/06-EXCELENCIA.

Referencias bibliográficas

- Du, B., Zhou, J., Zhou, L., Fan, X., & Zhou, J. (2019). Mercury distribution in the foliage and soil profiles of a subtropical forest: Process for mercury retention in soils. *Journal of Geochemical Exploration*, 205, 106337. doi: 10.1016/j.gexplo.2019.106337.
- Gómez-Armesto, A., Méndez-López, M., Pérez-Rodríguez, P., Fernández-Calvino, D., Arias-Estévez, M., & Núñez-Muñoz, J. C. (2020). Litterfall Hg deposition to an oak forest soil from southwestern Europe. *Journal of Environmental Management*, 269, 110858. doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110858.
- Gong, P., Wang, X.P., Xue, Y.G., Xu, B.Q., & Yao, T.D. (2014). Mercury distribution in the foliage and soil profiles of the Tibetan forest: Processes and implications for regional cycling. *Environmental Pollution*, 188, 94-101. doi: 10.1016/j.envpol.2014.01.020.
- Mendes, A., Nunes, L., Lopez, D., & Soares, P. (2013). Ajuste de equações de biomassa total e por componentes para Carvalho-negral e pinheiro-bravo no distrito de Vila Real. 7º Congresso Florestal Nacional. En: *Florestas-Conhecimento e Inovação* (pp 326-339).
- Méndez-López, M., Gómez-Armesto, A., Alonso-Vega, F., Pontevedra-Pombal, X., Fonseca, L., de Figueiredo, T., & Núñez-Muñoz, J. C. (2022). The role of afforestation species as a driver of Hg accumulation in organic horizons of forest soils from a Mediterranean mountain area in SW Europe. *Science of The Total Environment*, 827, 154345. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.154345.
- Ruiz-Peinado, R., Montero, G., & del Rio, M. (2012). Biomass models to estimate carbon stocks for hardwood tree species. *Forest Systems*, 21, 42-52. doi: /10.5424/fs/2112211-02193.
- Wang, X., Yuan, W., Lin, C.J., Zhang, L., Zhang, H., & Feng, X. (2019). Climate and vegetation as primary drivers for global mercury storage in surface soil. *Environmental Science & Technology*, 53, 10665-10675. doi: 10.1021/acs.est.9b02386.
- Zhou, J., Wang, Z., Zhang, X., & Gao, Y. (2017). Mercury concentrations and pools in four adjacent coniferous and deciduous upland forests in Beijing, China. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 122, 1260-1274. doi: 10.1002/2017JG003776.
- Zhou, J., Obrist, D., Dastoor, A., Jiskra, M. & Ryjkov, A. (2021). Vegetation uptake of mercury and impacts on global cycling. *Nature Reviews Earth and Environment*, 24:269-284. doi: 10.1038/s43017-021-00146-y.
- Zhou, Z. & Obrist, D. (2021). Global mercury assimilation by vegetation. *Environmental Science & Technology*, 55, 14245-14257. doi: 10.1021/acs.est.1c03530.

Márgenes multifuncionales en secano para un mejor balance en carbono y biodiversidad

Multifunctional rainfed margins for a better carbon and biodiversity balance

Jiménez Navarro, Sara¹; Moreno García, Manuel¹; Ordóñez Fernández, Rafaela¹; Carbonell Bojollo, Rosa M.¹; Repullo Ruibérrez de Torres, Miguel A.^{1,2*}

¹ IFAPA, Área de Recursos Naturales y Forestales, centro Alameda del Obispo, Av. Menéndez Pidal s/n 14004 Córdoba, Spain

² European Conservation Agriculture Federation (ECAF), Parque Científico Tecnológico Rabanales 21 C/ Astrónoma Cecilia Payne. Edificio Aldebarán. Despacho 2.17, 14014 Córdoba, Spain

*marepullo@ecaf.org

Resumen

Los márgenes multifuncionales (MMF) son franjas de vegetación espontánea o sembrada que se implantan en parcelas agrícolas desempeñando múltiples funciones. Establecerlos en cultivos herbáceos de secano es una práctica innovadora y fuente de múltiples beneficios medioambientales y agronómicos. Los márgenes sirven de refugio de fauna silvestre, favorecen la presencia de polinizadores e insectos auxiliares y representan una barrera física para la escorrentía y la deriva de productos fitosanitarios. Una vez que los márgenes son segados, los restos orgánicos se degradan por la biota del suelo, provocando una recirculación de nutrientes y el incremento de materia orgánica. En este trabajo se estudió el efecto de los MMF sobre la biodiversidad de la fauna epigea y el secuestro de carbono en el suelo. Se compararon tres tipos de márgenes: dos mezclas diferentes de semillas sembradas y la flora espontánea como margen testigo; asimismo se midió el cultivo adyacente. Los márgenes promovieron una mayor biodiversidad de artrópodos que el propio cultivo, especialmente coleópteros. El análisis de suelo mostró pérdida de carbono en el cultivo, manejado de forma tradicional, aumentando en todos los tipos de MMF, tanto sembrados como espontáneos. Esta práctica tiene un gran potencial de implantación en cualquier tipo de cultivo extensivo.

Palabras clave: márgenes multifuncionales, secuestro de carbono, biodiversidad, cambio climático, eco-esquemas

Abstract

Multifunctional margins (MFM) are strips of spontaneous or sown vegetation that are implanted in agricultural plots performing multiple functions. Their establishment in rainfed arable crops is an innovative agricultural practice and a source of multiple environmental and agronomic benefits. They serve as shelter for wildlife, favour the presence of pollinators and auxiliary insects and represent a physical barrier to runoff and drift of phytosanitary products. Once the margins are mowed, the organic residues are degraded by the soil biota, causing a recirculation of nutrients and an increase in organic matter. In this work, the effects of MFM on biodiversity of epigean fauna and the carbon sequestration in soil were studied. Three types of margins were compared: two different sown mixtures and spontaneous flora as control; likewise, the adjacent crop was tested. The margins promoted greater arthropod biodiversity than the crop, especially beetles. The soil analysis showed a loss of carbon in the crop conventionally managed, increasing in all types of MFM either sown as spontaneous ones. This practice has great potential of implementation in any type of extensive crop.

Keywords: Multifuncional margins, carbon sequestration, biodiversity, climate change, eco-schemes

Introducción

Nos enfrentamos a una crisis climática la cual traerá consecuencias apocalípticas si no logramos mitigar los efectos del cambio climático en los próximos 10 años. Esta problemática es debida a la emisión de gases efecto invernadero de la que la agricultura es responsable de alrededor del 14% (MITECO, 2022). Por otro lado, la homogeneización de los paisajes agrícolas ha provocado una disminución de su biodiversidad. Esto es debido a que la rotación de cultivos se ha simplificado por la industrialización de la agricultura y a la especialización de las plantaciones.

Los márgenes multifuncionales (MMF) son franjas de vegetación que se implantan bien con flora espontánea o sembrando una mezcla de semillas de flores (Figura 1). Estas estructuras no productivas que favorecen la biodiversidad están siendo impulsadas por la PAC a través de los eco-esquemas, lo que además supone una valoración económica. La implantación de MMF es una técnica especialmente relevante en espacios agrarios incluidos en zonas de interés ecológico.

Los márgenes en su desarrollo fijan CO₂ atmosférico por la fotosíntesis, y tras su desbroce incorpora ese C de su biomasa al suelo, contribuyendo al secuestro de carbono.



Figura 1. Margen multifuncional establecido en campo de cereal.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de distintos tipos de MMF sobre la biodiversidad de la fauna epigea y el secuestro de carbono en el suelo, comparando entre tipos de margen y el propio cultivo.

Materiales y métodos

Diseño experimental

Se diseñó un conjunto de tres parcelas experimentales en diferentes explotaciones de cultivos herbáceos de secano (trigo, girasol y guisante) en la provincia de Sevilla, España. En cada finca se instalaron tres MMF diferentes los cuales se dispusieron en línea, con una longitud de 100 metros y un ancho de 3-4 m correspondiente al ancho de la sembradora. En uno de los márgenes se dejó crecer la flora espontánea (margen testigo) y otros dos márgenes fueron sembrados con diferentes mezclas de semillas de flores de diferentes familias (margen 1 y margen 2). Se muestran en esta comunicación los datos de la primera campaña (2018-2019).

Muestreo de la fauna epigea

El muestreo de la fauna epigea se ha realizado mediante trampas de caída. Cada trampa contenía una solución alcohólica (50% alcohol y 50% agua) para conservar la muestra. En cada margen se colocaron un total de 10 trampas, pasados tres días se recogieron y el material capturado se llevó a laboratorio para su determinación y cuantificación. Para comparar el efecto los MMF también se muestreó la zona de cultivo a una distancia de 25 m desde el margen.

Muestreo y análisis de suelo

El muestreo para el balance de carbono se realizó mediante una barrena Edelman. Se tomaron muestras de suelo a las profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm en cada margen (2 repeticiones por margen) y campo experimental. Posteriormente, el carbono orgánico del suelo fue determinado en laboratorio por el método Walkley-Black (Sparks et al., 1996).

Análisis de datos

Para evaluar la biodiversidad aplicó el índice de Shannon (H):

$$H = - \sum_{i=1}^S \rho_i \ln \rho_i$$

donde S es el número de especies y ρ_i es la proporción de individuos de la especie i .

respecto al total de individuos, es decir la abundancia relativa de la especie i ($\frac{n_i}{N}$).

La cantidad de carbono orgánico en el suelo se calculó según la siguiente ecuación en cada intervalo de profundidad.

$$SCOS_i (\text{Mg C/ha}) = COS \times DA \times \Delta Z$$

donde, SCOS se refiere al stock de carbono orgánico en el suelo de cada horizonte i (0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm) en toneladas de carbono por hectárea, COS al carbono orgánico del suelo medido en laboratorio (%), DA a la densidad aparente (Mg/m^3) y ΔZ al intervalo de profundidad (cm). El secuestro de carbono fue determinando como la diferencia entre el stock de carbono medido a final de campaña (octubre 2019) con respecto al medido a inicio del ensayo (octubre 2018).

Análisis estadístico

El análisis de la biodiversidad de la fauna epigea y el secuestro de carbono se realizó por múltiples comparaciones con los datos conjuntos de las tres fincas experimentales bajo un sistema factorial split plot donde el factor principal fue la finca y el subfactor el tipo de margen o cultivo.

Resultados y discusión

Biodiversidad de la fauna

Tras cuantificar los artrópodos capturados en campo, se determinó la abundancia de morfoespecies de los diferentes órdenes, verificando que los órdenes Hymenoptera, Coleoptera y Araneae eran los mayoritarios.

Para el Orden Aranea no se han observado diferencias significativas en la diversidad entre los tres tipos de margenes y el propio cultivo ($H=0,8$ a $1,1$), si bien en este último caso se presenta el valor más bajo (Fig. 2).

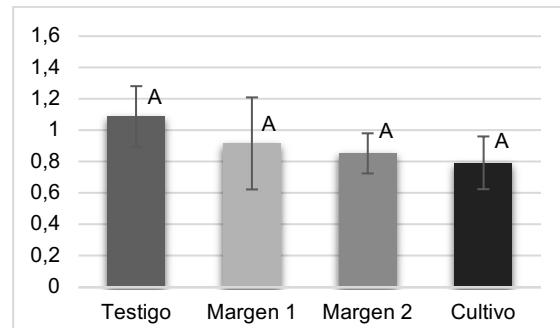


Figura 2. Representación del índice de biodiversidad de Shannon del orden Araneae en los dos márgenes sembrados, el testigo y el cultivo. Letras iguales indican diferencias no significativas tras realizar el test LSD ($p\leq 0.05$). Barras de error representan el error estándar de la media.

En el orden Hymenoptera (Figura 3), se obtuvieron claras diferencias entre algunos márgenes y el cultivo. Se aprecia que el índice de biodiversidad de Shannon es más pequeño en el cultivo que en cualquiera de los márgenes, lo cual es corroborado estadísticamente con diferencias significativas entre el margen 1 y el testigo frente al cultivo. No se apreciaron diferencias significativas con respecto al Margen 2.

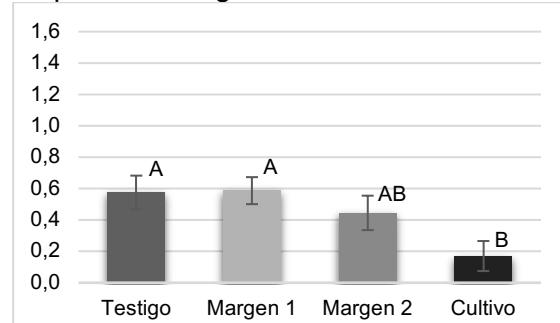


Figura 3. Representación del índice de biodiversidad de Shannon del orden Hymenoptera con respecto a cada margen estudiado y al cultivo. Letras diferentes indican diferencias significativas tras realizar el test LSD ($p\leq 0.05$). Barras de error representan el error estándar de la media.

Para el orden Coleoptera (Figura 4), ocurre algo similar que con el caso de Hymenoptera. Se observa un evidente aumento del índice de biodiversidad al sembrar o dejar crecer flora en los márgenes de áreas cultivadas con respecto a los datos dentro del cultivo. Pero en el caso del margen espontáneo no se aprecia una riqueza de biodiversidad significativamente mayor con respecto al cultivo. En este orden se dan mayores índices de biodiversidad que en el resto para todo tipo de margen o cultivo.

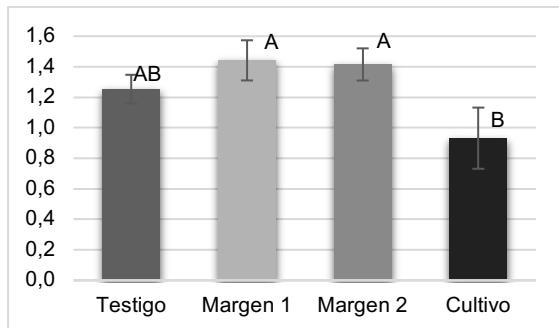


Figura 4. Representación del índice de biodiversidad de Shannon del orden Coleoptera con respecto a cada margen estudiado y al cultivo. Letras diferentes indican diferencias significativas tras realizar el test LSD ($p \leq 0.05$). Barras de error representan el error estándar de la media.

La siembra de especies seleccionadas o la aparición de especies de forma espontánea rompieron la uniformidad del cultivo en el paisaje agrario y crearon manchas de biodiversidad. Resultados similares fueron obtenidos por Moreno-García et al. (2021).

Secuestro de carbono

En la Figura 5 puede apreciarse como hay una clara diferencia entre el secuestro de carbono observado en una campaña realizado por los márgenes comparados con el que realiza el cultivo, que por el contrario provocó una pérdida de carbono manejados de forma convencional.

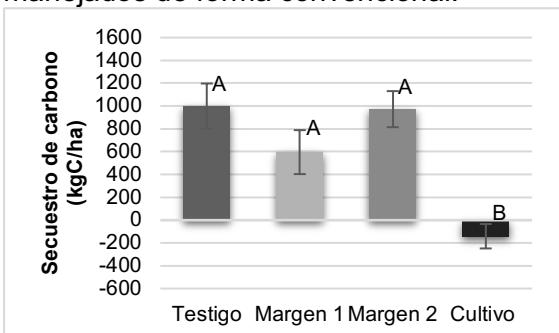


Figura 5. Secuestro de carbono general diferenciado por márgenes y calculado como promedio de las tres fincas. Letras diferentes indican diferencias significativas según el test LSD ($p \leq 0.05$). Barras de error representan el error estándar de la media.

Distinguiendo entre márgenes, en este caso el Testigo y Margen 2 son los más destacados. No obstante, el establecimiento de cualquier tipo de margen multifuncional produjo un incremento del stock de carbono obteniendo un secuestro de carbono significativamente mayor que el obtenido en el cultivo. Las tasas de secuestro obtenido con los MMF son superiores a

las obtenidas con sistemas de manejo sostenibles como el no laboreo donde también se secuestra carbono (González-Sánchez et al., 2012). Las tasas en los márgenes fueron más semejantes a las obtenidas con cubiertas en cultivos leñosos (Vicente-Vicente et al., 2016).

Conclusiones

Los márgenes pueden cumplir múltiples funciones como aumentar la biodiversidad de fauna epigea con respecto al cultivo y promover el secuestro de carbono orgánico en el suelo. Esta práctica agraria es apta para la mayoría de las parcelas agrarias de cultivos extensivos por lo que tiene un gran potencial de implantación, favoreciendo tanto la mitigación contra el cambio climático como la lucha contra pérdida de biodiversidad.

Agradecimientos

Al grupo operativo “Gestión de márgenes multifuncionales en secano para un mejor balance de carbono y biodiversidad” y al proyecto de Investigación e Innovación Tecnológica PP.AVA.AVA2019.007 financiado al 80% por Programa Operativo de Andalucía 2014-2020 del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).

Referencias bibliográficas

- González-Sánchez, E. J., Ordóñez-Fernández, R., Carbonell-Bojollo, R., Veroz-González, O., Gil-Ribes, J. A., 2012. Meta-analysis on atmospheric carbon capture in Spain through the use of conservation agriculture. *Soil & Tillage Research* 122, 52-60.
- MITECO, 2022. Ministerio para la transición ecológica y el reto demográfico. *Nota informática sobre el avance de las emisiones de Gases Efecto Invernadero correspondientes al año 2022*. Gobierno de España.
- Moreno-García, M., Repullo-Ruibériz de Torres, M. A., Carbonell-Bojollo, R. M., López-Tirado, J., Aguado-Martín, L. O., Rodríguez-Lizana, A., Ordóñez-Fernández, R., 2021. Effects of Multifunctional Margins Implementation on Biodiversity in Annual Crops. *Agronomy* 11(11), 2171.
- Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., Lo ccpert, R. M., Sottaniour, P. N., Tabatai, M. A., Johnston, C. I., Summer, M. E., 1996. *Methods of soils analysis, Chemical methods*. Soil Sci. Am. Soc. Book Series 5, Number 3. Am. Soc. Agron., Madison, WI, USA.
- Vicente-Vicente, J. L., García-Ruiz, R., Francaviglia, R., Aguilera, E., Smith, P., 2016. Soil carbon sequestration rates under Mediterranean woody crops using recommended management practices: a meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 235, 204–214.

Evolução da salinidade do solo no perímetro de rega do Roxo

Evolution of soil salinity in Roxo's irrigation district

Goncalves, M. C.*¹, Castanheira, N.¹, Farzamian, M.¹, Paz, A. M.¹, Ramos, T. B.², Alexandre, C.³

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Laboratório de Solos, Av. República 2780-157 Oeiras, Portugal
*maria.goncalves@iniav.pt

Instituto Superior Técnico, Centro de Ciência e Tecnologia do Ambiente e do Mar, Universidade de Lisboa, Av. Rovisco Pais, 1, 1049-001 Lisboa, Portugal

³ Dept. de Geociências e MED, Universidade de Évora, apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal

Resumo

Avaliou-se a evolução da salinidade do solo, em diferentes solos e culturas regadas, no perímetro de rega do Roxo. Selecionaram-se dez locais, com amendoal, olival, citrinos e romãs instalados em solos AL, LV, RG, PL e VR (WRB 2014). As culturas estudadas apresentavam tolerâncias diferentes à salinidade do solo. As campanhas de monitorização decorreram de maio de 2019 a maio de 2021. Colheram-se amostras de solo num máximo até 80 cm de profundidade, onde se determinou a condutividade elétrica do extracto de saturação do solo (EC_e). A condutividade elétrica média da água de rega foi de 0,72 e de 0,66 dS/m em 2019/2020 e em 2021, respetivamente. A salinidade variou ao longo do tempo, mas sem atingir valores preocupantes para as culturas. Nas culturas sensíveis à salinidade (amendoal e citrinos), verificaram-se situações pontuais em que EC_e em determinadas profundidades apresentava valores superiores ao limite de tolerância. No final dos ensaios, o solo apresentava valores de EC_e muito próximos, ou mesmo inferiores, aos valores iniciais. Além da qualidade da água do Roxo indicar uma melhoria em relação a estudos anteriores, a precipitação ocorrida nos anos de 2019 a 2021 também contribuiu para a remoção de sais eventualmente acumulados.

Palavras-chave: monitorização, salinidade do solo, condutividade elétrica do extracto de saturação, tolerância à salinidade, lixiviação.

Abstract

Soil salinity was evaluated, in different soils and irrigated crops, in Roxo's irrigation district from May 2019 to May 2021. Ten experimental sites were selected, with almond groves, olive groves, citrus and pomegranates installed on AL, LV, RG, PL and VR soils (WRB 2014). The studied cultures had different tolerances to soil salinity. Soil samples were taken at different depths, from the soil surface to a maximum depth of 80 cm, and the electrical conductivity of the soil saturation paste extract (EC_e) was measured. The average electrical conductivity of irrigation water was 0.72 and 0.66 dS/m in 2019/2020 and 2021, respectively. The salinity varied over time, but without reaching values of concern. In salinity-sensitive crops (almond and citrus), there were occasional situations in which EC_e presented values above the tolerance limit at certain depths. At the end of the monitoring period, the EC_e values were very close or even lower than the initial ones. In addition to the quality of the Roxo water indicating an improvement compared to previous studies, the precipitation that occurred from 2019 to 2021 also contributed to the removal of salts that eventually accumulated in the rootzone of the soil profile.

Keywords: monitoring; soil salinity; electrical conductivity of the soil saturation paste extract, crop tolerance, leaching.

Introdução

A agricultura de regadio tem um papel fundamental em Portugal, onde as condições agro-ecológicas são caracterizadas por verões quentes e secos, com taxas de evapotranspiração elevadas. Estas condições podem ainda agravar-se se as alterações climáticas projetadas para a região se concretizarem. Associado a um aumento das necessidades de rega, o risco salinização do solo é assim um dos processos que mais deve ser tido em conta.

A acumulação de sais de rega no perfil de solo conduz à salinização secundária, sendo um dos principais processos de degradação do solo. O excesso de sais na zona das raízes conduz à diminuição da capacidade de extração de água pelas plantas, da sua taxa de transpiração e consequente redução da produção. Para minimizar este risco de degradação do solo, mantendo o rendimento das culturas, é necessária uma monitorização rigorosa da salinidade do solo e a adoção de práticas agrícolas adequadas a cada caso.

Neste estudo, avaliou-se a evolução da salinidade do solo em diferentes tipos de solo e culturas do perímetro de rega do Roxo. Escolheu-se aquela área devido à existência de solos sódicos (solos com elevado teor de sódio no complexo de troca e baixo teor total de sais solúveis) e dos estudos prévios que mostravam os registos históricos de qualidade de água da albufeira do Roxo, em termos de salinidade e sodicidade, mais elevados em Portugal. Monitorizações em julho de 2003 e julho de 2004 indicaram que a água de rega apresentava valores de condutividade elétrica ($EC_{água}$) entre 1 e 1,27 dS/m (Martins *et al.*, 2005). Mais recentemente, monitorizações de julho de 2014 a novembro de 2015 e de junho de 2016 a janeiro de 2017, indicavam uma redução da $EC_{água}$ de 0,99 para 0,76 dS/m respetivamente (Alexandre *et al.*, 2018). A barragem do Roxo passou a receber água da barragem de Alqueva em junho de 2016, o que pode justificar a melhoria da qualidade da água.

Material e métodos

Foram selecionados dez locais experimentais para monitorização da salinidade do solo (Quadro 1), com

diferentes solos e culturas regadas (regaa-gota-a-gota). Os solos foram classificados segundo a WRB (2014).

Quadro 1 - Cultura e famílias de solo nos locais selecionados para a monitorização da salinidade do solo.

Local	Cultura	Variedade	Solos
1	Amendoal	Monterey	AL-cr
2	Amendoal	Monterey	LV-cr
3	Olival intensivo	Arbequina	AL-ap.cr
4	Olival intensivo	Cobrançosa	AL-cr
5	Olival intensivo	Picual	RG-ca
6	Laranjas	Fukumoto	LV-ap.cr
7	Clementinas	Oronules	LV-ap.st
8	Tangerinas	Setubalense	RG-st.son
9	Romã	Wonderful	PL-lv
10	Olival superintensivo	Arbequina	VR-son.cr

Legenda abreviada da classificação dos solos (WRB, 2014):

AL-cr Chromic Alisol
LV-cr Chromic Luvisol
AL-ap.cr Chromic Abruptic Alisol
AL-cr Chromic Alisol
RG-ca Calcaric Regosol
LV-ap.cr Chromic Abruptic Luvisol
LV-ap.st Stagnic Abruptic Luvisol
RG-st.son Endosodic Stagnic Regosol
PL-lv Luvic Planosol
VR-son.cr Chromic Endosodic Vertisol

A salinidade do solo foi avaliada através do valor da condutividade elétrica do extrato de saturação do solo (EC_e), que é considerado o principal indicador daquela ameaça.

As culturas estudadas apresentavam tolerâncias diferentes à salinidade do solo (Ayers e Westcot, 1985; Maas, 1990). Segundo esta classificação, as culturas dos Locais 1, 2, 4, 6, 7, e 8 (Quadro 2) são consideradas sensíveis, S, ($EC_e < 1,5$ dS/m), enquanto as dos Locais 3, 5, 9 e 10 são moderadamente tolerantes, MT, ($3 < EC_e < 6$ dS/m). A tolerância dependente ainda da variedade em causa, como é o caso do Local 4, onde a variedade Cobrançosa é considerada sensível à salinidade (Tabatabaei, 2007).

As campanhas de monitorização decorreram de maio de 2019 a maio de 2021. Colheram-se amostras de solo de 20 em 20 cm, até a espessura efetiva do solo permitir, num máximo até 80 cm de profundidade. Em cada amostra procedeu-se à determinação da EC_e .

A EC_{água} média foi de 0,72 e de 0,66 dS/m em 2019/2020 e em 2021, respectivamente. Estes valores estão de acordo com a legislação portuguesa para águas de rega, em que EC_{água} < 1 dS/m (DL 236_1998). A precipitação ocorrida, que é muito importante pela contribuição para a lavagem dos sais acumulados no solo, foi de 326, 496 e 454 mm em 2019, 2020 e 2021, respectivamente.

Resultados e discussão

No quadro 2 apresentam-se os valores máximos, mínimos e médios da EC_e (dS/m) obtidos em todas as profundidades amostradas nos dez locais de maio de 2019 a maio de 2021. Indicam-se ainda o número de medições efetuadas em cada local.

Quadro 2. Valores máximos, mínimos e médios de EC_e (dS/m) e número de observações em cada local (maio de 2019 a maio de 2021).

	EC _e (dS/m)	Máximo	Mínimo	Médio	N.º obs.
Local 1	3,62	0,45	1,26	1,26	11
Local 2	1,69	0,25	0,95	0,95	11
Local 3	3,86	0,15	1,30	1,30	27
Local 4	1,54	0,32	0,75	0,75	10
Local 5	3,96	0,20	0,93	0,93	54
Local 6	3,52	0,33	0,88	0,88	44
Local 7	4,44	0,34	1,05	1,05	44
Local 8	3,48	0,26	1,07	1,07	41
Local 9	6,07	0,13	1,89	1,89	52
Local 10	2,52	0,54	1,11	1,11	48

Nas Figuras 1 a 7 apresentam-se as séries temporais da EC_e em alguns locais experimentais. Indicam-se ainda os limites da tolerância à salinidade das culturas indicados em (Ayers e Westcot, 1985) e Maas (1990). Nos locais 2, 4 e 10 os valores de EC_e mantiveram-se sempre abaixo do limite de tolerância. Esses gráficos não são apresentados.

De um modo geral verificou-se uma variação da salinidade ao longo do tempo, mas sem atingir valores preocupantes para as culturas em todos os locais. Verificou-se

ainda que no final dos ensaios, o solo apresentava valores de EC_e muito próximos, ou mesmo inferiores, aos valores iniciais. No Quadro 2 verifica-se que são atingidos valores máximos superiores aos limites de tolerância, em algumas profundidades, nos locais 1, 6, 7, 8 e 9. Observando a evolução da salinidade, nas respectivas figuras, verifica-se que são situações pontuais e certamente sem grande relevância.

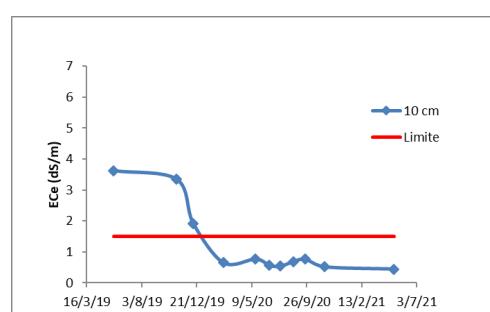


Fig. 1 – EC_e observada no Local 1, amendoal (S), solo AL-cr. Indica-se o limite da tolerância à salinidade.

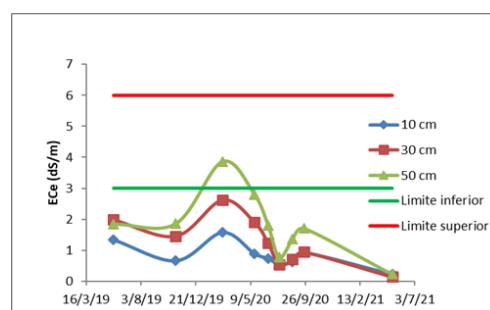


Fig. 2 – EC_e observada no Local 3, olival intensivo (MT), solo AL-ap.cr. Indicam-se os limites da tolerância à salinidade.

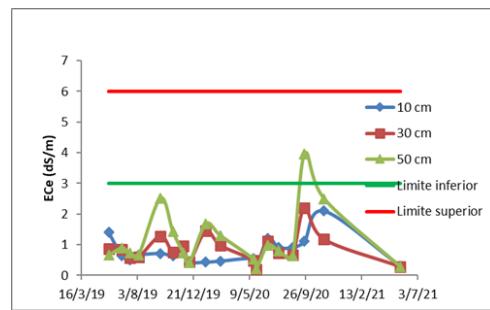


Fig. 3 – EC_e observada no Local 5, olival intensivo (MT), solo RG-ca. Indicam-se os limites da tolerância à salinidade.

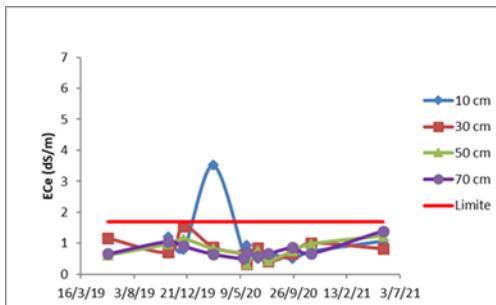


Fig. 4 – EC_e observada no Local 6, laranja (S), solo LV-ap.cr. Indica-se o limite da tolerância à salinidade

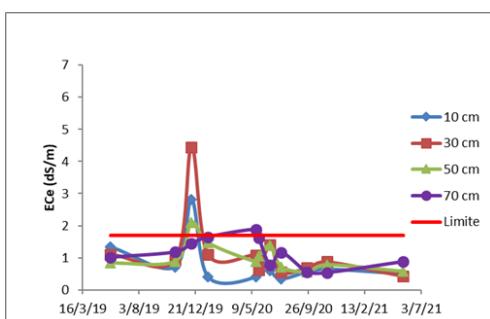


Fig. 5 – EC_e observada no Local 7, Clementinas (S), solo LV-ap.st. Indica-se o limite da tolerância à salinidade.

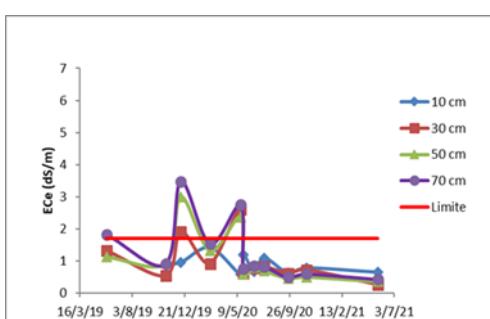


Fig. 6 – EC_e observada no Local 8, tangerinas (S), solo RG-st.son. Indica-se o limite da tolerância à salinidade.

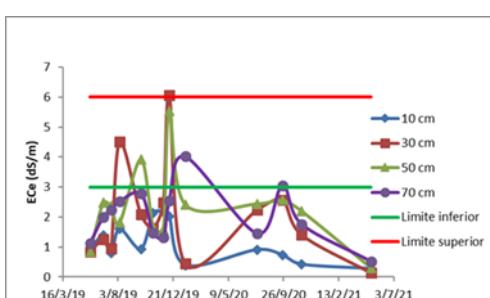


Fig. 7 – EC_e observada no Local 9, romã (MT), solo PL-lv. Indicam-se os limites da tolerância à salinidade.

Conclusões

Verificou-se uma variação da salinidade ao longo do tempo, mas sem atingir valores preocupantes para as culturas. Nas culturas sensíveis, no que respeita à tolerância à salinidade (amendoal e citrinos), verificaram-se situações pontuais em que EC_e apresentava valores superiores ao limite de tolerância em certas profundidades, mas nunca em toda a espessura monitorizada.

Verificou-se ainda que no final do período de monitorização, o solo apresentava valores de EC_e muito próximos, ou mesmo inferiores, aos valores iniciais. Além da qualidade da água do Roxo indicar uma melhoria em relação a estudos prévios, a precipitação ocorrida nos anos de 2019 a 2021 também deve ter contribuído para a remoção de sais eventualmente acumulados na zona das raízes.

Agradecimentos

Projeto PTDC/ASP-SOL/28796/2017 SOIL4EVER “Aumento da produtividade do regadio através do uso sustentado do solo”, financiado pela FCT. Associação de Beneficiários do Roxo pelo apoio.

Referências bibliográficas

- Alexandre, C., Borralho, T., Durão, A. (2018). Evaluation of salinization and sodification in irrigated areas with limited soil data: Case study in southern Portugal. *Spanish Journal of Soil Science*, vol 8 (1): 102-120. DOI: 10.3232/SJSS.2018.V8.N1.07
- Ayers, R., Westcot, D. (1985). Water quality for agriculture. FAO Irrigation and Drainage Paper 29, Rev.1. Rome, FAO, 172 p.
- Maas, E.V. (1990) Crop Salt Tolerance. In: Tanji, K.K., Ed., Agricultural Salinity Assessment and Management, ASCE Manual Reports on Engineering Practices, Vol. 71, ASCE, New York, 262-304.
- Martins, J.C., Vilar, M.T., Neves, M.J., Pires, F.P., Ramos, T.B., Prazeres, A.O. & Gonçalves, M. C. (2005). Monitorização da salinidade e sodicidade de solos regados por rampas rotativas nos perímetros do Roxo e de Odivelas. 1º Congresso Nacional e Rega e Drenagem, dezembro, Beja.
- Tabatabaei, S. J. (2007) Salinity stress and olive. Plant StreWorldss ©2007 Global Science Book.
- WRB (2014) World Reference Base for Soil Resources 2014. World Resources Report 106, FAO, Rome.

Preliminary evaluation of physical characteristics of soils from Mediterranean cork oak forests: post fire long term assessment

Avaliação preliminar das características físicas de solos de sobreiros mediterrânicos: Avaliação a longo prazo após o fogo

Benhalima, Yacine^{1,2*}, Santos, Erika¹, Arán, Diego^{1,3}, Fonseca, Madalena⁴, Abreu, Maria Manuela¹, Duarte, Inês², Acacio, Vanda², Nuns, Leonia², Lerma, Victoria⁵, Rego, Francisco²

¹LEAF—Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food—Research Center, Associated Laboratory TERRA, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal.

²Centro de Ecologia Aplicada "Professor Baeta Neves", InBio, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal

³Iniproen Consulting, C/ Lugo 18, 15840 Santa Comba, A Coruña, Spain

⁴Centro de Estudo Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal

⁵Universitat Politècnica de València, Institute of Information and Communication Technologies, Valencia, Spain

*yacinebenhalima@isa.ulisboa.pt

Resumo

O fogo é um agente que altera as características físicas, químicas e biológicas dos solos e, consequentemente, da paisagem. A severidade e duração do fogo, assim como as características intrínsecas dos solos, conduzem a diferentes trajectórias de recuperação do solo. Numerosos estudos concentram-se nos efeitos do fogo nos solos a curto prazo, mas a dinâmica pós-fogo a longo prazo permanece incerta. O presente estudo foi realizado em solos, principalmente Leptossolos, do sobreiral da Serra do Caldeirão (Região do Algarve, Sul de Portugal). Esta área foi sujeita a dois incêndios florestais graves em 2004 e 2012. Amostras não perturbadas de solo (<5 cm de profundidade) foram colhidas em 2020 em parcelas queimadas em 2004 e 2012 e não queimadas (total de 47 parcelas). As amostras foram analisadas quanto às propriedades físicas, tais como densidade aparente, porosidade, % da fracção grosseira/fina e humidade. Os resultados obtidos para todos os parâmetros estudados não mostraram diferenças significativas entre as áreas ardidas e não ardidas, indicando considerável resiliência dos solos aos incêndios florestais. Este estudo sugere a necessidade de análises complementares para melhor compreender os processos de recuperação que intervêm neste sistema florestal.

Palavras-chave: *Quercus suber*, Resiliência, Leptossolos, Mediterrâneo, pós-fogo

Abstract

Fire is an agent that promotes considerable changes in the physical, chemical and biological characteristics of soils and, consequently, in the landscape. Fire severity and duration, and intrinsic characteristics of the soils lead to different trajectories of soil recovery. Numerous studies focus on short term fire effects on soils but, the long-term post fire dynamics remains unclear. The present study was conducted in soils mainly Leptosols, from cork oak forests at Serra do Caldeirão (Algarve region, southern Portugal). Two severe wildfires occurred in this area, in 2004 and 2012. Undisturbed soil samples (<5 cm of depth) were collected in 2020 on plots burned in 2004, burned in 2012 and unburned (a total of 47 plots). The soil samples were analysed for the physical properties namely, bulk density, porosity, % of coarse/fine fraction and moisture. For all the studied parameters, the results showed no significant differences between burned and unburned areas, indicating considerable soil system resilience to forest fires. The study suggests the need of further analyses in order to understand the recovery processes of this forest system.

. Keywords: *Quercus suber*, Resilience, Leptosols, Mediterranean, post-fire

Introduction

Wildfires are key drivers of significant changes in soils and ecosystems (Pausas 2015) being considered a main disturbance in the Mediterranean basin (Gonçalves and Sousa 2017). Fires can change greatly the physical characteristics of the soils and, consequently, the dynamics of the water and vegetation, as well as microbiota activities (Hrelja et al. 2020). As a result, the soil can be prone to other degradation processes such as erosion.

Fire severity and duration, and intrinsic soil characteristics contribute to distinct post fire recovery of the soil-plant system and its productivity. Therefore, studying the postfire dynamics of soil physical properties is of major concern for the conservation and productivity of ecosystems.

Various studies have focused on post fire soil changes according to fire severity (Heydari 2017), being the short term post fire dynamics the most studied subject in Mediterranean regions (Ekinci 2006; Pereira et al. 2015, 2018). However, few studies have been done for the long term assessment (Fonseca 2017; Francos et al. 2020). Furthermore, studies for cork oak forests are scarce, despite the high economic and ecological value of these ecosystems.

This work aims to evaluate post fire physical soil properties of cork oak forests eight and 16 years after the wildfire, and to understand the natural recovery of the soil-plant system.

Material and methods

Study area

The study area is located in Serra do Caldeirão, a mountain range in southern of Portugal, which constitutes a natural limit between Algarve and Alentejo regions. The landscape is characterized by vast

areas of cork oak forests and shrub cover dominated by *Cistaceae* species. The climate is Mediterranean classified as Csa in Köppen classification (Köppen 1936). The soils were developed on schist and greywackes, included in the Mira Formation (Oliveira 1982), and can be classified as Leptosols and Cambisols (WRB 2014).

Two very large wildfires occurred in the study area in the past decades. The fire of 2004 burned about 13600 ha and the fire of 2012 burned about 24300 ha. These burned areas correspond to 17% and 30% of the study area, respectively.

A total of 47 plots (with an area of about 441 m² per plot) were selected at the study area: 12 unburned plots, 25 plots burned in 2004 and 10 plots burned in 2012. Areas without fire occurrence for at least 25 years were considered as unburned. At each plot, three undisturbed soil samples were collected until 5 cm of depth and analyzed for the physical parameters (Table 1).

Table 1: Soil physical analysis done in the present study.

Soil physical parameters	Description of analyses
Moisture	Drying 24-48 h
Coarse and fine fractions (> and < 2 mm)	Sieving at 2 mm
Bulk density	Core ring
Porosity	Calculated from bulk density

One-way Anova was used to test significant differences of physical soil properties among unburned, burned in 2004 and burned in 2012 plots. An alternative non parametric Kruskall Wallis test was conducted in case of assumptions violation.

Results and discussion

The physical soil properties analysed did not show significant differences among burned and unburned plots, independently of the fire year (Figures 1-3).

Bulk density and porosity are important physical properties, especially in Mediterranean conditions, since they are linked to soils water retention and infiltration capacity. Values of bulk density varied between 0.91 and 1.9, representing a porosity between 27 to 69 % of total volume (Figure 1).

structure, which led in the long-term to similar values of bulk density and porosity for both unburned and burned plots (Figure 1). In fact, plant development in burned areas was higher than in unburned ones (data not shown). Moreover, soils from burned plots presented higher organic matter content than from unburned plots, which also increased with years following the fire (11.53, 18.12 and 36.76 g C_{organic}/kg for unburned, burned in 2004, and burned in 2012, respectively).

The similar values in bulk density and porosity for both burned and unburned plots can also explain the low values of moisture in the soils (Figure 2).

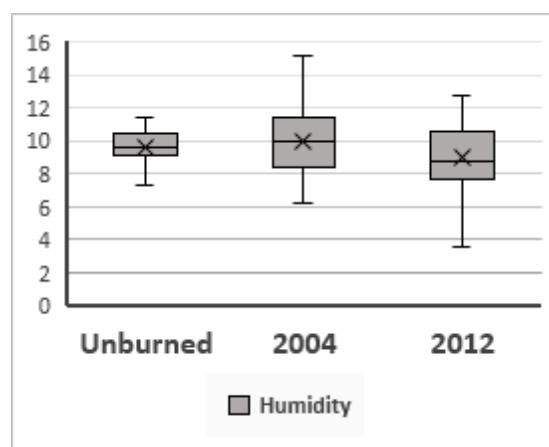


Fig. 2 – Percentage of moisture in the superficial layer (0-5 cm of depth) of the soils from cork oak forests (unburned, burned in 2004 and burned in 2012).

Fig. 1 – Bulk density (cm³/cm³) and porosity (%) in the superficial layer (0-5 cm of depth) of the soils from cork oak forests (unburned, burned in 2004 and burned in 2012).

Post fire changes of these parameters are dependent on fire severity, organic matter concentration in soil and ashes amount (Hrelja et al. 2020). Bulk density can increase immediately after the fire due to ash incorporation in soil or the degradation of organo-mineral aggregates, and as a result, the soil porosity decreases (Certini 2005). Nonetheless, strong plant development in the study area, especially pioneer shrub species such as *Cistus ladanifer* that rapidly colonize burned areas, may have improved the soil

Although, post fire selective removal of soil fine fraction due to erosion (Oswald et al. 1998), in present study this is not clear. In fact, soils presented a higher proportion of fine fraction (<2 mm), in relation to coarse fraction, consistently across all burned and unburned plots (Figure 3).

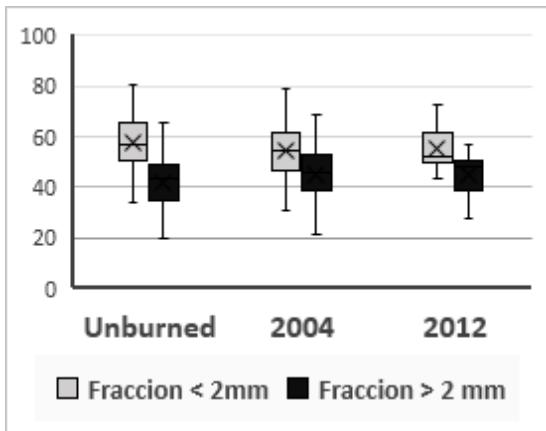


Fig. 3 – Percentage of coarse ($> 2 \text{ mm}$) and fine ($< 2 \text{ mm}$) fractions in the superficial layer (0-5 cm of depth) of the soils from cork oak forests (unburned, burned in 2004 and burned in 2012).

Conclusions

In this study, soil physical parameters were analysed in order to assess long-term post fire effects and soil resilience. There were no significant differences for all parameters between unburned and burned plots, independently of the fire year, which indicates soil recovery to the pre-fire state. Further analyses are needed in order to better understand recovery processes of cork oak forests soils after fire.

Acknowledgements

This work was co-financed by REMAS project (SOE3/P4/E0954) from Interreg SUDOE 2014-2020 program (FEDER Funds) and national funds through Fundação para a Ciência e Tecnologia within the scope of the projects UID/AGR/04129/2020 and UID/BIA/50027/2019.

References

- Certini, G. 2005. "Effects of Fire on Properties of Forest Soils: A Review." *Oecologia* 143:10. doi: 10.1007/s00442-004-1788-8.
- Ekinci, H. 2006. "Effect of Forest Fire on Some Physical, Chemical and Biological Properties of Soil in Çanakkale, Turkey." 8(1):6.
- Fonseca, F. 2017. "Effect of Prescribed Fire on Soil Properties and Soil Erosion in a Mediterranean Mountain Area." 9.

- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2014. *World Reference Base for Soil Resources 2014: International Soil Classification System for Naming Soils and Creating Legends for Soil Maps*. Rome: FAO.
- Francos, M., Úbeda, X. and Pereira, P. 2020. "Long-Term Forest Management after Wildfire (Catalonia, NE Iberian Peninsula)." *Journal of Forestry Research* 31(1):269–78. doi: 10.1007/s11676-018-0867-3.
- Gonçalves, A.C., and Sousa, A.M.O. 2017. "The Fire in the Mediterranean Region: A Case Study of Forest Fires in Portugal." In *Mediterranean Identities - Environment, Society, Culture*, edited by B. Fuerst-Bjelis. InTech.
- Heydari, M. 2017. "Effect of Fire Severity on Physical and Biochemical Soil Properties in Zagros Oak (*Quercus Brantii* Lindl.) Forests in Iran." 10heydari.
- Hrelja, I., Šestak, I. and Bogunović, I.. 2020. "Wildfire Impacts on Soil Physical and Chemical Properties - A Short Review of Recent Studies." 85(4):9.
- Köppen, W. 1936. "Das Geographische System Der Klimate." *Gebrüder Borntraeger: Berlin Germany* 1–44.
- Oliveira, J.T. 1982. "Carta Geológica de Portugal, Escala 1_200000." *Notícia Explicativa* 8.
- Pausas, J.G. 2015. "Alternative Fire-Driven Vegetation States." *Journal of Vegetation Science* 26(1):4–6. doi: 10.1111/jvs.12237.
- Pereira, P., Francos, M., Brevik, E.C., Úbeda, X., and Bogunovic, I. 2018. "Post-Fire Soil Management." *Current Opinion in Environmental Science & Health* 5(1):26–32. doi: 10.1016/j.coesh.2018.04.002.
- Pereira, P., Pranskiewicius, M., Bolutiene, V., Jordán, A., Zavala, L.M., Mataix, J., Úbeda, X., and Artemi C. 2015. "Short-Term Impact of Prescribed Fire on Soil PH, Organic Matter and Water Repellency in a *Calluna Vulgaris* Heathland Located in Lithuania. First Results." *FLAMMA* 6(1):13–19.

Procesos de adsorción y desorción de azitromicina en subproductos procedentes de las industrias alimentaria y forestal

Azithromycin adsorption-desorption processes in by-products from the food and forest industries

Cela-Dablanca, Raquel¹; Barreiro, Ana¹; Rodríguez-López, Lucia²; Santás-Miguel, Vanesa²; Arias-Estévez, Manuel²; Álvarez-Rodríguez, Esperanza; Fernandez-Sanjurjo, María J.¹; Núñez-Delgado, Avelino^{1*}

¹ Departamento de Edafología e Química Agrícola. Escola Politécnica Superior de Enxeñaría, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, España

² Área de Edafología e Química Agrícola. Facultade de Ciencias, Universidade de Vigo, Ourense, España

*avelino.nunez@usc.es

Resumen

El drástico aumento global en el consumo de antibioticos provoca, entre otros problemas, la contaminación de suelos o cursos de agua debido a la acumulación de estos compuestos tras ser excretados y llegar a las aguas residuales. Para frenar esta contaminación se pueden utilizar distintos biadsorbentes con capacidad de retener los antibióticos e impedir su dispersión en el medio ambiente. Este estudio analiza, mediante ensayos de tipo batch, los procesos de adsorción y desorción del antibiótico azitromicina en subproductos de las industrias forestal (ceniza, corteza de pino), y alimentaria (concha de mejillón), para su uso como posibles bioadsorbentes. La ceniza adsorbe alrededor del 80% de la azitromicina añadida, mientras que el máximo valor de adsorción de la corteza es del 69%, y en general es inferior al 50% en la concha; mientras que la desorción es inexistente para los tres materiales. Los datos de adsorción generalmente presentan mejor ajuste al modelo Lineal que al de Freundlich o al de Langmuir. Los resultados obtenidos indican que la azitromicina se adsorbe de forma muy poco reversible a estos tres subproductos, sugiriendo su idoneidad en el uso como bioadsorbentes, sobre todo la ceniza, con el fin de evitar la dispersión de este antibiótico.

Palabras clave: Retención, antibióticos, liberación, bioadsorbentes

Abstract

The drastic global increase of antibiotic consumption causes among other problems, soil and water pollution, due to the accumulation of those compounds after being excreted, reaching wastewater. To reduce this kind of pollution, different bioadsorbent materials can be used, in view of its capacity to retain the antibiotics and prevent environmental dispersion. This study focuses on the adsorption - desorption process of the antibiotic azithromycin taking place in by-products from forest (oak ash and pine bark) and food industries (mussel shell), by means of batch-type experiments, assessing its potential as bioadsorbents. Oak ash adsorbed around 80% of the added azithromycin, while the maximum score for pine bark was 69%, and less than 50% for mussel shell whereas desorption was non-existent for all three materials. The adsorption results fitted better to the Linear model than to the Freundlich or Langmuir ones. The results obtained show that azithromycin is adsorbed in a rather irreversible manner to these materials, suggesting their use as bioadsorbents, especially oak ash, to avoid the dispersion of this antibiotic.

Keywords: Retention, antibiotics, bio-adsorbents, release

Introducción

El uso global de antibióticos crece de forma sostenida, superando ya desde décadas pasadas las 100.000 toneladas por año (Wang & Tang, 2010). Entre 2000 y 2015 la tasa de consumo se ha incrementado en general un 39%, sobre todo para los antibióticos pertenecientes a los grupos mas usados: β -lactámicos, quinolonas y macrólidos (Klein, et al., 2018). La azitromicina es un antibiótico semisintético del grupo de los macrólidos empleado en el tratamiento de numerosas infecciones bacterianas, tanto en humanos como en animales. Los macrólidos tienen generalmente un solo valor de pK_a , pero en el caso de la azitromicina algunos autores (Sindhu, et al., 2019) citan dos valores: pK_{a1} de 8.74 y pK_{a2} de 9.45.

La azitromicina es uno de los fármacos más utilizados para combatir infecciones respiratorias desde hace años, por ejemplo, en USA (Goossens, 2009), y la reciente pandemia the COVID-19 ha disparado el consumo de este antibiótico para tratar infecciones subsidiarias, a pesar de que no existen pruebas robustas de su eficacia en ese contexto (Gonzalez-Zorn, 2021). Este antibiótico, junto con otros macrólidos, ha sido incluido en la lista de contaminantes emergentes de la UE, para los casos en que llegan al medio ambiente por medio de vertidos. Su elevado consumo aumenta el riesgo de contaminación de suelos o cursos de agua, debido a que hasta el 75% de la azitromicina no es absorbida en el intestino y se excreta, terminando en las aguas residuales o purines (Sindhu, et al., 2019), suponiendo un riesgo tanto para la salud humana como para el medio ambiente. Estudios previos han detectado valores de azitromicina desde 215 ng L⁻¹ (Panahi, et al., 2019) hasta 1230 ng L⁻¹ (Bhandari, et al., 2008) en efluentes de plantas de tratamientos de aguas residuales.

El uso de bioabsorbentes para disminuir la dispersión de los contaminantes emergentes en el medio ambiente es un método generalmente efectivo, pero que puede ser costoso en función del material

sorbente utilizado. Por ese motivo, se considera adecuado explorar la eficacia de ciertos subproductos y/o materiales residuales como bioadsorbentes, para por un lado reducir la dispersión de los antibióticos, y por otro lado reciclar y revalorizar esos materiales. El objetivo de este trabajo es analizar la capacidad de adsorción – desorción de azitromicina de dos subproductos forestales (ceniza de roble y corteza de pino) y uno de la industria alimentaria (concha de mejillón).

Material y métodos

Los subproductos utilizados en los ensayos fueron: ceniza de biomasa procedente de la combustión de madera de roble proporcionada por el hospital Polusa (Lugo); corteza de pino triturada y tamizada (0.63 mm) de la marca comercial Geolia; y concha de mejillón sin calcinar (<1 mm), proporcionada por la empresa Abonomar (Arousa, Pontevedra). En ellos se analizaron los siguientes parámetros: C y N total (análisis elemental con un equipo LECO modelo TRUSPEC CHNS); pH en H₂O y KCl (1:2.5); capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICe) y cationes de cambio, usando espectrofotometría de absorción atómica (Ca, Mg, Al) y de emisión (Na, K); P disponible (método Olsen); elementos totales (ICP-MS); Al y Fe no cristalinos, tras extracción específica, por espectrofotometría de absorción atómica.

Se realizaron ensayos de adsorción / desorción de azitromicina mediante experimentos de tipo batch. Se añadieron a 0.5 g de cada uno de los subproductos cinco concentraciones de antibiótico (50, 100, 200, 400, 600 $\mu\text{mol L}^{-1}$) y se agitaron durante 48 h. Posteriormente se centrifugaron y filtraron, midiendo en la disolución de equilibrio la concentración del antibiótico por HPLC (Thermo-Fisher Modelo LPG 3400 SD). La desorción se midió posteriormente en las mismas muestras, tras añadir CaCl₂ y agitar 48 h. Los resultados se ajustaron a los modelos de Freundlich, Langmuir y Lineal utilizando el programa SPSS v27.

Resultados y discusión

La corteza presenta mayor concentración de C, pero menor de N, y un pH ácido, frente al pH básico de la ceniza y la concha (Tabla 1). La ceniza presenta mayor nivel de CICe y de cationes de cambio, excepto de Al que es más elevado en la corteza. La ceniza también presenta mayor concentración de casi todos los elementos totales, salvo Na y Ca que son mayores en la concha (Tabla 1).

Tabla 1 – Propiedades físico-químicas de los subproductos. Cationes de cambio (X_e , cmol_c kg⁻¹), capacidad de intercambio catiónica (CICe), P disponible (P_{av} , mg kg⁻¹), elementos totales (X_T , mg kg⁻¹) Al y Fe no cristalino (X_o , mg kg⁻¹). <LD: Menor que el límite de detección.

	Ceniza	Concha	Corteza
C (%)	13,23	11,43	48,70
N (%)	0,22	0,21	0,08
C/N	60,14	55,65	608,75
pH H ₂ O	11,31	9,39	3,99
pH KCl	13,48	9,04	3,42
C _a e	95,00	24,75	5,38
Mg _e	3,26	0,72	2,70
Na _e	12,17	4,37	0,46
K _e	250,65	0,38	4,60
A _e	0,07	0,03	1,78
CICe	361,15	30,25	14,92
Sat Al	0,02	0,10	11,93
P _{av}	462,83	54,17	70,45
Na _T	2950,00	5174,00	68,92
Mg _T	26171,00	980,66	473,55
Al _T	14966,00	433,24	561,50
K _T	99515,00	202,07	737,84
Ca _T	136044,00	280168,00	2318,81
Cr _T	36,28	4,51	1,88
Mn _T	10554,00	33,75	30,19
Fe _T	12081,00	3535,00	169,78
Co _T	17,25	1,02	0,20
Ni _T	69,25	8,16	1,86
Cu _T	146,33	6,72	<LD
Zn _T	853,00	7,66	6,98
As _T	8,36	1,12	<LD
Cd _T	19,93	0,07	0,13
Al _o	8323,00	178,33	315,00
Fe _o	4233,00	171,00	74,00

La adsorción de azitromicina aumenta con la concentración de antibiótico añadida. Para la máxima dosis añadida, el material que más azitromicina adsorbe es la ceniza (9300 µmol kg⁻¹), seguido por la corteza (8054 µmol kg⁻¹), mientras que la concha adsorbe unas cuatro veces menos (2035 µmol kg⁻¹) (Fig. 1). La ceniza adsorbe alrededor del 80% de la azitromicina añadida, mientras que este porcentaje baja hasta un máximo del 69% en la corteza, y del 50% en la concha (Fig. 1).

Uno de los factores que habitualmente influyen en el proceso de adsorción es el pH. En este estudio dos de los subproductos tienen un pH muy alcalino, pero diferente efectividad en la adsorción. La ceniza presenta un contenido de minerales no cristalinos de Fe y Al mucho más elevado que los otros dos sorbentes (Tabla 1), y estos componentes de carga variable presentarán alta carga negativa para el valor de pH del medio. La adsorción de la azitromicina sobre la ceniza puede tener lugar a través de interacciones electroestáticas (Anastopoulos et al., 2020). Elevados valores de adsorción en cenizas han sido previamente descritos para antibióticos del grupo de las tetraciclinas (Conde-Cid, et al., 2021).

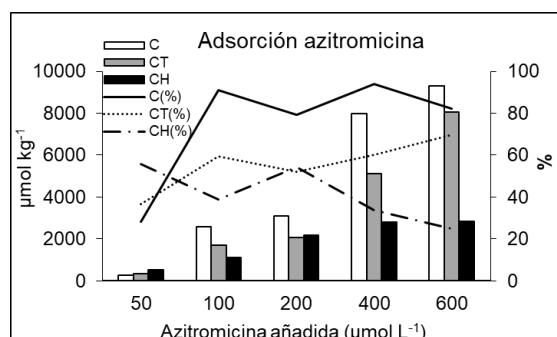


Fig. 1 – Adsorción de azitromicina sobre los diferentes subproductos: ceniza (C), corteza de pino (CT) y concha de mejillón (CH).

Los ajustes de los datos de adsorción a los diferentes modelos se muestran en la Tabla 2. La concha y la corteza presentan los mejores ajustes a los modelos de Freundlich y Langmuir, con $R^2 > 0,80$, pero los elevados errores en el último invalidan

ese ajuste. La ceniza no presenta buen ajuste para ninguno de los modelos. Los valores del parámetro n de Freundlich son < 1 para la ceniza y la concha, lo que indica la presencia de sitios heterogéneos de adsorción y la disminución de su número cuando aumenta la concentración de antibiótico añadida, ocupándose primero los sitios de alta energía de adsorción (Foo & Hameed, 2010). La corteza también se ajusta bien al modelo Lineal.

Tabla 2 – Ajustes de los parámetros de adsorción de los modelos de Freundlich, Langmuir y Lineal para los diferentes subproductos. K_F ($L^1\mu\text{mol}^{1-n}\text{ kg}^{-1}$); K_L ($L \mu\text{mol}^{-1}$); q_m ($\mu\text{mol kg}^{-1}$); K_d ($L \text{kg}^{-1}$), -: ajuste no viable.

Modelos	Parámetros	Ceniza	Concha	Corteza
Freundlich	K_F	-	215	-
	Error	-	174	-
	n	0,68	0,44	1,71
	Error	0,52	0,15	0,63
Langmuir	R^2	0,341	0,824	0,895
	K_L	-	0,009	-
	Error	-	0,005	-
	q_m	-	3741	-
Lineal	Error	-	827	-
	R^2	-	0,871	-
	K_d	93,7	8,2	35,6
	Error	27,2	1,64	4,8
	R^2	0,283	0,303	0,826

En cuanto a la desorción, no se produce para este antibiótico, dado que los subproductos retienen de forma prácticamente irreversible la azitromicina añadida, que no se detectó en la disolución de equilibrio. Una elevada retención de este antibiótico ha sido previamente descrita por Shidhu et al. (2019) en biosólidos.

Conclusiones

Los subproductos utilizados para la adsorción de azitromicina muestran la siguiente secuencia de eficacia: ceniza > corteza de pino > concha de mejillón, siendo la composición del bioadsorbente uno de los factores más determinantes en la retención de este antibiótico. Estos

materiales adsorben de forma prácticamente irreversible la azitromicina añadida, dado que los valores de desorción son menores al límite de detección.

Agradecimientos

Agradecemos a Ylenia Barriónuevo Real su trabajo en el laboratorio. Al Ministerio de Ciencia, Innovación e Universidades de España, por financiar los proyectos RTI2018-099574-B-C21 y RTI2018-099574-B-C22.

Referencias

- Anastopoulos, I., Pashalidis, I., Orfanos, A.O., Manariotis, I.D., Tatarchuk, T., & Núñez-Delgado, A. (2020). Removal of caffeine, nicotine and amoxicillin from (waste) waters by various adsorbents. A review. Journal of Environmental Management 261, 110236.
- Bhandari, A., Close, L. I., Kim, W., Hunter, R. P., Koch, D. E., & Surampalli, R. Y. (2008). Occurrence of ciprofloxacin, sulfamethoxazole, and azithromycin in municipal wastewater treatment plants. Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management, 12(4), 275-281.
- Conde-Cid, M., Cela-Dablanca, R., Ferreira-Coelho, G., Arias-Estevez, M., Fernández-Calviño, D., & Álvarez-Rodríguez, E. (2021). Adsorption of tetracycline and sulfadiazine onto three different bioadsorbents in binary competitive systems. Processes 9, 28.
- Foo, K.Y., Hameed, B.H. (2010). Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. Chemical Engineering Journal 156, 2-10.
- Goossens, H. (2009). Antibiotic consumption and link to resistance. Clinical Microbiology and Infection, 15, 12-15. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02725.x>
- Gonzalez-Zorn, B. (2021). Antibiotic use in the COVID-19 crisis in Spain. Clinical Microbiology and Infection, 27(4), 646-647.
- Klein, E.Y., Van Boeckel, T.P., Martinez, E.M., Pant, S., Gandra, S., Levin, S.A., Goossens, H., & Laxminarayan, R. (2018=). Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. Proceedings of the National Academy of Sciences 115, E3463 LP - E3470
- Panthi, S., Sapkota, A. R., Raspanti, G., Allard, S. M., Bui, A., Craddock, H. A., ... & Sapkota, A. (2019). Pharmaceuticals, herbicides, and disinfectants in agricultural water sources. Environmental research, 174, 1-8.
- Sidhu, H., D'Angelo, E., & O'Connor, G. (2019). Retention-release of ciprofloxacin and azithromycin in biosolids and biosolids-amended soils. Science of the Total Environment 650, 176-186.
- Wang, M., & Tang, J. C. (2010). Research of antibiotics pollution in soil environments and its ecological toxicity. Journal Agricultural Environment Sciences 29, 261-266.

O controlo do nemátode das lesões radiculares *Pratylenchus penetrans* - actividade nematicida de compostos derivados de plantas

Control of the root lesion *Pratylenchus penetrans* - the effect of nematicidal activity of plant-derived compounds

Pedro Barbosa¹, Jorge M.S. Faria², Ana Cristina Figueiredo³, Manuel Mota⁴, Cláudia S.L. Vicente^{1,2*}

¹ MED – Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE – Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal.*cvcicente@uevora.pt.

² Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, I.P.), Quinta do Marquês, Oeiras, Portugal.

³ Centro de Estudos do Ambiente e do Mar (CESAM Lisboa), Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Biotecnologia Vegetal, DBV, C2, Piso 1, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal.

⁴ MED – Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE – Global Change and Sustainability Institute, Department of Biology, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal.

Resumo

O nemátodo das lesões radiculares, *Pratylenchus penetrans*, é um dos fitoparasitas mais destrutivo, responsável por perdas a nível mundial num significativo número de plantas hospedeiras. O controlo químico destes organismos baseia-se em fumigantes e não fumigantes, que providenciam uma protecção sistémica. Tais métodos de controlo são dispendiosos e prejudiciais quer para o ambiente quer para os humanos. Os compostos produzidos naturalmente pelas plantas poderão desempenhar um papel importante no controlo de nemátodes. A actividade nematicida de 8 compostos que ocorrem naturalmente em plantas, de duas classes de compostos, foi avaliada a 2 mg/mL durante 24 h. Os ensaios foram efectuados segundo a metodologia de contacto directo usualmente empregue. *P. penetrans* revelou-se extremamente insensível aos compostos testados com valores de mortalidade compreendidos entre 1.0 e 5.8%. No nosso conhecimento, a actividade nematicida de 4 compostos fenólicos (catequina, ácido cafeico, ácido gálico e ácido gentísico) foi testada pela primeira vez em *P. penetrans*.

Palavras-chave: Biocontrolo, compostos bioactivos, nemátodes fitoparasitas, saúde do solo

Abstract

The root lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*, is one of the most harmful plant parasites, responsible for worldwide productivity losses in a significant number of plant hosts. Generally, chemical control relies on synthetic compounds used through fumigation or direct contact, which offers a systemic protection. These control methods are costly and hazardous to the environment and to humans. Phytochemicals may play an important role in nematode control. The nematicidal activity of eight compounds that occur naturally in plants, from two classes of compounds, was assessed at 2 mg/mL, for 24 h. Bioassays were performed following the standard direct contact methodology. *P. penetrans* was remarkably tolerant to the tested compounds, with mortality range between 1.0 and 5.8 %. To the best of our knowledge, the nematicidal activity of 4 phenolic compounds (catechin, caffeic acid, gallic acid and gentisic acid) was evaluated for the first time for *P. penetrans*.

Keywords: biopesticides, biocontrol, plant-parasitic nematodes, soil health

Introduction

Soil health is the capacity of soil to maintain important ecosystem functions, such as sustaining living organisms (*i.e.*, plants, animals, and humans). In general, free-living nematodes contribute for soil health as important key species in nutrient cycles and in the multitrophic interactions with other soil microbes. However, the presence of plant-parasitic nematodes (PPN), may cause detrimental effects on plant hosts and other soil microorganisms, disrupting the equilibrium of soil ecosystem services (Brussaard, 1997).

The root-lesion nematodes (RLN) from genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae) are migratory PPN that attack a wide variety of important food and feed crops (*e.g.*, potato, carrot, soybean, maize, alfalfa) causing severe economic constraints in the affected cultures (Jones, et al., 2013). Plants infected by the RLNs present a stunted and necrotic root system (as result of RLN feeding habits) with poor development in aboveground plant parts. *Pratylenchus penetrans* is one of the most devastating RLN being reported in more than 400 plant hosts worldwide (Vicente, et al., 2021). In Europe, *P. penetrans* has been detected in potato cultures in Portugal (Esteves, et al., 2015) and in association with olive trees in Spain, Italy, and Turkey (Ali, et al. 2014).

With the continuous withdrawal of chemical nematicides, such as Aldicarb, Carbofuran and 1,3-Dichloropropene, the current PPN control measures are far from being effective and sustainable. Plant-derived compounds, mostly plant secondary metabolites (*e.g.*, alkaloids, essential oils components, phenolic compounds) are safer to humans and environment and have already been applied against important PPN pests (Barbosa, et al., 2012; Faria, et al., 2021). Within the framework of the national project PratyOomics - Plant metabolomics for the control of the root-lesion nematode *Pratylenchus penetrans* (PTDC/ASP-PLA/0197/2020), the present work aims to evaluate the nematicidal activity of seven plant-derived compounds in direct contact bioassays against *P. penetrans*.

Material and methods

Nematode Culture

Pratylenchus penetrans A44L4 was obtained in portuguese potato fields in 2010 by NematoLab team (Centre for Functional Ecology, University of Coimbra) (Esteves, et al., 2015). Nematodes are routinely multiplied in carrot disks according to Boisseau & Sarah (2008) and, when needed, extracted for 24 h in distilled water containing 50 µg/mL carbencillin and kanamycin. Following, a nematode suspension was prepared with approximately 50-75 mixed-stage RLN per 100 µL distilled water.

Nematicidal Activity

Tested compounds (Table 1) were diluted in acetone (purity 99.8%, Carl Roth GmbH + Co. KG) to 2 mg/mL and maintained at -20°C until use. Bioassays were conducted in a 96-well microtiter plate. For each compound, 1 µL of the solution was added to a mixed-stage nematode suspension (99 µL). Plates were covered with their lid and maintained at 25°C in the dark. After 24 h, dead and live nematodes were counted under a binocular microscope Olympus SZX-12 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan). Nematodes were considered dead if they failed to respond to the gentle physical prodding with a needle. Two independent biological trials were performed with five replicates at similar conditions. Negative control was performed with acetone (purity 99.8%, Carl Roth GmbH + Co. KG.).

Data Analysis

Corrected mortality values (M_c) were obtained following the Schneider-Orelli formula (Puntener, 1981): $M_c = M_T - M_0 / 100 - M_0$, in which M_0 is the mortality in the control, and M_T is the mortality in treatments.

Results and discussion

Mean corrected mortality values obtained for control treatments, using acetone, was 2.2%. For the seven phenolic compounds tested((+)-catechin, caffeic acid, coumaric acid, ferulic acid, gallic acid, gentisic acid and quercetin), *P. penetrans* mortality was relatively low, after 24 h of direct contact (Table 1). The highest M_c value was 5.8% recorded for gentisic acid, while the lowest M_c (1.0%) was obtained for gallic acid. The monoterpene carvacrol, reached full mortality ($M_c=100\%$).

Table 1 - Nematicidal activity of commercial pure compounds (2 mg/mL in acetone) against *Pratylenchus penetrans* exposed for 24 h.

Compound	Grade Supplier	Class	Corrected mortality (M_c)
(+)-Catechin	98% - Aldrich	I	1.98 ± 1.31
Caffeic acid	98% HPLC - Fluka	I	4.64 ± 1.54
Coumaric acid	98% HPLC - Fluka	I	1.88 ± 0.81
Ferulic acid	for research only - Extrasynthese	I	1.99 ± 0.84
Gallic acid	for research only - Extrasynthese	I	1.00 ± 1.02
Gentisic acid	for research only - Extrasynthese	I	5.83 ± 2.53
Quercetin	95% - Sigma-Aldrich	I	1.04 ± 0.87
Carvacrol	98% - Sigma-Aldrich	II	100.00 ± 0.00

Class: I, Phenolic compounds; II, Monoterpene

The phenolic compounds showed little or no nematicidal effect in *P. penetrans*, and only caffeic acid and gentisic acid could induce a higher M_c than the negative control (acetone). Only the monoterpene carvacrol showed a high activity against this RLN.

Previous studies (Nguyen, et al., 2013, d'Errico, et al., 2018) showed that the efficiency of gallic acid, extracted from *Terminalia nigrovenulosa*, and SaviotaN (extracted from chestnut) against *Meloidogyne incognita*. However, in *P. penetrans*, its activity is reduced. Wuyts et al. (2006) showed that coumaric acid, ferulic acid, caffeic acid and quercetin displayed no activity (i.e., motility) in this nematode. According to our results, the seven phenolic compounds had little or no effect to *P. penetrans*, when tested individually, supporting the results observed by Wuyts et al. (2006). So far, this is the first work where the nematicidal activity of catechin, caffeic acid, gallic acid and gentisic acid is assessed against *P. penetrans*. Several monoterpenes have been already tested in *P. penetrans*. Rong and Qing (2000) showed that citronellol, carvacrol and (-)-perillaldehyde are potential nematicides against this RLN.

Plant secondary metabolites such as terpenoids and phenolics, have different mode of actions in nematodes (e.g., attract

or repel, stimulate or inhibit egg-hatching, or exhibit nematicidal properties) (Ntalli et al., 2020). Beside these direct effects, and in the context of soil health and ecological equilibrium, these compounds can interact with multiple target sites, and therefore reduce the likelihood of developing pest resistance (Chitwood et al., 2002).

Conclusions

Plant-based compounds with nematicidal effect against PPN might be good alternatives to synthetic nematicides and are less harmful for soil health. However, it is important to conduct previous rigorous tests, since not all compounds are effective. In PratyOmics, we will employ plant metabolomics on resistant/susceptible potato cultivars of *P. penetrans* to discover new bioactive compounds with antagonistic effect against this RLN.

Acknowledgements

The authors would like to thank Ivânia Esteves and Isabel Abrantes from Nemato-lab (University of Coimbra) for providing the RLN isolate, and to Maria João Cabrita and Raquel Garcia, from the Oenology Laboratory (MED/University of Évora) for gently providing the tannins employed in the bioassays.

This work was funded by National Funds through FCT to: SFRH/BD/134201/2017 (to PB), and projects PratyOmics (PTDC/ASP-PLA/0197/2020), (UIDB/05183/2020) to MED, to CESAM UIDP/50017/2020+UIDB/50017/2020+LA/P/0094/2020.

References

- Ali, N., Chapuis, E., Tavoillot, J., Mateille, T. (2014) Plant-parasitic nematodes associated with olive tree (*Olea europaea* L.) with a focus on the Mediterranean Basin: A review. *Comptes Rendus Biologies*, 337, 423-442.
- Barbosa, P., Faria, J.M.S., Mendes, M.D., Dias, L.S., Tinoco, M.T., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Figueiredo, A.C., & Mota, M. (2012). Bioassays against pinewood nematode: assessment of a suitable dilution agent and screening for bioactive essential oils. *Molecules* 17(10), 12312-12329.
- Boisseau, M. & Sarah, J.L. (2008). *In vitro* rearing of *Pratylenchidae* nematodes on carrot discs. *Fruits* 63, 307-310.
- Brussard, L. (1997). Biodiversity and ecosystem functioning in soil. *Ambio* 26, 563-570.
- Castillo, P., Vovlas, N. & Jiménez-Díaz, R.M. (1998). Pathogenicity and histopathology of *Pratylenchus thornei* populations on selected chickpea genotypes. *Plant Pathol.* 47, 370-376.
- Castillo, P. & Vovlas, N. (2007). *Pratylenchus* (Nematoda: *Pratylenchidae*): Diagnosis, Biology,

- Pathogenicity and Management. In *Nematology Monographs and Perspectives Volume 6*. Brill, Leiden-Boston, p. 529.
- Chitwood, D. (2002). Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Reviews of Phytopathology* 40, 221-49.
- d'Errico, G., Woo, S., Lombardi, N., Manganiello, G. & Roversi, P. (2018). Activity of chestnut tannins against the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *J. Zool.* 101, 53-59.
- Esteves, I., Maleita, C., Abrantes, I. (2015) Root-lesion and root-knot nematodes parasitizing potato. *Eur. J. Plant Pathol.* 141, 397-406.
- Faria, J.M.S., Barbosa, P., Vieira, P., Vicente, C.S.L., Figueiredo, A.C. & Mota, M. (2021). Phytochemicals as biopesticides against the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*: a review on essential oils and their volatiles. *Plants* 10, 2614.
- Jones, J.T., Haegeman, A., Danchin, E.G., Gaur, H.S., Helder, J., Jones, M.G., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J.E., Wesemael, W.M., Perry, R.N. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 14, 946-61.
- Nguyen, D., Seo, D., Nguyen, V., Kim, K., Park, R. & Jung, W. (2013). Nematicidal activity of gallic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Nematology* 15(5), 507-518.
- Ntalli, N., Adamski, Z., Doula, M., Monokrousos, N. (2020) Nematicidal amendments and soil remediation. *Plants* 9, 429.
- Puntener, W. (1981). Manual for Field Trials in Plant Protection, 2nd edition. Ciba-Geiji Limited, Basle, Switzerland, p. 205.
- Rong, T. & Qing, Y. (2000) Nematicidal Activity of Monoterpeneoid Compounds against Economically Important Nematodes in Agriculture, *Journal of Essential Oil Research*, 12:3, 350-354, DOI: 10.1080/10412905.2000.9699533
- Townshend, J.L., Stobbs L. & Carter R (1989). Ultrastructural pathology of cells affected by *Pratylenchus penetrans* in alfalfa roots. *J. Nematol.* 21(4): 530-539.
- Vicente, C., Inácio, M. L., Mota, M. & Vieira, P. (2021) O nemátode das lesões radiculares, *Pratylenchus penetrans*. Vida Rural, Proteção de Plantas, Abril, 78-82.
- Wuyts, N., Swennen, R. & De Waele, D. (2006). Effects of plant phenylpropanoid pathway products and selected terpenoids and alkaloids on the behaviour of the plant-parasitic nematodes *Radopholus similis*, *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne incognita*. *Nematology* 8(1), 89-101.

Alternativas de Manejo de Suelos en Regiones Aridas del Altiplano Sur de Bolivia

Soil Management Alternatives In Arid Regions Of The Southern Highlands Of Bolivia

Calle Cresencio^{1*}, Bonifacio Alejandro¹, Milton, Villca¹, Singh Ravi² López Santiago²

¹ Fundación PROINPA Bolivia, c.calle@proinpa.org

² Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, México

Resumen

El Altiplano Sur de Bolivia se encuentra a una altitud entre 3800 a 4000 msnm caracterizándose por presentar frecuentes sequias y una precipitación de 200 mm/año, distribuidos principalmente en enero y febrero. Los suelos de acuerdo a la clasificación de la FAO son Fuvisoles y Cambisoles por la cercanía al Salar de Uyuni, presentan bajos contenidos de materia orgánica (menor a 0,5 %). Asimismo, la erosión eólica y la salinidad constituyen limitantes para el cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa*), el cual es el principal en estas regiones y está destinado al autoconsumo y al mercado. Las actuales prácticas de manejo de la quinua tienen limitaciones comprometiendo el uso sostenible del recurso suelo. Las alternativas que se vienen promoviendo en estas condiciones son: 1. Rotación de cultivos, leguminosas-quinua-descanso para favorecer la fertilidad del suelo; 2. Barreras vivas, utilizando arbustos y pastos nativos a objeto de disminuir la erosión principalmente eólica; 3. Aplicación de estiércol mejorado o descompuesto para mejorar la fertilidad del suelo; 4. Abonos verdes usando *Lupinus* sp.; 5. Labranzas reducidas con el uso de implementos de tipo vertical que no invierten el suelo. El caso de esta última su uso es aún incipiente. El uso de estas alternativas permite incrementar los rendimientos hasta en un 30 bajo las condiciones de aridez del altiplano boliviano.

Palabras clave: Suelos áridos, quinua, degradación de suelos, altiplano Boliviano

Abstract

The Southern highland of Bolivia is located at an altitude between 3800 to 4000 meters above sea level is characterized by its frequent droughts and precipitation is 200 mm / year, the soils have low organic matter contents (less than 0.5%). Likewise, wind erosion and salinity are limitations for the cultivation of quinoa (*Chenopodium quinoa*) which is the main one in these regions. Current quinoa management practices have limitations compromising the sustainable use of the soil resource. The alternatives that have been promoted in these conditions are; 1. Crop rotation, legumes-quinua-rest to promote soil fertility. 2. Live barriers, using native shrubs and grasses in order to reduce mainly wind erosion. 3. Application of improved or decomposed manure to improve soil fertility. 4. Improved green manures using *Lupinus* sp. 5. Reduced tillage, in the case of the latter one their use is still incipient. The use of these alternatives allows to increase yields by up to 30% under the arid conditions of the Bolivian highlands.

Keywords: Arid soils, quinoa, soil degradation, Bolivian highlands

Introducción

La baja productividad de los cultivos en las zonas áridas andinas de Bolivia es consecuencia, principalmente, de la degradación de los suelos debido a la pérdida de materia orgánica y el inadecuado laboreo. Gran parte de los suelos corresponden a Fluvisoles y Cambisoles por la cercanía al Salar de Uyuini, en estas regiones presentan porcentajes de materia orgánica menores a 1 % (Calle et al 2019). Esto sumado al riesgo climático que se traduce en la poca lluvia (200 mm/año) o su mala distribución acentuada principalmente en los últimos 30 años durante el ciclo del cultivo hacen que los rendimientos del cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa*) sean bajos (Hervé et al 2002; Rodríguez, 2015; Waqar y Zoltan, 2022).

Las prácticas de manejo de los cultivos, como la quinua, en el altiplano sur tienen dificultades por el inadecuado laboreo y el deficiente manejo de la fertilidad del suelo ya que buscan respuestas de corto plazo debido a una ampliación de la frontera agrícola motivada por el incremento de precios de la quinua en los últimos años. Este hecho está comprometiendo el uso sostenible del suelo una vez que en cada cosecha se ve disminuida su productividad debido a una falta de nutrientes y de materia orgánica.

Un bajo nivel de productividad trae como consecuencia inseguridad alimentaria y problemas de desnutrición en estas poblaciones rurales, ya que gran parte de la producción está destinada al mercado.

En el presente trabajo se pretende validar e identificar las prácticas orientadas al manejo sostenible de los suelos en zonas áridas del altiplano sur boliviano y su efecto en el rendimiento de quinua.

Material y métodos

Durante las gestiones agrícolas de 2020 y 2021, en ocho comunidades de la región del Altiplano Sur de Bolivia ubicadas a una altitud entre 3800 y 4000 metros sobre el nivel del mar.

En estas regiones áridas, normalmente llueve apenas 200 mm al año durante los

meses de diciembre (15%), enero (36%), febrero (31%) y marzo (12%). Durante el ciclo 2020 y 2021 las lluvias se concentraron en los meses de enero y febrero, aunque el total estuvo próximo a la media. Los suelos son predominantemente arenosos y corresponden a Fluvisoles y Cambisoles. Se evaluaron 72 campos de producción de quinua bajo diferentes prácticas de conservación y manejo sostenible del suelo tales como; uso de estiercol, usos de barreras vivas, buena calidad de semilla y manejo de insectos plaga, descansos mejorados con el uso de leguminosas. Para este propósito de evaluó el rendimiento en campo del grano de quinua, así como la aplicación de las prácticas de uso sostenible de suelo.

Cuadro 1 – Valores medios de análisis de suelos representativos en el Altiplano Sur de Bolivia

Parámetros	Unidad	Resultado rangos	Interpretación
pH 1:5 Agua	--	6,09 - 6,72	Ácido
C.E. 1:5	dS/m	0,04 - 0,27	
Salinidad	%	0 - 0,01	
A	%	87 - 94	
L	%	6 - 11	Arenoso
Y	%	0 - 2	
Textura		A	
Carbono Orgánico Total	%	0,21 - 0,29	Muy bajo
Nitrógeno Total	%	0,08 - 0,16	Muy bajo
Relación C/N		1,5 - 3,44	Desequilibrado
Fosforo asimilable	mg/kg	5,13 - 9,39	Bajo
Potasio Intercambiable	meq/100g	0,16 - 0,28	Bajo
Calcio	meq/100g	3,86 - 4,31	Bajo
Magnesio intercambiable	meq/100g	0,77 - 1,19	Moderado
Hierro	mg/kg	3,64 - 7,33	Bajo

El análisis de los suelos muestra valores bajos en los diferentes parámetros que muestran la baja fertilidad de estos suelos, reflejando así su estado de degradación acentuado en parte por el excesivo laboreo y la poca reposición de nutrientes principalmente la materia orgánica.

Resultados y discusión

La media del rendimiento de quinua de las 72 parcelas en las ocho comunidades de evaluación fue de 760.65 kg/ha con una desviación estándar de 350 kg/ha, siendo que la media para esta región es de 500 kg/ha. Para los rendimientos obtenidos los productores al menos hacen uso de dos a tres prácticas de las evaluadas, principalmente control de insectos, Barreras vivas y uso de estiércol. En las

comunidades de Vichaj y Ankasoca, se obtuvieron rendimiento por encima de los 1000 kg/ha, esto debido a mejores condiciones de precipitación comparado con Uyuni y Salinas. La dispersión de los rendimientos por municipios muestra una mayor amplitud en las comunidades de Sonturo, Vichaj y Ankasoca entretanto que, en Chita y Chacala, los rendimientos son más concentrados (Figura 1)

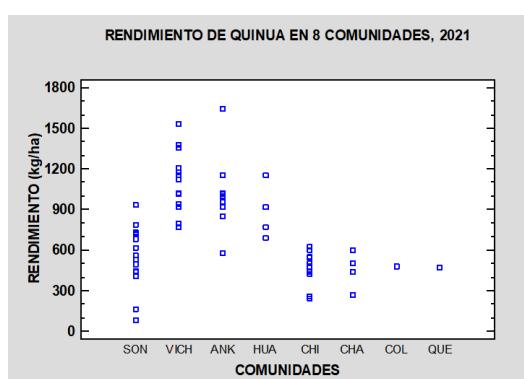


Figura 1. Dispersión del rendimiento de quinua en 8 comunidades del Altiplano Sur de Bolivia, 2021 (Son=Sonturo 15 campos,Vich=Vichaj 16 campos,Ank=Ankasoca 14 campos, Hua=Hualcani 6 campos,Chi=Chita 15 campos,Cha=Chacala 4 campos, Col=Colchani 1 campo, Que=Queasa 1 campo)

Realizando una cuantificación del uso de Buenas Prácticas de Producción, en los 72 campos de quinua evaluados se pudo constatar que un 81.9% realizan el manejo y control de plagas utilizando para ello principalmente productos orgánicos. El uso de barreas vivas multipropósito en las parcelas de quinua es practicado por el 62.5 % de los productores utilizando para ello principalmente arbustos nativos que tienen un crecimiento lento y alcanzan hasta los 2 metros de altitud tales como la Supu Tola (*Parastrephia lepidophylla*) que se adapta a suelos arenosos, Uma Tola (*Parastrephia lucida*) que se adapta a diferentes suelos preferentemente con más humedad, y Ñaka Tola (*Baccharis incarum*) que se adapta en un amplio rango de suelos; arenoso, franco, arcillosos, pedregosos. El uso de semilla de calidad es reportado por 43.1% de los productores y el uso de estiércol es practicado por un 29.2 % de los productores a los que hizo el seguimiento (Figura 2)

Finalmente, el uso de cobertura o descansos mejorados con leguminosas es aún muy poco practicado sólo en comunidades del municipio de Uyuni existen casos de productores que hacen descansos mejorados, probablemente la disponibilidad de semilla sea una de las limitantes.

Por otro lado, el laboreo vertical o mínima labranza no es conocido y bajo las condiciones de estos suelos aún es una tarea pendiente.

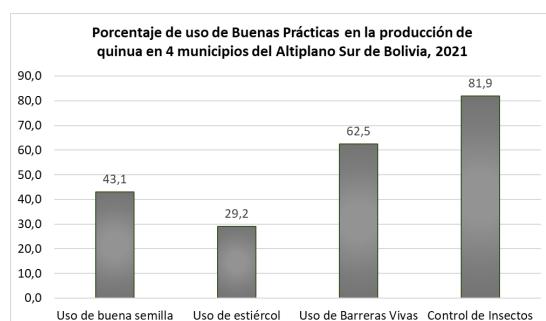


Figura 2. Porcentaje del uso de Buenas prácticas de Producción Agrícola en 8 comunidades del Altiplano Sur de Bolivia, 2021

En los campos evaluados, se observó que un 28 % aplican 2 Buenas prácticas, 28% hacen uso de 3 prácticas y el 32% utilizan 3 prácticas. Los rendimientos observados en función del número de prácticas utilizadas son crecientes, aunque no de manera significativa (Figura 3)

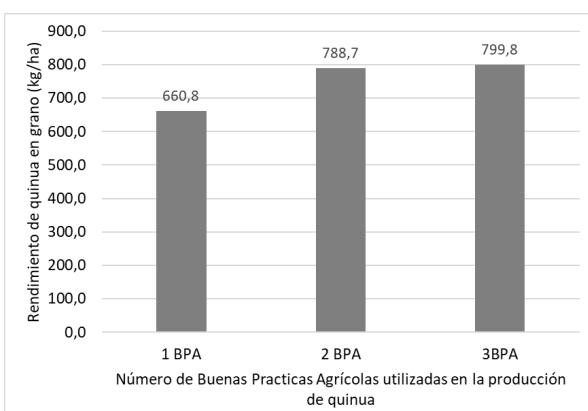


Figura 3. Relación del rendimiento de quinua y el número de Buenas Prácticas Agrícolas aplicadas en el Altiplano Sur de Bolivia, 2021

La evaluación 46 de barreras vivas establecidas en parcelas de quinua en cuatro localidades del Altiplano Sur, Chita,

Chacala, Sonturo y Cotaña, muestra que las principales especies de arbustos utilizadas en las barreras son Supu Tola (*Parastrepia lepidophylla*), Uma Tola (*Parastrepia lucida*), y Ñaka Tola (*Baccharis incarum*), en lo que respecta a pastos está presente en menor cantidad Sikuya (*Stipa ichu*) e Iru Ichu (*Festuca ortophylla*).

Las barreras vivas evaluadas alcanzan una altura que va de 0.48 a 1.4 metros y un ancho de 1.51 a 3.86 metros (Cuadro 2). Del total de las barreras evaluadas 19 son barreras son de reciente implementación. Estas barreras vivas con especies nativas tienen múltiples propósitos; albergan la biodiversidad de insectos y mamíferos menores, son utilizadas para fines medicinales, algunas de ellas sirven de forraje a las llamas y, principalmente a restituir la cobertura vegetal nativa.

Una de las limitantes para una mayor reforestación con las especies arbustivas constituye la disponibilidad de semilla y/o plantines, aspecto en el cual se han iniciado acciones para resolver esta limitacion.

Cuadro 2 – Barreras vivas evaluadas en la gestión 2021
en 5 localidades del Altiplano Sur de Bolivia

MEDICIONES	CHITA/CHACALA	SONTURO	COTAÑA	TOTAL/MEDIA
Número de barreras	22	12	12	46
Longitud (m)	3220	1420	1520	6160
Ancho medio (m)	1,86	3,86	1,51	2,41
Altura media (m)	0,48	1,4	0,61	0,83
Volumen medio (m ³)	2875	7674	1400	11949
Ancho máximo (m)	3	5	2,5	3,5
Ancho mínimo (m)	1	2	0,6	1,2
Altura máxima (m)	1	1,74	1,31	1,35
Altura mínima (m)	0,7	0,9	0,15	0,58

Conclusiones

Por las condiciones limitantes (poca precipitación, erosión eólica, baja fertilidad, bajas temperaturas, en las condiciones de las regiones áridas del altiplano sur de Bolivia son pocas las alternativas orientadas a un manejo sustentable del suelo.

Entre la Prácticas que tienen mayor uso por parte de los productores están; el control de plagas, el uso de barreras vivas, el uso de estiércol y la utilización de semilla mejorada de quinua

Agradecimientos

Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), al Centro Internacional de Zonas Semiáridas (ICARDA) al IFAD por el financiamiento y a la Fundación PROINPA.

Referências bibliográficas

- Calle C, Bonifacio A, Vilca M, Alcón M y Aroni G. (2019). Prácticas de uso sostenible de suelo en zonas semiáridas. FUNDACIÓN PROINPA, CIMMYT e ICARDA. Imprenta Rayo del Sur, Sucre Bolivia. 8p.
- Hervé D., Ledezma R., Orsag V. (2002). Limitantes y Manejo de los Suelos Salinos y/o Sodicos en el altiplano Boliviano. La Paz Bolivia. 275p
- Rodriguez R. (2015). Evaluación del Grado de Fertilidad del Suelo para la Producción de Trigo en los Departamentos e Cochabamba, Chuquisaca Potosí. Informe de Consultoria. 83p.
- Waqr Muhammad Nasir and Zoltan. (2022). Toth Effect of Drought Stress on Potato Production: A Review. Agronomy; <https://doi.org/10.3390/agronomy12030635>

Predicción de la densidad aparente en horizontes orgánicos de suelos de bosque dominados por *Quercus robur* en Galicia

*Prediction of the bulk density of organic horizons in forest soils dominated by *Quercus robur* in Galicia*

Nóvoa-Muñoz, Juan Carlos^{1*}; Gómez-Armesto, Antía¹; Calvo-Portela, Noemí¹; Méndez-López, Melissa¹; Parente-Sendín, Andrea¹; Fernández-Calviño, David¹; Alonso-Vega, Flora¹

¹Área de Edafología e Química Agrícola, Departamento de Biología Vegetal e Ciencias do Solo, Facultade de Ciencias, Universidade de Vigo, As Lagoas s/n 32004 Ourense, España

*edjuanca@uvigo.es

Resumen

Este estudio busca un modelo predictivo de la densidad aparente (ρ_b) en horizontes orgánicos (O) de suelos de bosque de *Quercus robur*, la principal especie nativa caducifolia del NO de la Península Ibérica. Se toman muestras de horizontes O (OL y OF+OH; n=96) en 16 parcelas localizadas en Ordes (Galicia). Además de la ρ_b , en las muestras se determinan los niveles de C y N totales, el pH y los cationes básicos intercambiables (CBI). Los horizontes O son ácidos (pH en agua <5,0), con niveles medios de C orgánico >360 g kg⁻¹ y una relación C/N que varía entre 21 y 26. La concentración de CBI sigue la secuencia Ca>Mg>>K>Na. El análisis de regresión múltiple resulta en un modelo que explica el 54% de la varianza de la ρ_b siendo la suma de CBI y el C orgánico total las variables predictoras. El error cuadrático medio (RMSE) fue 0,036 g cm⁻³ y el coeficiente de regresión (R^2) entre valores observados y valores predichos fue de 0,65. Este modelo predictivo sugiere que la calidad de la materia orgánica es más determinante que la cantidad en la estimación de la ρ_b de los horizontes O de suelos de bosque de *Q. robur*.

Palabras clave: carbono orgánico, relación C/N, pedotransferencia, nutrientes, humificación

Abstract

This study searches for a predictive model for bulk density (ρ_b) of organic horizons (O) of forest soils dominated by *Quercus robur*, the main deciduous native species in the NW of the Iberian Peninsula. Samples of the O horizons (OL and OF+OH; n=96) of 16 stands located in Ordes (Galicia) were collected. In addition to ρ_b , pH, total contents of organic C and N as well as exchangeable base cations (CBI) were analysed in the samples. Organic horizons were acid (water pH <5,0), with an average organic C >360 g kg⁻¹ and a C/N ratio in the range 21 to 26. The concentration of CBI follows the sequence Ca>Mg>>K>Na. The stepwise multiple linear regression resulted in a model that explains 54% of the ρ_b variance, being the sum of EBC and total organic C the predictor variables. The Root Mean Squared Error (RMSE) was 0,036 g cm⁻³ and the coefficient of regression (R^2) between observed and predicted values was 0,65. This predictive model suggests that organic matter quality, rather than its quantity, was more determinant in the estimation of the ρ_b of organic horizons of forest soils dominated by *Q. robur*.

Keywords: organic carbon, C/N relationship, pedotransference, nutrients, humification

Introducción

La densidad aparente del suelo (ρ_b) permite transformar valores basados en masa a resultados relativos al área o volumen que ocupa, siendo muy útil para el cálculo de reservorios de C, nutrientes y contaminantes en los suelos (Tamminen & Starr, 1994). La determinación en campo de la ρ_b del suelo demanda mucho tiempo y trabajo, por lo que muchos estudios utilizan funciones de pedotransferencia (FPT) para su estimación a partir de propiedades generales del suelo (Reidy et al., 2016). Esta aproximación, si bien está muy extendida para horizontes minerales (De Vos et al., 2005; Rodríguez-Lado et al., 2015), apenas se ha evaluado en el caso de los horizontes orgánicos (Hollis et al., 2012).

La especie arbórea dominante influye notablemente en la ρ_b de los horizontes orgánicos (O) del suelo, por efecto de la cantidad de biomasa senescente generada y su tasa de descomposición (Osei et al., 2021), así como de las comunidades microbianas presentes (Prescott & Grayston, 2013). De este modo, las FPT destinadas a estimar de forma precisa la ρ_b en los horizontes O deberían considerar el tipo de especie arbórea dominante.

Quercus robur es la especie dominante en los bosques caducifolios de Galicia ocupando 246.000 ha (IV IFN Galicia, 2011), donde forma masas puras o mixtas con otras especies caducifolias. Estos bosques suponen el 17% del total de la superficie arbolada de Galicia.

El objetivo de este trabajo es dar el primer paso hacia el desarrollo de un modelo predictivo de la ρ_b en horizontes orgánicos de suelos de bosque dominados por *Q. robur* utilizando para ello algunas de sus principales propiedades químicas. Los resultados servirán, tras su posterior validación, para conseguir una FPT que permita estimar de forma más precisa los reservorios de nutrientes (incluido C) y contaminantes en los suelos de bosques, en cuyo cálculo se suele prescindir de la contribución de los horizontes orgánicos.

Material y Métodos

Área de estudio, toma y caracterización de las muestras

Para este estudio se seleccionaron 16 parcelas boscosas, dominadas por *Q. robur*, situadas en

la comarca de Ordes (A Coruña, NW Galicia). En cada parcela se delimitaron 3 subparcelas, en las que se recogió el horizonte O separándolo entre el subhorizonte OL y una mezcla de los subhorizontes OF+OH. Para ello, en cada subparcela se dispuso sobre la superficie del suelo un cuadrado de 0,25 m² de superficie y el espesor de cada subhorizonte se promedió a partir de 5 medidas (en cada esquina y centro del cuadrado de muestreo). El material recogido, tras su secado al aire, se pesó para expresar su masa por unidad de superficie (g m⁻²). Posteriormente, la totalidad de la muestra se trituró hasta un tamaño < 4 mm. Una alícuota de la muestra triturada se secó a peso constante (105°C) para calcular empíricamente la densidad aparente, a partir de la masa por unidad de superficie y el espesor del horizonte. Una segunda alícuota fue finalmente molida para determinar los contenidos totales de C y N. La muestra <4 mm se empleó para analizar el pH en agua (pHw) y KCl 1 M (pHk) y los cationes básicos intercambiables (Na, K, Ca y Mg) empleando NH₄Cl 1 M, siguiendo los métodos empleados por Méndez-López et al. (2022).

Modelo predictivo de la densidad aparente (ρ_b)

Para la predicción de la ρ_b se realiza un análisis de regresión múltiple por pasos, considerando la densidad aparente como variable dependiente y C y N totales, pH en agua (pHw) y KCl (pHk), y cationes básicos intercambiables y su suma (SB) como variables independientes. Se buscarán modelos predictivos para los subhorizontes OL, para la mezcla de OF+OH y para el conjunto del horizonte O. Para todos los análisis estadísticos se empleó SPSS.

Resultados y discusión

Características generales de los horizontes orgánicos

La Tabla 1 presenta las características generales de los horizontes. La densidad aparente (ρ_b) es menor en los horizontes OL que en los OF+OH (0,02 vs 0,1 g cm⁻³, respectivamente). En general, se trata de

horizontes moderadamente ácidos, con el pHw en un rango 4,7-4,9. Los horizontes OL, más ricos en C orgánico y N total que los OF+OH, muestran valores del mismo orden que los observados por Gartzia-Bengoetxea et al. (2009) en horizontes O de suelos dominados por especies caducifolias similares.

Tabla 1 – Valor medio y desviación estándar de algunas características generales de los horizontes orgánicos.

Parámetro	Unidad	Hor OL	Hor OF+OH
		(n=48)	(n=48)
ρ_b	g cm ⁻³	0,021 ± 0,008	0,100 ± 0,008
pHw		4,9 ± 0,3	4,7 ± 0,5
pHk		4,4 ± 0,3	3,9 ± 0,5
Corg	g kg ⁻¹	527 ± 49	360 ± 83
N total	g kg ⁻¹	21,0 ± 3,7	17,1 ± 3,5
C/N		26 ± 4	21 ± 4
Na _{ex} *	cmol _c kg ⁻¹	1,5 ± 0,4	1,2 ± 0,3
K _{ex}	cmol _c kg ⁻¹	4,8 ± 1,8	1,6 ± 0,5
Ca _{ex}	cmol _c kg ⁻¹	24,3 ± 7,0	13,8 ± 8,4
Mg _{ex}	cmol _c kg ⁻¹	16,8 ± 4,0	8,4 ± 4,2
SB	cmol _c kg ⁻¹	1,5 ± 0,4	1,5 ± 0,4

* el subíndice "ex" indica cationes intercambiables. SB: suma de cationes básicos intercambiables

La relación C/N (21-26) es semejante al valor medio de 23 dado por Cools et al. (2014) para horizontes O de bosques de *Q. robur* en Europa, disminuyendo con la descomposición de la materia orgánica (de OL a OF+OH). Los niveles de los cationes básicos intercambiables (Ca > Mg > K > Na) son semejantes a los de horizontes O de suelos dominados por especies caducifolias (Cremer & Prietzel, 2017).

Prediccion de la densidad aparente en horizontes orgánicos.

El resultado del análisis de regresión múltiple (ARM) presenta una pobre capacidad predictiva de la ρ_b para los subhorizontes OL, explicando el 16% de su varianza a partir de Mg intercambiable y el contenido de C orgánico total como variables predictoras. En el caso de los

subhorizontes OF+OH, el modelo obtenido explicó hasta el 36% de la varianza de la ρ_b , siendo Ca y K intercambiables las variables predictoras.

Cuando se evalúa el horizonte O en su conjunto (OL+OF+OH), el ARM da lugar a un modelo predictivo mucho más satisfactorio, explicando hasta el 54% de la varianza de ρ_b (Eq. 1):

$$\rho_b = 0,148 - 0,0020 \cdot SB - 0,0001 \cdot C \quad (\text{Eq. 1})$$

La suma de cationes básicos intercambiables (SB) contribuye a explicar el 49% de la varianza de la ρ_b , mientras que sólo el 5% se atribuye al C orgánico total. Esta menor relevancia del C orgánico en la predicción de la ρ_b en los horizontes O contrasta con estudios previos en los que el C orgánico es la principal variable predictora de la ρ_b (Hollis et al., 2012; Reidy et al., 2016; Beutler et al., 2017). El porcentaje de varianza de la ρ_b explicada por la ecuación 1 supera el de otras FPT (29 y 52%) obtenidas para horizontes orgánicos en estudios previos (Hollis et al., 2012; Beutler et al., 2017). El error cuadrático medio (RMSE) del modelo obtenido es bastante satisfactorio (0,036), mucho menor que los valores de 0,193 y 0,139 obtenidos cuando se aplican las FPT de los estudios anteriormente citados. Esto también se evidencia cuando se representan los valores predichos por el modelo de la Eq. 1 frente a los valores observados (Figura 1), ya que el coeficiente de determinación obtenido (0,65) supera notablemente los valores de 0,30 y 0,33 resultantes de la aplicación de las FPT de Hollis et al. (2012) y Beutler et al. (2017) a nuestros valores observados.

La diferencia entre valores observados y predichos de la ρ_b se correlaciona negativamente con los contenidos totales de C ($r = -0,388$; $p = 0,000$), N ($r = -0,265$; $p = 0,009$), el K intercambiable ($r = -0,342$; $p = 0,001$) y la relación C/N ($r = -0,226$; $p = 0,027$).

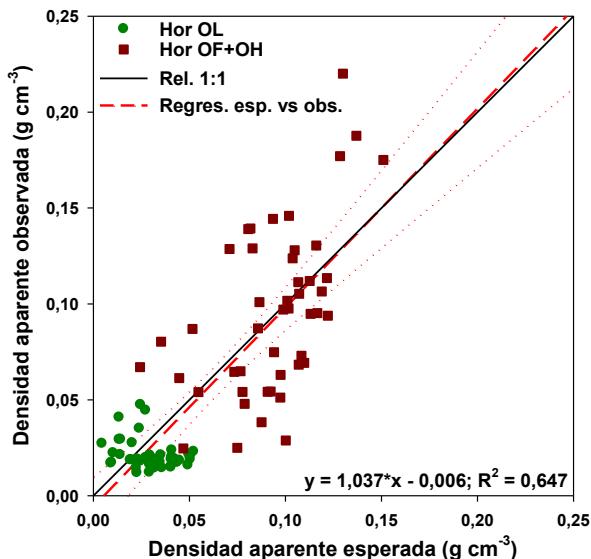


Fig. 1 – Relación entre valores observados y esperado de la densidad aparente en el conjunto de muestras de los subhorizontes orgánicos. Las líneas de puntos marcan los intervalos de confianza al 99%.

Conclusiones

El modelo predictivo de la densidad aparente de horizontes O de suelos dominados por *Q. robur* sugiere que el papel de la calidad de la materia orgánica, reflejada en la suma de cationes básicos intercambiables como principal variable predictor, se impone al papel de la cantidad representada por el contenido total de C orgánico.

Aunque la varianza de la densidad aparente explicada por el modelo (54%) y su RMSE (0,036) son prometedores, es preciso complementar este estudio con una fase de validación que confirme estos resultados.

Agradecimientos

M. Méndez-López agradece al Ministerio de Educación y Formación Profesional el contrato FPU17/05484. A la Consellería de Cultura, Educación e Universidade (Xunta de Galicia) por la financiación a través de los contratos ED431C 2021/46-GRC y ED431F2018/06-EXCELENCIA.

Referencias bibliográficas

- Beutler, S.J., Pereira, M.G., de Souza Tassinari, W., de Menezes, M.D., Souza Valladares, G. & Cunha dos Anjos, L.H. (2017). Bulk Density Prediction for Histosols and Soil Horizons with High Organic Matter Content. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, 41, e0160158. doi: 10.1590/18069657rbcs20160158.
- Cools, N., Vesterdal, L., de Vos, B., Vanguelova, E., & Hansen, K. (2014). Tree species is the major factor explaining C:N ratios in European forest soils. *Forest Ecology and Management*, 311, 3-16. doi: 10.1016/j.foreco.2013.06.047.
- Cremer, M. & Prietzel, J. (2017). Soil acidity and exchangeable base cation stocks under pure and mixed stands of European beech, Douglas fir and Norway spruce. *Plant Soil*, 415, 393-405. doi: 10.1007/s11104-017-3177-1.
- de Vos, B., Van Meirvenne, M., Quataert, P., Deckers, J. & Muys, B. (2005). Predictive quality of pedotransfer functions for estimating bulk density of forest soils. *Soil Science Society of America Journal*, 69, 500-510. doi: 10.2136/sssaj2005.0500.
- Gartzia-Bengoetxea, N., González-Arias, A. & de Arano, I.M. (2009). Effects of tree species and clear-cut forestry on forest-floor characteristics in adjacent temperate forests in northern Spain. *Canadian Journal Forest Research*, 39, 1302-1312. doi: 10.1139/X09-053.
- Hollis, J.M., Hannam, J. & Bellamy, P.H. (2012). Empirically-derived pedotransfer functions for predicting bulk density in European soils. *European Journal of Soil Science*, 63, 96-109. doi: 10.1111/j.1365-2389.2011.01412.x.
- Méndez-López, M., Gómez-Armesto, A., Alonso-Vega, F., Pontevedra-Pombal, X., Fonseca, F., de Figueiredo, T., Arias-Estevez, M. & Nóvoa-Muñoz, J.C. (2022). The role of afforestation species as a driver of Hg accumulation in organic horizons of forest soils from a Mediterranean mountain area in SW Europe. *Science of the Total Environment*, 827, 154345. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.154345.
- Osei, R., Titeux, H., Bielak, K., Bravo, F., Collet, C., Cools, C., Cornelis, J.-T., Heym, M., Korboulewsky, N., Löf, M., Muys, B., Najib, Y., Nothdurft, A., Pach, M., Pretzsch, H., del Rio, M., Ruiz-Peinado, R. & Ponette, Q. (2021). Tree species identity drives soil organic carbon storage more than species mixing in major two-species mixtures (pine, oak, beech) in Europe. *Forest Ecology and Management*, 481, 118752. doi: 10.1016/j.foreco.2020.118752.
- Prescott, C.E. & Grayston, S.J. (2013). Tree species influence on microbial communities in litter and soil: Current knowledge and research needs. *Forest Ecology and Management*, 309, 19-27. doi: 10.1016/j.foreco.2013.02.034.
- Reidy, B., Simo, I., Sills, P. & Creamer, R.E. (2016). Pedotransfer functions for Irish soils – estimation of bulk density (pb) per horizon type. *Soil*, 2, 25-39. doi: 10.5194/soil-2-25-2016.
- Rodríguez-Lado, L., Rial, M., Taboada, T. & Martínez Cortizas, A. (2015). A pedotransfer function to map soil bulk density from limited data. *Procedia Environmental Sciences*, 27, 45-48. doi: 10.1016/j.proenv.2015.07.112.
- Tamminen, P., Starr, M. (1994). Bulk density of forested mineral soils. *Silva Fennica*, 28, 53-60. doi: 10.14214/sf.a9162.

Efectos del cambio climático en la estructura molecular de la materia orgánica del suelo de una dehesa

Effects of climate change in soil organic matter molecular structure in a Mediterranean savanna

San Emeterio, Layla M.^{1,2}, Pérez-ramos, Ignacio¹, Domínguez, M. Teresa², De la Rosa, José M.¹, González-Pérez, José A.^{1*}

¹ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC), Grupo MOSS. Avda. Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla (España);

² Universidad de Sevilla, Facultad de Químicas, Grupo MED Soil. C/Prof Garcia Gonzalez 1, 41012, Sevilla (España).

*jag@irnase.csic.es

Resumen

Las sabanas mediterráneas (dehesas) son sistemas agrosilvopastoriles típicos, caracterizados por la presencia dispersa de robles (*Quercus spp.*) y especies arbustivas. Estos ecosistemas están sometidos a una marcada estacionalidad, propia del clima mediterráneo, lo que se refleja en la dinámica microbiana del suelo. La interacción de los factores que más afectan la dinámica microbiana (clima, vegetación y suelo), es clave para comprender los ciclos biogeoquímicos que, a su vez se espera que se reflejen en la estructura de la materia orgánica (MOS). Para evaluar el efecto del cambio climático, utilizamos pirólisis analítica (Py-GC/MS) para la caracterización molecular de la MOS en un experimento de imitación en campo (2017-2021). Entre los 117 compuestos biogénicos encontrados, las distribuciones y contenidos de ác. grasos y *n*-alcanos fueron más sensibles a los tratamientos climáticos. Además, se observa una degradación preferencial de compuestos derivados de holocelulosa y acumulación de compuestos derivados de la lignina, que se encuentra poco evolucionada, lo que apunta a condiciones desfavorables para la su degradación. Los resultados sugieren que la composición molecular de la MOS y la aplicación de Py-GC/MS aporta información sobre los cambios ambientales del suelo y que tienen valor como biomarcadores para el seguimiento del cambio climático en suelos mediterráneos.

Palabras clave: pirólisis analítica, materia orgánica del suelo, cambio climático, ecosistema mediterráneo.

Abstract

Mediterranean savannahs (dehesas) are typical agro-sylvo-pastoral systems, characterized by the scattered presence of oak trees (*Quercus spp.*) and shrub species, along with the integration of other practices. These ecosystems are subjected to a marked seasonality characteristic of the Mediterranean climate, and expected to be reflected in soil microbial dynamics. The interplay of driving factors on the microbial dynamics (climate, vegetation and soil) is key to understanding biogeochemical cycles in Mediterranean forests that, in turn are expected to be reflected in soil organic matter (SOM) structure. In this communication analytical pyrolysis (Py-GC/MS) was used for the molecular characterization of SOM in a field manipulative experiment aimed to evaluate the impact of forecasted warming and drying in a five-year experiment (2017-2021). Among all the biogenic compounds that were found (a total of 117), fatty acids and aliphatic compounds (*n*-alkanes) were found most responsive to climatic treatments. Also, a preferential degradation of holocellulose derived compounds and accumulation and preservation of lignin derived compounds, pointing to non-favourable lignin decomposition conditions. The results suggest that SOM molecular composition, hence the application of Py-GC/MS encompasses information on soil environmental shifts having biomarker value for monitoring climate change in Mediterranean soils.

Keywords: analytical pyrolysis, soil organic matter, climate change, Mediterranean ecosystem.

Introduction

La materia orgánica del suelo (MOS) juega un papel esencial en la dinámica de los ecosistemas e influye decisivamente en sus propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo (Feng & Simpson, 2011)], incluida su estructura, productividad y erodibilidad, entre otras (Cotrufo & Lavallee, 2022). Estas propiedades tienen un impacto en la vegetación, la fauna y en servicios ecosistémicos como el secuestro de carbono (Lal, 2007). Teniendo en cuenta que los suelos representan el segundo mayor sumidero de carbono terrestre, su potencial de secuestro es una de las piedras angulares de las futuras políticas ambientales para combatir el cambio climático. Por lo tanto, es crucial mejorar nuestros conocimientos sobre cómo el cambio climático puede modificar la evolución y las tasas de renovación de carbono en los suelos. Esto es especialmente relevante en las áreas mediterráneas, que por ser un ecotono entre los climas templado y tropical, se espera que los efectos producidos por el cambio climático global se acusen muy rápidamente (Thuiller et al., 2006).

La eficiencia en el almacenamiento de C en los suelos depende fundamentalmente de los mecanismos y procesos involucrados en la formación de la MOS. La MOS es un material muy heterogéneo cuyo origen está principalmente en la transformación microbiana de biomacromoléculas vegetales (biopolímeros) como polisacáridos (holocelulosas), polifenoles (lignina), polipéptidos (proteínas), poliésteres (ceras), etc. (Jiménez-González et al., 2017). La pirólisis analítica acoplada a cromatografía gaseosa y espectrometría de masas (Py-GC/MS), es una herramienta muy adecuada para el estudio de materiales complejos y poco solubles como es la MOS. La Py-GC/MS permite la separación, identificación y cuantificación relativa de los constituyentes individuales de la MOS, proporcionando además una información estructural molecular detallada (San-Emeterio et al., 2021).

En este estudio, utilizamos pirólisis analítica (Py-GC/MS) para investigar cambios en la composición de la MOS en un ecosistema de sabana mediterránea (dehesa) so-

metido a tratamientos que simulan ambientes más cálidos y secos, imitando posibles escenarios climáticos futuros. El experimento abarca cinco años y, específicamente, nuestro objetivo era obtener información sobre 1) cómo un incremento del calentamiento y la sequía pueden afectar la composición de la MOS 2) los principales factores que afectan a la composición y cambios en la MOS y 3) los biomarcadores que pueden predecir/identificar esos cambios en la MOS.

Materiales y métodos

Se utilizó Py-GC/MS para la caracterización molecular de la MOS en un experimento de campo que incluyó exclusión de precipitaciones y aumento de la temperatura. La zona de estudio está ubicada en Sierra Morena (Pozoblanco, Córdoba, SO-España). Se tomaron muestras compuestas de suelo (0-10 cm) en cuatro parcelas con diferentes tratamientos climáticos: calentamiento (W); sequía (D); una combinación de ambos (W+D) y control no tratado (C). Las parcelas se instalaron en 2016 bajo dos hábitats distintos: bajo la canopia de encina (*Q. ilex*) (árbol) y en la zona de pasto abierto (abierto). Los datos corresponden al muestreo inicial realizado en 2017 (un año después de la instalación de los ensayos) y cinco años después en 2021.

Para comparar los efectos de los tratamientos en la estructura de la MOS, se llevó a cabo un Análisis de Componentes Principales (PCA) utilizando diferentes conjuntos de variables: i) abundancia relativa de cada familia de compuestos, ii) propiedades del suelo: pH, humedad, contenido de C y N (%), y composición de isótopos estables de C, N ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$). Para la representación gráfica de los datos se utilizaron los programas RStudio (versión 1.4.1717) y "FactoMineR" y "Factoextra".

Resultados y discusión

Se identificaron un total de 117 compuestos de pirólisis y se detectaron diferencias significativas de composición entre hábitats 'árbol' y 'abierto' -tanto en 2017 como en

2021- para las principales clases de compuestos: nitrogenados (N), aromáticos (ARO), metoxifenoles procedentes de lignina (LIG), isoprenoides (ISO), ácidos grasos (FA), alcanos (ALK) y compuestos derivados de los polisacáridos (PS) (Fig. 1). Se encontró que tales diferencias químicas derivaban principalmente de la composición de la biomasa predominante incorporada al suelo. Las distribuciones y contenidos de FA y ALK (*n*-alcanos) fueron más sensibles a los tratamientos climáticos, mostrando menor abundancia en los tratamientos D y W. Esta tendencia es más pronunciada en el hábitat "abierto" y sigue siendo significativa después de 5 años de experimentación. Además, la fracción LIG/PS aumentó con el tiempo, especialmente en el hábitat "árbol", lo que apunta a una degradación preferencial de PS debido al aumento de la actividad microbiana. Finalmente, la proporción de compuestos ARO y FA de cadena corta y media aumentó con el tiempo, lo que apunta a condiciones desfavorables para la descomposición de la MOS (Ofiti et al., 2021).

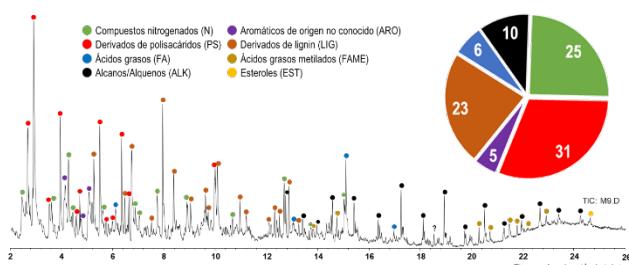


Fig. 1 – Ejemplo de cromatograma obtenido de la pirólisis directa de un suelo de “dehesa” bajo copa de árbol en una parcela control (C). Las etiquetas en los picos se refieren a las principales familias de compuestos. En inserto se muestra la distribución porcentual media de los principales componentes de la MOS de una dehesa identificados mediante Py-GC/MS (*n*=16).

El análisis PCA nos permitió evaluar la influencia de los diversos tratamientos climáticos sobre la abundancia relativa de compuestos biogénicos y otros parámetros del suelo (Fig. 2). Mientras que al inicio del experimento (2017) no se distinguen diferencias entre los tratamientos climáticos, cinco años más tarde (2021), pueden ya observarse cambios significativos entre los tratamientos control (C) y el resto. En particular se observa que los compuestos alifáticos

(ALK y FA) explican gran parte de la varianza que diferencia entre los grupos C y D, W, W+D, por lo que estas variables tienen potencial como biomarcadores para el seguimiento de los efectos del cambio climático en la MOS.

Además, al utilizar los 27 metoxifenoles identificados para calcular un índice de diversidad química de los compuestos de lignina del suelo basado en el H' de Shannon-Wiener (Fig. 3). Encontramos que la diversidad química (H') media fue significativamente menor en 2017 que en 2021 ($p<0.001$). Además, al final del experimento se observa una pérdida de la relación inversa entre H' y el parámetro del estado de degradación de la lignina (C0-2-MeO-Ph/C3 MeO-Ph) (Fig. 3). Ésto junto con el aumento significativo de los compuestos derivados de LIG observado al final del experimento, indica que los tratamientos climáticos han tenido un efecto negativo en la degradación de este biopolímero en el suelo.

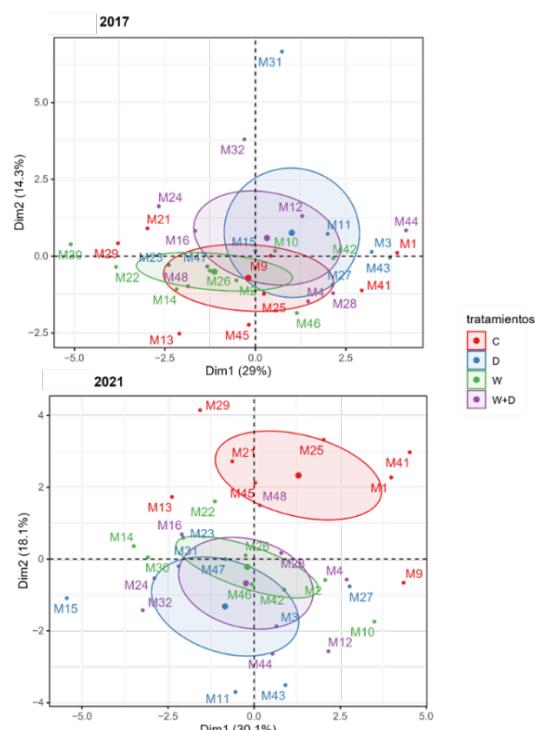


Fig. 2 –Análisis de componentes principales (factorial de datos mixtos) con la distribución de las muestras de suelos. Incluye los valores medios de familias de compuestos pirolíticos y las variables químicas del suelo. Arriba 2017 y abajo 2021. Los grupos se diferencian con un nivel de confianza (IC) del 95 %

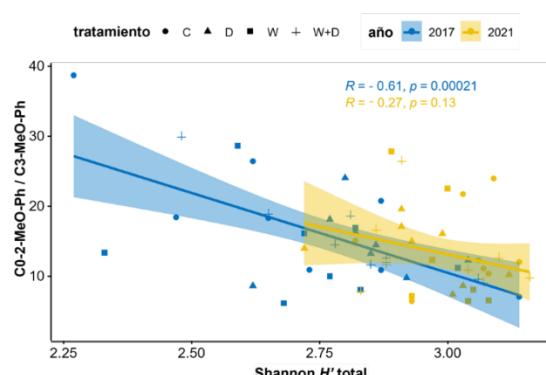


Fig. 3 – Relación entre la diversidad química de la lignina del suelo (H') y el índice de degradación de lignina ($C0-2\text{-MeO-Ph}/C3\text{-MeO-Ph}$). Las bandas indican un nivel de confianza (IC) del 95 %.

Conclusiones

Este estudio mostró que existen claras diferencias en la estructura química de la MOS de dehesa tomadas bajo diferentes ambientes y que están principalmente condicionadas por el efecto de la canopia de la vegetación arbórea. Además, los distintos tratamientos que imitan posibles futuros escenarios de calentamiento y disminución de lluvias, también influenciaron la estructura orgánica del suelo. Los resultados muestran que, en condiciones menos favorables de humedad y temperatura, se acumulan en el suelo principalmente compuestos derivados de la holocelulosa, así como lignina que presenta un menor grado de descomposición.

Cinco años de calentamiento experimental del suelo alteraron la calidad y cantidad de MOS, al menos en la parte superior del suelo (0-10 cm). Esta transformación de la MOS podría afectar funciones del suelo, por ejemplo, aquellas relacionadas con aspectos hidrológicos y agronómicos y eventualmente reducir el potencial total de almacenamiento de C del suelo bajo un clima más cálido.

Por último, destacar el potencial de la pirólisis analítica (Py-GC/MS) para la caracterización y evaluación de la MOS y que nos puede permitir una mejor comprensión de cómo las prácticas de manejo del suelo o los efectos del cambio climático, pueden alterar los mecanismos de secuestro de C orgánico del suelo.

Agradecimientos

Proyectos EU-EJC 2^a Conv. MIXROOT-C., Ministerio de Ciencia Innovación y Universidades (MICIU) INTERCARBON (CGL2016-78937-R) y DECAFUN (CGL2015-70123-R). L. San Emeterio agradece al MICIU por su contrato de investigación FPI (BES-2017-07968). D. Monis, A.M. Carmona y E. Gutiérrez por su asistencia técnica.

Referencias bibliográficas

- Feng, X., & Simpson, M. J. (2011). Molecular-level methods for monitoring soil organic matter responses to global climate change. *Journal of Environmental Monitoring*, 13, 1246-1254.
- Cotrufo, M. F., & Lavallee, J. M. (2022). Soil organic matter formation, persistence, and functioning: A synthesis of current understanding to inform its conservation and regeneration. *Advances in Agronomy*, 172, 1-66.
- Lal, R. (2007). Carbon management in agricultural soils. *Mitigation and adaptation strategies for global change*, 12(2), 303-322.
- Thuiller, W., Midgley, G. F., Hughes, G. O., Bomhard, B., Drew, G., Rutherford, M. C., & Woodward, F. I. (2006). Endemic species and ecosystem sensitivity to climate change in Namibia. *Global Change Biology*, 12(5), 759-776.
- Jiménez-González, M. A., Álvarez, A. M., Carral, P., González-Vila, F. J., & Almendros, G. (2017). The diversity of methoxyphenols released by pyrolysis-gas chromatography as predictor of soil carbon storage. *Journal of Chromatography A*, 1508, 130-137.
- San-Emeterio, L. M., López-Núñez, R., González-Vila, F. J., & González-Pérez, J. A. (2021). Evolution of Composting Process in Maize Biomass Revealed by Analytical Pyrolysis (Py-GC/MS) and Pyrolysis Compound Specific Isotope Analysis (Py-CSIA). *Applied Sciences*, 11(15), 6684.
- Ofiti, N. O., Zosso, C. U., Soong, J. L., Solly, E. F., Torn, M. S., Wiesenberg, G. L., & Schmidt, M. W. (2021). Warming promotes loss of subsoil carbon through accelerated degradation of plant-derived organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 156, 108185.

Adaptation measures in the face of climate change, the Montado/Dehesa Iberian case: Soil Hydraulic Conductivity and Soil Bulk Density

Medidas de adaptação face às alterações climáticas, o caso Montado/Dehesa Ibérico: Condutividade Hidráulica e Massa Voúmica Aparente do Solo

Bajouco, Rui^{1*}; Penedos, Cláudia¹; Velez, Jorge²; Velez, Sandra² and Alexandre, Carlos^{1,2}

¹ MED – Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development, University of Évora, Pólo da Mitra, Apartado 94, 7006-554 Évora, Portugal

² Department of Geosciences, University of Évora, Largo dos Colegiais, nº 2, 7004-516 Évora, Portugal

rnbsl@uevora.pt

Abstract

A sustainable management of the soil is an imperative for all land use systems. The LIFE Montado-Adapt project proposed to implement several soil conservation and protection practices, in order to fight the effects of climate change and the modifications of landscape in the Montado/Dehesa Iberian agro-silvo-pastoral system. This work showcases an evaluation of the effect of some soil protection measures, such as soil reduction/zero tillage and improvement of the pastures, in 4 pilot areas of the project, on 2 soil physical parameters: soil hydraulic conductivity (k_s) and soil bulk density (BD). After 3 years, a k_s decrease was observed, 22% ($0.61 \text{ Log}_{10} k_s$), being more accentuated in areas with livestock cattle exist, reaching to 37% ($0.83 \text{ Log}_{10} k_s$). Contrary to k_s , BD increased in areas where livestock pasture occurs, between 12 and 4%, a consequence of livestock trampling. In the areas livestock pasture, a decrease was observed, 3 and 4%, consequence of the no-tillage policy of soils, which promotes a better root development, accumulation of organic matter and soil aggregation. Even after 3 years, the soil conservation and protection practices seem to promote changes in both k_s and BD of the soils.

Keywords: cattle traffic, soil compaction, under trees canopy, open field, sustainable soil management.

Resumo

A gestão sustentável do solo é um imperativo para todos os sistemas de uso do território. O projeto LIFE Montado-Adapt propôs-se a implementar medidas de conservação e proteção do solo, por forma a combater a alteração da paisagem e os efeitos das alterações climáticas no sistema agro-silvo-pastoril Montado/Dehesa Ibérico. Neste trabalho avaliou-se o efeito de medidas de conservação do solo, como redução/não mobilização e a melhoria das pastagens, em 4 áreas piloto do projeto, sobre 2 características físicas do solo: Condutividade hidráulica do solo (k_s) e massa volúmica aparente (MVA). Ao fim de 3 anos, observou-se a diminuição de k_s , na ordem dos 22% ($0.61 \text{ Log}_{10} k_s$), sendo mais acentuada nas áreas com pastoreio, em que a redução chegou aos 37% ($0.83 \text{ Log}_{10} k_s$). Ao contrário da k_s , a MVA aumentou nas áreas onde ocorre pastoreio, entre 12 e 4%, possivelmente em consequência do pisoteio animal. Nas áreas sem pastoreio, a diminuição, na ordem dos 3 e 4%, consequência da não mobilização dos solos, promovendo um maior enraizamento vegetal, acumulação de matéria orgânica e agregação do solo. Ao fim de 3 anos de projeto, as práticas de conservação e proteção do solo parecem já promover alterações tanto na k_s como na MVA.

Palavras-Chave: pisoteio do gado, compactação do solo, sob a copa das árvores, áreas abertas, gestão sustentável do solo.

Introduction

According to the European Environmental Agency, the agro-sylvopastoral system called Montado/Dehesa, are classified as High Nature Value Farming Systems (Paracchini, et al., 2008). Combining biodiversity and the pursue of farming on certain types of land and the conservation of regional farming systems (Berrahmouni & Regato, 2007), the Montado/Dehesa systems through agriculture and forestry are targets of public policies concerning the provision of goods supply (Pinto-Correia, et al., 2011). Over the last decades the Montado/Dehesa systems have faced several perturbations, such as intensification and/or extensification, that have led to the landscape change (Pinto-Correia, 1993) and served, both ways, as a menace to their ability for goods supply. Covering nearly 4 million ha of the southwestern Iberian Peninsula and being a system of high importance in the southern European region, due to its economic, social and environmental value; the conservation and management optimization are of great concern in an era of climate change and need of maximum optimization of goods production (Pinto-Correia, et al., 2011).

Measures for soil conservation and protection, aiming to fight the effects of climate change, such no/reduced-tillage and bio-diversification/improvement of pasture plants were applied in 12 pilot areas distributed between Alentejo (Portugal), Extremadura and Andalusia (Spain), and monitorized between 2018 and 2021 (EU-Life, 2016). The LIFE Montado-Adapt project aimed to “promote the adaptation of the Montado/Dehesa system in Portugal and Spain...to mitigate the consequences of climate change...” (LIFE Montado-Adapt, 2022), by evaluating the effects of such soil conservation practices regarding the soil carbon sequestration, promoting water infiltration and soil water retention.

This work presents an assessment of the changes of soil saturated hydraulic conductivity (k_s) and bulk density (BD), prior and after the soil conservation practices took place, between 2018 and 2021, in 4 of the project pilot areas.

Materials and Methods

Study sites

Pilot areas used in this work were (Life Montado-Adapt 2022): Dehesa of Guijo, Malpartida de Plasencia, Cáceres, Spain (n=6, L3); Dehesa of Boyal de la Piedra, Villasbuenas de Gata, Cáceres, Spain (n=6, L4); National Forest of Cabeção, Mora, Portugal (n=8, L8); Ribeira Abaixo, Santa Margarida da Serra, Grândola, Portugal (n=6, L12).

In all the 4 showcased pilot areas, measures such reduced or no tillage, diversified plantation and improved pastures took place, as described by the LIFE Montado-Adapt (2022). In table 1 are presented some general characterization of the presented pilot areas.

Table 1. General conditions and characteristics of the presented pilot areas (LIFE Montado-Adapt, 2022).

pilot area	L3	L4	L8	L12
plot (ha)	6.15	3.8	3.2	4.08
cattle	+	+	-	-
	+	+	-	-
Soil textural classe	Loam	Sandy- loam Loamy- sand	Sandy	Loam Silty-loam
Tree species	<i>Quercus rotundifolia</i> L. <i>Quercus suber</i> L.			

Soil sampling and analysis

Random sampling occurred in two moments the first between January-March of 2018 and the second between June and July of 2021. Each pilot area had six to eight sampling sites, half of the sites were under trees canopy (UC) and the other half in the open field (OF), outside the canopy influence. In each sampling site, two samples were carried out along the N-S axes, about 1 m from the trunk under the tree canopy and

about 2 m apart from each other in the open field areas, with cylinders, of 100 cm³.

The cylinder samples were used to determine the soil bulk density, BD, (g cm⁻³) and the saturated hydraulic conductivity (CaCl₂ 0.005M), k_s (mm h⁻¹), in a laboratory permeameter using the Eijkelkamp® apparatus, with the constant head method.

Soil k_s values were log₁₀ transformed to overcome environmental variability and obey normality assumptions. The presented results are the mean of each two samples (n=52) carried in each sampling site (n=26). Statistical analysis for data description, means T-test ($\alpha=0.05$) were performed using the XLSAT Microsoft® software.

Results and discussion

Soil Hydraulic conductivity, k_s

The observed k_s decreased on average 22%, since the first sampling in 2018, Fig. 1, with statistical significance ($\alpha=0.05$, $p=0.005$, n=26). With the L3 and L4 areas showing the highest soil k_s reduction, 37% and 30% since 2018 (2.25 and 2.35 mm h⁻¹), respectively. It must be noted that these areas are subjected to high livestock grazing pressure, which has been shown to be a cause of soil compaction and soil permeability reduction (Chandler *et al.*, 2018).

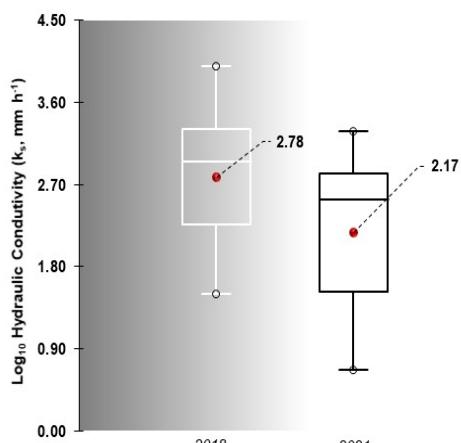


Fig. 1 – BoxPlot's representation of the soil hydraulic conductivity, k_s (Log₁₀, mm h⁻¹), of the 2018 and the 2021 sampling, the means are in bold.

Nevertheless, L8 and L12 areas also presented a decrease, 16 and 13% (2.84 and 3.46 mm h⁻¹), respectively, since 2018. In these cases, the reduced or even no tillage management may have a significant role, especially in L8, where the soil samples are of sand texture. Although seasonal effects on k_s (and on bulk density) are not fully understood, they may have played a role in results obtained (Hu *et al.*, 2012). However, it can be relevant that higher reduction in k_s was observed in the L3 and L4 areas, which are grazing areas.

When assessing the changes in k_s values under and out of tree canopy influence, although there was a trend for a decrease in all pilot areas, the differences were only statistically significative in the OF areas, Fig. 2, where a decrease of nearly 28% was observed. This stresses that soils in OF areas are more prone to stand negative impacts related to cattle, people and machinery traffic, namely due to potentially more traffic intensity in these areas, among other factors.

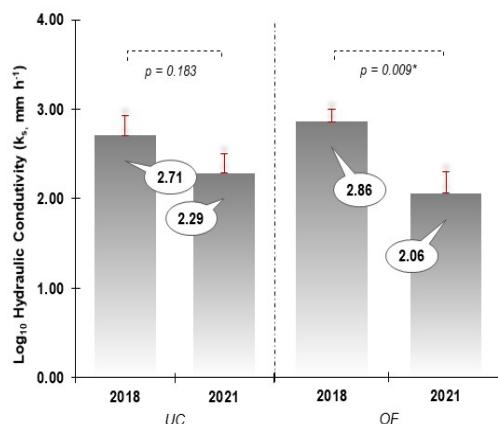


Fig. 2 – Bars and standard errors of the effects of the soil conservation practices system implantation on soil hydraulic conductivity, k_s, under (UC, n=13) and outside (OF, n=13) of tree canopy influence (* $\alpha=0.05$, significance level).

Soil Bulk Density, BD

The soil bulk density increased on average 5% since 2018 (1.23 g cm⁻³), Fig. 3, but no statistical significance was observed. Wherin L3 area showed the

higher increase, 12%, since 2018 (1.16 g cm^{-3}) while L4 and L8 only increased 4 and 5% (1.37 and 1.20 g cm^{-3}), respectively. However, L12 area decreased 4% in relation to the observed 2018 BD (1.20 g cm^{-3}), with no statistical significance. It must be noted that the L8 had an outlier, prompted by the presence of a stone in the collecting cylinder. Without this outlier, the L8 area BD also decreases, nearly 3% ($n=5$).

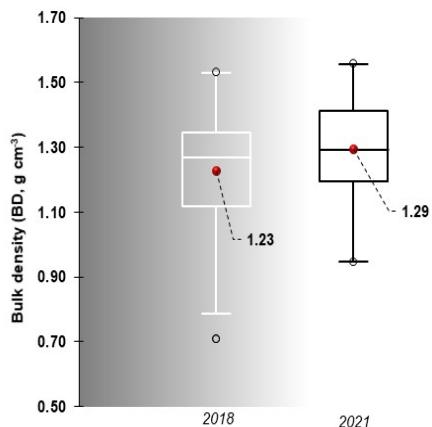


Fig. 3 – BoxPlot's representation of the soil Bulk density, BD (g cm^{-3}), of the 2018 and the 2021 sampling, the means are in bold.

The average soil BD increase in the L3 and L4 areas may be the effect of the livestock high density in these pilot areas (Chandler, et al, 2018), which is not observed in the L12 and L8 (without the outlier). There were no observed statistical significant changes in the samples collected in the UC or OF sites, with the soil conservation practices.

Conclusion

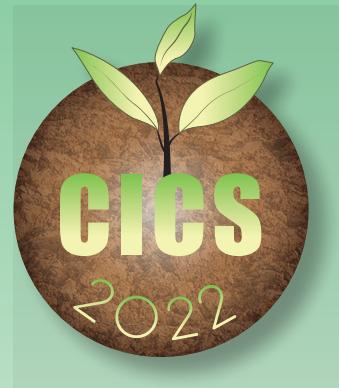
Although the observed mean decrease in soil k_s and mean increase in soil BD may express a more compacted superficial layer as a consequence of the reduced/no tillage practices, cattle, machinery and people traffic, the soil conservation practices may already be stressing its effects on soil physical properties, such k_s and BD, especially in the areas where no livestock pressure exists. It should also be noted that the sampling collecting moments took place in different seasons, which are known to have effects over k_s and BD, although not yet fully understood.

Acknowledgments

Rui Bajouco and Claudia Penedos were supported by LIFE15 CCA/PT/000043 MONTADO & CLIMATE; A NEED TO ADAPT.

References

- Berrahmouni, N., & Regato, P. (2007). Cork oak forest landscapes: a whole world beyond cork. In: Berrahmouni, N., Escuté, X., Regato, P., Stein, C. (eds) Beyond cork — a wealth of resources for people and nature: lessons from the Mediterranean. WWF Mediterranean Programme, Madrid, pp 8–16
- Chandler, K., Stevens, C., Binley, A., & Keith, A. (2018). Influence of tree species and forest land use on soil hydraulic conductivity and implications for surface runoff generation. Geoderma, 310, 120-127.
- EU-Life public database, European Commission, LIFE-Montado-adpat on LIFE Public Database. (2016). MONTADO & CLIMATE; A NEED TO ADAPT. (Inquiry: 2022-04-10) https://webgate.ec.europa.eu/life/publicWebsite/index.cfm?fuseaction=search.dspPage&n_proj_id=5658
- Hu, W., Shao, M.A. and Si, B.C. (2012), Seasonal changes in surface bulk density and saturated hydraulic conductivity of natural landscapes. European Journal of Soil Science, 63: 820-830. doi: [10.1111/j.13652389.2012.01479.x](https://doi.org/10.1111/j.13652389.2012.01479.x)
- LIFE MONTADO-ADAPT, Montado & Climate, a need to adapt. (Inquiry: 2022-04-10) <https://www.lifemontadoadapt.com/index.php>
- Paracchini, M., Petersen, J., Hoogeveen, Y., Bamps, C., Burfield, I., & van Swaay, C. (2008). High nature value farmland in Europe: an estimate of the distribution patterns on the basis of land cover and biodiversity data. European Commission, Joint Research Centre, Institute for Environment and Sustainability, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg
- Pinto-Correia, T. (1993). Threatened landscape in Alentejo, Portugal: the 'montado' and 'agro-other-silvo-pastoral' systems. Landscape and Urban Planning, 24, 43-48. doi: [10.1016/0169-2046\(93\)90081-N](https://doi.org/10.1016/0169-2046(93)90081-N)
- Pinto-Correia, T., Ribeiro, N., & Sá-Sousa, P. (2011). Introducing the montado, the cork and holm oak agroforestry system of Southern Portugal. Agroforestry Systems, 82, 99–104. doi: [10.1007/s10457-011-9388-1](https://doi.org/10.1007/s10457-011-9388-1)



Solos e temas societais

Comunicações orais

O conhecimento e a gestão sustentável dos solos agrícolas em Portugal: barreiras e oportunidades

Knowledge and sustainable management of agricultural soils in Portugal: barriers and opportunities

Castanheira, Nádia Luisa^{1*}; Paz, Ana Marta¹; Gonçalves, Maria Conceição¹

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Laboratório de Solos, Avenida da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal.

* nadia.castanheira@iniav.pt

Resumo

Atualmente existem sérios desafios que colocam pressão no recurso solo. A gestão sustentável dos solos agrícolas é indispensável para atenuar estas pressões e para aumentar a contribuição destes solos para alguns dos principais desafios da sociedade, como a adaptação e mitigação das alterações climáticas. No âmbito do EJP SOIL foi realizada uma consulta organizada a vários administradores do recurso solo para avaliar o conhecimento e gestão do solo agrícola em Portugal. Este estudo teve como objetivo identificar importantes barreiras e desafios que afetam atualmente o conhecimento do solo agrícola, mas também avaliar oportunidades para superar essas barreiras. Entre as barreiras mais importantes identificadas estão as de natureza técnica, *networking*, comunicação e económicas, que muito limitam o desenvolvimento e o pleno uso do conhecimento proveniente da investigação em solos. Os resultados deste estudo sugerem que a gestão sustentável do solo será beneficiada com: aumento de financiamento para investigação, estabelecimento de ensaios experimentais de longo prazo, criação de redes de conhecimento e infraestruturas nacionais ligadas às que operam a nível europeu e desenvolvimento de estratégias regionais de gestão do solo. O conjunto destas medidas contribuem para ecossistemas de solo mais saudáveis, resilientes e sustentáveis em Portugal.

Palavras-chave: solos agrícolas, conhecimento do solo, desafios do solo, gestão sustentável do solo.

Abstract

There are currently serious challenges that place great pressure on soil resources. The sustainable management of agricultural land is essential to alleviate these pressures and to increase the contribution of these soils to some of the main challenges facing society, such as adaptation and mitigation of climate change. Within the scope of the EJP SOIL, an organized consultation was carried out with several administrators of the soil resource to assess the knowledge and management of agricultural soils in Portugal. This study aimed to identify important barriers and challenges currently affecting agricultural soil knowledge, but also to assess opportunities to overcome these barriers. Among the most important barriers identified are those of a technical, networking, communication, and economic nature, which greatly limit the development and full use of knowledge from soil research. The results of this study suggest that sustainable soil management will benefit from: increased funding for research, establishment of long-term experimental trials, creation of knowledge networks and national infrastructures linked to those operating at European level and development of regional strategies for soil management. All these measures contribute to healthier, resilient and sustainable soil ecosystems in Portugal.

Keywords: agricultural soils, soil knowledge, soil challenges, sustainable soil management.

Introdução

Muitas pressões são colocadas nos solos, a população mundial não pára de aumentar, as cidades expandem-se, ocorrem mudanças climáticas, os regimes alimentares alteram-se, há insegurança alimentar, existe pobreza, perda de biodiversidade, poluição, migração, pandemias, enquanto os solos agrícolas progressivamente se degradam (FAO-ITPS, 2020). A gestão sustentável dos solos é essencial para atenuar muitas das pressões que o solo enfrenta. Recentemente, foi elaborado um protocolo (FAO-ITPS, 2020) para avaliar se num determinado solo as práticas de gestão estão alinhadas com as práticas definidas nas Diretrizes para a Gestão Sustentável do Solo (FAO-ITPS, 2015). Este protocolo refere um conjunto de indicadores-chave e ferramentas para avaliar as funções do solo com base nas suas propriedades físicas, químicas e biológicas.

Atualmente, os solos estão no topo da agenda política da União Europeia (UE) com a missão na área da saúde do solo e alimentação (Mission Soil Health and Food), a estratégia temática do solo da UE e com o lançamento do Observatório Europeu dos Solos (EUSO). O Programa Conjunto Europeu EJP SOIL ([www.*https://ejpsoil.eu/*](https://ejpsoil.eu/)) pretende criar uma comunidade europeia de investigação sobre o solo agrícola e alinhar as prioridades de investigação nacionais com as ambições da Comissão Europeia (CE). Trata-se de uma parceria público-pública de cofinanciamento de investigação. Criou-se um consórcio com 26 institutos de investigação e universidades de 24 países europeus (o INIAV é o responsável em Portugal). Estes países aliaram-se com o objetivo de aumentar a contribuição dos solos agrícolas para alguns dos principais desafios da sociedade, tais como: a adaptação e mitigação das alterações climáticas, a produção agrícola sustentável, a prestação de serviços dos ecossistemas e a prevenção e mitigação da degradação do solo. Para criar sintonia entre todos os administradores do recurso solo, as atividades do EJP SOIL ocorrem em interação com os utilizadores finais, estados-membros, a Direção-Geral de

Agricultura e Desenvolvimento Rural da CE (DG AGRI) e os *stakeholders*. A nível europeu, foram consultados *stakeholders* com o objetivo de caracterizar o atual estado do conhecimento sobre solos agrícolas na UE. Considerou-se que o conhecimento pode ser estruturado em quatro fases (adaptado de Dalkir, 2005): i) desenvolvimento ii) harmonização, organização e armazenamento, iii) partilha e transferência e iv) aplicação. O objetivo deste estudo é apresentar os resultados desta consulta aos *stakeholders* portugueses. São identificadas e priorizadas barreiras e oportunidades para a melhoria do conhecimento do solo agrícola em Portugal.

Material e métodos

As consultas participativas aos *stakeholders* ocorreram entre junho e setembro de 2020. No total, cerca de 329 *stakeholders* nos vários países europeus deram o seu contributo. Em Portugal, foi consultado o *National Hub*, um grupo de 20 *stakeholders* constituído no âmbito do EJP SOIL. A consulta foi feita através de preenchimento de um questionário online. Obtiveram-se contributos de 19 *stakeholders* distribuídos por várias classes (Fig. 1).

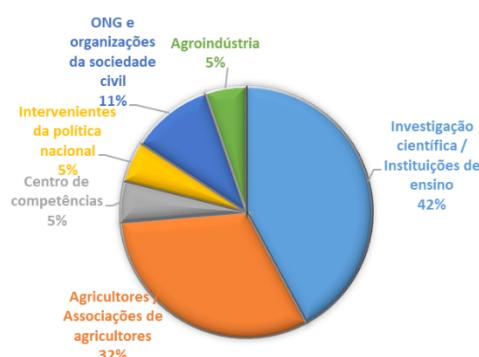


Fig. 1 – Proporção das classes de *stakeholders* que participaram no questionário EJP SOIL.

Verificou-se equidade de género, 17 *stakeholders* têm idades entre 40 e 69 anos e todos possuem formação superior. As questões formuladas foram iguais para todos os países do EJP SOIL e o questionário foi organizado em duas seções: 1) priorização dos desafios de

gestão do solo agrícola para cada país participante, e 2) identificar, de uma lista pré-definida, quais as barreiras que afetam atualmente o conhecimento do solo, mas também identificar oportunidades para o melhorar. As barreiras e oportunidades encontram-se organizadas em quatro fases do conhecimento do solo. Assim, obtém-se informações sobre a contribuição do conhecimento do solo para superar os desafios do solo agrícola.

Resultados e discussão

Os *stakeholders* portugueses priorizaram os desafios de gestão do solo agrícola de entre os onze considerados no âmbito do EJP SOIL, conforme mostra a Fig. 2. O desafio considerado mais relevante em Portugal foi “Manter/aumentar a matéria orgânica” do solo, o que pode ser explicado pelo fato de em geral, os solos do país não serem muito ricos em matéria orgânica. “Evitar a erosão do solo” foi o segundo desafio mais referido. Em terceiro lugar estão os desafios “Aumentar a capacidade de retenção de água pelo solo” e “Melhorar a estrutura do solo”. No nosso país, em que mais de metade da produção agrícola é dependente de regadio, os desafios relacionados com a redução da erosão e com a retenção da água no solo seriam esperados.

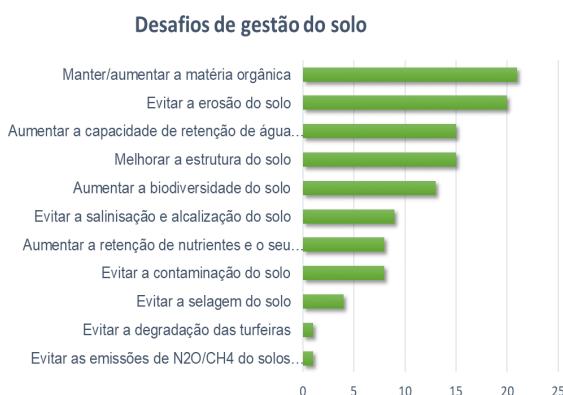


Fig. 2 - Desafios de gestão dos solos mais relevantes em Portugal (consulta aos *stakeholders* - EJP SOIL).

A maioria dos *stakeholders* entrevistados concordam que é deficiente a coordenação do uso e da produção do conhecimento em solos (Fig. 3.). O acesso dos agricultores à informação relevante e a articulação entre

as atividades de investigação e as entidades legisladoras, é considerada deficiente e a precisar de melhorias. Nas opiniões recolhidas, o acesso à informação é dependente de serviços e informações veiculados por empresas e agentes comerciais (por exemplo maquinaria, agroquímicos, sistemas de rega). A utilização da comunicação social e da imprensa escrita na transferência de conhecimento é ainda considerada fraca. É referido por alguns *stakeholders* que existe alguma desinformação na comunicação social, informação dispersa e até contraditória, e que as medidas políticas desconsideram as especificidades das regiões. De modo geral, é considerada fraca a eficácia do atual sistema em comunicar conhecimentos aos agricultores.

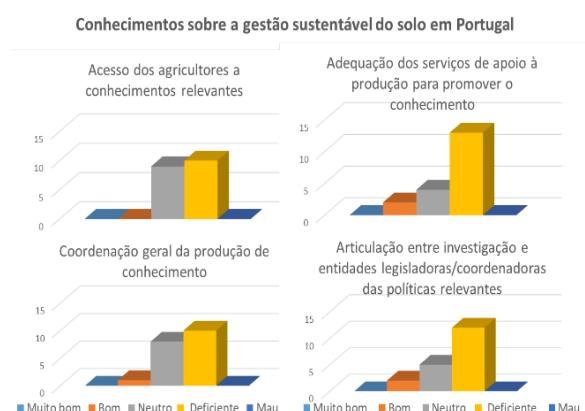


Fig. 3. Opinião dos *stakeholders* sobre a estrutura e os processos do conhecimento sobre a gestão sustentável dos solos em Portugal (consulta - EJP SOIL).

Na segunda fase da consulta, pediu-se para identificar quais as barreiras que afetam atualmente o conhecimento do solo, e quais as oportunidades para superar essas barreiras. Na Fig. 4 estão as três barreiras mais referidas. Na fase de aplicação do conhecimento é identificada a falta de uma estrutura de comunicação que facilite a divulgação do conhecimento em solos. Alguns *stakeholders* também referem que os grupos com mais capacidade para fazer esta divulgação são os grupos de interesse do agricultor, os serviços de aconselhamento e extensão rural e as associações de produtores. As três oportunidades mais referidas pelos *stakeholders* para as fases do conhecimento encontram-se na Fig. 5.

Continua a ser necessária mais e melhor comunicação entre todos os setores para que haja partilha de conhecimento e até aumentar a consciência do solo para a sociedade. Valorizar e financiar estudos de longo prazo é identificada como uma oportunidade para desenvolver conhecimento em solos agrícolas. Identifica-se a necessidade de criar um repositório de informações acessível e infraestruturas nacionais de dados de solo interativas.



Fig. 4. As três barreiras mais votadas em cada uma das quatro fases do processo de conhecimento dos solos: 1) desenvolvimento, 2) partilha e transferência, 3) harmonização, organização e armazenamento, 4) aplicação (consulta aos stakeholders - EJP SOIL).



Fig. 5. As três oportunidades mais votadas em cada uma das quatro fases do processo de conhecimento dos solos: 1) desenvolvimento, 2) partilha e transferência, 3) harmonização, organização e armazenamento, 4) aplicação (consulta aos stakeholders - EJP SOIL).

Conclusões

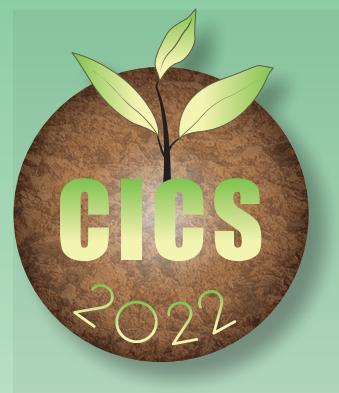
Os resultados deste estudo indicam que a maioria das barreiras (33%) e oportunidades (30%) para superar os desafios do solo agrícola em Portugal, foram identificadas na fase de desenvolvimento de novo conhecimento em solos. A maioria das barreiras identificadas são de natureza técnica, *networking* e de comunicação. As oportunidades mais identificadas são de natureza técnica, capacitação e política. De modo geral, não são considerados suficientes os recursos disponíveis para disseminar conhecimento sobre gestão sustentável do solo em Portugal. O aumento do financiamento para a investigação, o estabelecimento de estudos experimentais de longo prazo, juntamente com a criação de redes de conhecimento e infraestruturas nacionais ligadas às que operam a nível europeu, e o desenvolvimento de estratégias regionais de gestão do solo, são identificadas como ações-chave a serem executadas o mais rápido possível, contribuindo para ecossistemas de solo mais saudáveis.

Agradecimentos

Os resultados apresentados foram obtidos no âmbito do programa europeu EJP SOIL “Towards climate-smart sustainable management of agricultural soils”, financiado pelo programa de pesquisa e inovação H2020 da União Europeia ao abrigo do acordo nº 862695. Agradece-se a colaboração do *National Hub* português. Agradece-se à DGADR pelo apoio na constituição do *NH* e na consulta aos stakeholders.

Referências bibliográficas

- Dalkir, K. (2005). Knowledge Management in Theory and Practice (1st ed.). Routledge.
<https://doi.org/10.4324/9780080547367>
- FAO-ITPS (2020). Protocol for the assessment of Sustainable Soil Management. Roma. Disponível em:
http://www.fao.org/fileadmin/user_upload//GSP/SSM/SSM_Protocol_EN_006.pdf
- FAO-ITPS (2015). Diretrizes Voluntárias para a Gestão Sustentável dos Solos. Roma. (VGSSM publicadas em português pela Parceria Portuguesa para o Solo). Disponível em:
<http://www.fao.org/3/i6874pt/l6874PT.pdf>



Solos e temas societais

Posters

Monolitos edafológicos: una herramienta útil para dar a conocer el suelo más allá del ámbito universitario

Soil monoliths: a useful tool to raise soil awareness beyond the academic university field

Taboada-Castro, M.M.¹, Lafuente, F.¹, Getino-Álvarez, M.^{1,2*}, Martín Sanz, R.C.^{1,2,3}, Turrión, M.B.^{1,2}

¹ Área de Edafología y Química Agrícola, Dpto. Ciencias Agroforestales, E.T.S. Ingenierías Agrarias Palencia (Universidad de Valladolid). Av. de Madrid, 57, 34004 Palencia, España

² Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible (Universidad de Valladolid). Av. de Madrid, 57, 34004 Palencia, España.

³ Dpto. Ecología y Genética Forestal, Centro de Investigación Forestal (CSIC, INIA). Carretera de La Coruña, km 7,5, 28040 Madrid, España.

*marina.getino@uva.es

Resumen

El potencial didáctico de los monolitos edafológicos es bien conocido en ámbitos relacionados con la Ciencia del Suelo; sin embargo, los eventos divulgativos sobre el suelo, aunque en auge, son todavía escasos. El Área de Edafología y Química Agrícola de la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de Palencia (Universidad de Valladolid) ha promovido la creación de una colección de monolitos de suelos característicos de las provincias de Palencia y Valladolid. Esta iniciativa surge con fines educativos, divulgativos y de sensibilización ambiental. Actualmente cuenta con dos mononolitos listos para ser expuestos junto con información adicional detallada. Su uso más inmediato será formar parte de una exposición sobre bosques y cambio climático en el Museo de la Ciencia de Valladolid, un evento integrado dentro del Proyecto "Ciencia en acción: Bosques y emergencia climática" (FECYT). En este contexto se pretende dar visibilidad al papel crucial de los suelos para combatir el cambio climático como secuestradores de CO₂ entre un público no especializado. A corto plazo los monolitos se utilizarán en talleres de divulgación dentro de "La Noche Europea de los Investigadores" o la "Semana de la Ciencia de Castilla y León", entre otros. Esta colección se irá ampliando en los próximos años y su uso se irá diversificando.

Palabras clave: Monolitos, suelo, divulgación, sensibilización ambiental, exposición itinerante.

Abstract

The didactic potential of soil monoliths is well known in areas related to soil science. However, informative events on soil, although on the rise, are still scarce. The Soil Science and Agricultural Chemistry Department of the Higher Technical School of Agricultural Engineering of Palencia (University of Valladolid) has promoted the creation of a collection of monoliths of characteristic soils from the provinces of Palencia and Valladolid. This initiative arises with educational, disseminative and environmental awareness purposes. There are currently two monoliths ready to be exhibited along with additional detailed information. Its most immediate use will be to take part in an exhibition on forests and climate change at the Science Museum of Valladolid, an event integrated within the project "Science in action: Forests and climate emergency" (FECYT). In this context, the aim is to draw attention to the crucial role of soils in tackling climate change as CO₂ sequestrators among a non-specialist public. In the short term, the monoliths will be used in outreach workshops as part of the "European Researchers' Night" or the "Castilla y León Science Week", among others. This collection will be expanded in the coming years and their use will be diversified.

Keywords: Monoliths, soils, scientific dissemination, environmental awareness, travelling exhibition.

Introducción

Los monolitos son ejemplares de un perfil de suelo que se extraen con la mínima perturbación y se preparan con la finalidad de ser expuestos. Representan una herramienta muy útil, ya que de su observación directa se puede extraer información de la organización del suelo (tipos, espesor y disposición de horizontes), de las propiedades morfológicas, tales como color, textura, granulometría, estructura, actividad biológica, profundidad de la actividad de las raíces, acción de la fauna, presencia de inclusiones, etc. Permiten además profundizar en los procesos que, durante miles de años, dieron origen a los suelos, por la acción del clima, la vegetación y el relieve a partir de la roca madre y que se manifiesta en los horizontes que conforman el perfil edáfico.

A nivel mundial existen colecciones de monolitos, algunas de ellas con más de un centenar de ejemplares como en el World Soil Museum (Wageningen, Holanda). En Latinoamérica cabe mencionar la importancia de la colección exhibida en el museo Agustín Codazzi (Colombia) y otras colecciones como las del INTA (Argentina), el Colegio de Postgraduados (Montecillo, México), etc., algunas de ellas en vías de ampliar los perfiles para obtener una representación lo más completa posible de los diferentes órdenes de suelo de cada país. Los museos de suelos, como tales, son escasos en España; no obstante, en algunas universidades o Centros de Investigación se está potenciando la creación de colecciones de monolitos de suelos, siendo ejemplo de ello la Universidad de Murcia, la Universidad de Granada, la Universidad de Santiago de Compostela y el Centro de Interpretación de Suelos del Pirineo del Institut Cartogràfic i Geològical de Catalunya y del Entorn d'Aprenentage de Tremp.

Las colecciones de perfiles inalterados son de gran ayuda no solo para la enseñanza de la Ciencia del suelo sino también para actividades de divulgación científica y de sensibilización sobre el medioambiente (Aguilar Solà & Lladós Soldevilla, 2019; Alcalde Aparicio, 2015). La utilidad de los

monolitos para transmitir información sobre el suelo se incrementa cuando se combinan con información fácilmente comprensible para el público al que va destinado (Lawrie & Enman, 2010). Las colecciones de monolitos presentan ciertas ventajas en comparación con otros elementos o actividades de divulgación y docencia sobre suelos (Lawrie & Enman, 2010), entre las que cabe destacar que: a) son transportables, b) se pueden reutilizar infinidad de veces, c) permiten comparar fácilmente perfiles de suelos o agruparlos para explicar algún proceso o característica concreta, d) facilitan el trabajo en grupo, f) se pueden exponer durante largos períodos, g) permiten hacer exposiciones temporales y temáticas a nivel divulgativo, h) pueden ser utilizados a nivel docente para asignaturas relacionadas con la enseñanza del suelo, i) son intercambiables entre instituciones permitiendo mostrar la diversidad de suelos en diferentes áreas, j) se pueden incrementar paulatinamente hasta tener una representación de los suelos característicos de una zona concreta, etc. Por el contrario, los monolitos presentan algunos inconvenientes obvios respecto del perfil del suelo en campo: a) el suelo no puede ser apreciado ni manipulado con las manos, b) ciertas propiedades físicas (variaciones del contenido de humedad, consistencia, etc.), y ciertos rasgos de actividad biológica no pueden observarse adecuadamente.

Teniendo en consideración lo tratado anteriormente, el Área de Edafología y Química Agrícola de la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias del campus de Palencia de la Universidad de Valladolid ha tomado la iniciativa de crear una colección de monolitos elaborando inicialmente dos de ellos, y continuarla paulativamente hasta alcanzar un número de perfiles representativos de los suelos de las provincias de Valladolid y Palencia.

Los dos monolitos elaborados hasta el momento se usarán en exposiciones y talleres divulgativos en los que participa habitualmente el Área sin obviar, su utilidad como recurso docente, experiencia no tratada en este artículo.

Material y métodos

Se seleccionaron dos perfiles: uno procedente de un suelo del páramo calizo sobre el que se asienta una masa forestal de *Quercus ilex* y el otro, un suelo antropizado de una llanura fluvial del río Carrión (Fig.1), ambos localizados en las inmediaciones de la ciudad de Palencia.



Fig. 1 – Investigadores del Área de Edafología y Química Agrícola de la ETSIIAA de Palencia en el proceso de extracción de uno de los perfiles.

Tras la extracción en campo y su posterior consolidación en laboratorio, utilizando como fijador cola blanca (acetato de polivinilo) (Fig.2), se preparó un sistema de exposición transportable y se elaboraron paneles informativos.



Fig. 2 – Monolito resultante de uno de los perfiles considerados tras la impregnación y tallado en el laboratorio.

Los paneles informativos incluyen fotografías de los paisajes en donde se obtuvieron los monolitos, datos analíticos,

descripción del perfil y de las variables que intervienen en su evolución, uso y manejo de los suelos. Constan además de un texto explicativo y de infografías con información fácilmente comprensible sobre como los suelos ayudan a combatir el cambio climático en su papel de secuestrador de CO₂, y cómo el uso y manejo de estos pueden dañar esta acción mitigadora con consecuencias potencialmente graves. Se incluyen códigos QR con información útil para aquellos visitantes que deseen profundizar en esta temática.

Resultados y discusión

Las actividades descritas se llevarán a cabo a lo largo de este año, por lo que solo se puede hablar de resultados esperables. Mencionar, no obstante, que esta iniciativa ha sido difundida entre la comunidad universitaria de la Universidad de Valladolid a través de su página Web “Ha sido Noticia en la UVA” con motivo de la celebración del Día Mundial del Suelo (2022). De forma indirecta, se ha publicitado a nivel local en el “Calendario 2022 por la Igualdad” editado por el Ayuntamiento de Palencia. En este se incluye una fotografía (Fig.3) con el lema “Igualdad en la Investigación, en la creación de conocimiento, en la búsqueda de nuevas posibilidades y también en los cuidados de la delicada piel de la Tierra”.



Fig. 3 – Publicación en el “Calendario 2022 por la Igualdad”, Ayuntamiento de Palencia. Miembros del Proyecto trabajando durante el proceso de consolidación de uno de los monolitos.

Los dos monolitos creados se usarán en diferentes actividades divulgativas. En primer lugar, se exhibirán en una exposición en el Museo de la Ciencia de Valladolid que será inaugurada durante el mes septiembre del año en curso y cuya temática versará sobre los bosques y el cambio climático. Este evento se encuadra dentro de un proyecto para el fomento de la cultura científica, tecnológica y de la innovación de la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT) titulado "*Ciencia en acción: bosques y emergencia climática*", en el que participan un elevado número de investigadores de varias universidades y centros de investigación (UVa, CSIC, UdL y CITA Aragón). En esta exposición de naturaleza multidisciplinar se espera que la combinación de los monolitos con su información complementaria, por un lado, ofrezca al público una visión general sobre la importancia del suelo como recurso natural no renovable por el tiempo que conlleva su formación y, por otro lado, concienciarlo sobre la importancia que tiene conocer, proteger y conservar los suelos, en tanto que si estos son suelos sanos pueden actuar como un aliado estratégico para la mitigación y adaptación al cambio climático, ya que los suelos secuestran y retienen CO₂, evitando emisiones a la atmósfera.

En segundo lugar, se utilizarán en actividades o talleres divulgativos que se organizan anualmente, y en los que se darán a conocer los suelos característicos de nuestro entorno, las funciones que desempeñan como componentes de los ecosistemas y la necesidad de su cuidado y conservación entre otras. Estos talleres se llevarán a cabo dentro del contexto de "La Noche Europea de los Investigadores", la "Semana de la Ciencia de Castilla y León, el "Bachillerato de Investigación y Excelencia", modalidad Ciencias y Tecnología, en el que la ETSIIAA de Palencia colabora con el Instituto de Educación Secundaria Trinidad Arroyo (Palencia), el Taller teórico-práctico: "Los secretos del suelo, un mundo oculto bajo nuestros pies" y en las "Jornadas de puertas abiertas de la ETSIIAA". Se prevé, además, que la Diputación de Palencia se

haga eco de esta acción incluyendo información sobre los monolitos en los dípticos y trípticos que se ofrecen a los visitantes. Por último, la colección de monolitos se exhibirá de forma permanente en la ETSIIAA de Palencia y constituirá un material docente complementario para mejorar el proceso de enseñanza-aprendizaje de las materias relacionadas con el suelo impartidas en este centro.

La viabilidad de los monolitos como herramienta divulgativa será evaluada a través del número e interés de los visitantes a las exposiciones y mediante encuestas de satisfacción realizadas a los participantes de los diversos talleres.

Agradecimientos

A la FECYT por su apoyo a través de la convocatoria de Proyectos para el fomento de la cultura científica, tecnológica y de la innovación (FECYT 2021): "*Ciencia en acción: bosques y emergencia climática*" (Ref. 15850).

A la Universidad de Valladolid por su apoyo a través de la convocatoria de Proyectos de Innovación Docente: "*El uso de monolitos de suelos como recurso docente, divulgativo y de sensibilización ambiental*"(PID 21_22_147).

Referencias bibliográficas

- Aguilar Solà, C., & Lladós Soldevilla, A. (2019). Descubriendo la importancia y la diversidad de los suelos mediante monolitos de suelo. Recursos didácticos para la enseñanza secundaria. *Enseñanza de las Ciencias de la Tierra*, 2(1), 31-37.
- Alcalde Aparicio, S. (2015). Impulso y difusión de la Ciencia del Suelo en el 2015, Año Internacional de los Suelos (AIS 2015). *Enseñanza de las Ciencias de la Tierra*, 23(3), 330-342.
- Lawrie, R., & Enman, B. (2010). Using monoliths to communicate soil information. In: *Proceedings of the 19th World Congress of Soil Science: Soil solutions for a changing world, Brisbane, Australia*. Symposium 4.4.1 Delivering soils information to non-agriculture users (pp. 30-33).

Projeto ERASMUS+ Terratech na persecução dos objetivos da Estratégia do Prado ao Prato

Terratech ERASMUS+ project tackling the objectives of the Farm to Fork Strategy

¹Ruth Pereira*, ²George Katranas, ¹Sofia Oliveira, ¹Susana Carvalho, ³Theodoros Kosmanis, ⁴Péter Féjer, ⁵Anabela Cachada, ⁵Verónica Nogueira, ¹Tânia Fernandes, ^{6,7}Andreas Riel, ⁸Matteo Gatti, ⁹Nicoleta Alina Suciu, ¹⁰Albert Bel Pereira, ¹¹Edmunds Jason, ¹²Christiane Haberl, ¹³Ali Akbar, ¹⁴Chariton Kalaitzidis, ¹⁵Stephane Volant, ¹⁶Bruno Fonseca, ¹⁷Dimitrios Schoinoplokakis

¹GreenUPorto, Faculty of Sciences, University of Porto, Porto, Portugal

²Cerca Trova Ltd, Sofia 1000, Bulgaria

³International Hellenic University, Thessaloniki, Greece

⁴University of Debrecen, Debrecen, Hungary

⁵CIIMAR & Faculty of Sciences, University of Porto, Porto Portugal

⁶Univ. Grenoble Alpes, CNRS, Grenoble INP, G-SCOP, 38000 Grenoble, France

⁷ECQA GmbH, 3500 Krems, Austria

⁸DI.PRO.VE.S, Università Cattolica del Sacro Cuore, 29122 Piacenza, Italy

⁹DiSTAS, Università Cattolica del Sacro Cuore, 29122 Piacenza, Italy

¹⁰Departament de Tecnologies de la Informació i les Comunicacions

Network Technologies and Strategies, Universitat Pompeu Fabra, Roc Boronat, 138 08018 Barcelona

¹¹Vidzeme University of Applied Sciences, Čēsu iela 4, Valmiera, LV-4201, Latvia

¹²Evolutionary Archetypes Consulting SL., Calle Espronceda 136, 7o, 3a, 08005 Barcelona, Spain

¹³AgriWatch, Weerninklanden 24, Enschede, the Netherlands

¹⁴Mediterranean Agronomic Institute of Chania, Alsyllio Agrokipiou, 1 Makedonias, P.O. Box 85, 73100, Chania, Greece

¹⁵Fédération Régionale des cuma de l'Ouest, 73 Rue de St Brieuc - CS 56520 35065, Rennes Cedex, France

¹⁶Agroop Lda (AGP), Parque Tecnológico de Óbidos, Edifícios Centrais, Sala 8 R/C, Rua da Criatividade, 2510-216 Óbidos, Portugal

Ktima Filippou , Loysakies Kisamoy, 73400, Chania, Greece

*ruth.pereira@fc.up.pt

Resumo

O sucesso da estratégia do Prado ao Prato, que visa a transição para a sustentabilidade da agricultura europeia, irá depender das soluções tecnológicas já existentes e das que se irão desenvolver num futuro próximo. Estas tecnologias permitirão integrar diversos fatores (ex.: propriedades do solo, fatores climáticos, fatores intrínsecos das cultívaras) em avaliações preditivas das necessidades de água e nutrientes, da sintomatologia de pragas e infecções, e assim contribuir para respostas precoces, precisas e automatizadas com menor consumo de recursos e de agroquímicos. Do mesmo modo, será possível uma melhor gestão espacial do uso do solo. Contudo, a digitalização em larga escala da produção agrícola depende da eliminação de diversas barreiras sociológicas, como a iliteracia digital de muitos agricultores e técnicos de campo. Neste contexto, um consórcio formado por 14 parceiros europeus, desenvolveu o Projeto TERRATECH, submetido ao Programa ERASMUS+, que visa o desenvolvimento de um curso de mestrado em Agricultura 4.0. Durante os primeiros 18 meses, o consórcio desenvolveu o plano de estudos e os materiais didáticos para as aulas teóricas, de campo e laboratoriais. O curso inclui um período de mobilidade dos estudantes em empresas da indústria agroalimentar. O objetivo é desenvolver uma formação que possa ser transferida a outras universidades.

Palavras-chave: digitalização, sistemas de produção, agricultura 4.0, educação, Curso de mestrado

Abstract

The success of the Farm to Fork strategy, aimed at the transition to the sustainability of European agriculture, will depend on the technological solutions that already exist and the ones that will be developed. These new technologies will allow the integration of several factors (e.g.: soil properties, climatic factors, intrinsic factors of the cultivars) in predictive assessments of water and nutrient needs, of the symptoms of pests and infections, and thus contribute to early, accurate and automated responses with less consumption of resources and agrochemicals. Similarly, better spatial management of land use will be possible. However, the large-scale digitization of agricultural production systems depends on the elimination of several sociological barriers, such as the digital illiteracy of many farmers and soil advisors. In this context, a consortium formed by 14 European partners, developed the TERRATECH Project, submitted to the ERASMUS+ Program, which aims to develop a master's course in Agriculture 4.0. During the first 18 months, the consortium developed the study plan and teaching materials for theoretical, field and laboratory classes. The course includes one period of student mobility in companies in the agri-food industry. The objective is to develop training that can be transferred to other universities.

Keywords: digitalization, production systems, agriculture 4.0 education, MSc Course

Introduction

The Farm to Fork Strategy, a core component of the European Green Deal, aligned with the new CAP and other European policies, assumes the urgency of farmers to make the transition for more sustainable production systems relying on nature-based, technologic, digital, and space-based solutions. The aim is to guarantee the climate resilience of the systems, the protection of natural resources, the improvement of health and quality of life of people, and the income of farmers (EC, 2020).

Sensors and remote sensing using satellites may allow an accurate evaluation of crops (phenotypes, yield and conditions) increasing the capacity of predicting needs, with a subsequent on-site optimization of irrigation, fertilization and pesticides inputs. These and other Internet of Things (IoT) technologies, associated with wireless sensor networks, cloud computing, middleware systems and mobile applications allow a strict control of crop conditions and automation of several processes, both in field and under protected crop cultivation. Enhanced computation capabilities and infrastructures allows the storage and processing of great amount of information, including different variables with a great spatial and temporal coverage, while artificial intelligence (AI) obtains algorithms for trends' analysis, large-scale monitoring (e.g. variation of soil organic carbon content of soils) and knowledge acquisition (Gómez-Chabla, et al., 2019; Garske et al., 2021).

The transformation of the agri-food sector thus depends on innovation, knowledge and skill development for the transition from hands-on food producers, used to manage simplified agroecosystems, to data-driven managers of complex ecosystems, taking into account several variables (e.g. soil properties, climate conditions, biodiversity etc.) (Reinhart, 2021). The lack of appropriate infrastructures in rural areas, the lack of digital literacy of farmers, which also results in the lack of trust on technology providers, have been identified as serious barriers to the incorporation of

innovative digital solutions in agriculture (Reinhart, 2021). It has already been assumed that the success of the Farm to Fork strategy and of the new Common Agriculture Policy (CAP 2023-27) deeply relies on digital training and educational programs aimed in up-skill new generations of farmers, advisors and other agriculture stakeholders, and in re-skilling them during their working lives (AIOTI, 2019). The new generation of engineers and data scientists also need to have agronomic literacy to better communicate with farmers and advisors and to develop tailored solutions for their perceived needs.

In this context, after an analysis of the education programs offered at the European level, it was concluded that currently there were no hands-on IoT courses dedicated to the application of these systems to the Farming industry, in all 137 agriculture educational institutions. Hence, the ERASMUS+ project TERRATECH (Ref. 621568-EPP-1-2020-1-PT-EPPKA2-KA) was proposed and is ongoing.

The main aim of this project is to develop an advanced interactive MSc course related to Agriculture IoT Engineering that will train individuals with the necessary skills and knowledge to work in the rising "Smart Agriculture" industry. The course is also formulated to stimulate transversal competences such as the increased sense of initiative and entrepreneurship and will accept students with two main background profiles: agronomy and engineering.

Material and methods

This project is being carried out by a consortium formed by 14 partners, from seven European Countries, including small and medium enterprises (SMEs) in the technological and certification fields, universities, research centres and farm associations, namely:

- University of Porto/GreenUPorto, Portugal (UPorto)
- International Hellenic University, Greece (IHU)
- University of Debrecen, Hungary (DEB)
- Cerca Trova Ltd, Bulgaria (CET)

- University Pompeu Fabra, Spain (UPF)
- Catholic University of the Sacred Heart, Italy (UCSC)
- Vidzeme University of Applied Sciences, Latvia (VIA)
- Mediterranean Agronomic Institute of Chania, Greece (MAICh)
- ECQA GmbH, Austria (ECQA)
- Evolutionary Archetypes Consulting SL, Spain (EA)
- Ktima Filipou-Schoinoplokakis, Greece (KF)
- AgriWatch BV, The Netherlands (AW)
- Agroop, Portugal (AGP)
- Regional Federation of Cuma of the West, France (CO)

The academic curriculum of the master course was developed and consists in 22 curricular units, distributed in two semesters, plus an Intermediate Project in the first semester, and a Developing Tool Demonstrator in the second semester. The Master's ends up with one mobility period in two industrial partners, during which students will have the opportunity to experience working in SMEs involved in the project. The curricular units will be taught, both presential and remotely, by all the academic partners involved. The course was designed to follow the European Credit Transfer and Accumulation System (ECTS) credit standards for certification recognition across the EU. The objective is to develop a post-graduation training package that can be integrated by other European Academic Institutions in their training catalogue.

Results and Conclusions

The project achieved half of its duration (18 months) and despite the limitations caused by the pandemic, all the partners have been working remotely in developing the contents of all curricular units and corresponding teaching material, including lab experiments, field and laboratorial class protocols, laboratorial prototypes, among others. Great emphasis is being placed on hands-on-training, real-time laboratory experience, as well as cultural and educational exchange. A pilot year will be

launched in October 2022 and the application period is currently open. The course has also received a great attention from students outside Europe. The meeting with stakeholders was extremely relevant and has shown how farmers are aware of the problems faced by agriculture, namely those linked with soil biodiversity and climate changes. Recommendations were made to the project partners, to include the aforementioned issues in the content of the curricular units. The strict collaboration of partners in this proposal has already set the grounds for submitting another project proposal aimed at boosting the digitalization of agriculture and soil management.

Acknowledgements

This work was supported by the project ERAMUS+ Terratech (Ref. 621568-EPP-1-2020-1-PT-EPPKA2-KA). GreenUPorto Strategic and Programmatic Projects funded by the Foundation for Science and Technology, Portugal (UIDB/05748/2020 e UIDP/05748/2020). Anabela Cachada and Verónica Nogueira holds an individual research contract (CEECIND/00058/2017 and DL 57/2016) funded by the Portuguese Foundation for Science and Technology.

References

- AIOTI (2019). IoT and digital technologies for monitoring of the new CAP. AIOTI WG06 – Smart Farming and Food Security.
<https://aioti.eu/wp-content/uploads/2019/05/AIOTI-CAP-controls-and-ICT-technologies-May-2019.pdf>
- European Commission (2020). Farm to Fork Strategy. For a fair, healthy and environmentally-friendly food system.
https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-05/f2f_action_plan_2020_strategy_info_en.pdf
- Garske, B, Bau, B, Ekardt, F. (2021). Digitalization and AI in European Agriculture: A Strategy for Achieving Climate and Biodiversity Targets? *Sustainability* 13, 4652.
<https://doi.org/10.3390/su13094652>
- Gómez-Chabla, R, Real-Avilés, K., Morán, C, Grijalva, P, and Recalde, T (2019). IoT Applications in Agriculture: A Systematic Literature Review. In Advances in Intelligent Systems and Computing. ed. by G. RanganathanXavier FernandoSelwyn Piramuthu. CITAMA 2019, AISc 901, pp. 68–76, 2019.
- Reinhardt, T. (2022). The farm to fork strategy and the digital transformation of the Agrifood sector - an assessment from the perspective of innovation systems. *Applied Economics Perspectives and Policy* 1-20
<http://doi.org/10.1002/aapp.13246>

Overview of the knowledge about sustainable soil management practices in Europe

Conhecimento sobre as práticas para a gestão sustentável do solo agrícola na Europa

Paz, A.^{1*}, Castanheira, N.¹, Vicente, C², Carrasco, M.², Gonçalves, M.C.¹

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV), Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal
*ana.paz@iniav.pt

² Instituto Superior Técnico (IST), Av. Rovisco Pais, 1049-001 Lisboa, Portugal

Resumo

A consciência sobre o papel vital do solo para a natureza e a sociedade tem vindo a aumentar. Atualmente, o solo é um dos eixos prioritários dos programas de investigação, desenvolvimento e inovação na Europa. Para desenhar estratégias de investigação eficazes é necessário identificar o atual grau de conhecimento bem como as suas lacunas. Com esse objetivo, este estudo reuniu informação sistemática de vinte e três países europeus sobre os impactos das práticas sustentáveis de gestão do solo agrícola. As equipas de cada país identificaram o conhecimento sobre as práticas e seus impactos, partindo de um total de trinta práticas pré-definidas e agrupadas em quatro grupos (Lavoura e cobertura do solo, Culturas e sistemas culturais, Nutrição e proteção de plantas e Gestão da água). Os impactos foram relacionados com os desafios do solo definidos pelo *European Joint Programme Soil*. Os resultados mostram que o conhecimento está bastante difundido por práticas dos quatro grupos, quer a nível europeu quer regional. Há uma grande variabilidade no grau de conhecimento ou de disseminação das práticas relacionadas com os diferentes desafios do solo. A necessidade de maior conhecimento sobre as práticas para diminuir as emissões de gases de efeito estufa dos solos agrícolas pode ser claramente identificada.

Palavras-chave: gestão do solo, práticas sustentáveis, solo agrícola, lacunas de conhecimento

Abstract

The awareness about the vital role of soil for nature and society has been increasing. Soil is presently a priority in European research, development, and innovation programs. In order to design effective research strategies, there is the need to identify the current knowledge level and its gaps. With that aim, this study collected systematic information from twenty three European countries about the impacts of sustainable soil management practices. Each team reported impacts of sustainable practices, based on a total of thirty predefined practices, grouped in four management groups (Soil tillage and cover, Crop and cropping system, Nutrient management and crop protection, and Water management). The impacts were related to the soil challenges defined by the European Joint Programme *Soil*. The results show that the knowledge is rather well spread over practices in the four management groups, both generally and regionally. There was a high variability in the level of knowledge or awareness about the practices related to the different soil challenges. The need for further knowledge on practices to decrease greenhouse gas emissions from agricultural soils could be clearly identified.

Keywords: soil management, sustainable practices, agricultural soil, knowledge gaps

Introduction

The awareness about the vital role of soil for nature and society has been increasing and soil is presently a priority of research, development and innovation programs in Europe. Research on agricultural soils and soil sustainable management practices has a long history and there is large body of knowledge available. On the other hand, the current rate of soil degradation, at a faster speed than its production (Panagos et al., 2015), shows that there is a need for research and/or dissemination of sustainable soil management practices. Furthermore, there are emerging challenges for the management of agricultural soils, such as the decrease of greenhouse gas emissions. In order to design effective research strategies, there is the need to identify the current knowledge level and knowledge gaps related to the sustainable management of agricultural soil.

According to (FAO, 2017) "Soil management is sustainable if the supporting, provisioning, regulating, and cultural services provided by soil are maintained or enhanced without significantly impairing either the soil functions that enable those services or biodiversity". The scope of this study are the practices which have evidenced impacts (positive, negative or neutral), either in scientific literature or other knowledge sources. The study collected systematic information from twenty three European countries about the impacts of sustainable agricultural soil management practices (SSP). The results can be used to describe the current state and the knowledge gaps in agricultural soil management in Europe.

Material and methods

The research teams participating in the European Soil Programme *Soil (EJPSOIL)* compiled information by consulting scientific information, knowledge repositories, and stakeholders, according to their specific contexts. The compiled information was used to complete a questionnaire on the impacts of SSP. The

questionnaire included a total of 30 predefined SSP, grouped in four management groups:

- a. Soil tillage and cover
- b. Crop and cropping system
- c. Nutrient management and crop protection
- d. Water management

For each SSP, the teams were asked to add information relatively to the specific context of application (such as the level of deployment), to identify up to three impacts and to describe them in a quantitative manner, whenever possible, and to list up to three references. The impacts could be described as positive, negative, or neutral, which can be used to describe trade-offs between impacts for a given SSP. Each impact was related to a soil challenge, according to the predefined *EJPSoil* soil challenges (Keesstra, et al., 2021):

- Maintain/increase soil organic carbon (SOC)
- Avoid N₂O and CH₄ emissions from soils
- Avoid soil erosion
- Avoid salinisation and alkalinisation
- Avoid acidification
- Avoid contamination
- Improve soil structure
- Enhance soil biodiversity
- Enhance soil nutrient use efficiency
- Enhance water storage capacity

The reported knowledge on SSP and their impacts may acquire varying significance according to the pedo-climatic and geographical contexts. In order to analyse the geographical context, the results were analysed according to European regions (ER), defined as following:

- Northern Europe (Denmark, Norway, Sweden, and Finland)
- Central Europe (Austria, Czech Republic, Estonia, Germany, Hungary, Slovakia, Slovenia, Poland, Lithuania, Latvia, and Switzerland)
- Western Europe (Belgium, France, Netherlands, and United Kingdom)
- Southern Europe (Portugal, Spain, Italy, and Turkey)

Results

Overview of most reported SSP

Fig. 1 shows the most reported SSP (> 10 reports), accounting SSP only once per each country. The three most reported SSP were “Organic fertilizers”, “Catch/cover crops”, and “Crop rotations”. The most reported SSP include practises from each of the four management groups (legend of management groups in Fig.2).

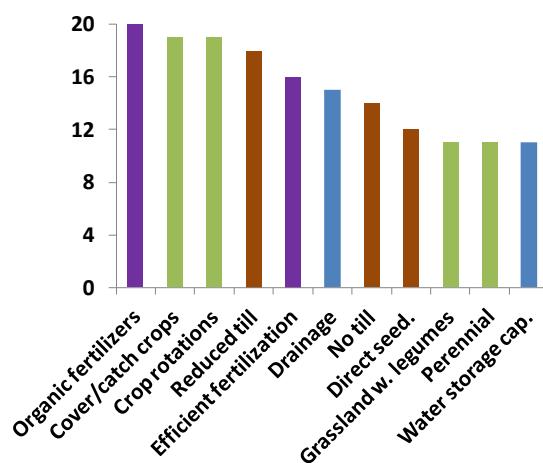


Fig. 1 – Ranking of the most reported SSP. The filling of the colours indicates the management group of each SSP (see legend in Fig.2).

SSP management groups per European Region

Fig. 2 shows the distribution of knowledge about the impacts of SSP among the different ER. The number of reports is expressed in percentage because ER are composed by different number of countries, resulting in a bias when analysing the absolute value of reports. Fig. 2 shows that SSP from all management groups are well represented within the different ER. But, it is possible to identify relatively different levels of knowledge between ER: in Northern Europe, the main group was “Soil tillage and cover”, in Central Europe, the main group was “Crop and cropping systems”, in Western Europe it was “Crop and Cropping systems”, and in Southern Region, it was “Water management”, which is likely related to differences in regional concerns over soil management and soil challenges.

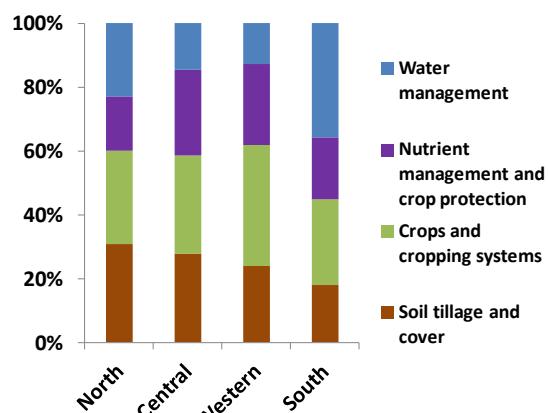


Fig. 2 – Relative frequency of SSP reported for each European Region, grouped by management groups.

Soil challenges and SSP

Fig. 3 shows the total number of reports for each soil challenge and the management group of the related SSP (see legend in Fig. 2). The three challenges with most reported knowledge are “Enhance soil nutrient use efficiency”, “Maintain/Increase soil SOC”, and “Improve soils structure”.

Considering “Enhance soil nutrient use efficiency”, the most reported SSP are related to cropping system (mainly “Crop rotations”, “Cover/catch crops”, and “Grasslands”) and to nutrient management (mainly “Organic fertilizers”, “Efficient fertilization”, and “Biofertilizers”). Even if many reports lack quantitative information, there is evidence of a good body of knowledge related to the positive impacts of these SSP.

Relatively to “Maintain/Increase soil SOC”, the most reported SSP are those related to cropping system (mainly “Crop rotations”, “Cover/catch crops”, and “Perennials”), those that reduce soil mobilization (“No till”, “Reduced till”), and those related to the “Organic fertilizers”. Several studies report quantitative results on the increase of SOC as a result of these SSP, but these are mainly for the topsoil. Few reports indicate that no significant differences in SOC were found in deeper layers, or even that it decreases with depth. These results indicate that further knowledge is needed on what extend these SSP impact SOC.

The three soil challenges with less reported knowledge are “Avoid N₂O and CH₄ emissions from soils”, “Avoid salinisation and alkalinisation”, and “Avoid acidification”. The last two challenges are likely to have comparatively low reported knowledge due to the regional relevance of these challenges. On the other hand, “Avoid N₂O and CH₄ emissions from soils” would be expected to be of overall concern. There was a low amount of reported studies about emissions of N₂O and CH₄ from agricultural soils which points out to the need for further research and dissemination of SSP contributing to reducing emissions from soils.

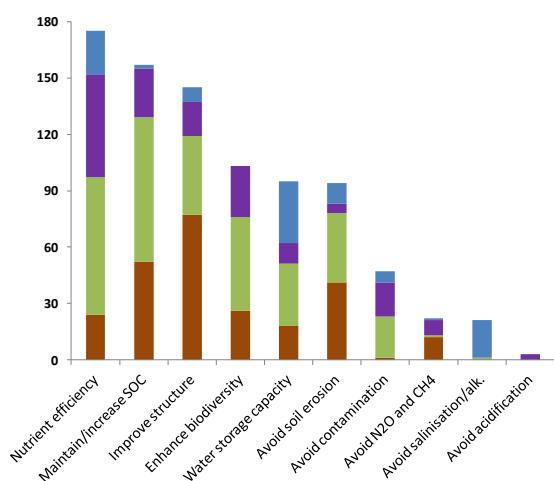


Fig. 3 – Number of reported SSP related to each soil challenge, grouped by management groups (see legend of management groups in Fig. 2).

Soil challenges per European Region

Fig. 4 shows the distribution of knowledge about the soil challenges among the different ER. The figure shows that some challenges are not reported in some ER such as “Avoid contamination” and “Avoid N₂O and CH₄ emissions” which are not reported in Northern Europe. “Avoid salinisation and alkalinisation” is only reported in Western and Southern Europe, which can result from regional concerns associated with irrigation management practices and climate conditions. “Avoid acidification” is only reported in Central and Western Europe which points out to concerns over acidification effects in these regions.

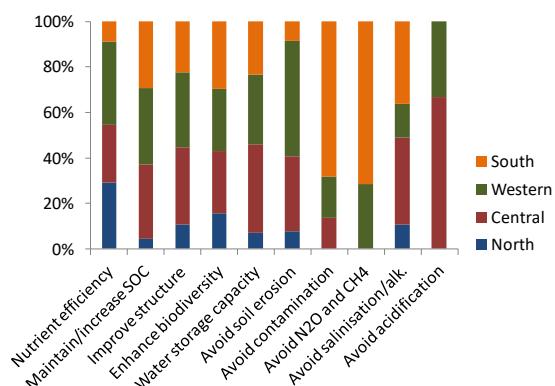


Fig. 4 – Relative distribution of the reported soil challenges by the four European Regions.

Conclusions

The consultation to the 23 European research teams indicated that knowledge is rather well spread over SSP in the four management groups, both at a general and regional level. When considering the evidences of the impacts of the SSP, some conclusions can be made, such as the need for further knowledge on the impacts of SSP on improving SOC ad deeper layers. There is also a high variability in the level of knowledge or awareness about the SSP related to the different soil challenges. The need for further knowledge on practices to decrease greenhouse gas emissions from agricultural soils could be clearly identified.

Acknowledgements

This work was part of the European Joint programme SOIL, funded by EU Horizon 2020 research and innovation programme, under grant agreement N° 862695.

References

- FAO. (2017). *Voluntary Guidelines for Sustainable Soil Management*. Food and Agriculture Organization.
- Keesstra, S., et al. (2021). *Roadmap for the European Joint Programme SOIL*. https://ejpsoil.eu/fileadmin/projects/ejpsoil/WP2/Deliverable_2.4_Roadmap_for_the_European_Joint_Programme_SOIL.pdf
- Panagos, P., Borrelli, P., Poessner, J., Ballabio, C., Lugato, E., Meusburger, K., Montanarella, L., & Alewell, C. (2015). The new assessment of soil loss by water erosion in Europe. *Environmental Science & Policy*, 54, 438–447. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2015.08.012>

O controlo do nemátode das lesões radiculares *Pratylenchus penetrans* - actividade nematicida de compostos derivados de plantas

Control of the root lesion *Pratylenchus penetrans* - the effect of nematicidal activity of plant-derived compounds

Pedro Barbosa¹, Jorge M.S. Faria², Ana Cristina Figueiredo³, Manuel Mota⁴, Cláudia S.L. Vicente^{1,2*}

¹ MED – Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE – Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal.*cvcicente@uevora.pt.

² Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, I.P.), Quinta do Marquês, Oeiras, Portugal.

³ Centro de Estudos do Ambiente e do Mar (CESAM Lisboa), Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Biotecnologia Vegetal, DBV, C2, Piso 1, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal.

⁴ MED – Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE – Global Change and Sustainability Institute, Department of Biology, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal.

Resumo

O nemátodo das lesões radiculares, *Pratylenchus penetrans*, é um dos fitoparasitas mais destrutivo, responsável por perdas a nível mundial num significativo número de plantas hospedeiras. O controlo químico destes organismos baseia-se em fumigantes e não fumigantes, que providenciam uma protecção sistémica. Tais métodos de controlo são dispendiosos e prejudiciais quer para o ambiente quer para os humanos. Os compostos produzidos naturalmente pelas plantas poderão desempenhar um papel importante no controlo de nemátodes. A actividade nematicida de 8 compostos que ocorrem naturalmente em plantas, de duas classes de compostos, foi avaliada a 2 mg/mL durante 24 h. Os ensaios foram efectuados segundo a metodologia de contacto directo usualmente empregue. *P. penetrans* revelou-se extremamente insensível aos compostos testados com valores de mortalidade compreendidos entre 1.0 e 5.8%. No nosso conhecimento, a actividade nematicida de 4 compostos fenólicos (catequina, ácido cafeico, ácido gálico e ácido gentísico) foi testada pela primeira vez em *P. penetrans*.

Palavras-chave: Biocontrolo, compostos bioactivos, nemátodes fitoparasitas, saúde do solo

Abstract

The root lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*, is one of the most harmful plant parasites, responsible for worldwide productivity losses in a significant number of plant hosts. Generally, chemical control relies on synthetic compounds used through fumigation or direct contact, which offers a systemic protection. These control methods are costly and hazardous to the environment and to humans. Phytochemicals may play an important role in nematode control. The nematicidal activity of eight compounds that occur naturally in plants, from two classes of compounds, was assessed at 2 mg/mL, for 24 h. Bioassays were performed following the standard direct contact methodology. *P. penetrans* was remarkably tolerant to the tested compounds, with mortality range between 1.0 and 5.8 %. To the best of our knowledge, the nematicidal activity of 4 phenolic compounds (catechin, caffeic acid, gallic acid and gentisic acid) was evaluated for the first time for *P. penetrans*.

Keywords: biopesticides, biocontrol, plant-parasitic nematodes, soil health

Introduction

Soil health is the capacity of soil to maintain important ecosystem functions, such as sustaining living organisms (*i.e.*, plants, animals, and humans). In general, free-living nematodes contribute for soil health as important key species in nutrient cycles and in the multitrophic interactions with other soil microbes. However, the presence of plant-parasitic nematodes (PPN), may cause detrimental effects on plant hosts and other soil microorganisms, disrupting the equilibrium of soil ecosystem services (Brussaard, 1997).

The root-lesion nematodes (RLN) from genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae) are migratory PPN that attack a wide variety of important food and feed crops (*e.g.*, potato, carrot, soybean, maize, alfalfa) causing severe economic constraints in the affected cultures (Jones, et al., 2013). Plants infected by the RLNs present a stunted and necrotic root system (as result of RLN feeding habits) with poor development in aboveground plant parts. *Pratylenchus penetrans* is one of the most devastating RLN being reported in more than 400 plant hosts worldwide (Vicente, et al., 2021). In Europe, *P. penetrans* has been detected in potato cultures in Portugal (Esteves, et al., 2015) and in association with olive trees in Spain, Italy, and Turkey (Ali, et al. 2014).

With the continuous withdrawal of chemical nematicides, such as Aldicarb, Carbofuran and 1,3-Dichloropropene, the current PPN control measures are far from being effective and sustainable. Plant-derived compounds, mostly plant secondary metabolites (*e.g.*, alkaloids, essential oils components, phenolic compounds) are safer to humans and environment and have already been applied against important PPN pests (Barbosa, et al., 2012; Faria, et al., 2021). Within the framework of the national project PratyOomics - Plant metabolomics for the control of the root-lesion nematode *Pratylenchus penetrans* (PTDC/ASP-PLA/0197/2020), the present work aims to evaluate the nematicidal activity of seven plant-derived compounds in direct contact bioassays against *P. penetrans*.

Material and methods

Nematode Culture

Pratylenchus penetrans A44L4 was obtained in portuguese potato fields in 2010 by NematoLab team (Centre for Functional Ecology, University of Coimbra) (Esteves, et al., 2015). Nematodes are routinely multiplied in carrot disks according to Boisseau & Sarah (2008) and, when needed, extracted for 24 h in distilled water containing 50 µg/mL carbencillin and kanamycin. Following, a nematode suspension was prepared with approximately 50-75 mixed-stage RLN per 100 µL distilled water.

Nematicidal Activity

Tested compounds (Table 1) were diluted in acetone (purity 99.8%, Carl Roth GmbH + Co. KG) to 2 mg/mL and maintained at -20°C until use. Bioassays were conducted in a 96-well microtiter plate. For each compound, 1 µL of the solution was added to a mixed-stage nematode suspension (99 µL). Plates were covered with their lid and maintained at 25°C in the dark. After 24 h, dead and live nematodes were counted under a binocular microscope Olympus SZX-12 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan). Nematodes were considered dead if they failed to respond to the gentle physical prodding with a needle. Two independent biological trials were performed with five replicates at similar conditions. Negative control was performed with acetone (purity 99.8%, Carl Roth GmbH + Co. KG.).

Data Analysis

Corrected mortality values (M_c) were obtained following the Schneider-Orelli formula (Puntener, 1981): $M_c = M_T - M_0 / 100 - M_0$, in which M_0 is the mortality in the control, and M_T is the mortality in treatments.

Results and discussion

Mean corrected mortality values obtained for control treatments, using acetone, was 2.2%. For the seven phenolic compounds tested((+)-catechin, caffeic acid, coumaric acid, ferulic acid, gallic acid, gentisic acid and quercetin), *P. penetrans* mortality was relatively low, after 24 h of direct contact (Table 1). The highest M_c value was 5.8% recorded for gentisic acid, while the lowest M_c (1.0%) was obtained for gallic acid. The monoterpene carvacrol, reached full mortality ($M_c=100\%$).

Table 1 - Nematicidal activity of commercial pure compounds (2 mg/mL in acetone) against *Pratylenchus penetrans* exposed for 24 h.

Compound	Grade Supplier	Class	Corrected mortality (M_c)
(+)-Catechin	98% - Aldrich	I	1.98 ± 1.31
Caffeic acid	98% HPLC - Fluka	I	4.64 ± 1.54
Coumaric acid	98% HPLC - Fluka	I	1.88 ± 0.81
Ferulic acid	for research only - Extrasynthese	I	1.99 ± 0.84
Gallic acid	for research only - Extrasynthese	I	1.00 ± 1.02
Gentisic acid	for research only - Extrasynthese	I	5.83 ± 2.53
Quercetin	95% - Sigma-Aldrich	I	1.04 ± 0.87
Carvacrol	98% - Sigma-Aldrich	II	100.00 ± 0.00

Class: I, Phenolic compounds; II, Monoterpene

The phenolic compounds showed little or no nematicidal effect in *P. penetrans*, and only caffeic acid and gentisic acid could induce a higher M_c than the negative control (acetone). Only the monoterpene carvacrol showed a high activity against this RLN.

Previous studies (Nguyen, et al., 2013, d'Errico, et al., 2018) showed that the efficiency of gallic acid, extracted from *Terminalia nigrovenulosa*, and SaviotaN (extracted from chestnut) against *Meloidogyne incognita*. However, in *P. penetrans*, its activity is reduced. Wuyts et al. (2006) showed that coumaric acid, ferulic acid, caffeic acid and quercetin displayed no activity (i.e., motility) in this nematode. According to our results, the seven phenolic compounds had little or no effect to *P. penetrans*, when tested individually, supporting the results observed by Wuyts et al. (2006). So far, this is the first work where the nematicidal activity of catechin, caffeic acid, gallic acid and gentisic acid is assessed against *P. penetrans*. Several monoterpenes have been already tested in *P. penetrans*. Rong and Qing (2000) showed that citronellol, carvacrol and (-)-perillaldehyde are potential nematicides against this RLN.

Plant secondary metabolites such as terpenoids and phenolics, have different mode of actions in nematodes (e.g., attract or repel, stimulate or inhibit egg-hatching,

or exhibit nematicidal properties) (Ntalli et al., 2020). Beside these direct effects, and in the context of soil health and ecological equilibrium, these compounds can interact with multiple target sites, and therefore reduce the likelihood of developing pest resistance (Chitwood et al., 2002).

Conclusions

Plant-based compounds with nematicidal effect against PPN might be good alternatives to synthetic nematicides and are less harmful for soil health. However, it is important to conduct previous rigorous tests, since not all compounds are effective. In PratyOmics, we will employ plant metabolomics on resistant/susceptible potato cultivars of *P. penetrans* to discover new bioactive compounds with antagonistic effect against this RLN.

Acknowledgements

The authors would like to thank Ivânia Esteves and Isabel Abrantes from Nemato-lab (University of Coimbra) for providing the RLN isolate, and to Maria João Cabrita and Raquel Garcia, from the Oenology Laboratory (MED/University of Évora) for gently providing the tannins employed in the bioassays.

This work was funded by National Funds through FCT to: SFRH/BD/134201/2017 (to PB), and projects PratyOmics (PTDC/ASP-PLA/0197/2020), (UIDB/05183/2020) to MED, to CESAM UIDP/50017/2020+UIDB/50017/2020+LA/P/0094/2020.

References

- Ali, N., Chapuis, E., Tavoillot, J., Mateille, T. (2014) Plant-parasitic nematodes associated with olive tree (*Olea europaea* L.) with a focus on the Mediterranean Basin: A review. *Comptes Rendus Biologies*, 337, 423-442.
- Barbosa, P., Faria, J.M.S., Mendes, M.D., Dias, L.S., Tinoco, M.T., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Figueiredo, A.C., & Mota, M. (2012). Bioassays against pinewood nematode: assessment of a suitable dilution agent and screening for bioactive essential oils. *Molecules* 17(10), 12312-12329.
- Boisseau, M. & Sarah, J.L. (2008). *In vitro* rearing of *Pratylenchidae* nematodes on carrot discs. *Fruits* 63, 307-310.
- Brussard, L. (1997). Biodiversity and ecosystem functioning in soil. *Ambio* 26, 563-570.
- Castillo, P., Vovlas, N. & Jiménez-Díaz, R.M. (1998). Pathogenicity and histopathology of *Pratylenchus thornei* populations on selected chickpea genotypes. *Plant Pathol.* 47, 370-376.

- Castillo, P. & Vovlas, N. (2007). *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. In *Nematology Monographs and Perspectives Volume 6*. Brill, Leiden-Boston, p. 529.
- Chitwood, D. (2002). Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Reviews of Phytopathology* 40, 221-49.
- d'Errico, G., Woo, S., Lombardi, N., Manganiello, G. & Roversi, P. (2018). Activity of chestnut tannins against the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *J. Zool.* 101, 53-59.
- Esteves, I., Maleita, C., Abrantes, I. (2015) Root-lesion and root-knot nematodes parasitizing potato. *Eur. J. Plant Pathol.* 141, 397-406.
- Faria, J.M.S., Barbosa, P., Vieira, P., Vicente, C.S.L., Figueiredo, A.C. & Mota, M. (2021). Phytochemicals as biopesticides against the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*: a review on essential oils and their volatiles. *Plants* 10, 2614.
- Jones, J.T., Haegeman, A., Danchin, E.G., Gaur, H.S., Helder, J., Jones, M.G., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J.E., Wesemael, W.M., Perry, R.N. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 14, 946-61.
- Nguyen, D., Seo, D., Nguyen, V., Kim, K., Park, R. & Jung, W. (2013). Nematicidal activity of gallic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Nematology* 15(5), 507-518.
- Ntalli, N., Adamski, Z., Doula, M., Monokrousos, N. (2020) Nematicidal amendments and soil remediation. *Plants* 9, 429.
- Puntener, W. (1981). Manual for Field Trials in Plant Protection, 2nd edition. Ciba-Geiji Limited, Basle, Switzerland, p. 205.
- Rong, T. & Qing, Y. (2000) Nematicidal Activity of Monoterpeneoid Compounds against Economically Important Nematodes in Agriculture, *Journal of Essential Oil Research*, 12:3, 350-354, DOI: 10.1080/10412905.2000.9699533
- Townshend, J.L., Stobbs L. & Carter R (1989). Ultrastructural pathology of cells affected by *Pratylenchus penetrans* in alfalfa roots. *J. Nematol.* 21(4): 530-539.
- Vicente, C., Inácio, M. L., Mota, M. & Vieira, P. (2021) nemátoide das lesões radiculares, *Pratylenchus penetrans*. Vida Rural, Proteção de Plantas, Abril, 78-82.
- Wuyts, N., Swennen, R. & De Waele, D. (2006). Effects of plant phenylpropanoid pathway products and selected terpenoids and alkaloids on the behaviour of the plant-parasitic nematodes *Radopholus similis*, *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne incognita*. *Nematology* 8(1), 89-101.

Apoios



Instituto Politécnico
de Castelo Branco



Companhia das Lezírias



Patrocínios



aquagri