

ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN SUELOS FORESTALES MEDITERRÁNEOS

Consuelo Quilchano Gonzalo / Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (CSIC)

Resumen

En el presente trabajo se ha analizado la actividad biológica del suelo forestal mediante el estudio de la actividad enzimática β -glucosidasa. El enzima β -glucosidasa está estrechamente relacionado con el ciclo del carbono y el proceso de mineralización de la materia orgánica edáfica. La actividad enzimática se determinó en muestras de suelo recogidas en tres parcelas experimentales delimitadas dentro del Parque Natural Los Alcornocales, en las que previamente se había aplicado el tratamiento de roza en la mitad de su superficie. El objetivo de este trabajo es avanzar en el conocimiento de las propiedades bioquímicas del suelo forestal mediterráneo y evaluar el posible impacto de las prácticas de rozas y aclareos en la actividad enzimática β -glucosidasa. El valor medio de actividad enzimática encontrado en estos suelos (1.53 ± 0.69 mmoles p-nitrofenol $g^{-1} h^{-1}$) se encuentra dentro del rango de valores descritos en la bibliografía. La variabilidad de los valores de actividad β -glucosidasa es muy alta (rango: 0.15 - 4.25 mmoles p-nitrofenol $g^{-1} h^{-1}$). En la estación húmeda (otoño) la actividad β -glucosidasa medida (1.33 ± 0.62 mmoles p-nitrofenol $g^{-1} h^{-1}$) fue el doble de la encontrada en verano, estación seca, (0.68 ± 0.28 mmoles p-nitrofenol $g^{-1} h^{-1}$). Excepto en la parcela Tiradero, las zonas rozadas presentaron mayor actividad β -glucosidasa que las zonas controles, aunque en ningún caso se detectaron diferencias significativas. El posible efecto de las rozas podría verse enmascarado por la alta variabilidad encontrada para esta variable bioquímica edáfica. La parcela con mayor contenido en carbono orgánico, Buenas Noches, fue la parcela con la actividad enzimática más alta. Se pone de manifiesto la gran variación espacial entre parcelas y dentro de cada parcela.

Palabras clave: Parque Natural Los Alcornocales, suelos forestales mediterráneos, rozas y aclareos, actividad enzimática, actividad β -glucosidasa.

Abstract

Soil β -glucosidase has been measured as an indicator of the soil biological activity in forest soils. This enzyme is closely related to soil carbon cycle and soil organic matter mineralization. The enzyme activity was measured in soil samples collected in three experimental plots located in the Los Alcornocales Natural Park. A shrub-clearing management had been previously applied in one half of the three plots. The objective is to achieve a basic knowledge of soil biological and biochemical properties in Mediterranean soils, and to evaluate the impact of the shrub-clearing management on soil β -glucosidase. Mean value of soil β -glucosidase (1.53 ± 0.69 mmol p-nitrophenol $g^{-1} h^{-1}$) is within the range found in the literature. The values of this enzyme activity showed a high variability (range: 0.15 - 4.25 mmol p-nitrophenol $g^{-1} h^{-1}$). β -glucosidase activity measured in autumn samples (1.33 ± 0.62 mmol p-nitrophenol $g^{-1} h^{-1}$) was double that measured in summer samples (0.68 ± 0.28 mmol p-nitrophenol $g^{-1} h^{-1}$). Except for Tiradero, shrub-cleared areas showed higher β -glucosidase activity than control areas, although significant differences were not detected in any case. The high soil variability could mask the possible management effects on soil β -glucosidase activity. Significant differences, concerning the soil β -glucosidase activity measured in autumn, were found between the three studied forest plots. Buenas Noches site showed the highest values.

Key words: Los Alcornocales Natural Park, Mediterranean forest soils, shrub clearing management, enzyme activity, β -glucosidase activity.

Introducción

Las propiedades biológicas del suelo relacionadas con la materia orgánica y los procesos asociados a su descomposición regulan y determinan tanto la fertilidad del suelo forestal (y por tanto la productividad del ecosistema) como la calidad del suelo y la diversidad biológica (Nannipieri *et al.*, 1990; Gregorich *et al.*, 1997; Périé y Munson, 2000). Además, las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo son muy sensibles a las perturbaciones ambientales y a los cambios de manejo y uso del suelo, con una respuesta rápida a dichos cambios, lo que las convierte en indicadores idóneos del impacto de un determinado manejo sobre el ecosistema (Dick, 1992; Doran y Parkin, 1994). El estudio de distintas actividades enzimáticas resulta muy útil en el diagnóstico y cuantificación de la degradación o recuperación de un suelo. Algunas actividades enzimáticas junto con otras variables bioquímicas han sido utilizadas en la obtención de índices de calidad del suelo, por su alta sensibilidad y rápida respuesta a las perturbaciones (Trasar-Cepeda *et al.*, 1998). Son abundantes los trabajos en los que mediante el estudio de la actividad enzimática se evalúan los efectos de las prácticas de conservación (mínimo laboreo, rotación de cultivos, enmienda orgánica, etc.) aplicadas en los sistemas agrícolas (Dick, 1992). Sin embargo, este tipo de trabajos son más escasos en suelos forestales. Trasar-Cepeda *et al.* (1999) y Leirós *et al.* (2000) han realizado un estudio exhaustivo de las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo de un ecosistema forestal Atlántico de *Quercus robur*, en Galicia (norte de España). Schneider *et al.* (2000), midieron actividad fosfatasa en un ecosistema mediterráneo de *Q. pyrenaica*, en la Sierra de Gata (Salamanca, España). La actividad deshidrogenasa ha sido determinada en suelos desarrollados bajo *Q. suber* y *Q. canariensis* en el Parque Natural Los Alcornocales (Quilchano y Marañón, 2001).

Para explorar la potencialidad de las distintas actividades enzimáticas en el estudio y evaluación de la calidad del suelo y la sostenibilidad del ecosistema, Dick (1997) y Pankhurst *et al.* (1997) recomiendan la elaboración de una base de datos referidos a estas propiedades bioquímicas, medidas en suelos naturales, bien conservados, desarrollados bajo vegetación climax, considerados de máxima calidad, y que sustentan ecosistemas maduros y estables, es decir suelos que están en equilibrio con el medioambiente. Por todo ello, existe un interés creciente en el estudio de las propiedades biológicas y

bioquímicas edáficas, especialmente en ecosistemas mediterráneos forestales, donde todavía es escasa esta información. Un criterio prioritario para asegurar la sostenibilidad de los ecosistemas forestales es el mantenimiento o mejora de la calidad del suelo (Périeré y Munson, 2000).

El enzima β -glucosidasa es un enzima hidrolítico presente en el suelo (Skujins, 1976), responsable de la liberación de moléculas de monosacáridos a partir de moléculas orgánicas más complejas (glucósidos). Este enzima juega un papel fundamental en la degradación de los carbohidratos en el suelo, proporcionando sustratos orgánicos sencillos que pueden ser utilizados como fuente de energía por los microorganismos del suelo.

En el Parque Natural Los Alcornocales (Cádiz, Málaga) son habituales las prácticas de rozas y aclareos, consistente en la retirada de la vegetación arbustiva del ecosistema forestal, cuyo objetivo es aumentar la producción de corcho eliminando la competencia del estrato arbustivo y al mismo tiempo reducir la acumulación de biomasa potencialmente combustible en los incendios estivales. Pero esta práctica, al tiempo que trata de incrementar la producción y el beneficio económico, puede llevar implícito un alto coste ecológico ya que el resultado de estas rozas se traduce en una simplificación del ecosistema, reduciendo su diversidad biológica, pudiendo llegar incluso a comprometer la regeneración del bosque original. Los efectos a largo plazo de la práctica de las rozas sobre la actividad biológica del suelo y su implicación en la sostenibilidad del bosque están todavía poco estudiados.

Estas rozas no implican una alteración mecánica del suelo, puesto que la normativa del Parque Natural (Junta de Andalucía, 1994) prohíbe el uso de maquinaria pesada para estas tareas, evitando de este modo la compactación del suelo, la alteración de sus horizontes y en general otros cambios drásticos en las propiedades físicas del suelo. Sin embargo, la retirada de la biomasa arbustiva del ecosistema forestal puede afectar otros procesos y propiedades edáficas, tales como la actividad biológica del suelo, al modificar las condiciones microclimáticas y provocar una alteración en los aportes potenciales de restos orgánicos al suelo.

La eliminación del sotobosque proporciona un cambio de las condiciones microclimáticas, permitiendo una mayor radiación solar en la superficie del suelo y por lo tanto una mayor temperatura. Dichos cambios, en teoría, conllevarían un incremento del proceso de mineralización de la materia orgánica del suelo (Killham, 1994). Este fenómeno, a corto plazo, puede beneficiar el desarrollo de la vegetación ya que suministra los nutrientes minerales necesarios para su crecimiento, pero a medio y largo plazo puede originar una disminución neta de materia orgánica edáfica, lo que supone una pérdida de fertilidad potencial del suelo y una degradación de sus condiciones físicas (estructura, porosidad, aireación, drenaje, retención de agua, etc.) que en último término puede influir negativamente en el establecimiento y regeneración de las comunidades vegetales.

La retirada de la vegetación arbustiva del ecosistema representa además una disminución del aporte potencial aéreo de restos orgánicos al suelo. Esta reducción puede ser compensada en algunos casos por el aporte que suponen las raíces de dicha vegetación que permanecen en el suelo y constituyen un material orgánico disponible para los microorganismos edáficos. La contribución de las raíces será menor cuando se trate de especies rebrotadoras. La biomasa radical es fácilmente biodegradable, en general presenta unos valores de la relación C/N que favorecen su mineralización (Killham, 1994). La alteración en la cantidad y calidad de los aportes orgánicos al suelo conlleva a su vez una alteración de la comunidad microbiana que mineraliza dichos aportes (Myers *et al.*, 2001). Por tanto, el tipo de manejo efectuado al ecosistema determinará la cantidad y la naturaleza de la materia orgánica edáfica, la diversidad microbiana y la actividad biológica en el suelo.

La hipótesis de trabajo es que el impacto de las rozas efectuadas en este ecosistema forestal se traduce en un aumento a corto plazo de la mineralización de la materia orgánica edáfica y de los parámetros bioquímicos asociados a este proceso. El

objetivo de este trabajo es contribuir al estudio de la actividad enzimática de los suelos forestales mediterráneos y evaluar el posible impacto de la práctica de rozas y aclareos en la actividad enzimática β -glucosidasa.

Material y Métodos

El estudio se ha realizado en el Parque Natural Los Alcornocales, en tres parcelas experimentales: Panera (36° 31' 54" N 5° 34' 29" W), Buenas Noches (36° 22' 56" N 5° 34' 58" W) y Tiradero (36° 9' 46" N 5° 35' 39" W). Una descripción más detallada de estas parcelas puede encontrarse en Noejovich y Maraño (2001).

En una mitad de cada una de estas parcelas se aplicó un tratamiento de roza (enero-marzo de 2000) dejando la otra mitad como zona control. Se recogieron muestras de suelo superficial (0-10 cm) de las zonas rozada y control de las tres parcelas. En cada parcela se recogieron 12 muestras en la mitad rozada y 12 en la mitad control. En cada punto de muestreo se midió la humedad del suelo con un sensor Hydrosense (Campbell). Se realizó un muestreo en julio de 2000 (estación seca) en la parcela Panera y otro muestreo en octubre de 2000 (estación húmeda) en las tres parcelas seleccionadas.

El enzima β -glucosidasa se determinó siguiendo el método propuesto por Eivazi y Tabatabai (1988) con ligeras modificaciones, basado en la extracción y posterior determinación colorimétrica del p-nitrofenol (p-NF) liberado, después de incubar el suelo (1.5 g) con 1 ml de p-nitrofenil b-D glucopiranosido (PNG), 25 mM, durante 2 h a 40° C. Los patrones de p-NF se prepararon de modo similar a las muestras, es decir con suelo, incubados y con PNG añadido (después de la incubación). De este modo la adsorción de p-NF (liberado por la actividad enzimática) en el suelo puede ser corregida (Vuorinen, 1993). Cada muestra se analizó por duplicado. La actividad β -glucosidasa se expresa en mmoles de p-NF / g suelo seco / hora.

La comparación entre dos grupos (control y rozado; verano y otoño) se realizó mediante una *t* de Student. La comparación de más de dos grupos (tres parcelas) se realizó mediante ANOVA factorial de dos vías. En algunos casos se realizó la transformación logarítmica de la variable β -glucosidasa para cumplir los requisitos de los métodos paramétricos, cuando estos requisitos no se cumplían se emplearon métodos no-paramétricos. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa STATISTICA 5.1 (Statsoft, 1997).

Resultados y discusión

El valor medio de actividad β -glucosidasa encontrado en estos suelos (1.53 ± 0.69 mmoles p-NF $g^{-1} h^{-1}$) se encuentra dentro del rango de valores descritos en la bibliografía para suelos naturales de zonas templadas desarrollados bajo vegetación climax (Trasar-Cepeda *et al.*, 1999). El rango de estos valores de β -glucosidasa (0.15 - 4.25 mmoles p-NF $g^{-1} h^{-1}$) muestran una gran dispersión (Fig. 1), con coeficientes de variación (CV) altos (31-57%). Noejovich y Maraño (2001), también encontraron altos valores de CV para otras variables edáficas medidas en estos mismos suelos.

La actividad β -glucosidasa medida en las muestras de suelo recogidas en otoño, en Panera, fue el doble de la encontrada en el verano, en la misma parcela (Fig. 2), detectando diferencias significativas entre las dos estaciones ($t = -4.68$, $p < 0.0001$, $N = 24$). Las condiciones de sequía extrema observadas en el verano (Quilchano y Maraño, 2001) podrían limitar la actividad β -glucosidasa del suelo, mientras que el aumento de la humedad del suelo en la estación de otoño favorecería la actividad de este enzima. Otros autores (García *et al.*, 1994; Görres *et al.*, 1998; Banerjee *et al.*, 2000) también han encontrado una relación positiva entre la humedad edáfica y la actividad enzimática del suelo. El aumento de la actividad β -glucosidasa encontrada en otoño podría estar inducido, además de por el aumento de la humedad edáfica, por una mayor disponibilidad de sustratos orgánicos debido al aporte de restos orgánicos al suelo con el inicio de la caída de hojarasca. La descomposición

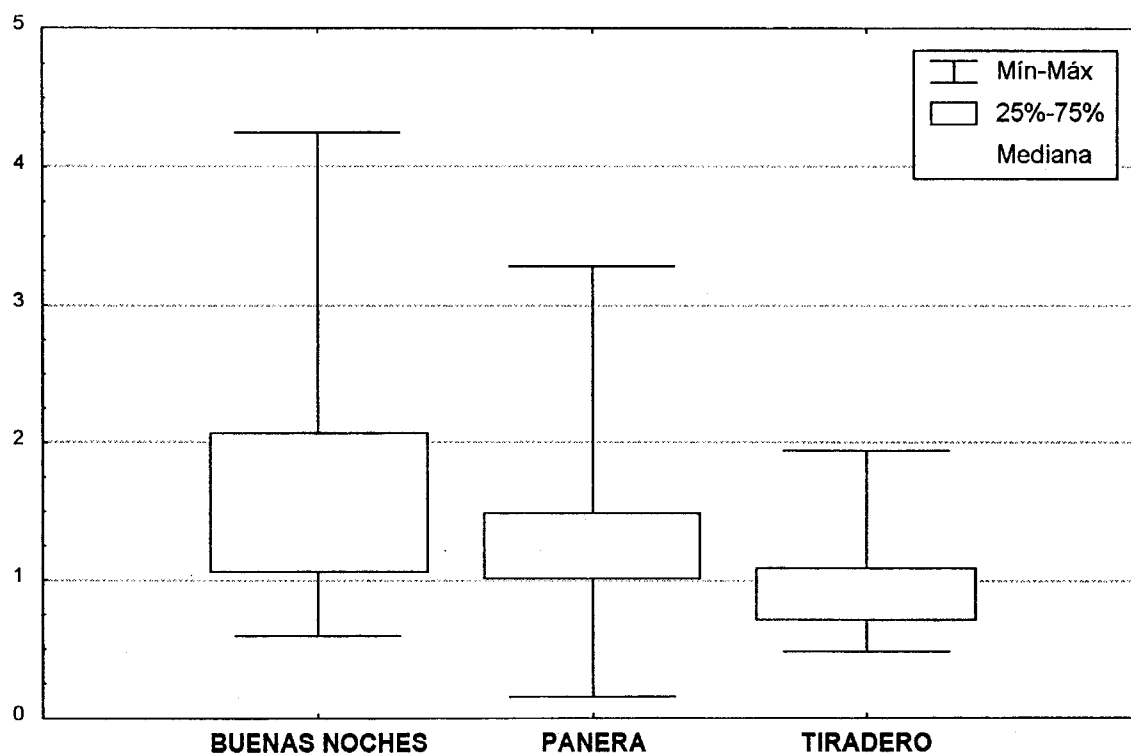


Figura 1. Descriptivos estadísticos (tendencia central y dispersión) de los valores de actividad β -glucosidasa en las tres parcelas estudiadas.

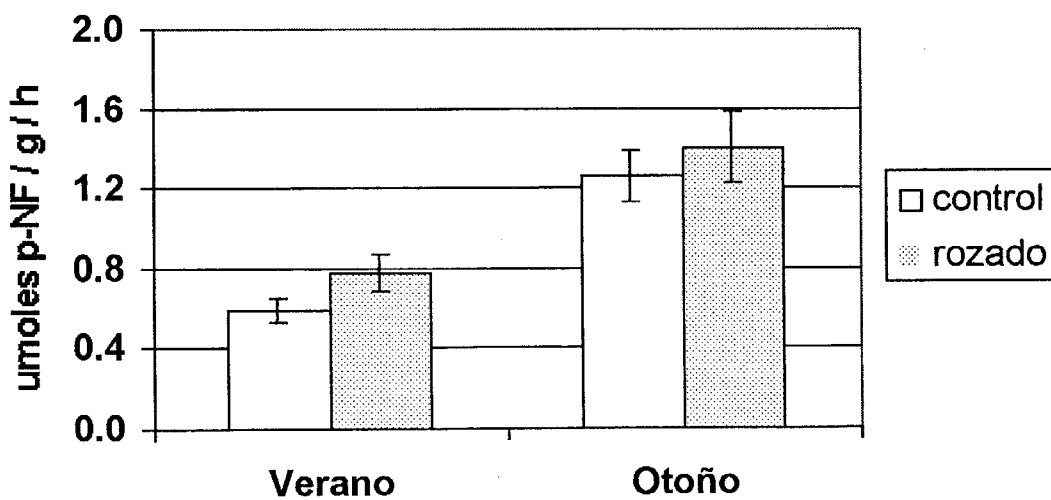


Figura 2. Actividad β -glucosidasa en suelo forestal (Panera) en verano y otoño; comparación entre bosque rozado y control (N = 12). Las barras indican el error estándar.

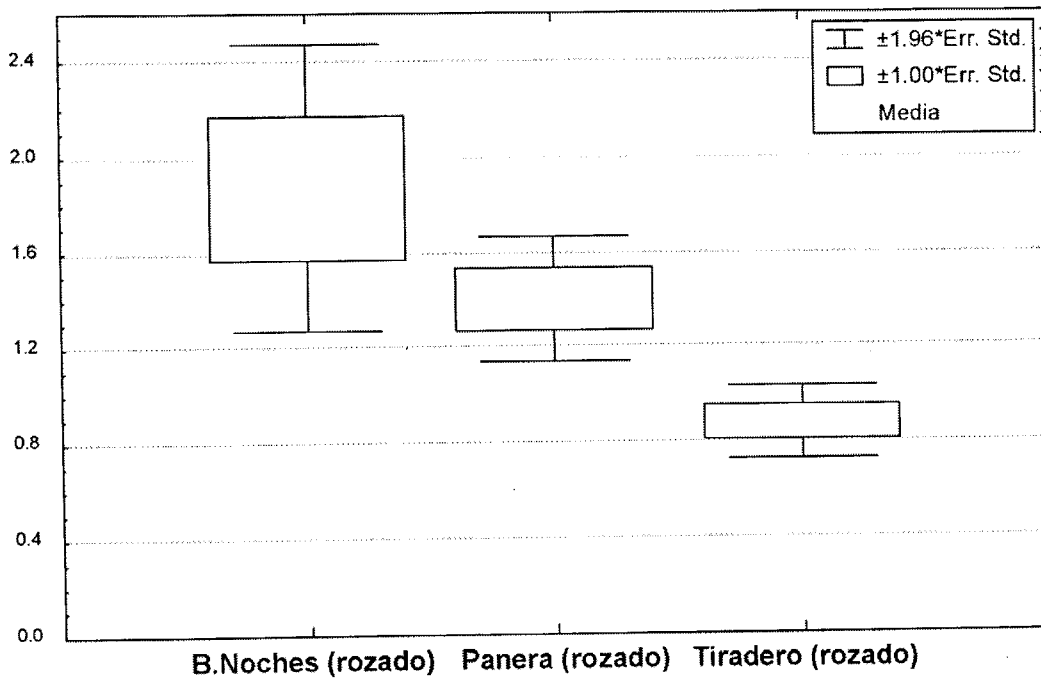
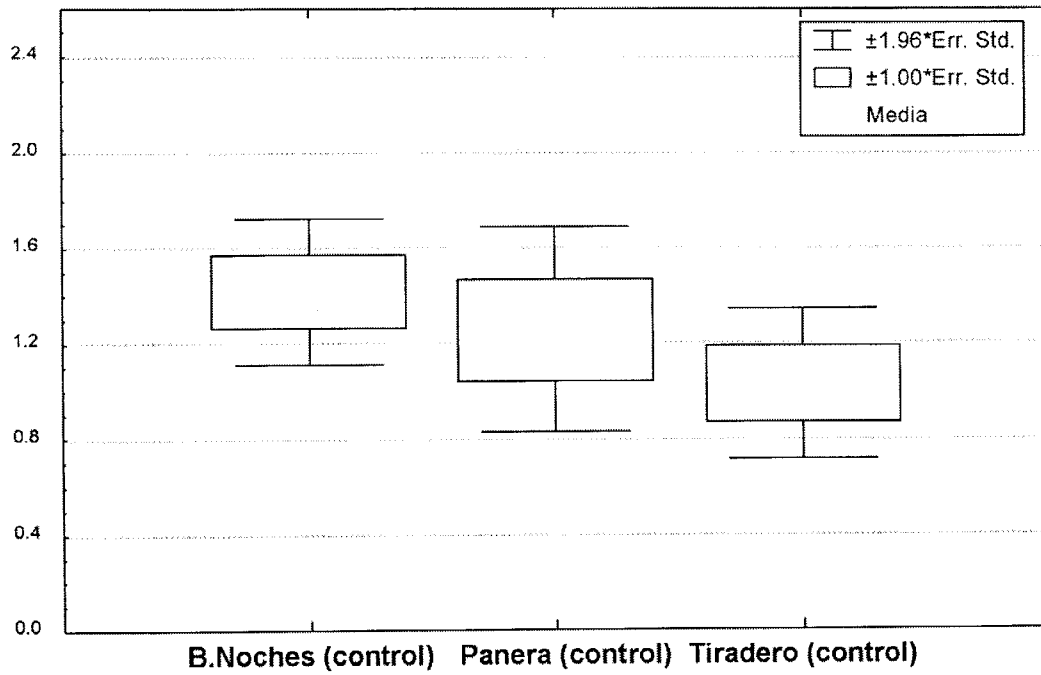


Figura 3. Valores medios de actividad B-glucosidasa en las tres parcelas estudiadas, en la zona control (parte superior) y en la zona rozada (parte inferior).

de la hojarasca proporciona moléculas orgánicas solubles que percolan hacia los horizontes minerales superficiales en forma de carbono orgánico disuelto, que constituye el sustrato para el enzima β -glucosidasa, entre otros enzimas degradativos (Görres *et al.*, 1998).

Excepto en la parcela Tiradero, las zonas rozadas presentaron mayor actividad β -glucosidasa que las zonas controles, aunque en ningún caso se detectaron diferencias significativas. El posible efecto de las rozas sobre la actividad β -glucosidasa podría verse enmascarado por la alta variabilidad encontrada para esta variable bioquímica. La tendencia de aumento de la actividad β -glucosidasa en las zonas rozadas apoyaría la hipótesis inicial de trabajo, que supone un aumento de la mineralización de la materia orgánica y de la actividad enzimática asociada, como consecuencia del tratamiento de rozas. Sin embargo, la ausencia de diferencias significativas entre las zonas rozada y control nos lleva a la conclusión de que el tratamiento de roza no modifica sustancialmente la actividad β -glucosidasa del suelo, después de transcurridos 4 y 7 meses desde la aplicación del tratamiento.

La actividad β -glucosidasa fue significativamente diferente en las tres parcelas estudiadas ($F = 6.426$, $p = 0.002$, $gl: 2, 69$), la parcela con mayor contenido en carbono orgánico, Buenas Noches (Noejovich y Marañón, 2001), fue la parcela con la actividad enzimática más alta (Fig. 3). Cuando se realizó la comparación entre parcelas considerando sólo la zona control, el resultado del ANOVA fue no significativo mientras que al comparar las zonas rozadas de las tres parcelas (mediante Kruskal-Wallis) sí se detectaron diferencias significativas ($X^2 = 8.0$, $p = 0.018$). Estos resultados ponen de manifiesto que el tratamiento de roza afecta la actividad β -glucosidasa de distinta manera en las tres parcelas, incrementando la diferencia entre ellas.

En resumen, la actividad enzimática está poco estudiada en ecosistemas forestales, y menos aún en los mediterráneos. Es necesario su estudio para disponer de una base de datos relativa a los suelos considerados de referencia y de máxima calidad. En el presente estudio los valores de actividad β -glucosidasa no reflejan modificaciones significativas debidas al tratamiento de roza.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto FEDER (1FD97-0743-C03-03), dirigido por Teodoro Marañón. Rosa Cuenca realizó los análisis en el laboratorio. Agradezco especialmente a Carmen Trasar-Cepeda la orientación y consejos en la metodología empleada. La empresa TRAGSA realizó los tratamientos selvícolas. Agradezco al personal del Parque Natural Los Alcornocales (director y agentes forestales) su colaboración en la instalación de las parcelas experimentales y durante el desarrollo del proyecto.

Bibliografía

- BANERJEE, M.R., D.L. Burton, W.P.P. McCaughery, C.A. Grant. 2000. "Influence of pasture management on soil biological quality". *J. Range Manage* 53: 127-133.
- DICK, R.P. 1992. "A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters". *Agriculture, ecosystems and environment* 40: 25-36.
- DICK, R.P. 1997. "Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health". In: Pankhurst C.E., Doube B.M., Gupta V.V.S.R. (Ed) *Biological indicators of soil health*. CAB International, New York, pp 121-156.
- DORAN, J.W., T.B. Parkin. 1994. "Defining and assessing soil quality". In J.W. Doran *et al.* (Ed) *Defining soil quality for a sustainable environment*. SSSA Spec. Pub. 35. SSSA, Madison, WI, pp 3-21.
- EIVAZI, F., M.A. Tabatabai. 1988. "Glucosidases and galactosidases in soils". *Soil Biol. Biochem.* 20 (5): 601-606.
- GARCIA, C., T. Hernández, F. Costa. 1994. "Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions". *Soil Biol. Biochem.* 26: 1185-1191.
- GÖRRES, J.H., M.J. Dichiaro, J.B. Lyons, J.A. Amador. 1998. "Spatial and temporal patterns of soil biological activity in a forest and an old field". *Soil Biol Biochem* 30(2): 219-230.

- GREGORICH, E.G., M.R. Carter, J.W. Doran, C.E. Pankhurst, L.M. Dwyer. 1997. "Biological attributes of soil quality". In Gregorich EG, Carter M.R. (Ed) *Soil quality for crop production and ecosystem health*. Elsevier, New York, pp. 81-114.
- JUNTA DE ANDALUCÍA. 1994. *Plan de ordenación de los recursos naturales y Plan rector de uso y gestión del Parque Natural Los Alcornocales*. Junta de Andalucía. Consejería de Medio Ambiente.
- KILLHAM, K. 1994. *Soil ecology*. Cambridge Univ Press.
- LEIRÓS, M.C., C. Trasac-Cepeda, S. Seoane, F. Gil-Torres. 2000. "Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): general parameters". *Soil Biol. Biochem* 32: 733-745.
- MYERS, R.T., D.R. Zak, D.C. White, A. Peacock. 2001. "Landscape-level patterns of microbial community composition and substrate use in upland forest ecosystems". *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65: 359-367.
- NANNIPIERI, P., S. Greco, B. Ceccanti. 1990. "Ecological significance of biological activity". In: Bollag J.M, Stotzky G (Ed) *Soil biochemistry*, vol 6. Dekker, New York, pp 293-355.
- NOEJOVICH, L., T. Marañón. 2001. "Heterogeneidad del medio físico y biodiversidad del bosque". *Almoraima* (en prensa).
- PANKHURST, C.E., B.M. Doube, VVSR Gupta. 1997. "Biological indicators of soil health": synthesis. In: Pankhurst CE, Doube B.M., Gupta VVSR (Ed) *Biological indicators of soil health*. CAB International, New York, pp 419-435.
- PÉRIÉ, C., D. Munson. 2000. "Ten-year responses of soil quality and conifer growth to silvicultural treatments". *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 1815-1826.
- QUILCHANO, C., T. Marañón. 2001. "Actividad biológica del suelo forestal: efectos de rozas y aclareos". Actas del III Congreso Forestal Español, Granada.
- SCHNEIDER, K., M.B. Turrión, J.F. Gallardo. 2000. "Modified method for measuring acid phosphatase activities in forest soils with high organic matter content". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31 (19-20): 3077-3088.
- SKUJINS, J. 1976. "Extracellular enzymes in soil". *Critical Reviews in Microbiology* 4: 383-421.
- STATSOFT. 1997. *STATISTICA for Windows, version 5.1*. Statsoft Inc, Tulsa, Oklahoma.
- TRASAR-CEPEDA, C., C. Leirós, F. Gil Sotres. 1998. "Towards a biochemical quality index for soils: an expression relating several biological and biochemical properties". *Biol. Fertil. Soils* 26: 100-106.
- TRASAR-CEPEDA, C., C. Leirós, F. Gil Torres. 1999. "Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oak-wood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): specific parameters". *Soil Biol. Biochem* 32: 747-755.
- VUORINEN, AH. 1993. "Requirement of p-nitrophenol standard for each soil". *Soil Biol. Biochem.* 25 (2): 295-296.