

## **LOS VERMICOMPOSTS DE SUBPRODUCTOS DEL OLIVAR COMO ACOLCHADO DEL SUELO: EFECTO SOBRE LA RIZOSFERA**

R. MELGAR<sup>1</sup>; E. BENÍTEZ<sup>1</sup>; H. SAINZ<sup>1</sup>; A. POLO<sup>2</sup>; M. GÓMEZ<sup>1</sup> y R. NOGALES<sup>1</sup>

1)Dep. Agroecología y Protección Vegetal. Estación Experimental del Zaidín (C.S.I.C).  
c/ Profesor Albareda, 1. 18008 GRANADA

2) Centro de Ciencias Medioambientales (C.S.I.C.), c/ Serrano, 115, 28006 MADRID

**Resumen:** Orujo seco y extractado, solo o mezclado con biosólidos, se utilizó como sustrato de un proceso de vermicompostaje. Los vermicompost obtenidos, junto con los materiales de los que procedían, se utilizaron a continuación como acolchado en un cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*, L.) sobre un suelo degradado. Cambios en la actividad enzimática (deshidrogenasa, ureasa, fosfatasa) en la rizosfera del pimiento, junto con los parámetros fisiológicos y el contenido en nutrientes del cultivo, sirvieron para evaluar los diferentes subproductos orgánicos utilizados como acolchado. Todos ellos aumentaron los niveles de P y K del cultivo, mientras que la concentración de N fue similar a la que presentó el control sin acolchado. En la rizosfera de pimiento, la actividad deshidrogenasa y fosfatasa fue más alta bajo acolchado orgánico, ésta última especialmente cuando los subproductos utilizados fueron previamente vermicompostados. La actividad ureasa se encontró inhibida bajo acolchado no vermicompostado. El orujo seco y extractado, solo o mezclado con otros subproductos ricos en N, podría utilizarse como enmendante orgánico de suelos degradados, siendo especialmente beneficioso si es previamente vermicompostado.

**Palabras clave:** Orujo seco y extractado; Acolchado; Pimiento (*Capsicum annuum*, L.); Rizosfera; Actividad enzimática; Nutrición Vegetal.

## **INTRODUCCIÓN**

El descenso de la fertilidad del suelo agrícola ha sido alarmante en las últimas décadas. En la región mediterránea, el mayor responsable de la pérdida de fertilidad del suelo es la disminución de los niveles de materia orgánica de los mismos (Rasmussen y Collins, 1991). Por tanto, la práctica más lógica para mantener o recuperar la fertilidad de los suelos es la adición de materia orgánica (Costa et al., 1991), la cual preferentemente debería estar estabilizada para producir efectos beneficiosos (Nogales et al., 1995).

Entre las diferentes tecnologías de estabilización de residuos se encuentra el vermicompostaje, proceso de biooxidación y estabilización de la materia orgánica mediado por la acción combinada y microorganismos, mediante el cual se obtiene un producto denominado vermicompost (Nogales et al., 1995). El vermicompostaje ha sido ya propuesto como una ecobiotecnología de bajo coste capaz de estabilizar diferentes tipos de residuos (Elvira et al., 1998; Benítez et al., 1999), entre ellos algunos derivados de la industria del aceite de oliva como el orujo seco y extractado (Sainz et al., 2000). Aparece, de esta forma, la posibilidad de transformar un residuo en un recurso para uso agrícola en suelos degradados con bajo contenido en materia orgánica.

El uso de la materia orgánica como abono o enmendante orgánico puede realizarse de diferentes formas. Una posibilidad es su uso como acolchado o mulching, siendo bien conocidos los beneficios que presenta este sistema. El acolchado reduce la evaporación de agua de la superficie del suelo, disminuye la aparición y crecimiento de hierbas adventicias, mejora el crecimiento radical y favorece la absorción de nutrientes por parte de la planta y actúa como biocontrolador de fitopatógenos (Casale et al., 1995).

Para conocer la respuesta de la planta a la adición de materia orgánica al suelo, se ha propuesto el estudio de algunas actividades enzimáticas del mismo (Nannipieri et al., 1990). Algunas de ellas han sido utilizadas como un índice de fertilidad del suelo (Perucci, 1992; Ceccanti et al., 1993) al estar directamente relacionadas con la actividad microbiana del suelo (deshidrogenasa) o con los ciclos biogeoquímicos de éste (ureasa, fosfatasa,  $\beta$ -glucosidasa).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia del uso de uno de los subproductos de la industria del olivar, orujo seco y extractado, como enmendante agrícola de un suelo degradado y un cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*, L). Para ello se estudiaron diferentes actividades enzimáticas (deshidrogenasa, ureasa y fosfatasa) en la rizosfera de pimiento y se relacionaron con el crecimiento y el contenido en nutrientes del cultivo.

# MATERIAL Y METODOS

## *Desarrollo experimental*

Los materiales orgánicos usados en el experimento fueron: orujo seco y extractado (O) y mezcla de orujo seco y extractado con biosólido (lodo) digerido anaeróbicamente en proporción 8:1 (OB). El orujo seco y extractado se obtuvo en una productora de aceite de orujo (COLGRA DOS S.L. Atarfe, Granada) y el biosólido procedía de la planta depuradora de aguas residuales urbanas EDAR Churriana-Sur de Granada. Dichos subproductos fueron tratados durante un periodo de 160 días mediante procesos de estabilización de la materia orgánica en ausencia o en presencia de lombrices (vermicompostaje).

El proceso de vermicompostaje se desarrolló según metodología descrita por Sainz et al. (2000). Durante el mismo periodo de tiempo, los subproductos O y OB fueron incubados en las mismas condiciones de humedad y temperatura pero en ausencia de lombrices (subproductos no vermicompostados). La [Tabla 1](#) indica algunas de las características químicas de los subproductos iniciales y estabilizados.

El suelo elegido para el ensayo de los materiales orgánicos fue un suelo degradado, calcáreo y arcilloso (pH:7). En contenedores de 1 L de capacidad se dispusieron 500 g de suelo y sobre él 30 g del material orgánico elegido (2 cm de espesor). Como control se utilizó suelo sin ningún tipo de enmienda orgánica (S). Tres plántulas de pimiento previamente germinadas se transplantaron en cada contenedor y sobre ellas se colocó una capa de 1.5 de perlita. El suelo se mantuvo a capacidad de campo durante todo el tiempo que duró el experimento (80 días). Después de este periodo, las plantas de pimiento fueron cosechadas y las hojas separadas de los tallos. Para la medida del área foliar se utilizó un planómetro LICOR LI-300.

El suelo de la rizosfera del pimiento se obtuvo separando el sistema radical del grueso del suelo, primero mediante una fuerte agitación y a continuación, el suelo que permanecía todavía unido a las raíces mediante un bisturí. Esta parte del suelo es considerada como suelo rizosférico (Rovira y McDougall, 1967) y una vez separado de la raíz se guardó en un frigorífico a 4°C hasta que se realizaron los diferentes análisis bioquímicos.

## *Análisis Químicos y Bioquímicos*

El carbono orgánico total, nitrógeno total y pH se determinaron según método descrito por M.A.P.A. (1986). Las fracciones humificadas (ácidos húmicos y ácidos fúlvicos) fueron extraídas de los substratos con solución alcalina (0.1M Na<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>-0.1M NaOH), separando ambas fracciones mediante la acidificación del extracto a pH 1 (Dabin, 1971). El P y K fueron determinados, después de la mineralización de las muestras con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> según la metodología descrita por CII (1969). El test de fitotoxicidad se realizó según el método propuesto por Zucconi et al. (1981) con semillas de *Lepidium sativum*, L.

Las actividades deshidrogenasa y ureasa en rizosfera se determinaron según García et al.(1997, 1993), respectivamente y la actividad fosfatasa según Nannipieri et al. (1982). El amonio y fósforo soluble en el suelo rizosférico se determinaron, respectivamente, mediante electrodo selectivo y cromatografía iónica usando un cromatografo DIONEX.

Todos los resultados son media de tres repeticiones y fueron tratados estadísticamente mediante análisis de la varianza y test de Duncan utilizando el programa STATGRAPHICS Plus.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proceso de vermicompostaje aumentó considerablemente el carbono extraíble total (CET) de los subproductos frente los que fueron estabilizados en ausencia de lombrices, en donde incluso descendió en el caso del orujo extractado ([Tabla 2](#)). Dicho aumento está directamente relacionado con el incremento de ácidos húmicos (AH) detectado durante el proceso de vermicompostaje, fenómeno que no tuvo lugar en ausencia de lombrices ([Tabla 2](#)). El contenido de ácidos fúlvicos (AF) permaneció en equilibrio o bien fueron degradados, independientemente de la presencia o ausencia de lombrices, a excepción del tratamiento OB, en donde en ausencia de lombrices aumentó considerablemente su concentración, motivo por el que aumentó el CET.

La determinación del índice de germinación es importante cuando se quiere destinar un material orgánico a uso agrícola, ya que es una medida de su potencial fitotóxico. En la [figura 1](#) se observa como el orujo seco y extractado, solo o mezclado con biosólido anaeróbico, presentaron valores cercanos al 60 %, límite de fitotoxicidad propuesto por Zucconi et al. (1981).

El proceso de vermicompostaje aumentó notablemente dicho índice, incluso superando el 100% en el OB, lo que indica el claro efecto estimulador del crecimiento que posee este material orgánico.

Los mayores niveles de humificación, junto con el elevado índice de germinación que presentaron el orujo seco y extractado vermicompostado (OV) y la mezcla de orujo y biosólido anaeróbico vermicompostado (OBV), nos llevó a elegir estos materiales como posibles enmiendas orgánicas a ensayar en un cultivo de pimiento, comparándolos con los materiales de los que procedían.

### ***Parámetros fisiológicos y niveles de nutrientes en pimiento***

El uso de OB como acolchado (S+OB) aumentó todos los parámetros fisiológicos del pimiento con respecto al control sin acolchado (S) ([Tabla 3](#)). Los demás tratamientos no resultaron efectivos al no modificar significativamente los valores de peso seco de hojas y tallos de pimiento.

Los niveles de N en planta fueron similares en todos los tratamientos, no así los de P y K que fueron superiores en los que incluían acolchado, independientemente que fueran materiales vermicompostados o no. No se detectó, por tanto, relación entre el contenido en P y K de los materiales utilizados ([Tabla 4](#)) y concentración de estos elementos en hojas de pimiento. Independientemente de las variaciones observadas, los niveles de K en hoja pueden considerarse como altos mientras que los niveles de N se encontraron por debajo de los considerados normales para este cultivo (Benton Jones et al., 1991).

### ***Actividad enzimática en la rizosfera de pimiento***

La actividad ureasa en la rizosfera de pimiento fue diferente dependiendo del material orgánico utilizado en el acolchado ([Fig. 2](#)). En general, dicha actividad en el suelo se ve incrementada por la adición de materia orgánica al mismo (García et al., 1994). En nuestro experimento, el uso de materiales vermicompostados (S+OV, S+OBV) no modificó la actividad ureasa en suelo. En cambio, dicha actividad sufrió un claro descenso cuando se utilizaron materiales no vermicompostados (S+O, S+OB) ([Fig. 2](#)). Este efecto inhibitorio podría estar motivado por la presencia en estos sustratos de polifenoles, principales inhibidores de la actividad ureasa en suelo (Mulvaney y Bremner, 1981), y el orujo seco y extractado usado en este experimento presentó alrededor de un 10% de polifenoles (Molina et al., 1999). Los

polifenoles podrían ser parcial o totalmente degradados durante el proceso de vermicompostaje y como consecuencia la actividad ureasa en rizosfera bajo materiales estabilizados no presentaría valores muy diferentes a los del propio suelo. Por otra parte, la mayor concentración de amonio presente en la rizosfera de pimiento cultivado bajo materiales no vermicompostados, podría también ser responsable de la inhibición de la actividad ureasa (Nannipieri et al., 1978).

Todos los materiales orgánicos utilizados en el acolchado incrementaron significativamente ( $P < 0.05$ ) la actividad fosfatasa en la rizosfera de pimiento ([Fig. 3](#)), siendo mayor el aumento cuando los materiales fueron previamente vermicompostados (S+OV, S+OBV). En general, la adición de cualquier tipo de material orgánico aumenta la actividad fosfatasa del suelo, debido a la estimulación de la actividad microbica del suelo (Dick et al., 1988). La diferencias observadas entre los dos tipos de material orgánico -vermicompostados o no- podrían ser debidas a la mayor concentración de P soluble presente en estos últimos, ya que la presencia de fósforo soluble en el suelo es responsable de la inhibición de la síntesis de fosfatasa por parte de los microorganismos (Lopez-Hernandez et al., 1989). A pesar de la correlación negativa ( $P < 0.05$ ) existente entre actividad fosfatasa y fósforo soluble en rizosfera, no se encontró ninguna relación entre estos parámetros y el contenido de P en hojas de pimiento.

Al contrario que la actividad ureasa o fosfatasa, la actividad deshidrogenasa aumentó significativamente en la rizosfera del pimiento cuando se aplicó cualquier tipo de material orgánico ([Fig. 4](#)). Este aumento, característico al aplicar materiales orgánicos (Ceccanti y Garcia, 1994) se atribuye generalmente al aumento producido en la actividad microbiana, sea directamente por introducción de microorganismos y enzimas en el medio como indirectamente por la adición de substratos fácilmente asimilables por los microorganismos que incrementan la actividad de los mismos (García et al. 1994; Benítez et al., 1999).

## CONCLUSIONES

El acolchado del cultivo de pimiento, con cualquiera de los subproductos orgánicos utilizados, aumentó los niveles de P y K del cultivo, mientras que la concentración de N fue similar a la que presentó el control sin acolchado.

En la rizosfera de pimiento, la actividad deshidrogenasa y fosfatasa fue más alta bajo acolchado orgánico, ésta última especialmente cuando los subproductos utilizados fueron previamente estabilizados mediante vermicompostaje. No se observó correlación entre la actividad fosfatasa o fosfato soluble en rizosfera y el contenido de fósforo en planta. Por otra parte, se detectó una notable inhibición de actividad ureasa cuando los pimientos crecieron bajo acolchado no vermicompostado.

El orujo seco y extractado, solo o mezclado con otros subproductos ricos en N, podría utilizarse como enmendante orgánico de suelos degradados, siendo especialmente beneficioso si es previamente vermicompostado.

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente estudio ha sido financiado por la CICYT a través del proyecto 1FD97-0795. H. Sainz agradece a la AECI-Programa Mutis, E. Benítez al Ministerio de Educación y Cultura y R. Melgar al CSIC la financiación concedida para la realización del presente estudio. Asimismo, los autores agradecen a la empresa COLGRA DOS, S.L. el orujo suministrado y a la empresa EMASAGRA S.A. el biosólido proporcionado, y a ambas su interés por el desarrollo del proyecto de investigación.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Benítez, E., Nogales, R., Elvira, C., Masciandaro, G., Ceccanti, B., (1999). Enzyme activities as indicators of the stabilization of sewage sludges composting with *Eisenia foetida*. *Bioresource Technology* 67, 297-303.
- Benton Jones, J., Wolf, B., Mills, H.A., (1991). Plant analysis handbook. Micro-Macro Publishing, USA.
- C.I.I., (1969). Métodos de referencia para la determinación de elementos minerales en vegetales. *Anales Edafología y Agrobiología* 28, 409-430.
- Casale, W.L., Minassian, V., Menge, J.A., Lovati, C.J., Pond, E.,

Johnson, E., Guillemet, F., (1995). Urban and agricultural wastes for use as mulches on avocado and citrus and for delivery of microbial biocontrol agents. *Journal of Horticultural Science* 70, 315-332.

- Ceccanti, B., Garcia, C., (1994). Coupled chemical and biochemical methodologies to characterize a composting process and the humic substances. In: Senesi, N. and Miano, T.M. (Eds.), *Humic Substances In The Global Environment And Implications On Human Health*. Elsevier, Amsterdam. pp. 1279-1284.

- Ceccanti, B., Pezzarossa, B., Gallardo-Lancho, F.J., Masciandaro, G., (1993). Biotests as markets of soil utilization and fertility. *Geomicrobiology Journal* 11, 309-316.

- Costa, F., García, C., Hernández, T., Polo, A. (1991). Residuos orgánicos urbanos. Manejo y Utilización. CEBAS-CSIC (ed). Murcia. 181 pp.

- Dabin, B. (1971). Etude d'une méthode d'extraction de la matière humique du sol. *Sci. Sol*, 1, 47-48.

- Dick, R. P., Rasmussen, P.E., Kerle, E.A. (1988). Influence of long-term residue management on soil enzyme activity in relation to soil chemical properties of a wheat-fallow system. *Biology and Fertility of Soils* 6, 159-164.

- Elvira, C., Sampedro, L., Benitez, E., Nogales, R., (1998). Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: A pilot-scale study. *Bioresource Technology* 63, 205-211.

- Garcia, C., Hernandez, T., Costa, F., Ceccanti, C., Ganni, A., (1993). Hydrolases in the organic matter fractions of sewage sludge: changes with composting. *Bioresource Technology* 45, 47-52.

- Garcia, C., Hernandez, M.T., Costa, F., Ceccanti, B., (1994). Biochemical parameters in soils regenerated by addition of organic wastes. *Waste Management and Research* 12, 457-466.

- Garcia, C., Hernandez, M.T., Costa, F., (1997). Potencial use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Communication Soil Science and Plant Analysis* 28, 123-134.

- Lopez-Hernandez, D., Nino, M., Nannipieri, P., Fardeau, J.C., (1989). Phosphatase activity in *Nasutitermes ephratae* termite nests. *Biology and Fertility of Soils* 7, 134-137.

- M.A.P.A. (1986). *Metodos oficiales de analisis*. Tomo III. Plantas, productos organicos, fertilizantes, suelos, agua, productos fitosanitarios y fertilizantes organicos. Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentacion. Madrid.

- Molina, E, Nogales, R, Martín, I., Benítez, E., Yañez, D., Melgar, R., Gómez, M., (1999). Caracterización y aprovechamiento integral de



subproductos derivados de las nuevas tecnologías de extracción del aceite de oliva. *Mercacei* 18, 128-130.

- Mulvaney, R.L., Bremner, J.M., (1981). Control of urea transformations in soils. In: Paul E.A., Ladd, J.N. (Eds.), *Soil Biochemistry*, vol 5. Marcel Dekker, Inc, New York, pp: 153-196.
- Nannipieri, P, Ceccanti, B., Conti, C., Bianchi, D., (1982). Hydrolases extracted from soil: their properties and activities. *Soil Biology and Biochemistry* 14, 257-263.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B., Cervelli, S., Sequi, P., (1978). Stability and kinetic properties of humus-urease complexes. *Soil Biology and Biochemistry* 10, 143-147.
- Nannipieri, P., Grego, S., Ceccanti, B., (1990). Ecological significance of the biological activity in soil. In: Bollag, J.M., Stotzky, G. (Eds.), *Soil Biochemistry*. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 293-355.
- Nogales, R., Elvira, C., Benítez, E., Gallardo-Lara, F., (1995). Uso agrícola de compost y vermicompost de basuras urbanas (I): Procesos, madurez y calidad de los productos. *Residuos*, 26, 53-57.
- Perucci, P., (1992). Enzyme activity and microbial biomass in a field soil amended with municipal refuse. *Biology and Fertility of Soils* 14, 54-60.
- Rasmussen, P.E., Collins, H.P., (1991). Long-terms impact of tillage, fertilizer and crop residue on soil organic matter in temperate semiarid regions. *Adv. Agron.*, 45, 93-134.
- Rovira, A. D., McDougall, B.M., (1967). Microbiological and biochemical aspects of the rhizosphere. In: McLaren, A. D., Paterson, G. H. (Eds.), *Soil Biochemistry* vol I. Marcel Dekker, Inc, New York, pp. 417-463.
- Sainz, H., Benítez, E., Melgar, R., Alvarez, R., Gómez, M., Nogales, R. (2000). Biotransformación y valorización agrícola de subproductos del olivar -orujos secos y extractados- mediante vermicompostaje. *V Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*. En prensa
- Zucconi, F., Monaco, A., Forte, M., De Bertoldi, M., (1981). Biological evaluation of compost maturity. *BioCycle* 22, 27-29.

## **TABLAS Y FIGURAS.**

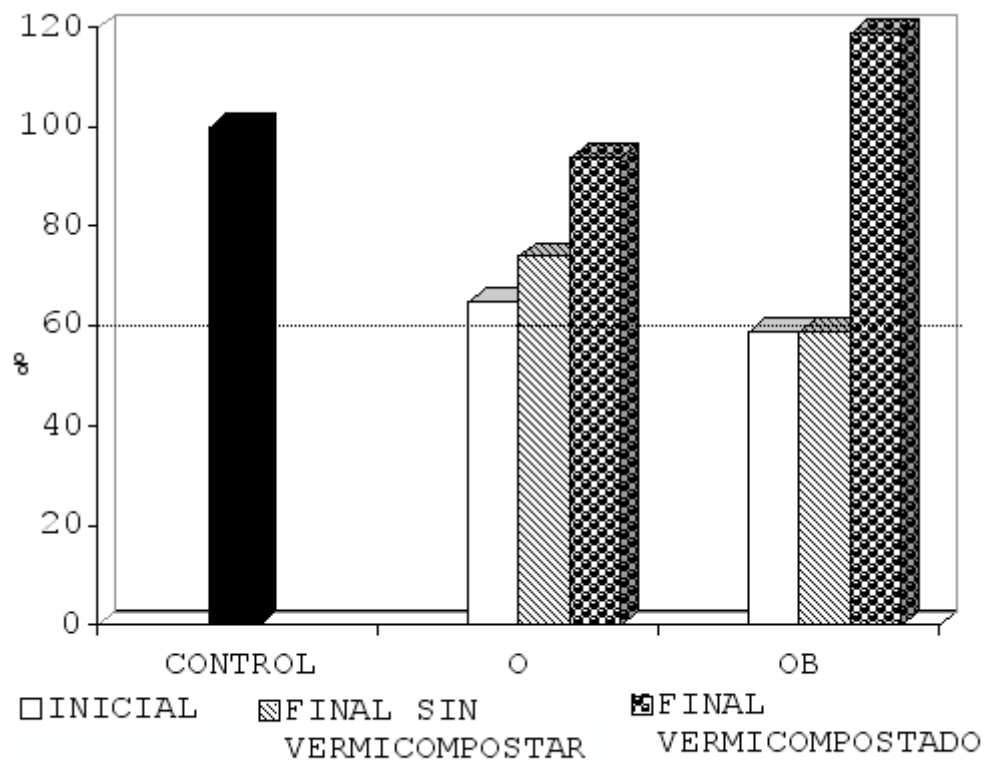


Fig. 1. Índice de germinación de semillas de berro en los subproductos. Control: agua destilada.

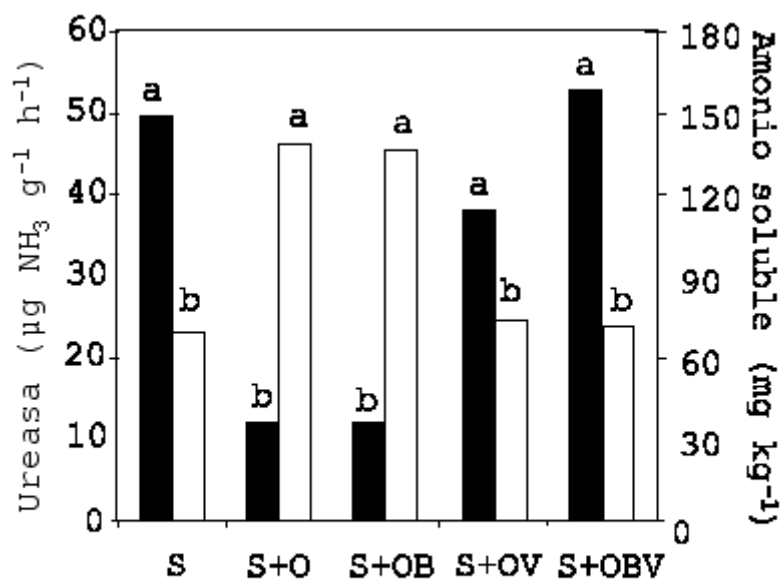


Fig. 2. Actividad ureasa (■) y amonio soluble (□) en rizosfera de pimiento en los diferentes tratamientos ensayados. Valores medios de tres repeticiones. Para cada parámetro, valores con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

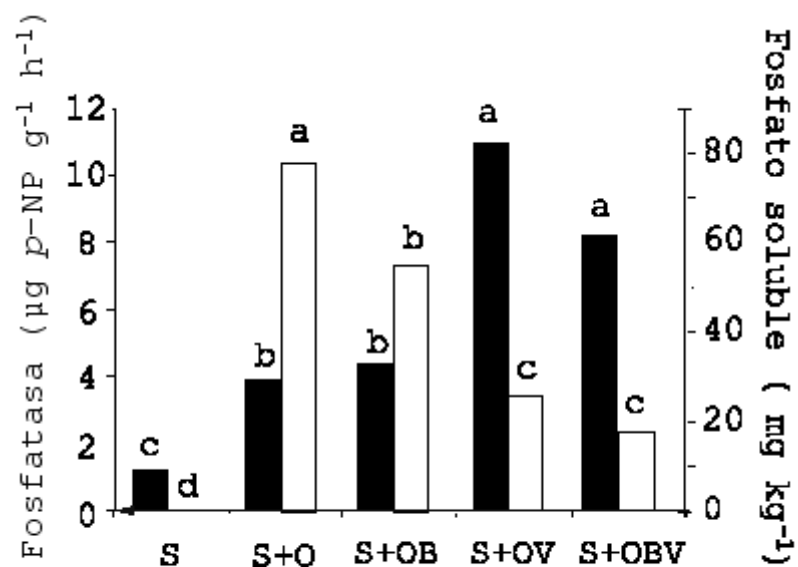


Fig. 3. Actividad fosfatasa (■) y fosfato soluble (□) en rizosfera de pimiento en los diferentes tratamientos ensayados. Valores medios de tres repeticiones. Para cada parámetro, valores con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

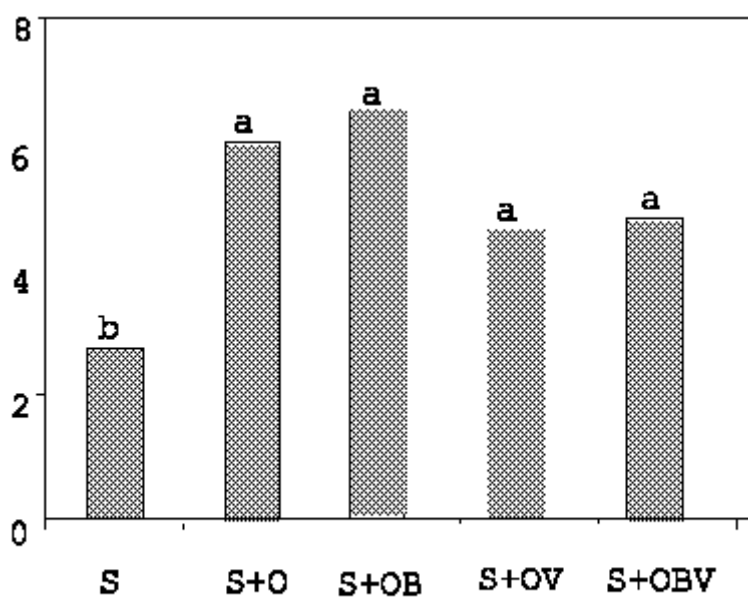


Fig. 4. Actividad deshidrogenasa en rizosfera de pimiento en los diferentes tratamientos ensayados. Valores medios de tres repeticiones. Valores con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).