

INDICADORES BIOLÓGICOS PARA LA EVALUACION DE LA CALIDAD DE LOS SUELOS

Rogelio Nogales Vargas-Machuca¹

¹ Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEZ-CSIC), Granada, España.
Correo electrónico: rogelio.nogales@eez.csic.es

El suelo es un recurso no renovable, dinámico y vivo, cuya condición y funcionamiento es vital para la producción de alimentos, y para el mantenimiento de la calidad ambiental local, regional y global (Doran et al., 1999). Es uno de los recursos naturales de la tierra menos conocidos, respecto al aire y al agua. Sin embargo el suelo es fundamental para el equilibrio de la tierra ya que es la interfase entre la litosfera, la atmósfera, la hidrosfera y la biosfera.

En condiciones naturales, el suelo tiende a un estado de equilibrio tras un lento proceso de formación denominado edafogénesis. En estas condiciones el suelo se encuentra cubierto por una vegetación que le aporta una cantidad progresiva de materia orgánica y nutriente, y produce una mejora en su estructura. Puede decirse entonces que los suelos mantienen una calidad adecuada. El suelo, además de sus funciones como soporte físico y productor de alimentos y fibras, juega un papel crítico en el mantenimiento de la calidad del aire, almacenamiento de agua y nutrientes para las plantas y microorganismos, y como medio purificador de contaminantes mediante procesos físicos, químicos y biológicos.

En la actualidad, una gran parte de nuestro suelo pierde calidad y se encuentra sometido a procesos de degradación. La degradación (física, química y/o biológica) del suelo constituye uno de los problemas medioambientales más importantes a escala mundial y la principal amenaza para la conservación de la biodiversidad y, por ello, para la sostenibilidad y el mantenimiento de la calidad, salud y capacidad productiva del sistema suelo-planta. Un aspecto muy a tener en cuenta en los procesos de degradación de suelos (y su más que probable desertificación), es el contenido en materia orgánica de dicho suelo.

La materia orgánica es fundamental en la fertilidad y productividad de los suelos ya que es imprescindible en el desarrollo y funcionalidad de un ecosistema terrestre (Smith and Papendick, 1993). La materia orgánica influye de una forma directa sobre sus propiedades químicas, físicas, físico-químicas y biológicas, de modo que cualquier reducción o deterioro de ella implicaría la posible degradación del suelo. Por ello, la aplicación de residuos orgánicos estabilizados mediante procesos, entre otros, de compostaje y vermicompostaje, constituye una herramienta eficaz para minimizar los procesos de degradación del suelo, a la vez que posibilita la reutilización de estos materiales, cuya acumulación constituye un grave problema mediambiental.

La calidad y salud, conceptos considerados como equivalentes, del suelo puede ser definida, aunque sobre la definición existe controversia, como la capacidad de este medio para funcionar como un sistema vivo dentro de un ecosistema, para sustentar la productividad biológica, promover la calidad ambiental y mantener la salud de plantas, animales y del hombre (Doran y Safley, 1997). Este concepto incluye diferentes atributos ecológicos del suelo, además de su capacidad para producir una cosecha determinada. Estos atributos se relacionan con los organismos vivos presentes en el suelo, su diversidad, su actividad bioquímica y la gran cantidad de funciones que realizan. El mantenimiento de la calidad del suelo es imprescindible para la sostenibilidad ambiental y de la biosfera, aunque ello es un tema complejo debido a la importancia del clima, planta, factores antropogénicos y las interacciones que afectan al medio edáfico (Arshad y Martin, 2002).

Indicadores de calidad del suelo

La búsqueda de indicadores de la calidad del suelo es una prioridad en el ámbito de las ciencias edáficas, no solo desde un punto de vista agronómico sino también por el acusado deterioro del suelo ocurrido en las últimas décadas. Esta prioridad se refleja por el gran número de publicaciones recogidas en el ISI of Knowledge relacionadas con esta temática. Sin embargo, el uso y aplicación de los indicadores de calidad es una tarea compleja debido a la diversidad natural del suelo y a la multitud de procesos físicos, químicos, bioquímicos y microbiológicos que tienen lugar en él, así como a la elevada heterogeneidad espacial y temporal de este recurso natural (García et al., 1994a). Además, los posibles indicadores deben cumplir una serie de requisitos: i) ser fácilmente medibles, ii) ser sensibles al estrés, iii) responder de forma predecible, iv) adelantarse a los cambios más o menos reversible del suelo, y v) tener una baja variabilidad en su respuesta. La selección de indicadores adecuados que cumplan estas condiciones es fundamental para evaluar el éxito de las prácticas del manejo agrícola del suelo y de la recuperación de los suelos degradados y/o contaminados.

Se han propuesto un gran número de indicadores potenciales de la calidad de los suelos utilizando, para ello, sus propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos, así como diferentes escalas de estudio (**Tabla 1**).

Tabla 1. Indicadores potenciales de la calidad del suelo a diferentes escalas

FÍSICAS	QUÍMICAS	BIOLOGICAS
	MICROESCALA (perfil del suelo)	
Textura	pH	C biomasa microbiana
Estructura	Conductividad eléctrica	N biomasa microbiana
Densidad aparente	Capacidad intercambio catiónico	Respiración del suelo
Estabilidad agregados	Carbono orgánico total (COT)	Cociente metabólico (qCO ₂)
Profundidad del perfil	Carbono hidrosoluble	C biomasa microbiana /COT
Conductividad hidráulica	Macronutrientes extraíbles	Actividades enzimáticas
	Micronutrientes extraíbles	Comunidades microbianas
		Organismos indicadores
	MESOESCALA (explotación agrícola)	
Color, espesor horizonte Ap	Cambios de materia orgánica	Rendimiento cultivos
Compactación por laboreo	Acumulación de metales pesados	Adventicias
Infiltración	Cambios en salinidad	Deficiencias nutrientes
Erosión de cárcavas	Pérdidas por lixiviación	Características del cultivo
Cubierta superficial		
	MACROESCALA (agroecosistema)	
Desertificación	Acidificación	Productividad
Pérdida de cubierta vegetal	Salinización	Diversidad y riqueza especies
Erosión eólica e hídrica	Cambios calidad agua	Especies llave del sistema
Sedimentos en lagos y ríos	Cambios calidad aire	Biomasa, densidad, abundancia

En general, aquellos basados en las propiedades físicas y químicas del suelo son los que, generalmente, han sido utilizados para evaluar la productividad del suelo desde un punto de vista agronómico. Así, la estructura, textura, densidad aparente, estabilidad de agregados, infiltración, capacidad de almacenamiento del agua y conductividad hidráulica son características físicas del suelo propuestas como indicadores ya que regulan el crecimiento de raíces y plántulas y el movimiento del agua a través del perfil. El pH, conductividad, carbono orgánico total y soluble, capacidad de intercambio catiónico, macro y micronutrientes extraíbles y metales pesados son propiedades químicas propuestas como indicadores relacionadas con las relaciones suelo-planta y la disponibilidad de nutrientes para los cultivos y microorganismos. Sin embargo, estos indicadores no tienen en cuenta la sostenibilidad del

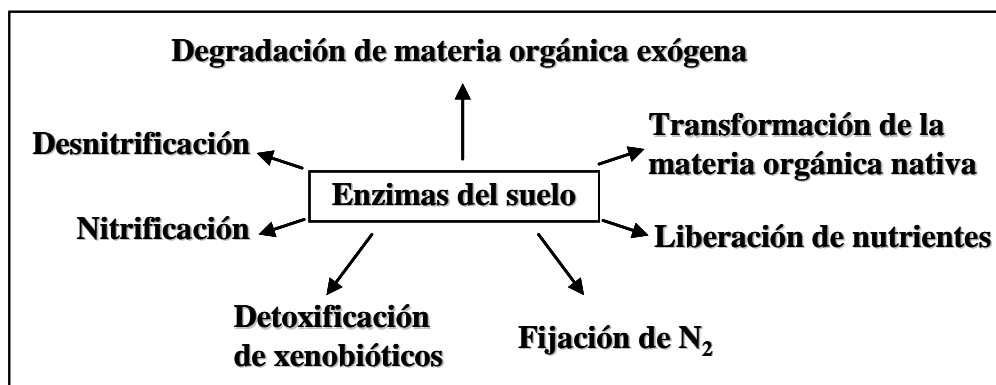
agroecosistema, y específicamente, la capacidad continuada del suelo para producir cosechas de forma económicamente rentable para el agricultor y beneficiosa para la salud pública.

El estado microbiológico y bioquímico ha sido propuesto como indicador del estado biológico real del suelo, así como de procesos de recuperación de los mismos, tanto en ecosistemas naturales como en agroecosistemas (Bolton et al., 1985, Dick, 1994). Además, estos “bioindicadores” son más sensibles a los cambios, por lo que pueden describir la calidad del suelo en un contexto más amplio. El término “bioindicador” ha sido definido como “un parámetro microbiano que representa las características del entorno o los impactos al mismo, que se puede interpretar más allá de la información que representa la medición u observación de tal parámetro (Nielsen et al., 2002). Doran y Parkin (1994) seleccionaron como indicadores biológicos el C y N de la biomasa microbiana, el N potencialmente mineralizable y la respiración del suelo. El coeficiente metabólico (qCO_2) (C respiración/ C biomasa microbiana) (Insam and Haselwandter, 1989, Anderson and Domsch, 1985) ha sido, quizás, uno de los más utilizado, como indicador de la calidad del suelo en diferentes manejos y sistemas de cultivo o degradado por contaminación con metales pesados o deforestación (Dilly et al., 2003, Liao and Xiao, 2007, Bastida et al., 2006). El cociente entre C de la biomasa microbiana y C orgánico total del suelo se ha propuesto como un índice sensible a los cambios de la materia orgánica en el suelo, ya que la biomasa microbiana responde más rápidamente que la materia orgánica del suelo a esos cambios (Powlson y Jenkinson, 1981).

Actividades enzimáticas como bioindicadores de la calidad del suelo

Los microorganismos del suelo, principalmente bacterias y hongos (Atlas y Bartha, 1998; Hugenholz *et al.*, 1998) determinan la calidad de un suelo a través de sus actividades metabólicas en muy diferentes condiciones medioambientales. Por este motivo, las actividades enzimáticas, como medida, además, de la actividad microbiana, han sido utilizadas como indicadores potenciales de la calidad del suelo, debido a su relación con la actividad biológica del mismo, facilidad de medida, y respuesta rápida a los cambios en el manejo (Dick 1994; Dick et al., 1996, Benítez et al., 2006). Una enzima se define como una proteína producida por una célula viviente que funciona como catalizador de una reacción química específica. Las enzimas por su naturaleza proteica pueden ser afectadas por la temperatura y pH (Alexander 1980) y durante las reacciones específicas en que ellas actúan, lo hacen como catalizadores orgánicos sin experimentar cambios en su estructura (Coyne 2000). Un gran porcentaje de los procesos que tienen lugar en el suelo (**Figura 1**) son reacciones enzimáticas (mineralización, inmovilización, fijación de nitrógeno etc).

Figura 1. Procesos biológicos del suelo catalizados por enzimas



Las enzimas pueden existir en el suelo tanto en forma de proteínas libres (enzimas extracelulares o abióticas) o asociada con organismos vivos (enzimas bióticas). Las primeras se encuentran ampliamente distribuidas en el suelo y están protegidas por las sustancias húmicas, coloides y arcillas, lo que hace que su degradación y desnaturalización (Ladd y Butler, 1975) se vea limitada y sus niveles de actividad sean constantes e independientes de la proliferación microbiana (Ceccanti et al., 1978). Existen varios mecanismos sobre la forma de unión de estas enzimas a los complejos húmicos: por medio de enlaces covalentes (de tipo peptídico), por enlaces de intercambio iónico entre proteínas y las sustancias húmicas y por adsorción mediante puentes de hidrógeno (García et al., 1994b). Estructuralmente, las sustancias húmicas están constituidas por un núcleo estable de fuerte carácter aromático formado por ácidos fúlvicos y húmicos resistente a la desnaturalización físico-química y una estructura lábil que constituiría el frente reactivo que controlaría la acumulación y el intercambio de nutrientes (Ceccanti et al., 1997)

Según su función, las enzimas del suelo más estudiadas son las oxidorreductasas (deshidrogenasas, catalasas y peroxidasas) y las hidrolasas (glucosidasas, fosfatasas, proteasas, ureasa y arilsulfatasa) (**Tabla 2**). Otros métodos establecidos como bioindicadores relacionados con las actividades enzimáticas han sido el uso de fluoresceína diacetato hidrolasa (FDAH) que cataliza la hidrólisis de fluoresceína diacetato a fluoresceína y mide la actividad de muchas enzimas no-específicas sobre la degradación de la materia orgánica en el suelo (Adam y Duncan, 2001).

Tabla 2. Funciones de algunas actividades enzimáticas del suelo

Hidrolasas:

- **Invertasa:** Sacarosa \longrightarrow glucosa + fructosa
- **Celulasa:** celulosa(cristalina) \longrightarrow celulosa(amorfa) \longrightarrow celobiosa
- **β -Glucosidasa:** celobiosa \longrightarrow glucosa + ROH
- **Fosfomonooesterasas:** Fósforo orgánico \longrightarrow Fósforo inorgánico
- **Ureasa:** Urea \longrightarrow CO₂ + NH₄⁺
- **Proteasa:** Proteínas y péptidos \longrightarrow NH₄

Oxidoreductasas:

- **Deshidrogenasa:** XH₂ + A \longrightarrow X + AH₂
- **Fenol oxidasas:** monofenol + 1/2O₂ \longrightarrow Quinona + H₂O
- **Lacasa:** 4(difenol) + O₂ \longrightarrow 4(quinona) + 2H₂O
- **Peroxidasa:** donador e⁻ + H₂O₂ \longrightarrow donador oxid. + H₂O
- **Catalasa:** 2H₂O₂ \longrightarrow 2H₂O + O₂

Aunque actualmente el análisis de las actividades enzimáticas del suelo es relativamente fácil y económico, habiéndose rutinizado en muchos laboratorios, la interpretación de los resultados que se obtienen aun plantea problemas ya que los valores registrados pueden presentar variabilidad dependiendo tanto de factores naturales como antropogénicos. Dentro de los primeros se incluyen la localización geográfica del suelo, cambios estacionales, propiedades físico-químicas y contenido de materia orgánica del suelo, biomasa microbiana y arcillas del suelo. Dentro de los antropogénicos se incluyen el manejo, la contaminación y aplicación de agroquímicos al suelo.

Sin embargo, se ha constatado que el análisis de una sola actividad enzimática no puede ser indicativo de la calidad del suelo debido a la especificidad de cada enzima, a que las enzimas extracelulares inmovilizadas no son tan sensibles a los cambios y a los efectos específicos de los fertilizantes sobre algunas de ellas. Por ello se ha propuesto medir simultáneamente varias enzimas e integrarlas en un índice de calidad de suelos. Los requisitos que deben cumplir estos índices, al menos deben ser los siguientes. i) Reflejar los cambios de calidad del suelo debidos procesos de recuperación, contaminación o manejo del suelo, ii) Mostrar una baja variabilidad estacional, iii) el número de variables elegidas para el índice debe ser el menor posible y su medida debe ser simple, precisa y rápida y iv) las variables elegidas deben estar relacionadas con procesos biológicos o bioquímicos importantes en el suelo. En la **Tabla 3** se exponen algunos índices de calidad de suelos establecidos a partir exclusivamente del análisis de actividades enzimáticas (Bastida et al., 2008). También el análisis de algunas actividades enzimáticas junto con otros parámetros han sido utilizadas para otros índices de la calidad de suelos agrícolas y no agrícolas (**Tabla 4**) (Bastida et al., 2008).

Tabla 3. Índices de calidad de suelos utilizando exclusivamente actividades enzimáticas

Nombre	Formula	Autores
Número de actividad enzimática (EAN)	$EAN=0,2 \times (0,15 \times DH + CA + 1,25 \times 10^{-5} \times P + 4 \times 10^{-2} \times PR + 6 \times 10^{-4} \times AM)$	Beck (1984)
Índice biológico de fertilidad (BIF)	$BIF=(1,5 \times DH + k \times 100 \times CA)/2$	Stefanic (1984)
Índice alteración del suelo (AI I)	$AI I = -21,30 \times AR + 35,2 \times GL - 10,20 \times P - 0,52 \times U - 4,53 \times I + 14,3 \times DH + 0,003 \times PO$	Puglisi et al. (2006)
	$C \text{ organico} = -0,4008 \times AR + 0,4153 \times DH + 0,4033 \times P + 0,4916 \times GL$	De la Paz- Jiménez et al. (2002)

DH: deshidrogenasa, CA: catalasa, P: fosfatasa, PR: proteasa, AM amilasa, AR: arylsulfatasa, GL: glucosidasa, U: ureasa, I: invertasa

Tabla 4. Índices de calidad de suelos agrícolas y no agrícolas que utilizan entre otros indicadores, actividades enzimáticas.

Objetivo	Indicadores	Autores
Índice de fertilidad bioquímica del suelo	C orgánico, N total, deshidrogenasa, fosfatasa, proteasa, amilasa	Koper y Piotrowska (2003)
Calidad biológica	C biomasa microbiana, fosfomonoesterasa, glucosidasa, ureasa	Leiros et al., (1999)
Evaluación de la calidad del suelo	C biomasa microbiana, N mineralizado, fosfatasa, glucosidasa y ureasa	Trasar-Cepeda et al., (1998)
Índice de degradación microbiana	Deshidrogenasa, ureasa, C soluble, carbohidratos solubles	Bastida et al., (2006)
Índice de calidad biológica	C soluble, respiración del suelo, celulasa, deshidrogenada, glucosidasa	Armas et al., (2007)

Experiencia del Grupo de Investigación Relaciones Planta-Suelo (EEZ-CSIC) en el uso de biomarcadores de suelos y residuos orgánicos

El grupo de investigación Relaciones Planta-Suelo de la Estación Experimental del Zaidin, CSIC, Granada, España del cual soy investigador responsable ha utilizado y utiliza el análisis de diferentes actividades enzimáticas, fundamentalmente deshidrogenasa, β-glucosidasa, fosfatasa, ureasa, proteasa y difenil-oxidasa como indicadores de procesos de estabilización

de la materia orgánica mediante compostaje o vermicompostaje, como indicadores de diferentes sistemas de manejo de agrosistemas y sobre la aplicación de insumos agrícolas al suelo, como indicadores de la resiliencia y respuesta del agrosistema frente a perturbaciones antrópicas, y como indicadores de la contaminación y recuperación del suelo por metales pesados y contaminantes orgánicos. Algunos resultados obtenidos, como ejemplos de la aplicabilidad de las actividades enzimáticas, se exponen a continuación:

Indicadores de la biotransformación (vermicompostaje) de residuos orgánicos

Los residuos orgánicos utilizados en los diferentes procesos de vermicompostaje han sido, fundamentalmente, lodos urbanos y residuos oleícolas (alperujo, orujillos) y vitivinícolas (sarmientos, orujos, lodos de vinazas). En general, la mayoría de las actividades enzimáticas estudiadas (deshidrogenasa, proteasa, ureasa, β -glucosidasa, fosfatasa, etc), en esos procesos, después de un aumento durante los primeros estadios del proceso, tienden a disminuir a medida que avanza la biodegradación de los residuos orgánicos por la acción de las lombrices y microorganismos (Benitez et al., 1999a,b; Melgar et al., 2009; Nogales et al., 2005; Saavedra et al., 2006; Fernandez Gómez et al., 2010). Por tal motivo, los vermicomposts obtenidos tendrán una menor actividad que los materiales orgánicos frescos. Sin embargo hay que señalar, que los vermicomposts, al tener estabilizada su materia orgánica, conseguirán mayor eficacia en la construcción de un pool enzimático “estable”, es decir, complejos “enzima-humus” capaces de resistir la desnaturalización de los enzimas (Benitez et al., 2005).

Indicadores de diferentes sistemas de manejo de agrosistemas

En relación a ello se evaluó el efecto de diferentes sistemas de cultivo (convencional, integrado, biológico) y control de hierbas (herbicidas, labranza, no labranza) sobre las características bioquímicas (actividades enzimáticas) de suelos de cultivo de olivar. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que la respuesta bioquímica del suelo fue, diferente en función del tipo de manejo empleado, y ésta podría ser utilizada como un posible sistema de control de cultivos bajo agricultura ecológica. Del total de suelos considerados a priori como suelos bajo agricultura ecológica, el 89% fueron clasificados como pertenecientes a un mismo grupo, mientras que 11% restante mostró características similares al grupo de agricultura integrada (Benitez et al., 2006).

Dentro de esta temática se evaluó el potencial del alperujo natural o biodegradado con *P. ostreatus* o/y *E. fetida* como bioenmiendas del suelo, en condiciones de agricultura convencional y biológica. El análisis discriminante de los resultados obtenidos puso de manifiesto que la aplicación de los diferentes tipos de alperujo dio lugar en el suelo a una respuesta química y bioquímica diferente, lo que permitió calificar al conjunto de parámetros utilizados (carbono orgánico total, ácidos húmicos y actividades enzimáticas (deshidrogenasa, ureasa, β -glucosidasa y fosfatasa) como buen indicador de calidad de suelos (Saavedra, 2007).

Indicadores de la aplicación de insumos agrícolas al suelo

Se llevo a cabo un estudio dirigido a evaluar el efecto de la aplicación de dos plaguicidas, diurón y urea sobre las actividades enzimáticas de un suelo natural o enmendado con vermicompost. Los resultados obtenidos evidenciaron que la enmienda orgánica del suelo con vermicompost aumento las actividades enzimáticas del suelo, neutralizando los efectos adversos que sobre la microbiota del suelo tuvo la aplicación del diurón. La aplicación

conjunta de diurón y urea aumentó las actividades enzimáticas del suelo enmendado orgánicamente, favoreciendo a su vez, la degradación del herbicida aplicado. Esos resultados sugieren que las actividades enzimáticas son afectadas de forma diferente si varios insumos agrícolas son aplicados individualmente o en combinación (Romero et al., 2010).

Indicadores de la resiliencia del suelo.

Se realizó un estudio dirigido a evaluar la respuesta de un suelo degradado a la aplicación de alperujo, residuo generado durante la extracción del aceite de oliva, que presenta una elevada toxicidad, así como a la aplicación del vermicompost obtenido a partir de él. La evolución de la actividad deshidrogenada puso de manifiesto que la habilidad que presentó el suelo previamente enmendado con alperujo para recuperar su actividad biológica fue diferente después de un periodo de resiliencia. La respuesta se relaciona relacionada con el pool de materia orgánica estabilizada presente en el suelo, ya haya sido estabilizada en el propio suelo o tras un periodo de vermicompostaje (Benítez et al., 2004).

Indicadores de la contaminación y recuperación de suelos contaminados

Se realizaron varios experimentos con objeto de evaluar la capacidad del uso combinado de residuos de olivar naturales o vermicompostados y plantas autóctonas hiperacumuladoras para recuperar suelos contaminados y sedimentos mineros. Los resultados obtenidos evidenciaron que La aplicación de enmiendas orgánicas oleícolas estabilizadas –compost y vermicompost de alperujo- estimularon las actividades biológicas y bioquímicas de suelos contaminados favoreciendo su recuperación que se tradujo en un aumento de la biomasa vegetal del cultivo ensayado aunque la extracción de metales por esta planta fue ligeramente menor que cuando ella creció en suelos contaminados o sedimentos mineros sin enmendar (Romero et al., 2005; Nogales et al., 2007)

Estos ejemplos ponen de manifiesto que las actividades enzimáticas son indicadores muy sensibles a los cambios que tienen lugar en el suelo por su manejo, contaminación, recuperación, aplicación de insumos agrícolas, etc. Por tal motivo, su inclusión en los índices, establecidos o a establecer en el futuro, de la calidad del suelo agrícola o no agrícola, puede concluirse que resulta imprescindible. Sin embargo, la medida de actividades microbianas presenta ciertos problemas al estimar actividades potenciales y no reales, ya que, por lo general se llevan a cabo a T^a y pH óptimo y a una concentración saturada de sustrato (Nannipieri et al., 1990). Además, las actividades no discriminan entre actividad intracelular de los microorganismos y la que proviene de la actividad extracelular estabilizada en la materia orgánica del suelo (Nannipieri et al., 2002) y se ven afectadas de forma distinta en función del contaminante aplicado (Trasar-Cepeda et al., 2000) y del tipo de suelo donde se produzca la contaminación (Labud et al., 2007). Gianfreda et al. (2005) concluyen que es muy difícil explicar un cambio de la actividad enzimática del suelo en respuesta a un cierto factor o establecer una relación causa-efecto entre una perturbación y la variación de la actividad enzimática del suelo.

Nuevas metodologías aplicables al desarrollo de bioindicadores de la calidad del suelo

La composición o diversidad estructural de la comunidad microbiana viene determinada por la riqueza, diversidad y abundancia de especies en dicha comunidad. Las medidas de estos parámetros se han utilizado para controlar las alteraciones que se producen en la estructura de la comunidad microbiana debidas a cambios ambientales, prácticas de manejo y

contaminación (Ovreas, 2000). Sin embargo, existe un gran desconocimiento respecto a la aplicación de indicadores de la calidad del suelo que tengan en cuenta la diversidad microbiana, la cual se encuentra estrechamente ligada con la estructura y funcionalidad de los microorganismos del suelo.

La diversidad microbiana puede medirse mediante las tradicionales técnicas de recuento en placa o del número más probable. Sin embargo estas técnicas, por lo general son muy laboriosas, solo consiguen la identificación de microorganismos aerobios representativos de la muestra analizada, y son difícilmente aplicables en forma rutinaria al conocimiento de la diversidad microbiana de los suelos

Una técnica que resulta de gran interés para describir las comunidades microbianas del suelo es el análisis del patrón de ácidos grasos de los lípidos polares (PLFA). Los ácidos grasos son derivados de la membrana y de los lipopolisacáridos, por consiguiente su presencia en el suelo, es un indicador de la existencia de biomasa viable y se consideran biomarcadores de gran utilidad para detectar diferentes grupos de microorganismos (Widmer et al., 2001; Diaz-Raviña y Baath, 2001). Puglisi et al., (2005) ha establecido un índice de la alteración del suelo basado en el análisis de su perfil de los ácidos grasos. El estudio de los diferentes patrones utilizando sustratos carbonados, mediante los sistemas BiologTM o MicroRespTM también aportan datos sobre la diversidad funcional de las comunidades microbianas, aunque ellos no han sido aplicados en ningún índice de calidad (citadas)

Los métodos moleculares de análisis de los microorganismos del suelo, basados en la extracción de los ácidos nucleicos, resultan cada vez más útiles ya que proporcionan información sobre la estructura y diversidad de las comunidades microbianas, pudiendo establecerse comparaciones entre distintos tipos de suelos y entre suelos sometidos a distintas prácticas (Insam 2001). Además de ello, el uso de estas técnicas basadas en el estudio del ADN y ARN, permite el análisis de poblaciones hasta ahora no cultivables en laboratorio, las cuales pueden representar hasta el 99% de las células existentes en condiciones naturales. Entre las técnicas moleculares basadas en la extracción del ADN y utilizadas para analizar la estructura de la comunidad bacteriana del suelo se encuentran la amplificación por PCR de secuencias entre elementos repetitivos, ya sea del análisis del espacio interribosomal (ARISA) (Bonerman y Triplett, 1997), o del ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD) (Harry et al., 2001), la aplicación de microarrays de ADN (Rondon et al., 2000) y el análisis mediante electroforesis en gel con gradiente desnaturante (DGGE) o en gradiente térmico (TGGE) (Muyzer y Smalla, 1998).

El análisis de genes 16S ADNr o 18S ADNr mediante electroforesis en gel con gradiente desnaturante (DGGE) representa una adecuada herramienta para estudiar la estructura de la comunidad bacteriana y fúngica, respectivamente en diferentes tipos de ambientes (Heuer et al., 2001, He et al., 2005). Esta técnica consiste en la movilidad electroforética de fragmentos de ADN en geles de poliacrilamida dentro de un gradiente desnaturante lineal. Es rápida y simple y permite la diferenciación de dos fragmentos con un error de una simple base (Muyzer y Smalla, 1998). Los fragmentos que migran en la misma posición representan la misma especie o especies muy relacionadas, incluso pertenecientes al mismo género (Leys et al., 2005). Sin embargo, algunas cepas pueden generar más de una banda en el gel (Ma et al., 2005), por lo que la estimación de abundancia y diversidad de especies se debe realizar prudentemente. Pese a ello, esta técnica nos puede proporcionar una medida semicuantitativa de la abundancia, diversidad y dinámica bacteriana y fúngica de los suelos (Dilly et al., 2004; Leys et al., 2005). La técnica de DGGE ha sido utilizada por varios autores para

detectar alteraciones en la estructura bacteriana del suelo ya sean producidos por cambios en el manejo del suelo o debidos a episodios de contaminación (Vivas et al., 2008a,b).

Aunque los artículos científicos basados en técnicas de biología molecular han experimentado en los últimos años un espectacular aumento, su aplicabilidad al campo de la ciencia del suelo aún es muy escaso. Además, todavía ningún índice de la calidad de los suelos integra las metodologías moleculares (genómica, transcriptómica, proteómica). Sin embargo el papel que juegan los microorganismos en el suelo, harán imprescindible el uso de las técnicas “ómicas” si se quiere en el futuro describir la calidad del suelo de manera más específica (Bastida et al., 2008).

Agradecimientos

Algunos de los estudios recogidos en esta revisión forman parte de los proyectos CGL2006-05437 y CTM2006-12214 financiados por la CICYT y del proyecto P06-AGR-1565 financiado por la Junta de Andalucía. El autor agradece a los integrantes del grupo de investigación Relaciones Planta-Suelo su colaboración en los diferentes estudios recogidos en esta revisión.

BIBLIOGRAFIA

- Adam, G., and H. Duncan. 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 Biochemistry* 33:943-951.
- Alexander M. 1980. *Introduction to Soil Microbiology*. 2ª Edición. John Wiley and Sons, Inc.
- Anderson, T.H. and K.H. Domsch. 1985. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. *Biology Fertility & Soils* 1:81-89
- Armas, C.M., B. Santana, J.L. Mora, J.S. Notario, C.D. Arbelo, and A. Rodríguez-Rodríguez. 2007 A biological quality index for volcanic Andisols and Aridisols (Canary Islands, Spain): variations related to the ecosystem development. *Science. Total Environment* 378:238-244
- Arshad, M.Aa, and S. Martin. 2002. Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. *Agriculture Ecosystems Environment*. 88:153-160
- Atlas R.M, and R. Bartha. 1998. *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*. Benjamin/Cummings. Redwood City. CA
- Bastida, F., J.L. Moreno. T. Hernández, and C. García. 2006. Microbiological activity in a soil 15 years alter its devegetation. *Soil Biology. Biochemistry*. 38:2503-2507.
- Bastida, F., A. Zsolnay, T. Hernández, and C. García. 2008. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspectiva. *Geoderma*, 147:159-171
- Beck, T.H. 1984. Methods and application of soil microbiological analysis at the Landensanstalt fur Bodenkultur und Pflanzenbau (LBB) for determination of some

- aspects of soil fertility. p. 13–20. Proceedings of the Fifth Symposium on Soil Biology. Rumanian National Society of Soil Science, Bucharest, Rumania,
- Benitez, E., R. Nogales, C. Elvira, G. Masciandaro, and B. Ceccanti. 1999a. Enzymes activities as indicators of the stabilization of sewage sludges composting by *Eisenia andrei*. *Bioresource. Technology* 67:297-303.
- Benitez, E., R. Nogales, C. Elvira, G. Masciandaro, and B. Ceccanti. 1999b. Enzyme and earthworms activities during vermicomposting of carbaryl treated sewage sludge. *Journal Environmental Quality* 28:1099-1104
- Benítez, E., H. Sainz, R. Melgar, and R. Nogales. 2002. Vermicomposting of a lignocellulosic by-product from olive oil industry: a pilot scale study. *Waste Management Research* 20:134-142
- Benitez, E., R. Melgar, and R. Nogales. 2004. Estimating soil resilience to toxic waste by measuring enzyme activities. *Soil Biology Biochemistry* 36:1615-1623
- Benítez, E., H. Sainz, and R. Nogales. 2005. Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste. *Bioresource. Technology* 96:785–790
- Benitez, E., R. Nogales, M. Campos, and F. Ruano. 2006. Biochemical variability of olive-orchard soils under different management systems. *Applied Soil Ecology* 32:221-231.
- Bolton, J.R., L.F. Elliott, R.I. Papendick, and D.F. Bezdicek. 1985. Soil microbial biomass and selected soil enzyme activities: effect of fertilization and cropping practices. *Soil Biology Biochemistry* 17:297-302.
- Borneman, J., and E.W. Triplett. 1997. Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. *Applied Environmental. Microbiology* 63:2647-2653.
- Burns, R.G. 1982. Enzyme activity in soil: Location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology Biochemistry*. 14:423-427.
- Ceccanti, B., P. Nannipieri, S. Cervelli, and P. Sequi. 1978. Fractionation of humus-urease complex. . *Soil Biology Biochemistry* 10:39-45.
- Ceccanti, B., C. Garcia, R. Nogales, E. Benítez, and G. Masciandaro. 1997 *Attività e ruolo delle sostanze umiche nell'ambiente: Aspetti chimico-strutturali e biochimici. p 1-9In: Dal suolo alla pianta dalla pianta al suolo. Le sostanze umiche come base della sostenibilità. Proc II Convegno Nazionale del Capitolo Italiano dell'IHSS. Udine. Italy*
- Coyne, M. 2000. *Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio. Editorial Paraninfo, España.*
- De la Paz-Jiménez, M., A.M. De la Horra, L. Pruzzo, and R.M. Palma. 2002. Soil quality: a new index base microbiological and biochemical parameters. *Biology Fertility Soils* 35:302–306.

- Diaz-Raviña, M., and E. Baath . 2001. Response of soil bacterial communities pre-exposed to different metals and reinoculated in an unpolluted soil. *Soil Biology Biochemistry* 33:241-248
- Dick, RP. 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. p. 107-124 In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Stewart, B.A., (Eds.). *Defining soil quality for a sustainable environment*. Spec. Pub. 35. Soil Science Society of America Inc. Madison, WI.
- Dick, R.P., D. Breakwell, and R. Turco. 1996. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrating biological indicators. p. 247-272 .In: Doran, J.W., Jones, A.J. (Eds.), *Handbook of Methods for Assessment of Soil Quality*. Soil Science Society America. Madison,
- Dilly, O., H.P Blume, U. Sehy, M. Jiménez., and J.C. Munich. 2003. Variation of stabilised, microbial and biologically active carbon and nitrogen soil under contrasting land use and agricultural management practices. *Chemosphere* 52:557–569.
- Dilly, O., J .Bloem, A. Vos, and J.C. Munch. 2004 Bacterial Diversity in Agricultural Soils during Litter Decomposition. *Applied Environmental Microbiology* 70:468-474.
- Doran, J.W., and M. Safley, 1997. Defining and assessing soil health and sustainable productivity. p. 1-28. In: *Biological indicators of soil health*. Pankhurst, C.E., Doube, B.M. y Gupta, V.V.S.R. (eds.). CAB International, England.
- Doran, J.W., and T.B. Parkin. 1994. Defining and assessing soil quality. p. 3–21. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Stewart, B.A. (Eds.), *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. SSSA Special Pub., vol. 34. Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA,
- Doran, J.W., A.J. Jones, M.A. Arshad, and J.E. Gilley. 1999. Determinants of Soil Quality and Health. p 39-57. In: Rattan Lat (Eds.). *Soil Quality and Soil Erosion*. CRC. Press, Florida..
- Fernandez-Gómez, M., E. Romero, and R. Nogales. 2010. Feasibility of vermicomposting for vegetable greenhouse waste recycling. *Bioresource Technology* 101, 9654-9660.
- García, C., M.T. Hernandez, F. Costa, and B. Ceccanti. 1994a. Biochemical parameters in soils regenerated by addition of organic wastes. *Waste Management Research*. 12:457-466.
- García, C., M.T. Hernandez, F. and Costa. 1994b. Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions. *Soil Biology Biochemistry* 26:1185–1191.
- Gianfreda, L., M.A. Rao, A. Piotrowska , G. Palumbo, and C. Colombo C. 2005. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: Intensive agricultural practices and organic pollution. *Science Total Environment* 341 :265-279.
- Harry. M., N. Jusseaume , B. Gambier, and E. Garnier-Sillam. 2001. Use of RAPD markers

- for the study of microbial community similarity from termite mounds and tropical soils. *Soil Biology Biochemistry* 33:417-427.
- He, J., Z. Xu, and J. Hughes. 2005. Analyses of soil fungal communities in adjacent natural forest and hoop pine plantation ecosystems of subtropical Australia using molecular approach based on 18S rRNA genes. *FEMS Microbiology Letters* 247:91-100.
- Heuer H, Wieland G, Schonfeld J, Schnwalder A, Gomes Nc., Smalla K. (2001) Bacterial community profiling using DGGE or TGGE analysis. p. 177– 190. In: *Environmental Molecular Microbiology: Protocols and Applications*. (ed. P.A. Rochelle). Horizon Scientific Press. Wymondham, UK.
- Insam, H. 2001. Developments in soil microbiology since the mid 1960. *Geoderma* 100:389-402.
- Insam, H., and K. Haselwandter. 1989. Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. *Oecologia* 79:174–178.
- Koper, J., and A. Piotrowska. 2003. Application of biochemical index to define soil fertility depending on varied organic and mineral fertilization. *Electronic Journal Polish Agricultural Universities*. 6(1):6
- Labud, V., C. Garcia, and M.T. Hernandez. 2007. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. *Chemosphere* 66:1863-1871.
- Ladd, J.N. and J.H. Butler. 1975. Humus-enzyme systems and synthetic organic polymer-enzyme analogs. *Soil Biology Biochemistry* 4:143-194.
- Leirós, M.C., C. Trasar-Cepeda, F. García-Fernández, and F. Gil-Sotres. 1999. Defining the validity of a biochemical index of soil quality. *Biology Fertility Soils* 30:140–146.
- Leys, N.M., A. Ryngaert, L. Bastiaens, P. Wattiau, E.M. Top, W. Verstraete, and D. Springael. 2005. Occurrence and community composition of fast-growing *Mycobacterium* in soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiol. Ecology* 51:375-388.
- Liao, M., and X. Xiao. 2007. Effect of heavy metals on substrate utilization pattern, biomass, and activity of microbial communities in a reclaimed mining wasteland of red soil area. *Ecotoxicological Environment Safety*. 66:21–223.
- Ma, W.K. S.D. Siciliano, J.J. and Germida. 2005. A PCR-DGGE method for detecting arbuscular mycorrhizal fungi in cultivated soils. *Soil Biology Biochemistry* 37:1589-1597.
- Melgar, R, E. Benítez, and R. Nogales. 2009. Bioconversion of wastes from olive oil industries using the epigeic earthworm *Eisenia andrei*. *Journal Environmental. Science & Health*, B44: 488-495
- Muyzer, G, and K. Smalla. 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis

- (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek*, 73:127-141.
- Nannipieri, P., S. Grego, and B. Ceccanti. 1990. Ecological significance of biological activity in soil. p. 293-355. In: Bollag J-M, Stotzky G (eds). *Soil Biochemistry*, Vol 6. Dekker, New York
- Nannipieri P, E. Kandeler, and P. Ruggiero. 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. P. 1-33 In: Burns RP, Dick RP, (eds). *Enzymes in the Environment Activity, Ecology and Applications*. New York, Marcel Dekker.
- Nielsen, N.M., A. Winding, S. Binnerup, B.M. Hansen, and N. Kroer. 2002. Microorganisms as Indicators of Soil Health. National Environmental Research Institute (NERI). Technical Report No. 388.
- Nogales, R., C. Cifuentes, and E. Benitez. 2005. Vermicomposting of winery wastes: A laboratory study. *Journal Environmental. Science & Health*, B49:659-673
- Nogales, R., and E. Benitez. 2007. Effect of olive-derived organic amendments on lead and zinc and biochemical parameters of an artificially contaminated soil. *Communications in Soil Science Plant Analysis* 38:795-811.
- Ovreas, L. 2000. Population and community level approaches for analysing microbial diversity in natural environments. *Ecology Letters* 3:236-251.
- Powlson, D.S., and D.S. Jenkinson. 1981. A comparison of the organic matter, biomass, adenosine-triphosphate, and mineralizable nitrogen contents of ploughed and direct drilled soils. *Journal Agricultural Science* 97:713-721.
- Puglisi, E., M. Nicelli, E. Capri, M. Trevisan, and A.A.M. Del Re. 2005. A soil alteration index based on phospholipid fatty acids. *Chemosphere* 61:1548-1557.
- Puglisi, E., A.A.M. Del Re, M.A. Rao, and L. Gianfreda. 2006. Development and validation of numerical indices integrating enzyme activities of soils. *Soil Biology Biochemistry* 38:1673-1681
- Romero, E., E. Benitez, and R. Nogales. 2005. Suitability of wastes from olive-oil industry for initial reclamation of a Pb/Zn mine tailing. *Water, Air Soil Pollution* 165:153-165.
- Romero, E., J. Fernandez-Bayo, J.M. Castillo-Diaz, and R. Nogales. 2010. Enzyme activities and diuron persistence in soil amended with vermicompost derived from spent grape marc and treated with urea. *Applied Soil Ecology*. 44:198-204.
- Rondon, M.R., P.R. August, A.D. Bettermannd, S.F. Brady, T.H. Grossman, M.R. Liles, K.A. Loiacono, B.A. Lynch, I.A. Macneil, C. Minor, C.L. Tiong, M. Gilman, M.S. Osburne, J. Clardy, J. Handelsman, and R.M. Goodman. 2000. Cloning the Soil Metagenome: a Strategy for Accessing the Genetic and Functional Diversity of Uncultured Microorganisms. *Applied Environmental Microbiology* 66:2541-2547.

- Saavedra, M. (2007). Biodegradación de alperujo utilizando hongos del género *Pleurotus* y anélidos de la especie *Eisenia foetida*. Tesis Doctoral de Universidad de Granada.
- Saavedra, M., E. Benítez, C. Cifuentes, and R. Nogales R. 2006. Enzyme activities and chemical changes in wet olive cake after treatment with *Pleurotus ostreatus* or *Eisenia foetida*. *Biodegradation* 17:93-102.
- Smith, L.J., and R.I. Papendick 1993. Soil organic matter dynamics and crop residue management. p. 65–94. In: Blaine Metting (Ed). *Soil microbiol ecology*. Marcel Dekker. New Yor
- Stefanic, F, G. Ellade, and J. Chirnageanu. 1984. Researches concerning a biological index of soil fertility. p. 35–45. In: Nemes, M.P., Kiss, S., Papacostea, P., Stefanic, C., Rusan, M. (Eds.), *Fifth Symposium on Soil Biology*. Romanian National Society of Soil Science. Bucharest.
- Trasar-Cepeda, C., C. Leirós, F. Gil-Sotres, and S. Seoane. 1998. Towards a biochemical quality index for soils: an expression relating several biological and biochemical properties. *Biology Fertility Soils* 26:100–106.
- Vivas, A., E. Romero, J.M. Castillo-Diaz, J.D. Fernandez-Bayo, and R. Nogales R. 2008a. Effect of natural vegetation strips and herbicides on enzyme activities and bacterial diversity in an olive-orchard system. In *II International Meeting of Soil Enzymology (SGSE'08)*. Burgos.
- Vivas, A., B. Moreno, C. Del Val, C. Macci, G. Masciandaro, E. Benitez. 2008b. Metabolic and bacterial diversity in soils historically contaminated by heavy metals and hydrocarbons. *Journal Environmental Monitoring* 10:1287-1296.
- Widmer, F., A. Fliessbach, E. Laczko E, J. Schulze-Aurich, and J. Zeyer. 2001. Assessing soil biological characteristics: a comparison of bulk soil community DNA-, PLFA-, and Biolog™-analyses. *Soil Biology Biochemistry* 33:1029-1036