

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Edafología



TESIS DOCTORAL

Evolución de los componentes de carbono, nitrógeno y propiedades edáficas de un suelo agrícola mediterráneo tras la aplicación de altas dosis de residuos orgánicos biodegradables

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Ignacio Jorge Mardomingo

Directores

María Teresa de la Cruz Caravaca
Miguel Ángel Casermeiro Martínez

Madrid, 2014



Universidad Complutense de Madrid



"Evolución de los componentes de carbono, nitrógeno y propiedades edáficas de un suelo agrícola mediterráneo tras la aplicación de altas dosis de Residuos Orgánicos Biodegradables"

Ignacio Jorge Mardomingo

TESIS DOCTORAL

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Edafología



Evolución de los componentes de carbono, nitrógeno y propiedades edáficas de un suelo agrícola mediterráneo tras la aplicación de altas dosis de Residuos Orgánicos Biodegradables

MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR POR:

Ignacio Jorge Mardomingo

BAJO LA DIRECCIÓN DE LOS DOCTORES:

María Teresa de la Cruz Caravaca

Miguel Ángel Casermeiro Martínez

Madrid, 2014

Evolución de los componentes de carbono, nitrógeno y propiedades edáficas de un suelo agrícola mediterráneo tras la aplicación de altas dosis de Residuos Orgánicos Biodegradables

Directores

María Teresa de la Cruz Caravaca

Miguel Ángel Casermeiro Martínez

VºBº Directora de Tesis

VºBº Director de Tesis

María Teresa de la Cruz
Caravaca

Miguel Ángel Casermeiro
Martínez

Esta tesis se ha realizado con la financiación de los proyectos:

Impacto sobre el cambio climático de la aplicación de lodos de depuradora al suelo. Efectos en el secuestro de carbono (CGL2006-13915/CLI). Financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología.

Metodologías para la monitorización de la aplicación de lodos de depuradora. Bioseguridad microbiana y modelos de flujo y transporte de contaminantes solubles (022/PCo8/3-04.2). Financiado por el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Edafología



Dra María Teresa de la Cruz Caravaca, Directora del Departamento de Edafología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid,

CERTIFICA:

Que el trabajo que constituye la presente memoria "Evolución de los componentes de carbono, nitrógeno y propiedades edáficas de un suelo agrícola mediterráneo tras la aplicación de altas dosis de Residuos Orgánicos Biodegradables", que presenta D. Ignacio Jorge Mardomingo para optar al grado de Doctor en Farmacia, ha sido realizada con la dirección de la Dra. María Teresa de la Cruz Caravaca y del Dr. Miguel Ángel Casermeiro Martínez.

Y para que así conste, firmo la presente certificación en Madrid, 6 de mayo de 2014.

María Teresa de la Cruz Caravaca

***"Creí no poseer nada, pero al descubrir la esperanza,
comprendí que lo tenía todo"***

J.J. Benítez (Caballo de Troya VI)

A Dona

AGRADECIMIENTOS

Siempre que se ojea una tesis, lo primero que mira la gente son los agradecimientos. Ahora entiendo el porqué. Es la parte de la tesis más difícil de escribir. Sin embargo, a pesar de la dificultad de su escritura, podría decir que es el momento más gratificante para el que la escribe. Durante este periodo de *maduración personal*, son muchas las personas a las que quiero agradecer su ayuda, apoyo y cariño. Han sido unos años duros, pero sin duda, han sido los mejores.

Quiero agradecer especialmente a mi familia, mis padres y hermanos, porque sin vosotros yo no podría haber vivido este momento y ser la persona que soy. A Eva, *mi costillita*, por ser el viento que empuja mi vela. A mis abuelos, por ser el espejo perfecto donde mirarse. A mi sobrina Alejandra, porque aunque eres muy pequeña, has aportado tu granito de arena. Al resto de la familia, los Jorge y los Mardomingo, gracias por vuestro apoyo y cariño, porque siempre reconforta tener una familia así. Gracias a los que ya no están. Gracias a los que estáis por venir.

Gracias al Departamento de Edafología porque, sin duda, lo mejor de este departamento, son las personas que lo conforman. Gracias a mis directores de tesis. A Miguel, por darme la oportunidad de adentrarme en este mundo tan apasionante, por tu cariño y confianza desde el primer día, por tu lucha encomiable en conseguirme *cosas* y enseñarme lo que es la valentía al afrontar una dificultad. A Maite, por el cariño y apoyo constante, por tu comprensión, por luchar para que esta tesis saliese adelante y marcar siempre un rumbo claro y así poder llegar a buen puerto. Como dijo vuestro maestro: "*Al final de la tesis, ya no seremos director y doctorando, seremos amigos*". Y lo habéis conseguido. Gracias a los dos.

Gracias a mis compañeros de fatiga, Sergito (*Sily*), Anita (Del mono) y Cris (Crispi), porque hemos pasado mucho tiempo juntos, ilusión, risas, trabajo, ..., gracias porque cada día a vuestro lado en el departamento era especial. Sin duda, los mejores compañeros de viaje que se puede tener. Gracias a los tres.

A José Ramón por estar ahí, siempre dispuesto y con ganas de ayudar, un pilar fundamental para el departamento y para mí. A Concha, porque su cariño, alegría y apoyo constante vale su peso en oro. Gracias a todos los compañeros del departamento. Gracias también, a todos los que han pasado por aquí, Celia, Ivanka,

Elena, a las chicas y chicos del Lope, porque de todos he aprendido algo y vuestra compañía en esta etapa ha sido toda una experiencia para mí. Gracias a la gente de Micro. A Leti, porque tu alegría nos llena a todos. A Fede, porque hablar con un "segoviano" sobre ciencia , siempre te hace abrir la mente. Gracias.

Gracias a Nacho, porque ser el *culpable* de que yo entrara en todo esto. Desde los 9 años, nuestras vidas han ido paralelas. Gracias por estar a mi lado.

Quiero agradecer enormemente al grupo del Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), la oportunidad de estar allí durante unos meses y aprender muchísimas cosas. En primer lugar a Alfredo Polo. Gracias por darme la oportunidad de trabajar con vosotros, por tu cariño e interés desde el primer día que entré por la puerta y por todo lo que habéis hecho por mí. A Juan Carlos, por el trato recibido dentro y fuera del instituto. Y finalmente quiero agradecer a Pedro, por tu esfuerzo y dedicación, porque aunque estuve poco tiempo, aprendí mucho a tu lado. Gracias.

También quiero agradecer al grupo del IGME, a Luis Moreno, Emi y Almu por su dedicación y cariño, por su trabajo infinito y horas de reuniones, por hacerme ver cosas que yo no veía. Gracias.

Y por último quiero agradecer a todos mis amigos, de Auditoría, scouts,... y en especial a los biólogos y a los amigos de la peña "La Mobylette" de mi pueblo "Escalona del Prado" (Segovia), porque siempre me habéis apoyado en esta etapa tan importante.

GRACIAS

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| Resumen..... | 3 |
| 1. Introducción..... | 9 |
| 1.1. El problema de la gestión de los residuos orgánicos biodegradables | 9 |
| 1.1.1. Lodos de depuradora | 10 |
| 1.1.2. Residuos sólidos urbanos (RSU)..... | 12 |
| 1.2. Efectos ambientales de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables como enmiendas agrícolas | 14 |
| 1.3. Efectos de la aplicación en las características edáficas del suelo | 16 |
| 1.3.1. Efectos en la evolución del carbono del suelo..... | 17 |
| 1.3.2. Efectos en la evolución del nitrógeno del suelo..... | 20 |
| 1.3.3. Efectos en las propiedades del suelo | 23 |
| 2. Objetivos | 29 |
| 3. Material y Métodos | 33 |
| 3.1. Área de estudio | 33 |
| 3.1.1. Contexto climático | 34 |
| 3.1.2. Contexto geológico | 37 |
| 3.1.3. Contexto edafológico..... | 38 |
| 3.2. Descripción de las enmiendas orgánicas | 40 |
| 3.3. Diseño experimental | 42 |
| 3.4. Análisis de las muestras | 44 |
| 3.4.1. Análisis realizados para la determinación de las formas de carbono | 44 |
| 3.4.2. Análisis realizados para la determinación de las formas de nitrógeno..... | 45 |
| 3.4.3. Análisis de las propiedades del suelo | 46 |
| 3.5. Modelo de flujo y transporte de formas solubles en la zona no saturada del suelo..... | 48 |
| 3.6. Análisis estadísticos | 49 |
| 4. Resultados y Discusión..... | 55 |

| | |
|--|------------|
| 4.1. Efectos de la aplicación de enmiendas orgánicas en la evolución del carbono del suelo | 55 |
| 4.1.1. Evolución de las formas inorgánicas de carbono..... | 55 |
| 4.1.2. Evolución de las formas orgánicas de carbono | 59 |
| 4.1.3. Evolución de las emisiones de CO ₂ | 68 |
| 4.2. Efectos de la aplicación de enmiendas orgánicas en la evolución del nitrógeno del suelo | 75 |
| 4.2.1. Evolución del contenido en Nitrógeno total (NT) | 75 |
| 4.2.2. Evolución de las formas inorgánicas solubles de nitrógeno..... | 77 |
| 4.2.3. Evaluación del riesgo de contaminación de las aguas subterráneas: Modelo de flujo y transporte en la zona no saturada | 84 |
| 4.3. Efectos de la aplicación de las enmiendas orgánicas en la evolución de las propiedades del suelo | 93 |
| 4.3.1. Evolución de las propiedades físico-químicas del suelo | 93 |
| 4.3.1.1. Evolución del pH..... | 93 |
| 4.3.1.2. Evolución de la conductividad eléctrica (CE) | 95 |
| 4.3.2. Efectos sobre las propiedades físicas del suelo | 98 |
| 4.3.2.1. Influencia de las enmiendas orgánicas en la porosidad (Po), capacidad de almacenamiento de agua (WHC) y densidad aparente (BD) del suelo..... | 98 |
| 4.3.2.2. Influencia de las enmiendas orgánicas en la estabilidad estructural y la formación de agregados..... | 101 |
| 4.3.3. Efectos en la evolución de las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo | 106 |
| 4.3.3.1. Biomasa microbiana del suelo (MBC) y el ratio MBC/TOC | 106 |
| 4.3.3.2. Respiración basal (BR) y cociente metabólico (MQ)..... | 113 |
| 4.3.3.3. Actividad de las enzimas oxidorreductasas | 116 |
| 4.3.3.4. Actividad de las enzimas hidrolasas | 119 |
| 5. Sinopsis | 129 |
| 5.1. <i>¿Cómo afecta el tipo de enmienda aplicada ?</i> | 130 |
| 5.2. <i>¿Cómo interaccionan los factores climáticos con los distintos tratamientos?</i> | 132 |

| | |
|---|-----|
| 5.3. <i>¿Cómo interacciona el tipo de suelo con las distintas enmiendas?</i> | 134 |
| 5.4. <i>Recomendaciones de uso y gestión en la aplicación de los residuos orgánicos biodegradables como enmiendas</i> | 136 |
| 6. Conclusiones | 139 |
| 7. Bibliografía..... | 143 |
| 8. ANEJO | 175 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1.1. Esquema del funcionamiento de una EDAR, generación y tratamiento de los lodos..... | 11 |
| Figura 1.2. Composición media de los residuos sólidos urbanos (RSU) generados en el área metropolitana de Madrid correspondientes al año 2009 | 13 |
| Figura 1.3. Efectos en las características del suelo tras la aplicación de enmiendas orgánicas..... | 17 |
| Figura 3.1. Localización del área de estudio: Finca experimental "La Isla" (IMIDRA), Arganda del Rey, Madrid | 33 |
| Figura 3.2. Diagrama climático de la estación meteorológica de Arganda del Rey..... | 35 |
| Figura 3.3. Condiciones climáticas en la zona de estudio durante el experimento. | 36 |
| Figura 3.4. Principales características del horizonte Ap, dividido en dos profundidades (0-20) cm y (20-40) cm | 39 |
| Figura 3.5. Esquema de la disposición de los bloques y las parcelas experimentales: CONT (control), MSWC (compost de residuos sólidos urbanos), AES (lodo aerobio) y ANS (lodo anaerobio) | 42 |
| Figura 3.6. Detalle del montaje de las parcelas en la finca experimental "La Isla" (IMIDRA). Se detalla: I) la recepción del residuo, II) su extendido con una pala mecánica, III) para su posterior mezclado con el suelo mediante un rotocultor, IV) detalle de las parcelas de muestreo | 43 |
| Figura 4.1.1. Valores de carbonato cálcico (CaCO_3) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 56 |
| Figura 4.1.2. Valores de carbonato ácido soluble (HCO_3^-) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS) | 58 |
| Figura 4.1.3. Valores de carbono orgánico total (TOC) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 61 |
| Figura 4.1.4. Valores de carbono orgánico disuelto (DOC) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS) | 62 |
| Figura 4.1.5. Valores de la fracción lábil 1 (LP1) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 65 |
| Figura 4.1.6. Valores de la fracción lábil 2 (LP2) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 66 |

| | |
|---|-----|
| Figura 4.1.7. Valores de la fracción recalcitrante (R) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 67 |
| Figura 4.1.8. Valores de respiración (CO ₂) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 69 |
| Figura 4.2.1. Evolución del contenido de nitrógeno total del suelo (NT) en los distintos muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS) | 77 |
| Figura 4.2.2. Evolución del contenido de amonio (NH ₄ ⁺ -N) a dos profundidades (0-20) y (20-40) en los distintos muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 79 |
| Figura 4.2.3. Evolución del contenido de nitrato (NO ₃ ⁻ -N) a dos profundidades (0-20) y (20-40) en los distintos muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS) | 80 |
| Figura 4.2.4. Evolución del potencial de nitrificación (NitPot) a dos profundidades (0-20) y (20-40) en los distintos muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 83 |
| Figura 4.2.5. Simulación del flujo de agua durante el periodo experimental, con los componentes del balance de agua del modelo (evapotranspiración, precipitación y percolación) y la evolución del contenido de humedad del suelo a 10, 30 y 150 cm de profundidad | 84 |
| Figura 4.2.6. Simulación del transporte del soluto durante el periodo experimental. Se representa la posición de la concentración máxima del soluto (S _{max}) y los porcentajes de la masa total del soluto (50% y 95% del S _{total}) en el perfil del suelo, en función de los meses transcurridos después de la aplicación de las enmiendas orgánicas. Las líneas de puntos: profundidades clave en 20, 40 y 145 cm de profundidad | 86 |
| Figura 4.2.7. Simulación del transporte del soluto en tres escenarios diferentes. Se representa la posición de la concentración máxima del soluto (S _{max}) y los porcentajes de la masa total del soluto (50% y 95% del S _{total}) en el perfil del suelo, en función de los meses transcurridos después de la aplicación de las enmiendas orgánicas..... | 87 |
| Figura 4.3.1. Valores de pH del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS) | 94 |
| Figura 4.3.2. Valores de conductividad eléctrica (CE) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 97 |
| Figura 4.3.3. Evolución de los valores del test de estabilidad de agregados (MWD) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS) | 102 |

| | |
|---|-----|
| Figura 4.3.4. Evolución del índice de recalcitrancia (RI) en la fracción (5-3,15 mm) del suelo en el test de estabilidad de agregados en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 104 |
| Figura 4.3.5. Estabilidad de agregados por tamaño según el método de estabilidad de Le Bissonais (1996) de los tratamientos, control (CONT), compost de residuos sólidos urbanos (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS) en los distintos tiempos de muestreo (0, 12 y 24 meses después de la aplicación)..... | 105 |
| Figura 4.3.6. Evolución de la biomasa microbiana del suelo (MBC) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS) | 110 |
| Figura 4.3.7. Evolución del ratio MBC/TOC del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 111 |
| Figura 4.3.8. Evolución de la respiración basal del suelo (BR) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 114 |
| Figura 4.3.9. Evolución del cociente metabólico (MQ) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 115 |
| Figura 4.3.10. Evolución de la actividad catalasa (CA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 117 |
| Figura 4.3.11. Evolución de la actividad deshidrogenasa (DA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 118 |
| Figura 4.3.12. Evolución de la actividad ureasa (UA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 121 |
| Figura 4.3.13. Evolución de la actividad proteasa (PA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 122 |
| Figura 4.3.14. Evolución de la actividad fosfatasa (PhA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 125 |
| Figura 4.3.15. Evolución de la actividad β -glucosidasa (β GA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS)..... | 126 |
| Figura 5.1. Principales factores que han influido en las variaciones de las características edáficas tras la aplicación de las enmiendas orgánicas..... | 129 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|-----|
| Tabla 3.1. Caracterización bioclimática de la zona de estudio mediante índices bioclimáticos | 36 |
| Tabla 3.2. Principales características físicas e hidráulicas del suelo y la zona no saturada | 38 |
| Tabla 3.3. Principales características de las enmiendas orgánicas empleadas en el estudio | 41 |
| Tabla 4.2.1. ANOVA de doble vía considerando como factores experimentales el tipo de enmienda (T), el tiempo de muestreo (M) y su interacción (T x M), para mostrar el efecto (<i>F-ratio</i> , <i>p-valor</i>) en las variables analizadas | 76 |
| Tabla 4.3.1. Propiedades físicas del suelo: capacidad de almacenamiento de agua (WHC), densidad aparente (BD) y porosidad (Po) durante los distintos muestreos realizados (0,12 y 24 meses después de la aplicación) y los distintos tratamientos: control (CONT), compost de residuos sólidos urbanos (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS) | 99 |
| Tabla 4.3.2. Matriz de correlaciones entre las variables determinadas: porosidad (Po), capacidad de almacenamiento de agua (WHC), densidad aparente (BD), test de estabilidad de agregados (MWD), el contenido de carbono orgánico total del suelo (TOC) y el índice de recalcitrancia (RI) en la fracción (5-3,15 mm) | 100 |
| Tabla 4.3.3. ANOVA de doble vía considerando como factores experimentales el tipo de enmienda (T), el tiempo de muestreo (M) y la interacción entre ellos (T x M), para mostrar el efecto (<i>F-ratio</i> , <i>p-valor</i>) en las variables analizadas | 109 |
| Tabla 4.3.4. Matriz de correlaciones entre las variables: biomasa microbiana (MBC), ratio MBC/TOC (MBC/TOC), respiración basal (BR), cociente metabólico (MQ), pH y las actividades enzimáticas del suelo (CA catalasa, DA deshidrogenasa, UA ureasa, PA proteasa, PhA fosfatasa, β GA β -glucosidasa) | 112 |

LISTADO DE ACRÓNIMOS

AES: lodo de depuradora procedente de digestión aerobia

AirRH: humedad relativa del aire

ANS: lodo de depuradora procedente de digestión anaerobia

BD: densidad aparente

BR: respiración basal

CA: actividad catalasa

CE: conductividad eléctrica

CONT: suelo sin enmendar

DA: actividad deshidrogenasa

DOC: carbono orgánico disuelto

IC: índice de continentalidad

IGH: índice global de humedad

IR: índice de recalcitrancia

Itc: índice de termicidad compensado

Ks: conductividad hidráulica saturada

LP1: fracción de carbono lábil pool-1

LP2: fracción de carbono lábil pool-2

MBC/TOC: ratio biomasa microbiana del suelo y carbono orgánico total

MBC: biomasa microbiana del suelo

MQ: cociente metabólico

MSWC: compost de residuos sólidos urbanos

MWD: diámetro medio del peso de los agregados

NitPot: nitrificación potencial

N_T: nitrógeno total

PA: actividad proteasa

PET: evapotranspiración potencial

PhA: actividad fosfatasa

Po: porosidad

R: fracción de carbono recalcitrante

RD: profundidad máxima de raíces

RSU: residuos sólidos urbanos

TOC: carbono orgánico total

UA: actividad ureasa

WHC: capacidad de almacenamiento de agua

βGA: actividad β-glucosidasa

RESUMEN

Resumen

La producción de residuos orgánicos biodegradables (lodos de depuradora y residuos sólidos urbanos) y su posterior gestión se ha convertido en uno de los temas que mayor atención genera en la política ambiental comunitaria. Según la Comisión Europea, el uso de estos residuos como enmienda agrícola se considera como la solución menos costosa. Sin embargo, la aplicación de estos residuos origina variaciones en los componentes y propiedades edáficas, que provocan unos efectos ambientales que no están reflejados suficientemente en la legislación vigente. Por esta razón, el objetivo de esta tesis es evaluar los efectos de la aplicación de altas dosis de residuos orgánicos biodegradables en las características edáficas de un suelo agrícola en clima mediterráneo, con el fin de establecer unas recomendaciones de uso y gestión para una aplicación ambientalmente más segura. Se ha investigado los efectos sobre la evolución del carbono y nitrógeno del suelo y las propiedades edáficas en un experimento de campo, tras la aplicación de una dosis elevada (160 Mg ha^{-1}) de tres tipos de enmiendas orgánicas: compost de residuos sólidos urbanos, lodo procedente de digestión aerobia y lodo procedente de digestión anaerobia.

Los resultados del estudio han mostrado la influencia de la aplicación de las enmiendas orgánicas sobre las características edáficas estudiadas. El contenido de las distintas formas de carbono orgánico se incrementó tras la aplicación de las enmiendas. Sin embargo, el tipo de enmienda fue decisivo en su evolución. Así, el compost de residuos sólidos urbanos aportó un carbono más recalcitrante y, por tanto, más difícil de mineralizar; mientras que los lodos de depuradora aportaron un mayor contenido de formas lábiles, produciéndose una mineralización más intensa, lo que conllevó a un aumento en las emisiones de CO_2 . El tipo de enmienda también fue determinante en la evolución del nitrógeno del suelo. Los lodos de depuradora proporcionaron una materia orgánica más lábil y un mayor aporte de formas solubles de nitrógeno que el compost de residuos sólidos urbanos, provocando un aumento de los procesos de mineralización y nitrificación respectivamente. A pesar de este aumento de las formas solubles de nitrógeno, el modelo matemático de flujo y transporte aplicado indicó que los lixiviados no llegan a las aguas subterráneas, debido a los factores climáticos y las características texturales del perfil. Sin embargo, las formas nitrogenadas solubles podrían acumularse en la zona no saturada del suelo

formando una "bomba de tiempo" que, si se producen cambios en la entrada de agua del sistema, se podría provocar contaminación de las aguas subterráneas. Las propiedades del suelo se vieron afectadas por la aplicación de las enmiendas. De este modo, los valores de pH disminuyeron significativamente tras la aplicación, amortiguándose con el tiempo debido al efecto tampón del suelo carbonatado. La conductividad eléctrica aumentó temporalmente, aunque las diferencias desaparecieron debido al lavado de sales hacia horizontes más profundos. Aunque todas las enmiendas aumentaron la porosidad, capacidad de almacenamiento de agua y la estabilidad estructural de los agregados, el compost de residuos sólidos urbanos fue el tratamiento que contribuyó de forma más eficaz a la estabilidad estructural. La aplicación de los lodos de depuradora supuso un aumento de la respiración basal y del cociente metabólico, sin un aumento de la biomasa microbiana, indicando un estrés ambiental producido por la aplicación. Las actividades enzimáticas se modificaron por la aplicación, desapareciendo las diferencias una vez superado el estrés ambiental. La aplicación del compost de residuos sólidos urbanos produjo un aumento de la biomasa microbiana y tuvo un efecto positivo en la actividad de los microorganismos, debido a la naturaleza más estable de su materia orgánica.

Por tanto, se puede concluir que la aplicación de altas dosis de residuos orgánicos biodegradables en un suelo agrícola mediterráneo modifica la evolución de los componentes de carbono y nitrógeno del suelo y sus propiedades físicas, físico-químicas y biológicas, siendo moduladas por las condiciones edafo-climáticas.

Abstract

The generation of biodegradable organic residues (sewage sludge and municipal solid waste) and their management has become one of the key priorities of the European Union's environmental policy. According to the European Commission, the use of these residues as an agricultural amendment is considered the least expensive solution. However, the application of residues causes changes in soil components and properties, causing some environmental effects which are not sufficiently reflected in current legislation. Therefore, the aim of this thesis was to evaluate the changes in characteristics and soil properties of an agricultural soil after the application of a single high dose of three biodegradable organic wastes in order to propose some recommendations for use and management. We investigated the effects on the soil carbon and nitrogen evolution and the soil properties in a field experiment after the application of a single high dose (160 Mg ha⁻¹) of three organic amendments subjected to different stabilization processes: a municipal solid waste compost, and aerobically and anaerobically digested sewage sludge.

Our results have shown the influence of the application of organic amendments on soil characteristics. There have been seen an increase of different organic carbon forms after the amendment application. However, the type of amendment was the main factor determining its evolution. Thus, the municipal solid waste compost provided more recalcitrant carbon forms and, therefore, it was less available to be mineralized; while sewage sludge provided a higher content of labile forms, producing a more intense mineralization which led to an increase in CO₂ emissions. The type of amendment was also the main factor determining the soil nitrogen evolution. Seasonal variations drove the release of soluble inorganic forms of nitrogen and their transformations. Sewage sludge provided a higher proportion of soluble forms of nitrogen to the soil than municipal solid waste compost treatment. This last residue had a more stable organic matter and therefore slower mineralization. Despite this increase in nitrogen soluble forms, the mathematical model of flow and transport used indicated that leachate does not reach the groundwater, due to climatic factors and the textural characteristics of the soil profile. However, it must be stressed that groundwater pollution may act as a "time bomb" due to the accumulation of pollutants in the vadose zone. Soil properties were

affected by the application of the amendments. In this sense, the pH values decreased significantly after application, being softened over the time due to the buffer effect of carbonate calcium content of the soil. The electrical conductivity was immediately increased after organic amendments application, but the differences were disappeared due to salts moving into deeper layers. Although the organic amendments increased the soil porosity, water holding capacity and structural stability of aggregates, the municipal solid waste compost was the most efficient treatment in the structural stability over the time. Sewage sludge application caused an increased of basal respiration and metabolic quotient, without an increase in microbial biomass, indicating an environmental stress produced by the application. However, at the end of the experiment the tendency of sewage sludge amended soils was to reach an equilibrium status and to recover some enzymatic activities. In contrast, the application of the municipal solid waste compost promoted an increase in soil microbial biomass and had a positive effect on soil microbial activity throughout the experiment, due to the greater stability of its organic matter.

Therefore, it can be concluded that the application of high doses of biodegradable organic residues in a Mediterranean soil modified the evolution of soil carbon and nitrogen components, and its physical, chemical and biological properties, being modulated by the pedo-climatic conditions.

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1. El problema de la gestión de los residuos orgánicos biodegradables

El aumento de la población mundial y su concentración en zonas urbanas (alrededor de un 40%) están produciendo grandes cantidades de residuos. Dentro de los residuos generados en zonas urbanas destaca la producción de los residuos orgánicos biodegradables, tales como los lodos de depuradora y los residuos sólidos urbanos (RSU) (Alvarenga et al., 2007).

En la Unión Europea se generaron más de 10 millones de toneladas de lodos de depuradora (peso seco) y más de 88 millones de toneladas de residuos orgánicos procedentes de RSU (peso seco) en el año 2008, estimándose que en el año 2020 estos valores se incrementen un 10% (SEC, 2010). Por ello, la generación y su posterior gestión se ha convertido en una de las prioridades de la política ambiental europea (European Commission, 2008). De hecho, la gestión en el caso de los lodos de depuradora supone el 60% del coste del tratamiento de las aguas residuales (Wei et al., 2003).

Dentro de las posibles salidas contempladas en la legislación (depósito en vertedero, incineración o aplicación en labores de restauración y reforestación), la utilización de estos tipos de residuos como enmienda agrícola parece la salida más apropiada. La Comisión Europea considera la aplicación de estos residuos a suelos agrícolas como la solución menos costosa económicamente (Hogg et al., 2002). Además, los residuos orgánicos biodegradables tienen un alto contenido en materia orgánica y elementos esenciales para la producción vegetal (Lundin et al., 2004), lo que refuerza su uso como enmienda agrícola (Albiach et al., 2001). En España, según el Plan Nacional Integrado de Residuos (2008-2015) (BOE, 2009), el 20% de los residuos orgánicos urbanos se compostan para su uso como enmienda, lo que supone más de 8,5 millones de toneladas al año. Sin embargo el uso agrícola de los lodos de depuradora supone más del 80%, es decir, cerca de 1 millón de toneladas al año aplicadas en agricultura (MAGRAMA, 2010).

1.1.1. Lodos de depuradora

- Antecedentes

Para contextualizar la importancia que han adquirido los lodos de depuradora como residuo orgánico biodegradable, hay que retroceder unos años atrás. La Comisión Europea (CE) observó un descenso en la calidad de las aguas comunitarias en los últimos años, por lo que fue necesario adoptar una serie de medidas con el fin de lograr una gestión sostenible y la protección de los recursos hídricos. Así la Directiva 2000/60/CE (European Commission, 2000), conocida como "Directiva Marco del Agua", se implantó como un marco legislativo comunitario en el que los estados miembros deben prevenir y reducir la contaminación de las aguas tanto superficiales como subterráneas. Para ello, se requiere la aplicación de herramientas para tratar de reducir y controlar los focos de contaminación de las aguas. Entre estas herramientas se encuentra el establecimiento de la Directiva 91/271/CEE (European Commission, 1991a) sobre la depuración de las aguas residuales urbanas. La implementación de esta directiva obliga, antes del año 2006, a la depuración de las aguas residuales de núcleos urbanos de 2.000-15.000 habitantes equivalente (unidad de medida de la contaminación orgánica biodegradable que representa la carga media de esta contaminación por habitante y día). El proceso de depuración se realiza en estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR). En el año 2006, España contaba con EDAR que daban servicio a 73 millones de habitantes equivalentes (Lloret et al., 2009). Se calcula que a finales del 2010 se encontraban en funcionamiento 2950 estaciones en España (DBK, 2012).

- Origen y tratamiento

Los lodos de depuradora son productos derivados del proceso de tratamiento de aguas residuales municipales (Warman y Termeen, 2005) que se obtienen en estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) (Figura 1.1.). Las aguas residuales municipales pueden considerarse como potencialmente peligrosas debido a su alto contenido en materia orgánica, sales disueltas y la presencia de contaminantes y microorganismos patógenos (Rosolén et al., 2005). Por ello se hace necesario la depuración de estas aguas y así reducir el riesgo ambiental y sanitario. Los lodos de depuradora son, por volumen, los residuos que más se generan en el proceso de depuración (Fytili y Zabaniotou, 2008). Aunque los lodos de depuradora

pueden tener una composición muy variable, se caracterizan por contener compuestos orgánicos, macro y micronutrientes, elementos traza, contaminantes orgánicos, microorganismos y huevos de organismos parásitos (Jamali et al., 2008). Debido a su composición, los lodos deben sufrir un tratamiento de estabilización para disminuir o eliminar aquellos elementos que produzcan un riesgo, tales como microorganismos patógenos, metales pesados o compuestos orgánicos. Uno de los tratamientos de estabilización más usados es la biodegradación microbiana, mediante una digestión aerobia o anaerobia (Aragón, 2009). En España, la estabilización mediante digestión anaerobia supone el 68%, la digestión aerobia alcanza un 14%, la estabilización química se sitúa en un 8%, al igual que la no estabilización de los lodos (Roig et al., 2012a).

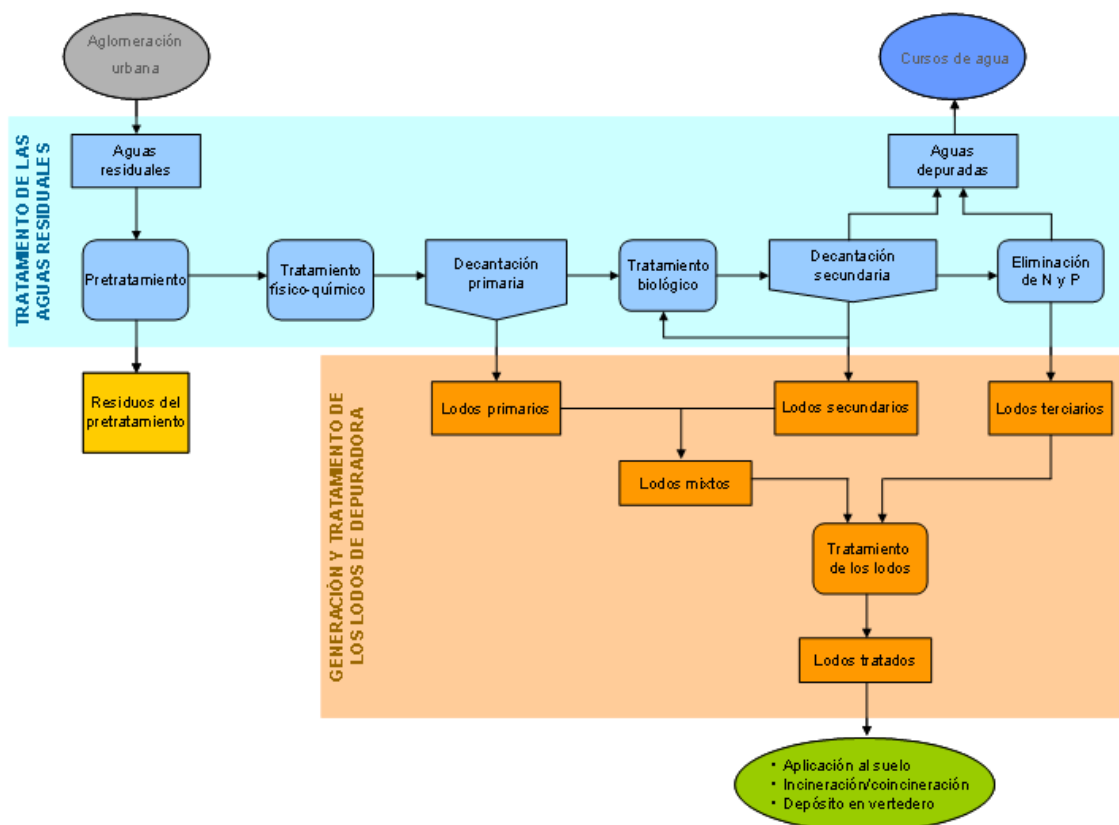


Figura 1.1. Esquema del funcionamiento de una EDAR, generación y tratamiento de los lodos (Fuente: MAGRAMA).

La digestión aerobia se basa en la degradación en presencia de oxígeno de compuestos orgánicos produciendo CO₂ y agua. De esta manera se reduce el contenido en compuestos volátiles, malos olores y microorganismos patógenos. Es la técnica más utilizada en EDAR de pequeño tamaño ya que los requerimientos y los costes son menores (Kelessidis y Stasinakis, 2012). Por otro lado, la digestión anaerobia consiste en la degradación biológica de compuestos orgánicos en ausencia de oxígeno, disminuyendo también el contenido en compuestos orgánicos volátiles, malos olores y microorganismos patógenos. En el proceso de degradación anaeróbica de los compuestos orgánicos se origina biogás (50-70 % CH₄, 30-40 % CO₂ y ≤ 5 % H₂, SH₂ y otros gases), que puede ser usado para la obtención de energía mediante su combustión (IDAE, 2007). La digestión anaerobia es el método más utilizado y económico y permite reducir el volumen del lodo a casi la mitad (Toreci et al., 2009).

Los lodos de depuradora, una vez estabilizados, necesitan ser acondicionados con el fin de eliminar el agua intersticial y favorecer la unión entre los sólidos. Los tratamientos más utilizados en el acondicionamiento suelen ser físicos (tratamiento térmico) y/o químicos (floculantes orgánicos e inorgánicos). Por último, los lodos de depuradora suelen sufrir un proceso de deshidratación para reducir el contenido de humedad, por medio de mecanismos físicos (filtrado, centrifugado, lechos de secado).

1.1.2. Residuos sólidos urbanos (RSU)

- Antecedentes

La generación de residuos y su posterior gestión ha sido uno de las prioridades de la política ambiental Europea. Así, la primera directiva europea se remonta a los años 70, en la que apareció la Directiva 75/442/CEE (European Commission, 1975) relativa a los residuos, siendo modificada numerosas veces. De esta manera, la Directiva 2006/12/CE (European Commission, 2006) relativa a los residuos recogió todas estas modificaciones, posteriormente modificada por la Directiva 2008/98/CE (European Commission, 2008). La transposición de la Directiva 2008/98/CE en España se ha llevado a cabo a través de la Ley 22/2011 (BOE, 2011) de residuos y suelos contaminados. La implantación de esta normativa obliga a los estados miembros a una gestión de los residuos sin poner en riesgo la salud del hombre y sin perjuicios al ambiente. Para ello se hace necesario de una valorización de los residuos

mediante reciclado, recuperación, obtención de nuevas materias primas o su utilización para la producción de energía (European Commission, 2006). Así, el compostaje se ha convertido en una de las técnicas más utilizadas para el tratamiento de residuos, sobre todo en los residuos orgánicos de origen urbano.

- Origen y tratamiento

Los residuos sólidos urbanos (RSU) se han definido tradicionalmente como los generados en los domicilios particulares, comercios, oficinas y servicios, así como todos aquellos que no tengan la calificación de peligrosos y que por su naturaleza o composición puedan asimilarse a los producidos en los anteriores lugares o actividades (Delgado-Rodríguez, 2012).

Los RSU una vez recogidos son llevados a plantas de tratamiento donde son sometidos a distintos procesos de separación, tratamiento y valorización. En una planta de tratamiento como el Parque Tecnológico de Valdemingómez, que almacena los residuos de los municipios de Madrid, Rivas Vaciamadrid y Arganda del Rey, se procesan más de 1,3 millones de toneladas de residuos urbanos al año (AGMASM, 2011). La composición media de los residuos generados en el área metropolitana de Madrid se muestra en la Figura 1.2. Una de las operaciones de valorización recogidas en la Ley 22/2011 es la recuperación de los compuestos orgánicos para su posterior compostaje. En dicho Parque Tecnológico se originaron más de 70.000 toneladas de compost en el año 2010 (AGMASM, 2011).

Composición de RSU (% peso)

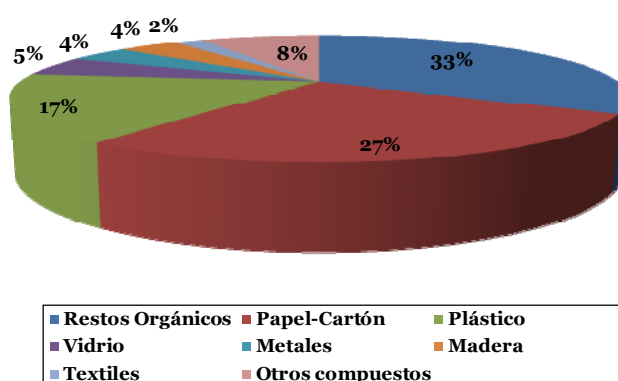


Figura 1.2. Composición media de los residuos sólidos urbanos (RSU) generados en el área metropolitana de Madrid correspondientes al año 2009 (Fuente: AGMASM).

En la planta de compostaje, el residuo sufre un proceso de estabilización a través de una descomposición aeróbica (Cai et al., 2007). En el proceso de compostaje se pueden diferenciar dos etapas:

- Fase de descomposición: en la que hay una descomposición de compuestos fácilmente degradables (azúcares, grasas, proteínas), reduciendo eficazmente el volumen del residuo en un 40-50% y destruyendo los microorganismos patógenos mediante el calor metabólico generado en la fase termófila (alrededor de 65°C) (Epstein, 1997).

- Fase de estabilización y maduración: en la que el residuo permanece a una temperatura entre 25-30°C produciéndose la humificación de los compuestos orgánicos (Araújo et al., 2010). La mayoría de las sustancias húmicas presentes en el compost de RSU son ácidos húmicos, existiendo un ratio entre ácidos húmicos y ácidos fúlvicos de 3,55 (He et al., 1995). Además, como consecuencia de la actividad microbiana, los compuestos de nitrógeno (amonio, nitrito, nitrato) se van incluyendo progresivamente en las sustancias húmicas mediante estructuras aromáticas (Fourti, 2013).

1.2. Efectos ambientales de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables como enmiendas agrícolas

La legislación vigente sobre las limitaciones de uso en agricultura de los lodos de depuradora (Directiva 86/278/CEE) (European Commission, 1986) y Real Decreto 1310/1990 (BOE, 1990)) y del compost de RSU (European Commission, 2004) solamente hace referencia al contenido de metales pesados de la enmienda empleada y del suelo donde se aplica. De hecho se establecen unos valores límites en el contenido de metales pesados en suelos dependiendo de los valores de pH, debido a que la movilidad y disponibilidad de los metales está claramente influida por el pH del suelo (De Santiago-Martín et al., 2013). Sin embargo, el contenido de metales pesados como único criterio restrictivo para el uso de estos residuos en agricultura parece ser insuficiente; teniendo en cuenta los numerosos aspectos ambientales que se ven afectados como la aparición de contaminantes orgánicos o la presencia de microorganismos patógenos entre otros (Haynes et al., 2009). A continuación se presentan los principales efectos ambientales directos que originan la aplicación de estos residuos como enmiendas agrícolas.

- Metales pesados

Se ha estimado que la presencia de metales en lodos de depuradora es, en promedio, entre el 0,5-2% del peso seco (Lester et al., 1983), pudiendo llegar al 6% en casos excepcionales. Por su parte, la concentración total de metales pesados en el compost de RSU es generalmente menor que en los lodos de depuradora, en aproximadamente un 30-50%, o un 80% en el caso del plomo (Smith, 2009).

Como se ha detallado anteriormente, el contenido en metales pesados de estas enmiendas y su aplicación al suelo supone un riesgo potencial en la calidad en los cultivos, en el medio ambiente y en la salud humana (Bhogal et al., 2003; De las Heras et al., 2005). Esta problemática ha sido ampliamente estudiada, siendo abordada desde numerosos aspectos que influyen en la movilidad y disponibilidad de los metales en el suelo, como el pH, el contenido y tipo de materia orgánica o el contenido de carbonatos entre otros.

- Contaminantes orgánicos

En las últimas décadas, se ha puesto de manifiesto la importancia de los contaminantes orgánicos y su implicación en los posibles riesgos ambientales y en la salud humana (Clarke y Smith, 2011). Estos contaminantes orgánicos procedentes de la industria química y farmacéutica, se han convertido en una preocupación tanto en el tratamiento de depuración de aguas residuales como en la gestión de los residuos orgánicos urbanos (Zuloaga et al., 2012). Los residuos orgánicos biodegradables tienden a concentrar estos contaminantes potenciales con baja solubilidad en agua y alta capacidad de adsorción (Gibson et al., 2005). La evolución de la contaminación por compuestos orgánicos va a estar influida por procesos de acumulación, degradación y transporte (FAO, 2000).

A pesar de una falta de política europea armonizada con respecto a este tema, algunos países (Dinamarca, Suecia, Austria y Alemania) han establecido normas que limitan la concentración de ciertos contaminantes orgánicos para el caso de los lodos de depuradora (EC, 2001) que se usen en agricultura (Roig et al., 2012a).

- Microorganismos patógenos

La eliminación de microorganismos patógenos mediante los procesos de tratamiento que sufren los residuos orgánicos biodegradables no está asegurada, ya que existen

microorganismos que son extremadamente resistentes a estos tratamientos (Bonjoch y Blanch, 2009). Por lo tanto, la aplicación de estos residuos como enmienda agrícola es considerada como potencialmente peligrosa por la diseminación de agentes patógenos al medio ambiente (O'Connor et al., 2005). Sin embargo, no existe ninguna reglamentación nacional que indique valores máximos admitidos de microorganismos patógenos en los residuos orgánicos biodegradables.

Los principales patógenos que se encuentran en los residuos orgánicos biodegradables son bacterias (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Yersinia* y *Campilobacter*), virus (adenovirus, enterovirus, virus de la hepatitis A y E, rotavirus) y protozoos (*Giardia* y *Cryptosporidium*). Además, estudios realizados por nuestro grupo de investigación, dirigido por el Dr. Federico Navarro García, han recalcado la importancia del incremento de microorganismos resistentes a antibióticos y la diseminación de resistencias susceptibles de transmitirse de nuevo al hombre tras la aplicación de estas enmiendas.

1.3. Efectos de la aplicación en las características edáficas del suelo

Como se ha comentado, son muchos los efectos ambientales directos producidos por la aplicación de residuos orgánicos biodegradables como enmiendas agrícolas. No obstante, la aplicación de estas enmiendas provoca cambios o variaciones en las características edáficas (componentes y propiedades), produciendo efectos ambientales derivados de estas variaciones.

De este modo, la aplicación de enmiendas orgánicas puede producir, entre otros, un efecto en la salud del suelo. Doran y Zeiss (2000) definen salud del suelo como "la capacidad de un suelo para funcionar, dentro de los límites de un ecosistema natural o manejado, para sostener la producción vegetal y animal, mantener o mejorar la calidad del aire y del agua, manteniendo la salud humana y su hábitat". Numerosos autores prefieren hablar de salud del suelo en vez de calidad del suelo ya que prefieren tratar al suelo como un organismo vivo, aunque sean tratados como términos sinónimos.

Thangarajan et al. (2013) propone abordar los efectos que origina la aplicación de enmiendas orgánicas en el suelo mediante el estudio de diversos parámetros edáficos, como la evolución del carbono y del nitrógeno del suelo y las propiedades del suelo (físico-químicas, físicas, biológicas y bioquímicas). Los efectos de la

aplicación de enmiendas orgánicas sobre estos parámetros se desarrollan a continuación detalladamente debido a su interés en este estudio (Figura 1.3.).

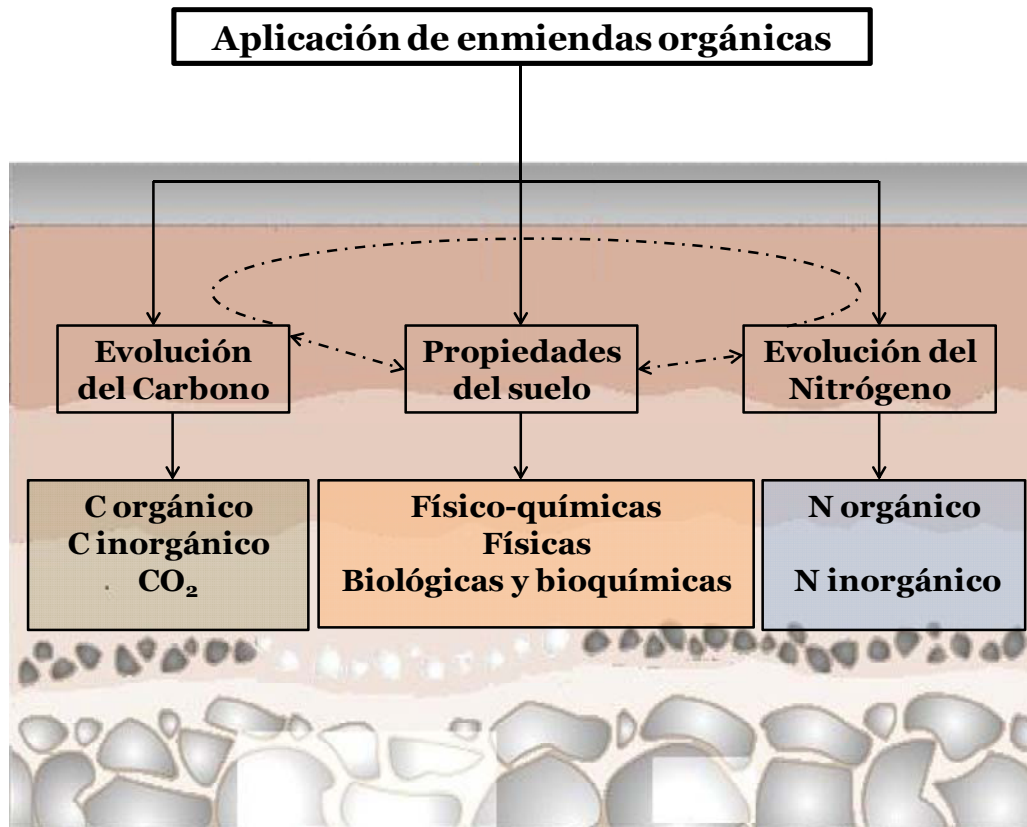


Figura 1.3. Efectos en las características del suelo tras la aplicación de enmiendas orgánicas. Elaboración propia a partir de Thangarajan et al. (2013).

1.3.1. Efectos en la evolución del carbono del suelo

La aplicación de residuos orgánicos biodegradables es uno de los métodos utilizados para incrementar el contenido de materia orgánica del suelo. Por esta razón, se ha reforzado su uso en suelos agrícolas, especialmente en suelos áridos y semiáridos del área mediterránea, donde las prácticas de cultivo intensivas combinadas con las condiciones climáticas han dado lugar a un descenso constante de la materia orgánica del suelo (Albiach et al., 2001). Por otra parte, la gran cantidad de carbono aportado por las enmiendas podría suponer un reservorio en el suelo a largo plazo, lo cual permitiría secuestrar carbono de manera irreversible durante un tiempo superior a la

escala social que algunos estudios estiman en 1000 años (Gouveia y Pessenda, 1999). De hecho, Lal (2004) destaca que el suelo es el segundo reservorio de carbono terrestre. Sin embargo este potencial secuestro de carbono todavía está bajo discusión. El equilibrio entre los procesos de estabilización (humificación) y acumulación en el suelo, procesos de lixiviación de formas solubles a través del perfil del suelo y procesos de mineralización, son responsables del secuestro del carbono en el suelo (Brookes et al., 2008). El conocimiento de estos procesos tras la aplicación de enmiendas orgánicas es, por tanto, de gran interés para la comunidad científica (Haynes y Clapp, 2001).

La naturaleza de la materia orgánica aportada y el tipo de estabilización de las enmiendas orgánicas van a resultar claves en los procesos implicados en el ciclo del carbono del suelo (Dere y Stehouwer, 2011), ya que van a producir cambios en las distintas fracciones del carbono (Mondini et al., 2003). Mediante una caracterización química, el carbono aportado por las enmiendas puede diferenciarse en formas lábiles (azúcares, aminoácidos y ácidos grasos) y formas recalcitrantes (compuestos polimerizados de elevado peso molecular). Las formas lábiles son rápidamente mineralizadas en su mayoría (Zimmerman et al., 2011; Ghosh et al., 2012), debido a que son sustratos fácilmente degradables por los microorganismos del suelo (Saviozzi et al., 2002; Bastida et al., 2012). Por su parte, la fracción recalcitrante resulta más difícil de degradar por los microorganismos del suelo, por lo que su mineralización es más lenta (Joergensen et al., 1990). Por tanto, la aplicación de una enmienda con mayor proporción de fracciones lábiles producirá un aumento de los procesos de mineralización (Merrington et al., 2003); mientras que las formas recalcitrantes de carbono permanecerán más tiempo en el suelo.

La aplicación de enmiendas orgánicas aportan también una gran cantidad de formas solubles del carbono orgánico (Antoniadis y Alloway, 2002; Fernández-Gálvez et al., 2012), variando su contenido en función del tipo de enmienda aplicada (Fernández et al., 2007). Este pool de carbono está constituido por varios tipos de compuestos de bajo peso molecular como polifenoles, ácidos grasos simples, azúcares y aminoácidos (Fox y Comerfield, 1990). Este tipo de carbono es una parte importante de la fracción lábil del carbono del suelo y va a estar presente en muchas de los procesos químicos y biológicos del suelo (Hao et al., 2013), ya que esta fracción soluble es una fuente principal de sustrato de los microorganismos del suelo (Jansson

et al., 2000), por lo que tiene una gran influencia en los procesos de mineralización y/o estabilización de la materia orgánica (Ros et al., 2010), siendo un buen indicador de los cambios que se producen en el carbono orgánico bajo cambios en el manejo del suelo (Zhang et al., 2007). Por otra parte, esta fracción orgánica está asociada a procesos de contaminación tanto de agua superficial como de agua subterránea, debido a su capacidad de unión con metales pesados y contaminantes orgánicos (Romkens y Dolfing, 1998) y su alta movilidad (Ashworth y Alloway, 2004; Kidd et al., 2007).

El carbono inorgánico del suelo juega también un papel muy importante en los procesos evolutivos del carbono tras la aplicación de enmiendas orgánicas sobre suelos calcáreos (González-Ubierna et al., 2012). Sin embargo este efecto ha sido poco estudiado por la comunidad científica. El carbono inorgánico, en el área mediterránea, está presente en los suelos como fragmentos de rocas carbonatadas y como carbonato cálcico secundario en horizontes cálcicos y petrocálcicos (Díaz-Hernández et al., 2003). La aplicación de las enmiendas produce un descenso en los valores de pH del suelo (Bernal et al., 1992; Antolín et al., 2005). Este descenso en el pH produce una disolución del carbono inorgánico del suelo (disolución de carbonato). No obstante, los suelos calcáreos debido a su elevado contenido en carbonato, atenúan el descenso debido a su efecto tampón. Por lo tanto, el contenido de carbono inorgánico y su evolución estará condicionado por el balance carbonato-bicarbonato del suelo.

La medición de las emisiones de CO₂ del suelo permite evaluar la actividad biológica y los procesos de mineralización de los compuestos orgánicos de carbono. Las emisiones de CO₂ son el resultado final de los dos tipos de mineralización de los compuestos orgánicos que se producen en el suelo, atendiendo a los tiempos de los procesos. La mineralización lenta hace referencia a los procesos de descomposición de la fracción más recalcitrante de los compuestos orgánicos por parte de los microorganismos del suelo y que no se producen en procesos a corto plazo (Zhao et al., 2008). Por otro lado, la rápida descomposición de compuestos fácilmente mineralizables por los microorganismos del suelo en un tiempo corto se conoce como mineralización rápida (Saviozzi et al., 2014). La aplicación de una enmienda con altos contenidos en carbono soluble o lábil, que son más fácilmente mineralizables, provocará un aumento inicial de las emisiones de CO₂ (Flavel et al., 2005), mientras

que una enmienda que aporte un carbono más polimerizado tendrá menor influencia en la actividad respiratoria inicial (Hernández-Apaolaza et al., 2000). Por lo tanto, la naturaleza y el tratamiento de la enmienda orgánica aplicada va a resultar clave en la evolución de los procesos de mineralización del carbono del suelo (Conant et al., 2004; Fernández et al., 2007; Balogh et al., 2011).

Por último, todos los efectos en la evolución del carbono del suelo tras la adición de enmiendas orgánicas están condicionados por los factores climáticos. El clima mediterráneo, debido a su particularidad, va a marcar unas "reglas de juego" en las que las variables mencionadas anteriormente se verán afectadas.

1.3.2. Efectos en la evolución del nitrógeno del suelo

La aplicación de enmiendas orgánicas a suelos agrícolas supone una fuente de materia orgánica y elementos que son esenciales (nitrógeno, fósforo y potasio) para el suelo y las plantas (Hernández et al., 2002; Esteller et al., 2009; Antolín et al., 2010). El nitrógeno es un nutriente limitante para el desarrollo de las plantas en los ecosistemas mediterráneos (Schulten y Schnitzer, 1998; Bastida et al., 2009). Por lo tanto, parece recomendable la aplicación de residuos orgánicos biodegradables como fertilizantes de nitrógeno (Bozkurt et al., 2006).

La composición y el tratamiento de los residuos van a influir tanto en la disponibilidad del nitrógeno como en sus procesos de transformación (Warman y Termeer, 2005; Motta y Maggiore, 2013). Las enmiendas van a aportar una gran cantidad nitrógeno orgánico (Jorge-Mardomingo, 2010), formando parte de aminoácidos, proteínas y glicoproteínas (Bernal et al., 1998). Asimismo, los residuos orgánicos presentan una composición variable de nitrógeno inorgánico (amonio y nitrato), aproximadamente entre un 5-10 % del nitrógeno total (García, 1990). Mientras que los lodos de depuradora la forma inorgánica predominante es en forma de amonio (Smith y Tibbett, 2004), el compost de RSU suele presentar menores valores de nitrógeno inorgánico (Fourti, 2013). Los lodos digeridos aeróbicamente contienen más cantidad de nitratos que los lodos digeridos anaeróbicamente (Soler-Rovira, 1998). El aumento del nitrógeno orgánico en el suelo tras la aplicación de las enmiendas, va a afectar la evolución y la dinámica del nitrógeno en el suelo (Chalhoub et al., 2013), así como los procesos de mineralización del nitrógeno que

van a depender de la composición de la enmienda aplicada (Escudero et al., 2012). Algunos autores han demostrado que el 30-40 % del nitrógeno orgánico procedente de lodos de depuradora es mineralizado durante el primer año de la aplicación (Cogger et al., 2001; Keskin et al., 2009).

En el proceso de mineralización del nitrógeno orgánico se producen grandes cantidades de amonio (NH_4^+) (Kleber et al., 2000; Geisseler et al., 2010), que se puede transformar, a través de oxidaciones biológicas, en nitrito (NO_2^-) y posteriormente en nitrato (NO_3^-) por procesos de nitrificación (Simek et al., 2000; Ojeda et al., 2006). La aplicación de las enmiendas va a incrementar el contenido de materia orgánica lábil del suelo, provocando un aumento de la actividad microbiana del suelo (Brendecke et al., 1993). Así, la mineralización de compuestos orgánicos provocan un aumento en el contenido de nitrógeno mineral del suelo a corto plazo (Kuz'yakov y Bol, 2006). Sin embargo, los procesos de transformación del nitrógeno no sólo se ven afectados por el tipo de enmienda aplicada, sino también por las condiciones climáticas que influyen significativamente en la actividad de los microorganismos del suelo responsables de los procesos de mineralización y nitrificación (Sullivan et al., 2012).

El aumento del contenido de nitrógeno mineral producido por la aplicación de las enmiendas puede ser liberado o inmovilizado por el suelo. El amonio puede unirse fuertemente por las superficies de carga negativa de la fracción coloidal (arcillas y materia orgánica del suelo) y quedar así inmovilizado o intercambiable (Santibáñez et al., 2007). Por el contrario, el nitrato con una carga negativa puede ser lixiviado con mayor facilidad (Gilmour et al., 2003). Debido a su alta movilidad en el suelo, un elevado contenido de nitrato en el suelo puede provocar una contaminación del agua, principalmente subterránea (Kirchmann et al., 2002; Habteselassie et al., 2006; Esteller et al., 2009). Un contenido elevado de nitratos en el agua subterránea puede provocar tanto problemas ambientales por procesos de eutrofización, como problemas en la salud del hombre, ya que una ingesta excesiva de nitratos puede provocar enfermedades como la metahemoglobinemia (Basso y Ritchie, 2005). Por este motivo, una de las prioridades de la política ambiental de la Unión Europea ha sido la contaminación del agua por nitratos procedentes de la agricultura, estableciendo la Directiva 91/676/CEE (European Commission, 1991b), conocida como "Directiva Nitratos" y transpuesta a la legislación española mediante el Real

Decreto 261/1996 (BOE, 1996). Aunque esta normativa sí hace referencia a los lodos de depuradora como fertilizante agrícola y por tanto su aplicación al suelo está sujeta a las directrices que se marcan, solamente la aplicación de estiércol al suelo tiene una reglamentación particular para las cantidades de nitrógeno que se puede aplicar por hectárea y año. Además establece una concentración de nitratos límite para la potabilidad del agua (50 mg L^{-1}).

La lixiviación de los nitratos hacia el agua subterránea está condicionada por el tipo de clima, que determina los patrones espaciales y temporales de lluvia y como consecuencia, la cantidad de agua que percola a través de la matriz del suelo (Nieder and Benbi, 2008). El clima mediterráneo está caracterizado por un periodo de sequía estival (al menos dos meses) y una alta variabilidad de los periodos de lluvia, concentrados principalmente en primavera y otoño. Esto implica que la percolación del agua y la lixiviación de los solutos solamente pueden tener lugar durante ciertos periodos del año (Arauzo et al., 2010). Estas condiciones climáticas particulares también causan variaciones estacionales en el contenido de nitrógeno inorgánico lixiviable (Ochoa-Hueso et al., 2013) y por lo tanto en los procesos de transformación de nitrógeno en el suelo como ya se ha comentado anteriormente. Numerosos autores (Trindade et al., 1997; De Paz et al., 2009; Carneiro et al., 2012) han demostrado la influencia del clima mediterráneo (baja precipitación y concentrada en primavera y otoño, alta evapotranspiración) en los procesos de lixiviación de nitratos.

La contaminación de las aguas subterráneas depende principalmente de la migración de los nitratos en el lixiviado, por lo que si no existe transporte hasta el nivel freático la acumulación de nitratos ocurrirá estrictamente en la zona no saturada. Sin embargo, un cambio en las entradas de agua en el sistema, ya sea por un aumento de las precipitaciones o por un cambio en los métodos de cultivo, puede originar un aumento en el flujo de agua y por tanto un mayor riesgo de que los nitratos lleguen al nivel freático (Jiménez-Hernández et al., 2013). La implementación de modelos matemáticos de flujo y transporte es una herramienta útil para conocer los procesos de migración de los posibles contaminantes a través de la zona no saturada (Andrews et al., 1997). De este modo, se puede evaluar si los nitratos pueden llegar a las aguas subterráneas y, por tanto, evaluar los riesgos de contaminación. Numerosos autores han utilizado diversos modelos matemáticos para

evaluar la contaminación por nitratos tras la aplicación de distintas enmiendas al suelo (Cameira et al., 2007; Poch, 2012; Arbat et al., 2013).

1.3.3. Efectos en las propiedades del suelo

La aplicación de enmiendas orgánicas al suelo produce un efecto sobre las propiedades del suelo, provocando cambios físico-químicos, físicos y biológicos que repercutirán en la funcionalidad del suelo (Ferrerías et al., 2006; González et al., 2010).

- Evolución de las propiedades físico-químicas del suelo

El pH del suelo es un buen indicador del comportamiento del suelo y va a influir en numerosas funciones y procesos. La aplicación de residuos orgánicos biodegradables producen cambios en los valores de pH del suelo, variando según las características de cada suelo, de la dosis y frecuencia de aplicación de estos residuos (Nogales, 1994), así como de las condiciones climáticas. Por lo tanto, estos cambios en los valores de pH van a producir efectos en la disponibilidad de nutrientes, movilidad de contaminantes y en la actividad biológica entre otros (Badawy et al., 2002; Singh y Agrawal, 2008; Franco-Otero et al., 2012). Según algunos autores, la aplicación de residuos orgánicos produce un aumento inicial de los valores de pH del suelo (Odlare et al., 2008), mientras que otros observan un descenso inicial (Antolín et al., 2005). Por otro lado, la evolución de los valores de pH del suelo va estar influido significativamente por el tipo de suelo sobre el que se aplican las enmiendas orgánicas. Los suelos carbonatados, típicos de zonas áridas y semiáridas, tienen la capacidad de tamponar la posible bajada de los valores de pH que se producen tras la aplicación de las enmiendas (Choudhary et al., 2011) mediante el equilibrio carbonato-bicarbonato, aunque en el área mediterránea existen variaciones estacionales de los valores de pH en suelos carbonatados como ya describió Serrano-Ortiz et al. (2010).

La conductividad eléctrica se ha asociado generalmente con la medición de la salinidad del suelo (Smith y Doran, 1996); sin embargo también se ha utilizado para medir los nutrientes solubles del suelo y, por tanto, es útil para el seguimiento de los cationes y aniones liberados en los procesos de mineralización de la materia orgánica

del suelo (De Neve et al., 2000). Por lo tanto, un incremento de la salinidad del suelo procede tanto de los elementos solubles aportados por las enmiendas (Pascual et al., 2007) como de los iones liberados en los procesos de mineralización de la materia orgánica (Moreno et al., 1999). El aumento de la conductividad eléctrica atribuido a la aplicación de las enmiendas puede constituir una limitación desde el punto de vista de su uso agrícola, al elevar los valores en el suelo por encima de los niveles tolerables para los cultivos (Marschner, 1995), especialmente en los agrosistemas mediterráneos donde el régimen de precipitaciones es escaso y el lavado de las sales en el perfil del suelo es limitado (Martínez-Murillo et al., 2013). Además este aumento de la conductividad puede representar una limitación para el desarrollo y la actividad de los microorganismos del suelo (Sardinha et al., 2003; Iwai et al., 2012), afectando a los ciclos biogeoquímicos del suelo.

- Evolución de las propiedades físicas del suelo

La aplicación de enmiendas orgánicas mejora las propiedades físicas del suelo, como la porosidad, la capacidad de almacenamiento de agua, entre otras. Esta mejora producirá efectos beneficiosos desde el punto de vista agrícola, como ha sido descrito por numerosos autores (Dexter y Bird, 2001; Leroy et al., 2008; Zhao et al., 2009; Annabi et al., 2011). La mejora de las propiedades físicas está relacionado con el aporte de materia orgánica procedente de las enmiendas (Hemmat et al., 2010; Deviren Saygin et al., 2012). Los ciclos biogeoquímicos del suelo también se verán afectados por el efecto de las enmiendas sobre las propiedades físicas, ya que condicionan los nichos ecológicos de los microorganismos del suelo, siendo clave para el desarrollo y la actividad de éstos y, por tanto, en la regulación de los ciclos (Jha et al., 2012)

Asimismo, la formación de agregados y la estabilidad estructural de los mismos va a estar condicionada por la aplicación de las enmiendas (Albiach et al., 2001; Ojeda et al., 2008). El número, tamaño y la estabilidad de los agregados del suelo van a depender de la unión que se establece entre la materia orgánica y las partículas minerales (arcillas principalmente) (Lynch y Bragg, 1985; Murray y Quirk, 1992). Por un lado, el contenido de carbono total y sus tasas de descomposición han sido relacionadas con el tamaño y la estabilidad de los agregados (Six et al., 2000; Jha et al., 2012). Así, los macroagregados (> 250 μm) afectan el almacenamiento del carbono del suelo mediante la oclusión de los residuos orgánicos, que los hace menos

accesibles a la degradación por parte de los microorganismos (Bidisha et al., 2010). Se ha descrito un efecto positivo a corto plazo de la materia orgánica más lábil, debido a que estos compuestos orgánicos son importantes agentes de unión para los agregados del suelo (Puget et al., 1999; García-Oreneses et al., 2009). Sin embargo, gran parte de estos compuestos orgánicos lábiles son fácilmente degradados por los microorganismos del suelo, por lo que su efecto es transitorio (Spaccini et al., 2002). Por el contrario, otros autores destacan la importancia de la materia orgánica más recalcitrante en la estabilidad estructural a largo plazo, actuando como agentes de unión persistentes debido al elevado número de grupos funcionales que interactúan con las partículas minerales (Lugato et al., 2010) y a la mayor dificultad a ser degradado por los microorganismos del suelo (Tarrasón et al., 2007). De este modo, el mantenimiento de la estabilidad estructural es utilizado como un buen indicador de la calidad del suelo (Ferrerías et al., 2006).

- Evolución de las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo

Los microorganismos juegan un papel crucial en los ciclos biogeoquímicos terrestres (Leff et al., 2012), en la descomposición de la materia orgánica, en la inmovilización y reciclado de nutrientes y otros procesos químicos (Abbott y Murphy, 2007), y son por tanto vitales para mantener la salud del suelo y una agricultura sostenible (Burauel y Baßmann, 2005). La aplicación de enmiendas orgánicas afecta a los microorganismos autóctonos del suelo debido a la introducción de poblaciones de microorganismos exógenos, nuevas fuentes de compuestos orgánicos disponibles y contaminantes (Enwall et al., 2007; Bastida et al., 2008). Así, la naturaleza y el tipo de tratamiento de las enmiendas puede afectar a la actividad y estructura de los microorganismos del suelo (Banerjee et al., 1997; Franco-Otero et al., 2012). Por lo tanto, la aplicación de enmiendas orgánicas tendrá un efecto en los ciclos del carbono, nitrógeno y fósforo, en la fertilidad del suelo y en la producción de cultivos (Madejón et al., 2003; Antolín et al., 2005).

En cuanto a la estructura de la microbiota del suelo, la aplicación de las enmiendas orgánicas puede producir cambios en las poblaciones microbianas del suelo (Allison y Martiny, 2008). Gondim-Porto (2012) mediante un estudio de campo en el que empleó distintos tipos y dosis de lodos de depuradora, encontró diferencias significativas en las poblaciones de bacterias en los suelos enmendados con las dosis más altas (160 Mg ha⁻¹); mientras que con las dosis más bajas las modificaciones en la

estructura de las poblaciones se fue asemejando al suelo sin enmendar a lo largo del tiempo.

La respuesta de los microorganismos del suelo ante un tratamiento específico o un contaminante puede ser medido también mediante múltiples propiedades biológicas y bioquímicas (Ros et al., 2006), ya que estos parámetros son sensibles a la alteración del suelo (Nannipieri et al., 1990; Dick y Tabatabai, 1993; Saviozzi et al., 2002). El carbono de la biomasa microbiana, la respiración basal, cocientes ecofisiológicos y las actividades enzimáticas son indicadores efectivos de la calidad del suelo y pueden ser usados también para evaluar los efectos de las enmiendas orgánicas en la actividad microbiana (Fernandes et al., 2005; Tarrasón et al., 2010). El carbono de la biomasa microbiana sirve como fuente y sumidero de los nutrientes disponibles en el suelo (Kaschuk et al., 2010) y representa la fracción viva de la materia orgánica. Aunque el valor de las mediciones de biomasa como un indicador de la calidad del suelo está poco clara, cuando se utiliza junto con la respiración basal para dar el cociente metabólico, se emplea como una medida ecofisiológica (Wardle y Ghani, 1995), al igual que el cociente entre el carbono de la biomasa microbiana y el carbono total del suelo (Jia et al., 2010).

Las enzimas del suelo son componentes importantes para el funcionamiento bioquímico del suelo, ya que participan en la descomposición de la materia orgánica y el reciclado de nutrientes (Nannipieri et al., 2002; Fterich et al., 2012). Las actividades de enzimas intracelulares, como la catalasa o deshidrogenasa, han sido utilizadas como una medida del estado metabólico de los microorganismos del suelo ya que catalizan los procesos intracelulares de microorganismos viables (Nannipieri et al., 2002). Por otra parte, las enzimas hidrolasas (ureasa, proteasa, fosfatasa o glucosidasa entre otras) son utilizadas frecuentemente como indicadores en los cambios producidos tanto en la cantidad como en la calidad de la materia orgánica del suelo (Dick et al., 1996). De esta manera, se hace necesario el estudio conjunto de los parámetros biológicos y bioquímicos para poder evaluar los efectos producidos por la aplicación de enmiendas orgánicas en la funcionalidad de los microorganismos del suelo (Carbonell et al., 2009; Bastida et al., 2012; Sciubba et al., 2014).

OBJETIVOS

2. Objetivos

La aplicación de altas dosis de residuos orgánicos biodegradables (lodos de depuradora y residuos sólidos urbanos) como enmiendas origina variaciones en los componentes y propiedades edáficas, provocando unas repercusiones ambientales que no están reflejadas suficientemente en la legislación vigente. Por ello se hace necesario el estudio de la influencia de las enmiendas orgánicas sobre los parámetros edáficos con el fin de establecer unas recomendaciones de uso y gestión para una aplicación ambientalmente más segura.

El objetivo principal de la Tesis doctoral es evaluar los efectos de la aplicación de altas dosis de residuos orgánicos biodegradables en las características edáficas de un suelo agrícola en clima mediterráneo. Para la consecución de este objetivo se han planteado diferentes objetivos específicos:

1. Estudiar los efectos de la aplicación sobre la evolución del carbono del suelo, a partir de las siguientes cuestiones:

- Analizar la evolución de las formas de carbono inorgánico del suelo tras la aplicación de los residuos.
- Determinar la influencia del tipo de residuo en la evolución de las distintas formas orgánicas de carbono del suelo.
- Evaluar el efecto del tipo de enmienda en los procesos de mineralización de la materia orgánica.

2. Estudiar los efectos de la aplicación en la evolución del nitrógeno del suelo, a partir de:

- Determinar la influencia del tipo de residuo en el contenido de nitrógeno, sus formas solubles y los procesos de transformación.
- Analizar la evolución de las formas solubles de nitrógeno a lo largo del experimento.
- Evaluar el riesgo de contaminación de las aguas subterráneas por la aplicación de residuos.

3. Estudiar los efectos de la aplicación en la evolución de las propiedades del suelo, mediante las siguientes cuestiones:

- Valorar la evolución de las propiedades físico-químicas del suelo tras la aplicación de las enmiendas.
- Determinar la influencia de las enmiendas orgánicas en la evolución de las propiedades físicas del suelo.
- Investigar los cambios a corto plazo producidos por la aplicación de enmiendas orgánicas en las propiedades bioquímicas y biológicas del suelo.

MATERIAL y MÉTODOS

3. Material y Métodos

La presente tesis se encuadra en el desarrollo de un proyecto de investigación, financiado por el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM), realizado entre los años 2010-2012. El proyecto de investigación titulado "Metodologías para la monitorización de la aplicación de lodos de depuradora. Bioseguridad microbiana y modelos de flujo y transporte de contaminantes solubles" (MMA0022/PC08/3-04.2) perseguía el estudio de las implicaciones ambientales producidas por la aplicación de tres tipos de enmiendas orgánicas (compost de residuos sólidos urbanos y dos tipos de lodo de depuradora obtenidos mediante digestión aerobia y anaerobia) en una única y elevada dosis (160 Mg ha^{-1}).

3.1. Área de estudio

La zona de estudio se encuentra en la finca experimental de uso agrícola (MCA, 2010) de "La Isla", perteneciente al Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA) (Figura 3.1.). Esta finca se localiza en el municipio de Arganda del Rey, en el sureste de la Comunidad de Madrid.

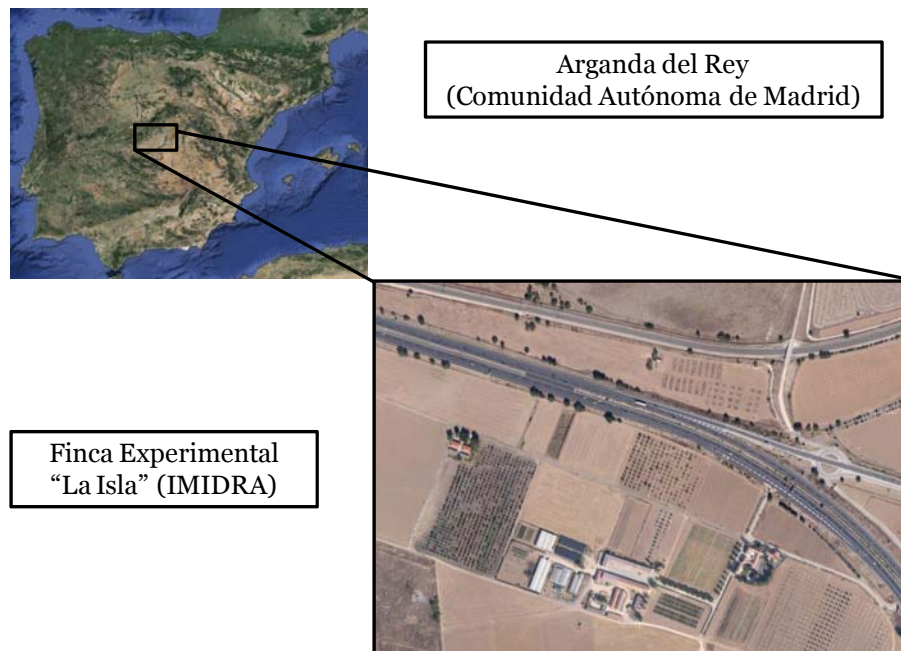


Figura 3.1. Localización del área de estudio: Finca experimental "La Isla" (IMIDRA), Arganda del Rey, Madrid.

3.1.1. Contexto climático

Para la obtención de la información climática se recurrió a la estación meteorológica de referencia, situada en la propia finca experimental (Latitud: 40°18'43'', Longitud: 3°26', Altitud: 618 msnm) y que corresponde a la estación meteorológica de Arganda del Rey (código 3195) dependiente de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET), extrayendo los datos climáticos de una serie temporal desde el año 1971.

La temperatura media anual es de 13,8°C, situándose dentro del intervalo de temperaturas para el clima mediterráneo continental característico del entorno. Con respecto a las medias mensuales, el mes de enero se corresponde con el mes más frío (media 5,7°C), mientras que el mes más cálido es el mes de julio (24,5°C). El periodo de heladas probables según el método propuesto por Emberger (media de las mínimas entre 3°C y 7°C) (Emberger et al., 1963) se produce entre los meses de diciembre y febrero. El periodo de actividad vegetal (PAV), tomando como referencia el propuesto por Rivas-Martínez (Rivas-Martínez, 1987), se prolonga durante los meses de marzo a noviembre. Es en este periodo donde las medias mensuales superan los 7,5°C, temperatura necesaria para el desarrollo de la biomasa vegetal. A través de los datos históricos se observa la existencia de un periodo de estrés hídrico ($ETP > P$) que comprende los meses de mayo a septiembre, especialmente marcado en los meses de julio y agosto.

En cuanto a la precipitación media anual (430 mm) se puede clasificar como baja (datos desde 1971), caracterizando a la zona de estudio como clima mediterráneo continental seco, como es característico en la meseta sur de Castilla. La distribución de las precipitaciones a lo largo del año nos indica que las estaciones más lluviosas son el otoño y la primavera, llegando a alcanzar medias de 60 mm/mes en algunos casos. Por otra lado el verano es la estación seca, como es característico del clima mediterráneo, siendo los meses de julio y agosto los menos lluviosos (una media de 11 mm/mes) (Figura 3.2.).

El uso de índices bioclimáticos nos permite encuadrar y clasificar la zona de estudio (Tabla 3.1.). Así, usando los índices de Rivas-Martínez et al. (2004), el macrobioclima de la zona de estudio se clasifica como mediterráneo y más concretamente como clima mesomediterráneo. Con respecto al índice de continentalidad propuesto por Supan (1984), clasifica la zona de estudio como

oceánico semicontinental atenuado. Mediante el índice global de humedad (IGH) propuesto por Thornthwaite (1948), el clima es semiárido. Por otra parte, el edafoclima (relación del suelo con las variables climáticas) propuesto por Lázaro et al. (1978) lo sitúa entre el méxico y térmico, siendo el régimen de humedad del suelo xérico. En resumen, la zona de estudio se encuentra en el bioclima mediterráneo pluviestacional oceánico, en el piso mesomediterráneo semiárido. El clima se caracteriza por tener inviernos fríos y veranos muy calurosos. Las lluvias se producen en otoño y primavera, mientras que durante el verano se produce un periodo de estrés hídrico, característico del clima mediterráneo de la zona. El clima mediterráneo se convierte así en un factor determinante en los procesos físicos, químicos y biológicos que ocurrirán en el suelo. Las condiciones climáticas de la zona de estudio durante el experimento junto con los datos aportados por las sondas de humedad y temperatura instaladas a 30 cm de profundidad (modelo Decagon Devices ECTM, EC-20 and EC-T con un registrador de datos Em50) se representan en la Figura 3.3.

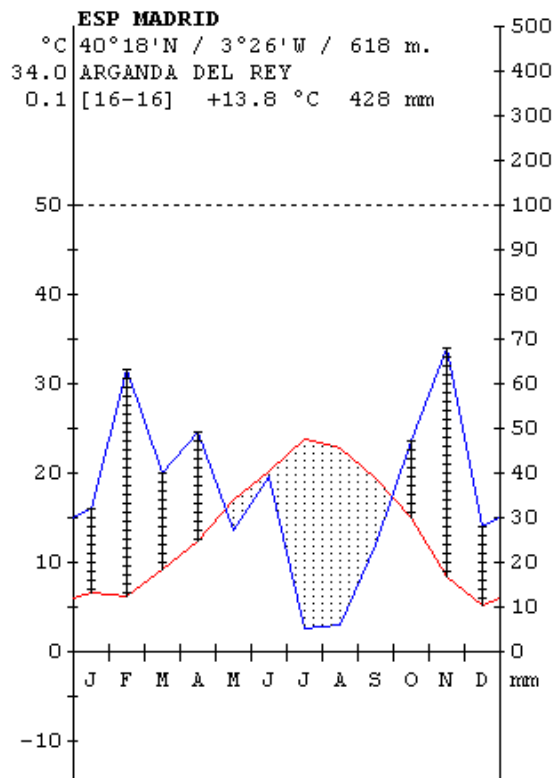


Figura 3.2. Diagrama climático de la estación meteorológica de Arganda del Rey (Fuente.- Centro de Investigaciones Fitosociológicas).

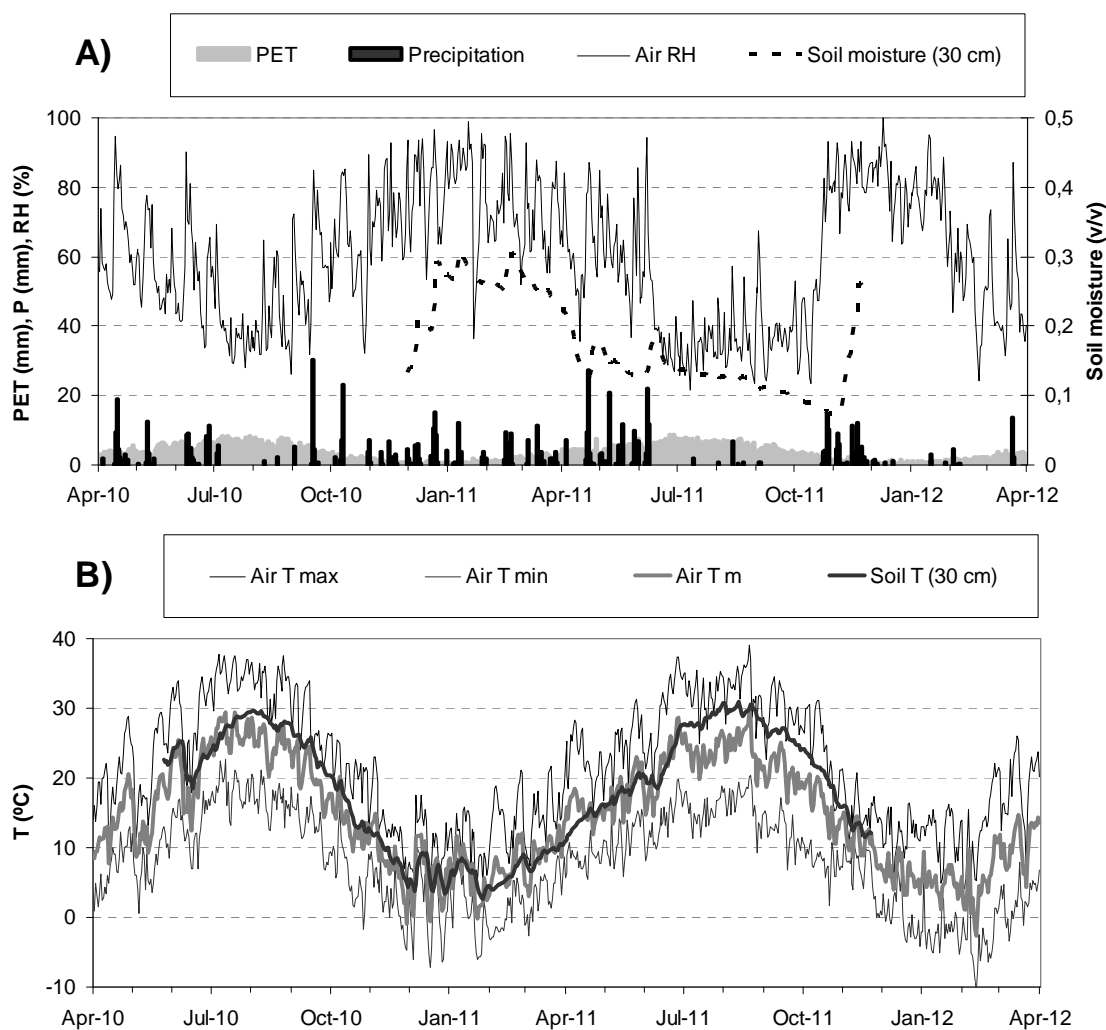


Figura 3.3. Condiciones climáticas en la zona de estudio durante el experimento. A) Valores de evapotranspiración potencial (PET), precipitación (P), humedad relativa del aire (Air RH) y contenido en humedad del suelo a 30 cm (Soil moisture). B) Temperatura máxima del aire (Air T max), temperatura mínima del aire (Air T min), temperatura media del aire (Air T m) y temperatura del suelo a 30 cm (Soil T).

| Macrobioclima | I _{tc} | IC | IGH | Edafoclima | Rég. Hum. Suelo |
|---------------|-------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------|
| Mediterráneo | Meso-mediterráneo | Oceánico semicontinental atenuado | Semiárido | Mésico-Térmico | Xérico |
| | <i>Rivas-Martínez et al. (2004)</i> | <i>Supan (1998)</i> | <i>Thornthwaite (1948)</i> | <i>Lázaro et al. (1978)</i> | |

I_{tc}: Índice de termicidad compensado; *IC*: Índice de continentalidad; *IGH*: Índice global de Humedad

Tabla 3.1. Caracterización bioclimática de la zona de estudio mediante índices bioclimáticos.

3.1.2. Contexto geológico

La zona de estudio se enmarca dentro de la cuenca del río Tajo, en su cubeta central, dentro de la depresión terciaria de Castilla la Nueva. Se encuentra en una zona dominada por características morfoestructurales y litológicas propias de las grandes cuencas de la zona central de la Península Ibérica. En el contexto geomorfológico, la morfología tubular se caracteriza por la presencia de páramos o mesetas sobre estratos horizontales (páramo de Rivas-Vaciamadrid, por ejemplo) con ríos encajados profundamente en valles, y una litología calcáreo-evaporítica. En este caso, la parcela de experimentación se sitúa sobre materiales cuaternarios de la cuenca del río Jarama, que posee un valle muy desarrollado, datándose hasta 6 niveles de terrazas. El cuaternario de la zona se caracteriza por presentar tres tipos de depósitos: depósitos autóctonos eluviales, producidos "in situ" por alteraciones químicas y mecánicas; depósitos paraautóctonos de tipo gravitatorio, aparecidos por hundimiento, disgregación y/o soliflucción, y procedentes de las partes altas de los páramos, que en nuestro caso son fundamentalmente materiales evaporíticos (yesos fibrosos blancos y yesos especulares de neoformación), originarios de la potente formación yesífera que ha generado los escarpes que limitan el valle al noroeste; y depósitos alóctonos de tipo hidrodinámico, depósitos aluviales que forman las terrazas y conos de deyección del valle y que proceden de la erosión de los páramos (materiales evaporíticos y calcáreos del mioceno), de las afloraciones terciarias (arcosas neogénicas), y de los materiales que componen el sistema central, de la cabecera del río Jarama (gneis y granitos) (IGME, 1990).

Geomorfológicamente, la parcela se encuentra en las llamadas terrazas de nivel bajo, denominadas así por su edad de formación (holoceno), litología y situación. Se sitúan bajo las terrazas de nivel medio, que presentan un menor contenido en materiales finos, fundamentalmente limos, y son de formación más antigua. Este nivel se desarrolla extensamente a 3-5 m sobre la margen izquierda del río, y está compuesta de gravas con matriz arenosa recubiertas superficialmente de limos arcilloarenosos pardos. Además, se ha observado presencia de yesos infrayacentes, procedentes de la erosión de los escarpes generados por la potente formación evaporítica ya mencionada. Más concretamente la terraza sobre la que se extiende la zona experimental es de nivel 1 (T1), con un relieve plano (pendientes nunca por encima del 1%), a 3 m sobre el nivel del río y a 350 m del cauce Los

materiales cuaternarios que componen la terraza presentan una alta permeabilidad debido a su porosidad y han dado lugar a los acuíferos más importantes de la zona. El nivel freático en el área de experimentación fluctúa entre 3 y 5 m (IGME, 1990; González-Ubierna, 2013).

3.1.3. Contexto edafológico

Los sedimentos de origen aluvial, ricos en carbonato cálcico, han dado lugar a un antiguo Fluvisol calcárico que en la actualidad presenta características propias de Antrosol (FAO, 2006), caracterizado por tener una marcada influencia humana debido a su uso agrícola. Además, la presencia de los yesos de neoformación ha dado lugar a una ligera salinidad. Morfológicamente se pueden distinguir los siguientes horizontes: un horizonte antropopedogenético Ap (0-40 cm) con propiedades análogas a un horizonte Anthragric, con un contenido en carbono orgánico próximo a 1 %, un pH moderadamente básico (pH=8) y baja pedregosidad superficial (Figura 3.4.); un horizonte subsuperficial AC (40-105 cm) y diversos horizontes C (105-200 cm) que muestran cambios texturales de los materiales procedentes del transporte fluvial (Casermeiro et al., 2007). Hay signos de las características típicas de un suelo agrícola con una marcada compactación subsuperficial (suela de labor) debido al uso intensivo de maquinaria agrícola. Las propiedades físicas e hidráulicas del suelo y de la zona no saturada se determinaron hasta los 200 cm de profundidad (Jiménez-Hernández et al., 2009). Los resultados granulométricos, así como la densidad aparente (BD) y la conductividad hidráulica saturada (Ks) se muestran en la Tabla 3.2.

| Prof. (cm) | BD (g/cm ³) | Ks (cm/d) | Textura | | | | |
|---------------|----------------------------|--------------|------------------|--------------|----------|----------|-----------|
| | | | Clase | % Arena Fina | % Arena | % Limo | % Arcilla |
| 0-10 | 1,01± 0,05 | 223± 64 | Franco-arcilloso | 7± 1 | 41± 7 | 24± 1 | 28± 1 |
| 10-20 | 1,31± 0,05 | 29± 9 | | | | | |
| 20-30 | 1,41± 0,05 | 19± 9 | Arenoso-franco | 61± 7 | 1,5± 0,7 | 17± 5 | 21± 2 |
| 30-40 | 1,41± 0,02 | 7± 1 | | | | | |
| 40-105 | 1,30± 0,04 | 99,5 (75 cm) | | | | | |
| 105-145 | 1,42± 0,03 | n.d | Arenoso-franco | 36± 5 | 34± 4 | 12± 2 | 18± 1 |
| 145-200 | 1,47± 0,04 | 218 (160 cm) | Arena | 9± 4 | 81± 4 | 0,6± 0,3 | 9± 1 |

n.d: variable no determinada

Tabla 3.2. Principales características físicas e hidráulicas del suelo y la zona no saturada.

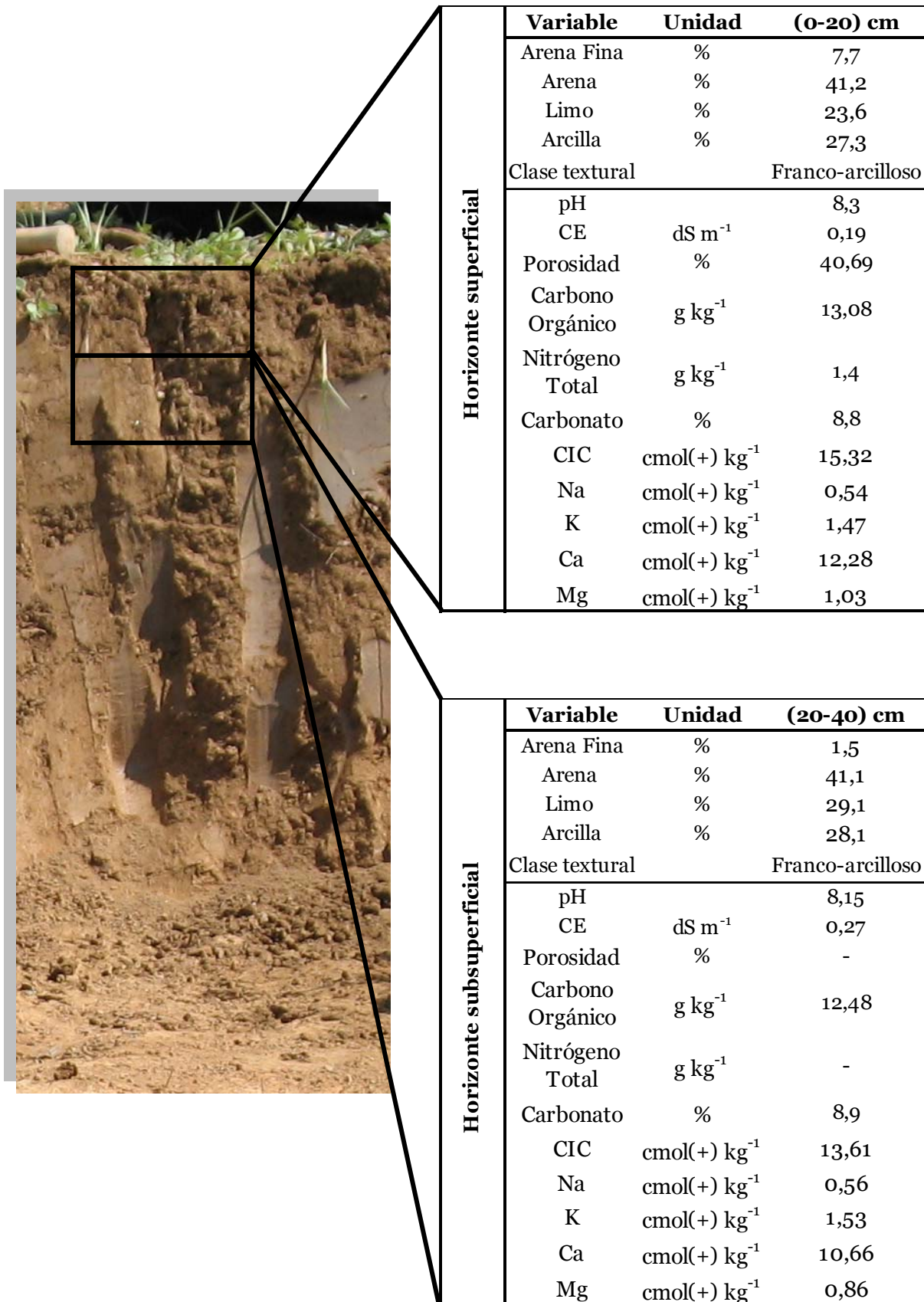


Figura 3.4. Principales características del horizonte Ap, dividido en dos profundidades (0-20) cm y (20-40) cm.

3.2. Descripción de las enmiendas orgánicas

Las enmiendas orgánicas escogidas para el proyecto son los principales residuos orgánicos producidos en áreas urbanas: residuos sólidos urbanos y lodos de estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR). Cada uno de ellos ha sufrido un proceso de generación y post-tratamiento. Así, las enmiendas orgánicas utilizadas son:

-Residuos sólidos urbanos, donde la fracción orgánica sufrió un proceso de compostaje (**MSWC**). La enmienda procede del centro de compostaje del Parque Tecnológico de Valdemingómez, que procesa los residuos correspondientes al área metropolitana de Madrid.

-Lodo aerobio (**AES**) que tras su digestión ha sufrido solamente un proceso de secado al aire. La EDAR de Toledo proporcionó esta enmienda.

-Lodo anaerobio (**ANS**) que fue digerido mediante un proceso de anaerobiosis (sin adición de oxígeno). Este lodo proviene de la EDAR de San Fernando de Henares (Madrid).

Las principales características de las enmiendas aplicadas se recogen en la Tabla 3.3. Las tres enmiendas poseen unos valores de contenido en metales pesados por debajo del umbral establecido por la legislación para su utilización en agricultura (BOE, 1990).

Para poder comparar los valores obtenidos en nuestras enmiendas, se utilizaron los resultados obtenidos en el estudio *“Caracterización de los lodos de depuradora generados en España”* (MARM, 2009). Los valores de los parámetros agronómicos se sitúan en los intervalos medios establecidos por el estudio, a excepción de los bajos valores obtenidos en la relación C/N en el lodo anaerobio. Respecto al contenido en metales, los valores están entre los umbrales medios estimados en el estudio. El lodo anaerobio posee valores altos de Hg, Pb y Zn en relación con las medias obtenidas en el estudio.

| | Compost RSU (MSWC) | Lodo Aerobio (AES) | Lodo Anaerobio (ANS) |
|---|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Peso seco (%) | 33,9 | 23,2 | 22,1 |
| pH (H ₂ O) | 6,5 | 8,2 | 7,7 |
| CE (dS m ⁻¹) | 15,8 | 1,5 | 1,4 |
| TOC (g kg ⁻¹) | 195,3 | 344,9 | 249,9 |
| Lp1 (%C) | 4,5 | 6,9 | 3,8 |
| Lp2 (%C) | 4,3 | 9,5 | 3,6 |
| R (%C) | 7,04 | 8,5 | 6,3 |
| CO ₃ ²⁻ (%) | 5,9 | 1,3 | 4,1 |
| N _T (g kg ⁻¹) | 19,1 | 42,01 | 46,01 |
| NH ₄ ⁺ -N (g kg ⁻¹) | 0,16 | 2,2 | 2,1 |
| NO ₃ ⁻ -N (g kg ⁻¹) | 0,05 | n.d. | n.d. |
| C/N | 10,2 | 8,2 | 5,4 |
| P (g kg ⁻¹) | 3,7 | 7,4 | 15,3 |
| K (g kg ⁻¹) | 4,7 | 5,4 | 4,4 |
| Ca (g kg ⁻¹) | 41 | 35 | 50 |
| Mg (g kg ⁻¹) | 5,1 | 3 | 4,8 |
| Fe (g kg ⁻¹) | 5,1 | 4 | 6,1 |
| Cd (mg kg ⁻¹) | 0,89 | 0,78 | 2 |
| Cr (mg kg ⁻¹) | 108 | 17 | 71 |
| Cu (mg kg ⁻¹) | 231 | 91 | 232 |
| Hg (mg kg ⁻¹) | 1,4 | 0,1 | 5 |
| Ni (mg kg ⁻¹) | 7 | 21 | 35 |
| Pb (mg kg ⁻¹) | 132 | 28 | 265 |
| Zn (mg kg ⁻¹) | 433 | 237 | 1296 |

n.d.: no detectable.

Todos los datos de la tabla están referidos a peso seco de la enmienda.

Tabla 3.3. Principales características de las enmiendas orgánicas empleadas en el estudio.

3.3. Diseño experimental

Se diseñó un experimento en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones (Figura 3.5.). En cada bloque se establecieron aleatoriamente cuatro parcelas (10 x 15 m) que contenían los cuatro tratamientos: una parcela control sin enmendar (CONT) y tres tipos de enmiendas orgánicas (MSWC, AES y ANS), como se definió en el apartado anterior (apartado 3.2). La dosis de aplicación fue de 160 Mg ha⁻¹ (peso seco) añadido una única vez. Esta dosis tan elevada fue seleccionada debido a que en anteriores trabajos del grupo de investigación (González-Ubierna et al., 2013) encontramos diferencias significativas en algunas propiedades del suelo cuando se comparó con dosis más bajas.

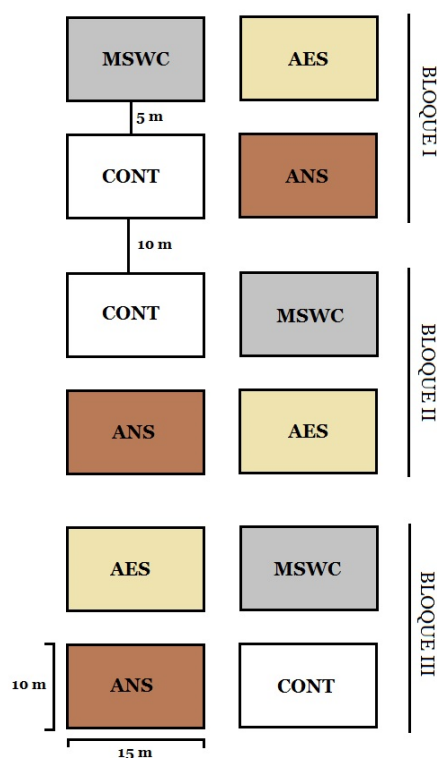


Figura 3.5. Esquema de la disposición de los bloques y las parcelas experimentales: CONT (control), MSWC (compost de residuos sólidos urbanos), AES (lodo aerobio) y ANS (lodo anaerobio).

La aplicación de las enmiendas se realizó mediante una pala mecánica (Figura 3.6.). Tras la aplicación, un rotocultor mezcló las enmiendas con el horizonte superficial hasta una profundidad de 20 cm. A lo largo del experimento no se practicaron labores de mantenimiento, riego o recortes de vegetación sobre las parcelas experimentales. Los muestreos se realizaron trimestralmente durante dos años, siendo el primer muestreo a los 20 días de la aplicación de las enmiendas. Las muestras se nombraron acorde a los meses transcurridos tras la aplicación de las

enmiendas orgánicas al suelo. Así, el primer muestreo (0 meses después de la aplicación) se llevo a cabo en la primavera de 2010 y el último muestreo (24 meses después de la aplicación) se corresponde con la primavera de 2012.



Figura 3.6. Detalle del montaje de las parcelas en la finca experimental "La Isla" (IMIDRA). Se detalla: I) la recepción del residuo, II) su extendido con una pala mecánica, III) para su posterior mezclado con el suelo mediante un rotocultor, IV) detalle de las parcelas de muestreo

3.4. Análisis de las muestras

La toma y la preparación de las muestras de suelo se llevó a cabo siguiendo las especificaciones del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) (Schoeneberger et al., 2002). Los análisis se realizaron en la fracción fina del suelo (≤ 2 mm). Las determinaciones realizadas se detallan a continuación:

3.4.1. Análisis realizados para la determinación de las formas de carbono

- El **Carbonato Cálcico Equivalente** y el **Carbonato Ácido Soluble** (bicarbonato) se midieron según el método de neutralización ácida, propuesto por Allison y Moodie (1965), con HCl titulado.
- El **Carbono Orgánico Disuelto (DOC)** se extrajo en una disolución 1:5 de relación suelo/agua (p/v) tras una hora de agitación y fue analizado en un autoanalizador micro NC de Analytic Jena.
- El **Carbono Orgánico Total (TOC)** se determinó siguiendo la metodología propuesta por Walkley-Black, mediante oxidación en húmedo con dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$) y posterior valoración con un agente reductor (Sal de Mohr, $[(SO_4)_2Fe(NH_4)_2 \cdot 6H_2O]$).
- Para el estudio de las **fracciones del carbono orgánico**, se procedió a separar y cuantificar el carbono asociado a fracciones más lábiles (materia orgánica hidrolizable, LP1 y LP2), de las formas de carbono más estables (materia orgánica recalcitrante, R), mediante hidrólisis ácida, utilizando la metodología propuesta por Rovira y Ramón-Vallejo (2007).
 - La **fracción lábil LP1** corresponde fundamentalmente a azúcares, aminoácidos y ácidos grasos de bajo peso molecular.
 - La **fracción lábil LP2** contiene compuestos con mayor grado de polimerización que la fracción anterior.
 - La **fracción recalcitrante (R)** contiene compuestos de elevado peso molecular.

- La **Respiración del suelo (CO₂)** se midió según la metodología estandarizada para este tipo de análisis (Davidson et al., 2002). La toma de datos se realizó in situ mediante un detector de infrarrojos acoplado a una campana (analizador modelo Li-COR 8100). Se instalaron aleatoriamente tres cilindros de PVC en cada parcela de muestreo permaneciendo hasta el final del experimento. La campana se sitúa sobre el cilindro de PVC, previamente clavado en el suelo, y captura el aire que en éste se emite. El suelo ha de estar desnudo, por lo que previamente a las medidas se recortaba toda la vegetación que pudiera existir. El aire capturado se hace pasar por el detector de infrarrojos, que estima el flujo de CO₂. La campana utilizada fue la estándar de 20cm de diámetro. Las medidas se realizaron en tres momentos del día (al amanecer, al mediodía y al atardecer), representándose únicamente la media diaria.

3.4.2. Análisis realizados para la determinación de las formas de nitrógeno

Exceptuando la medida del contenido de nitrógeno total (N_T), se recogieron muestras a dos profundidades (0-20) cm y (20-40) cm, correspondientes al horizonte Ap, conservadas a temperatura constante (4°C) y contenido de humedad de campo. El contenido de humedad se determinó para referir los resultados analíticos en base al peso seco del suelo.

-El contenido de **nitrógeno total (N_T)** se midió en un macroanalizador elemental (LECO CNS 2000).

- El contenido de **amonio (NH₄⁺-N)** se determinó en una disolución 1:5 de relación suelo/extractante (p/v) de K₂SO₄ (0,5 M) tras una hora y media de agitación, mediante una medida espectroscópica a 660 nm siguiendo la metodología propuesta por Crooke y Simpson (1971).

- El contenido de **nitrito (NO₂⁻-N)** se determinó en una disolución 1:5 de relación suelo/agua (p/v) y medido por cromatografía iónica (modelo Metrohm 761 Compact-IC), siguiendo la metodología propuesta por ISRIC (ISRIC, 2002).

- La **Nitrificación potencial (NitPot)** se midió en 5 g de suelo durante un periodo de 4 horas de incubación en un medio de inhibición de clorato, siguiendo la metodología propuesta por Belser y Mays (1980).

3.4.3. Análisis de las propiedades del suelo

- El **pH** se determinó en una suspensión de relación 1:2,5 suelo/agua (p/v) siguiendo la metodología propuesta por ISRIC (ISRIC, 2002), medido en un pH metro Crison GLP 21.

- La **conductividad eléctrica (CE)** se en una suspensión 1:5 suelo/agua (p/v) siguiendo la metodología propuesta por ISRIC (ISRIC, 2002), medida en un conductímetro modelo Crison micro CM 2200.

- Para el **análisis granulométrico** se siguió el Método Internacional de Análisis Mecánico, previa eliminación de la materia orgánica con H₂O₂ (ISRIC, 2002).

- La **porosidad (Po)**, la **capacidad de almacenamiento de agua (WHC)** y la **densidad aparente (BD)** se midieron siguiendo la metodología propuesta por Brady y Weil (1999).

- La **estabilidad de agregados** se determinó siguiendo la metodología propuesta por Le Bissonais (1996). Para ello, 5 g de agregados de la fracción del suelo entre 5-3,15 mm previamente tamizados, se sumergieron en 50 mL de agua destilada durante 10 minutos, eliminándose a continuación el exceso de agua. Los agregados fueron suspendidos en etanol y tamizados por un tamiz de >50 µm, secándose posteriormente a 40 °C durante 24 horas. Las muestras de los agregados se tamizaron a través de una columna de seis tamices (2-1-0,5-0,2-0,1-0,05 mm), para obtener la distribución del tamaño de los agregados. **El diámetro medio del peso de los agregados (MWD)** se calculó como la suma de la masa que permaneció en cada tamiz multiplicado por el tamaño medio de la luz del tamiz (Le Bissonais, 1996). Este test indica la estabilidad de los agregados, aunque no refleja el tamaño real de los agregados en condiciones de campo.

- El **índice de recalcitrancia (IR)** se determinó en los agregados de la fracción del suelo 5-3,15 mm, que fueron tamizados para el test de estabilidad anteriormente citado. El IR fue propuesto por Rovira y Ramón-Vallejo (2007): $IR = (R/TOC) \cdot 100$, donde R corresponde a la fracción del carbono recalcitrante y TOC es el carbono total.

Las medidas de las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo se realizaron en muestras conservadas a temperatura constante (4°C) y su contenido de humedad de campo. El contenido de humedad se determinó para referir los

resultados analíticos en base al peso seco del suelo. Las medidas de las propiedades biológicas y bioquímicas se realizaron únicamente en los cuatro primeros muestreos, con el fin de evaluar los cambios producidos a corto plazo.

- La **biomasa microbiana del suelo (MBC)** se determinó por el método de fumigación-extracción, de acuerdo con Vance et al. (1987). El contenido de carbono orgánico de los extractos se analizaron mediante un analizador Shimadzu TOC-VCSH (Kyoto, Japón). MBC se calculó como la diferencia entre el carbono orgánico extraído del suelo fumigado menos el carbono orgánico extraído del suelo no fumigado, multiplicado por un factor de 2,33 (Martens, 1995).

- El ratio **MBC/TOC** se obtuvo como el porcentaje de carbono de la biomasa microbiana (MBC) con respecto al carbono orgánico total del suelo (TOC).

- La **respiración basal del suelo (BR)** se midió utilizando el método del sensor de presión (OxiTop, WTW, Weiheim, Alemania) siguiendo las directrices de la norma internacional ISO 17155 (ISO 17155, 2002). Las muestras de suelo húmedo (al 50 % de la capacidad de campo) se pre-incubaron en botellas de cristal dentro de una cámara termostática durante 3 días a una temperatura de $20,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. En las cabezas de las botellas se instalaron sensores de presión con un registro continuo. El consumo de O_2 se midió a intervalos de 1 hora hasta que las tasas de respiración fueron constantes, determinando así BR.

- El **cociente metabólico (MQ)** se calculó dividiendo la respiración basal (BR) por el contenido de MBC del suelo.

- El análisis de la **actividad deshidrogenasa (DA)** se basó en la reducción del cloruro 2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil-5-fenil tetrazolio (INT) en iodonitrotetrazolio de formazano (INTF) y posterior cuantificación colorimétrica a 490 nm, según el método de García et al. (1993a).

- La **actividad catalasa (CA)** se determinó como la capacidad para descomponer el H_2O_2 a 20°C después de 10 min de incubación del suelo con H_2O_2 (30%) y su posterior valoración con 0,05 N de KMnO_4 (Johnson y Temple, 1964).

- La **actividad ureasa (UA)** se determinó mediante espectrofotometría el NH_4^+ liberado durante la incubación del suelo con urea durante 90 min a 30°C y un $\text{pH}=7$ (Nannipieri et al., 1980).

- La **actividad proteasa (PA)** se determinó mediante espectrofotometría el NH_4^+ liberado durante la incubación del suelo a $\text{pH}=7$ con BAA (N- α -benzoil-L-argininamida) durante 90 min a 40°C (Nannipieri et al., 1980).

- El ensayo de **la actividad fosfatasa (PhA)** se basó en la detección de p-nitrofenol (PNP) liberado después de la incubación del suelo (37°C , 90 min) a $\text{pH}=6,5$ con p-nitrofenil fosfato disódico (Tabatabai y Bremner, 1969).

- La **actividad β -glucosidasa (βGA)** se determinó mediante espectrofotometría la velocidad de formación de PNP durante la incubación del suelo con p-nitrofenil- β -D-glucopiranosido durante 90 min a 37°C y $\text{pH}=6,5$ (Tabatabai , 1982).

3.5. Modelo de flujo y transporte de formas solubles en la zona no saturada del suelo

Con el fin de determinar el impacto de las formas nitrogenadas en la contaminación de las aguas subterráneas, se utilizó como herramienta un **modelo matemático de flujo y transporte de formas solubles en la zona no saturada del suelo**, en colaboración con el equipo del Instituto Geológico y Minero de España (IGME) dirigido por el Dr. Luis Moreno.

Se realizaron diferentes simulaciones: la primera para el periodo de 24 meses que duró el experimento (Abril 2010- Marzo 2012), y la segunda para tres escenarios distintos considerando valores de entrada de agua anuales en el sistema de 400, 600 y 1000 mm. La entrada de agua en los escenarios nombrados escenario A (400 mm año^{-1}) y escenario B (600 mm año^{-1}) se asemejan a las precipitaciones de un año promedio y un año húmedo respectivamente. En el escenario C (1000 mm año^{-1}) la entrada anual de agua incluye el riego para la producción de alfalfa (de abril a octubre), además de las precipitaciones en un año promedio.

El modelo matemático empleado en las simulaciones se diseñó utilizando un paquete software VS2DTI, v. 1.2, desarrollado por el Servicio Geológico de Estados Unidos (U.S. Geological Survey) (Healy, 1990; Hsieh et al., 1999) y calibrado por el control de la humedad del suelo, mediante sondas de registro continuo instaladas en las parcelas experimentales a 10, 30 y 150 cm de profundidad (Jiménez-Hernández et al., 2013). La simulación se realizó en un dominio unidimensional que se extendía desde la superficie del suelo hasta una profundidad de 2 metros, con una resolución

espacial de 5 cm. Las diferentes clases texturales se definieron acorde con las propiedades físicas determinadas en el perfil del suelo (Tabla 3.2.). Las funciones hidráulicas características se representaron mediante el modelo de van Genuchten y los parámetros hidráulicos estimados se resolvieron utilizando el programa Rosetta v. 1.2, (U.S. Salinity Laboratory of the ARS-USDA).

Para la simulación de la migración de los contaminantes situados en la capa 0-20 cm se utilizó un modelo de transporte conservativo del soluto sin difusión. Las condiciones de contorno que se establecieron fueron: i) condición superior: permite el flujo de agua (entrada de agua por lluvia y riego, si se considera en la simulación, y salida de agua por evapotranspiración); ii) condición inferior: el agua circula libremente en función del balance de potenciales. La posición del nivel freático, se sitúa siempre a una profundidad mayor de 5 metros, asegurando la no influencia de la zona capilar. La discretización temporal se hizo en base a la distribución de las precipitaciones. La serie de datos climáticos diarios fueron proporcionados por la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) (Figura 3.3.). La parametrización de los ciclos de evaporación y transpiración se realizó tomando los valores de evapotranspiración potencial (PET) mensuales calculados por el método Penman-Monteith (Allen et al., 1998). La profundidad máxima de raíces (RD) se estableció en 40 cm, sobre la base de observaciones de muestras inalteradas de suelo hasta 2 m de profundidad.

3.6. Análisis estadísticos

- Para probar los efectos de los factores experimentales (tipo de enmienda y tiempo de muestreo) en las variables analizadas (evolución de las formas de nitrógeno y los efectos en las propiedades biológicas y bioquímicas), se realizó un ANOVA de dos vías con interacción entre factores. En el caso de las pruebas donde F fue significativa, las diferencias entre las medias de los grupos se evaluaron mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

- Para analizar la evolución de las formas de carbono y todas las propiedades del suelo estudiadas, se llevó a cabo un análisis de la varianza de un factor (ANOVA), utilizando el método de distribución F, Fisher-Snedecor, con un nivel de confianza mayor del 95% ($p \leq 0,05$).

- Además, se realizaron matrices de correlaciones (método de Pearson) tanto para las propiedades físicas, como para las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software SPSS 17.0 Statistics (para el sistema operativo Microsoft Windows).

RESULTADOS y DISCUSIÓN

4.1. Efectos de la aplicación de enmiendas orgánicas en la evolución del carbono del suelo

4. Resultados y Discusión

4.1. Efectos de la aplicación de enmiendas orgánicas en la evolución del carbono del suelo

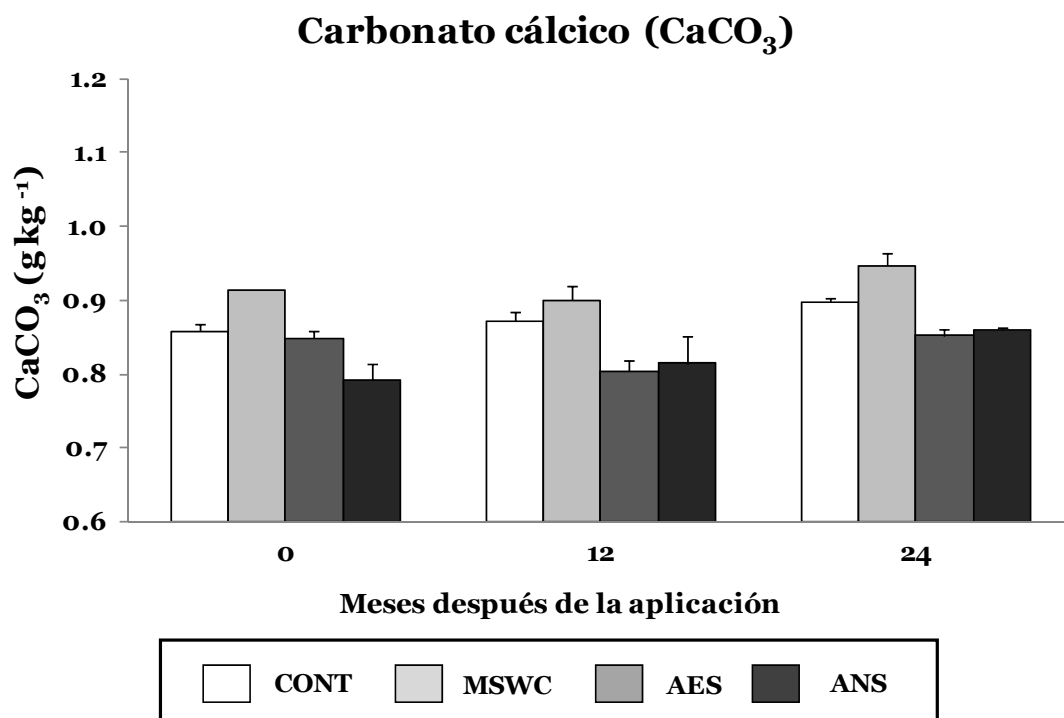
4.1.1. Evolución de las formas inorgánicas de carbono

- *Contenido en carbonato cálcico (CaCO_3)*

El contenido de carbonato cálcico equivalente del suelo de estudio se sitúa alrededor de un 8%. Tras la aplicación de los dos tipos de lodo de depuradora (AES y ANS) al suelo se produjo un ligero descenso en el contenido de carbonato cálcico, mientras que en las parcelas enmendadas con MSWC se observó un ligero aumento (Figura 4.1.1.). Sin embargo, no existieron diferencias significativas entre las parcelas enmendadas y las parcelas CONT.

La reducción del contenido de CaCO_3 en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora está asociada con la respuesta tampón a la acidificación del suelo, debido a la composición de estas enmiendas orgánicas y su rápida degradación, la cual provocó un descenso en el pH del suelo (Figura 4.3.1.). Este hecho ha sido descrito previamente por Bastida et al. (2007) y Hemmat et al. (2010), que encontraron un efecto dosis-dependiente tras la aplicación de enmiendas orgánicas. Por el contrario, la aplicación de MSWC causó un incremento en el contenido de carbonato cálcico ya que esta enmienda tiene un mayor contenido en carbonato cálcico en su composición (Tabla 3.3.). La presencia de carbonatos en este tipo de enmiendas ya fue descrita anteriormente por Actis et al. (1981).

A lo largo del estudio el patrón es el mismo, siendo las parcelas enmendadas con los dos tipos de lodo de depuradora (AES y ANS) las que tienen menores valores de carbonato cálcico. Del mismo modo, siguen sin encontrarse diferencias significativas entre las parcelas enmendadas y las parcelas CONT. A pesar de que los lodos de depuradora disminuyeran el contenido de CaCO_3 inmediatamente después de su aplicación, los valores de CaCO_3 se mostraron muy estables durante todo el experimento, por lo que los suelos carbonatados muestran una capacidad amortiguadora del impacto que supone la aplicación de enmiendas orgánicas.



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (CaCO₃)

| | 0 | 12 | 24 |
|------|---|----|----|
| CONT | a | a | a |
| MSWC | a | a | a |
| AES | a | a | a |
| ANS | a | a | a |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (CaCO₃)

| | 0 | 12 | 24 |
|------|---|----|----|
| CONT | A | A | A |
| MSWC | A | A | A |
| AES | A | A | A |
| ANS | A | A | A |

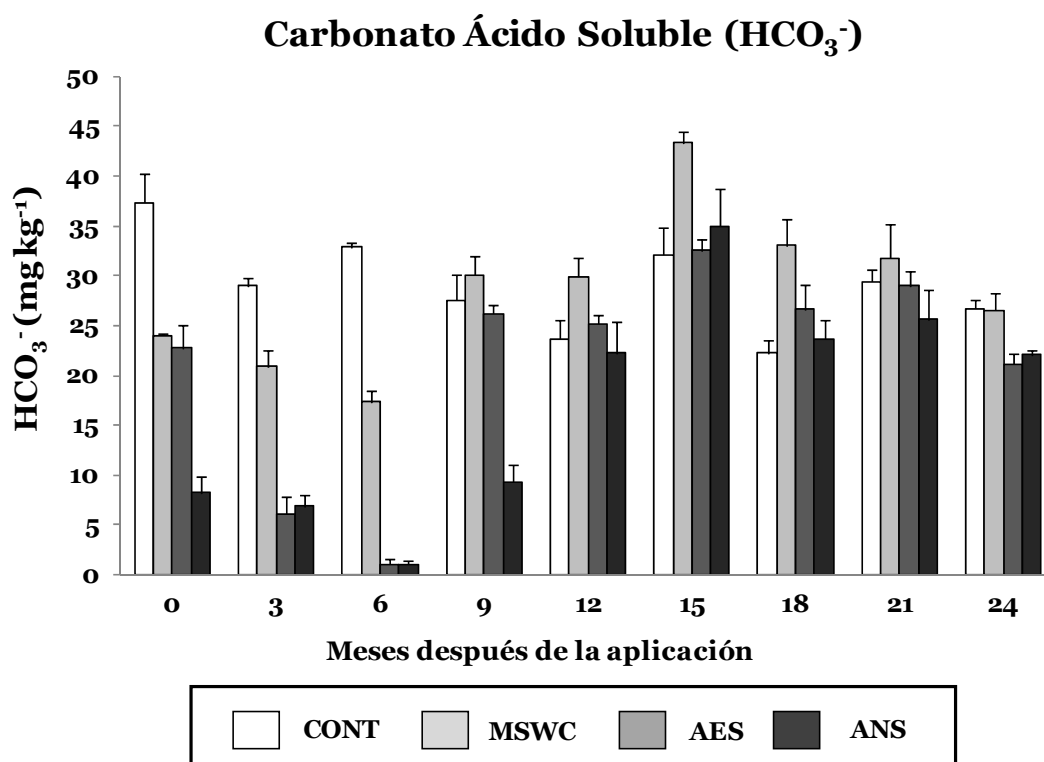
Figura 4.1.1. Valores de carbonato cálcico (CaCO₃) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

- Carbonato ácido soluble (HCO_3^-)

En los suelos con enmiendas orgánicas, el contenido de carbonato ácido soluble (HCO_3^-) disminuyó significativamente con respecto a las parcelas CONT en los muestreos iniciales (Figura 4.1.2.). Estas diferencias significativas desaparecieron al cabo de los 9 meses de la aplicación, en el caso de las parcelas MSWC y AES, y al cabo de un año en las parcelas ANS. Por lo tanto, la aplicación de las enmiendas orgánicas al suelo supuso una alteración de la evolución del carbonato ácido soluble, especialmente en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora.

El contenido de carbonato ácido soluble estuvo fuertemente influenciado por los valores de pH (Figura 4.3.1.) y las condiciones de equilibrio del sistema carbonato-bicarbonato (Serrano-Ortiz et al., 2010). Con valores de pH cercanos a 8 se produce un mayor contenido en carbonato ácido mientras que cuando los valores de pH son inferiores a 8 se generará un desplazamiento del equilibrio hacia el ácido carbónico, causando un descenso en el contenido de carbonato ácido. En las parcelas enmendadas con lodo de depuradora, el descenso de los valores de pH en los muestreos iniciales causó un desplazamiento del equilibrio hacia ácido carbónico. Por su parte, el tratamiento MSWC produjo un menor efecto en el pH, además del efecto que tuvo el contenido de carbonato cálcico de la propia enmienda; de este modo el descenso de los valores de carbonato ácido soluble fue menor y la recuperación de los valores próximos al tratamiento CONT fue más rápida. Con la recuperación de los valores del pH, las diferencias en el contenido de carbonato ácido soluble en las parcelas enmendadas se van reduciendo con respecto al suelo CONT.

Durante el segundo año, en las parcelas enmendadas con los dos tipos de lodo de depuradora no se encuentran diferencias significativas con respecto al suelo CONT. El contenido de carbonato ácido soluble en estas parcelas se mantiene estable ya que los valores de pH no sufren grandes descensos ni aumentos durante este periodo, aunque sí presentan ligeras variaciones estacionales. Con respecto a las variaciones estacionales, el descenso del contenido de carbonato ácido soluble puede ser debido a la falta de agua, en los meses de verano, en un clima mediterráneo como en el que nos encontramos. Este descenso del contenido carbonato ácido se observa muy bien en los muestreos de verano del primer año (3 y 6 meses después de la aplicación de las enmiendas) y de manera menos evidente en los meses de verano del segundo año (15 y sobre todo 18 meses después de la aplicación).

Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (HCO_3^-)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|
| CONT | c | c | c | b | a | a | a | a | a |
| MSWC | b | b | b | b | a | b | b | a | a |
| AES | b | a | a | b | a | a | ab | a | a |
| ANS | a | a | a | a | a | a | ab | a | a |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (HCO_3^-)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|-----|-----|----|-----|-----|----|----|-----|------|
| CONT | C | ABC | BC | AB | AB | BC | A | ABC | AB |
| MSWC | ABC | AB | A | BCD | BCD | E | D | CD | ABCD |
| AES | BC | A | A | BCD | BCD | D | CD | CD | B |
| ANS | A | A | A | A | B | C | B | BC | B |

Figura 4.1.2. Valores de carbonato ácido soluble (HCO_3^-) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

Un descenso en el contenido de agua, combinado con un exceso de calcio en el suelo, produce un efecto de recarbonatación secundaria. La precipitación de carbonato cálcico secundario y la formación de costras es una característica muy común en suelos de las regiones áridas y semi-áridas si los materiales litológicos contienen gran cantidad de calcio (Ruellan, 1999; Serrano-Ortiz et al., 2010).

4.1.2. Evolución de las formas orgánicas de carbono

- Carbono Orgánico Total (TOC)

La aplicación de las enmiendas orgánicas incrementó claramente los niveles de materia orgánica del suelo (SOM) comparado con las parcelas sin enmendar. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores (Albiach et al., 2001; Heras et al., 2005; Contin et al., 2012). Tras la aplicación, los tres tipos de enmiendas incrementaron significativamente el contenido de TOC, pero no se observaron diferencias significativas entre ellos (Figura 4.1.3.). Aunque el contenido de TOC de cada una de las enmiendas es diferente (Tabla 3.3.), la ausencia de diferencias significativas entre las distintas enmiendas puede ser debida a la dosis tan elevada que se ha empleado en el estudio. Albiach et al. (2001) encontraron una relación entre la acumulación de materia orgánica en el suelo y la aplicación de distintos tipos de lodo de depuradora, disminuyendo proporcionalmente las diferencias entre los distintos tipos de enmienda utilizados según se aumenta la dosis de aplicación.

Si bien en el estudio comparativo entre los distintos tratamientos en el primer muestreo no aparecieron diferencias significativas, la evolución del contenido de TOC fue distinta a lo largo del tiempo. En las parcelas enmendadas con los dos tipos de lodo los niveles de TOC en el suelo tendieron a disminuir con el tiempo, especialmente en las parcelas AES. En ellas se produjo una marcada disminución en el contenido de TOC después del primer muestreo y no se encontraron diferencias significativas con respecto a las parcelas CONT a partir de los 3 meses de la aplicación. Este descenso fue menos evidente en las parcelas ANS, las cuales mantuvieron las diferencias significativas con las parcelas CONT después de 3 meses. Estos resultados concuerdan con otros autores los cuales encontraron un aumento del contenido de TOC después de la aplicación de lodo de depuradora al suelo y una disminución a lo largo del tiempo (Fernández et al., 2007; Andrés et al., 2011). Los

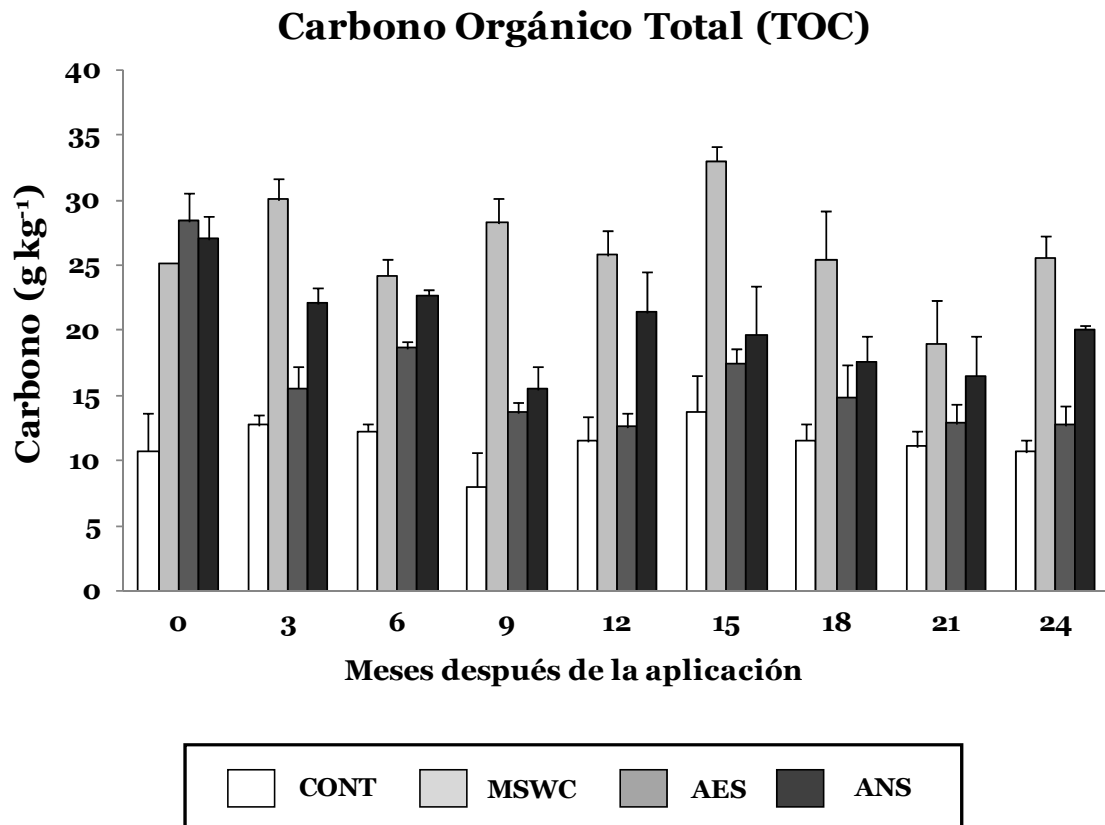
lodos de depuradora al no sufrir un proceso de compostaje en el post-tratamiento presentan formas más lábiles de carbono, por lo que los microorganismos del suelo son capaces de degradar más fácilmente los compuestos orgánicos (Sánchez-Monedero et al., 2004).

Sin embargo las parcelas enmendadas con MSWC no siguieron el mismo patrón, siendo el tratamiento con los valores más altos de TOC y permaneciendo estables a lo largo de todo el estudio (no se encontraron diferencias significativas entre los distintos muestreos). Este hecho puede explicarse por un alto contenido en formas recalcitrantes de la materia orgánica aportada por MSWC, la cual es más difícil de ser degradada e incorporada al suelo por la actividad microbiana (Jiménez et al., 2007). Un año después de la aplicación el contenido de TOC en las parcelas AES tiende a estabilizarse (Figura 4.1.3.), aunque con ligeras variaciones estacionales, pero siempre con valores cercanos a los encontrados en las parcelas CONT. Por su parte, las parcelas ANS también muestran un comportamiento estable en el contenido de TOC, pero con valores significativamente mayores que los encontrados en las parcelas CONT. Esta tendencia de cierta estabilización en las parcelas enmendadas con los dos tipo de lodos de depuradora puede deberse a que los procesos de mineralización, producidos con mayor intensidad en los primeros muestreos, proporcionen una acumulación de formas recalcitrantes en el suelo, las cuales proporcionan mayor estabilidad de la materia orgánica del suelo (Jacinthe et al., 2002).

A la vista de los resultados, el tratamiento de estabilización al que ha sido sometido cada una de las enmiendas orgánicas aplicadas, implica distintos comportamientos en la retención de TOC en el suelo a lo largo del tiempo (Dere y Stehouwer, 2011).

- Carbono Orgánico Disuelto (DOC)

El carbono orgánico disuelto (DOC) es una fracción lábil importante del suelo e influye en muchos procesos químicos y biológicos (Laik et al., 2009), ya que es una fuente de carbono y energía para la actividad microbiana del suelo (Dou et al., 2007). Sin embargo, DOC no está necesariamente constituido solamente por una fracción lábil.



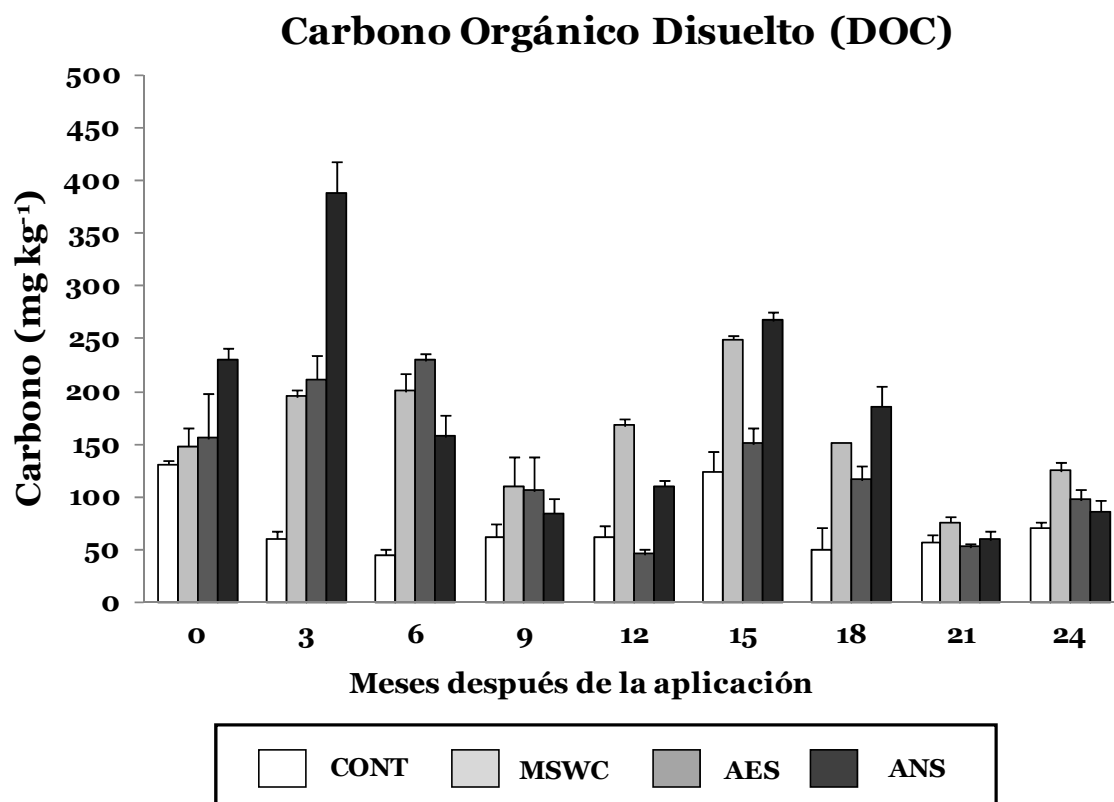
Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (TOC)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|---|---|----|---|----|----|----|----|----|
| CONT | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| MSWC | b | c | b | b | c | b | b | c | b |
| AES | b | a | ab | a | ab | a | a | ab | a |
| ANS | b | b | ab | a | bc | a | ab | bc | b |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (TOC)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|---|----|----|---|----|----|----|----|----|
| CONT | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| MSWC | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| AES | B | A | A | A | A | A | A | A | A |
| ANS | B | AB | AB | A | AB | AB | A | A | AB |

Figura 4.1.3. Valores de carbono orgánico total (TOC) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (DOC)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|---|---|----|---|----|----|----|----|----|
| CONT | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| MSWC | a | b | bc | a | c | a | b | a | b |
| AES | a | b | c | a | a | b | ab | a | ab |
| ANS | a | c | b | a | ab | b | b | a | ab |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (DOC)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|-----|----|-----|----|-----|-----|-----|----|----|
| CONT | C | AB | A | AB | AB | BC | A | AB | AB |
| MSWC | AB | BC | BC | A | BC | C | AB | A | AB |
| AES | BCD | CD | D | AB | A | BCD | ABC | AB | AB |
| ANS | DE | F | BCD | AB | ABC | E | CD | A | AB |

Figura 4.1.4. Valores de carbono orgánico disuelto (DOC) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

Numerosos autores han puesto de manifiesto la presencia de compuestos no lábiles (de mayor peso molecular) en este "pool" de carbono (Gregorich et al., 2003; Farrell et al., 2011).

La aplicación de las enmiendas orgánicas al suelo incrementó el contenido en DOC (Figura 4.1.4.). Este aumento se observó claramente al cabo de 3 meses de la aplicación de las enmiendas, encontrándose diferencias significativas con respecto al suelo CONT. Estos resultados concuerdan con los observados por Pascual et al. (1998) y Franco-Otero et al. (2012). Las parcelas ANS muestran los mayores valores de DOC. Ros et al. (2003) explica este efecto debido a la presencia de carbohidratos en las enmiendas aplicadas.

Con el tiempo, las diferencias significativas entre las parcelas enmendadas con respecto a las parcelas CONT van reduciéndose hasta desaparecer al cabo de los 9 meses de la aplicación. Este descenso puede ser explicado por los procesos de mineralización en el suelo, siendo más intensos en suelos enmendados con enmiendas no compostadas (Bastida et al., 2012). El carbono orgánico disuelto proviene de la descomposición de la materia orgánica y puede pasar a formar parte del pool de carbono que es transformado finalmente en CO₂ (Jandl y Sollins, 1997).

A partir de un año de la aplicación de las enmiendas el contenido de DOC sigue una tendencia estacional en los distintos tratamientos, pero siempre con valores más elevados o similares las parcelas enmendadas que las parcelas CONT. Numerosos autores han destacado el comportamiento estacional del contenido de DOC en el suelo (Farrell et al., 2011; Nosrati et al., 2012). Así, se observó un aumento en los valores de DOC en el verano (15 meses después de la aplicación). Este aumento puede ser debido a la falta de humedad en el suelo, provocando que los microorganismos del suelo liberen osmolitos al medio como medida de supervivencia al estrés hídrico (Navarro-García et al., 2012) y, por tanto, aumente los valores de DOC en el suelo. Por otra parte, la falta de precipitaciones en esta época, hace que esta fracción soluble se concentre en la zona superficial del suelo (0-20 cm) y no pueda moverse hacia capas más profundas del perfil. Este efecto puede observarse en el muestreo de invierno (21 meses después de la aplicación de las enmiendas) con la llegada de las precipitaciones (100 mm de precipitación acumulada, Figura 3.3.), permitiendo la movilidad hacia capas más profundas del perfil. Giubergia et al. (2013) describió un ligero aumento en el contenido de DOC en capas más profundas cuando

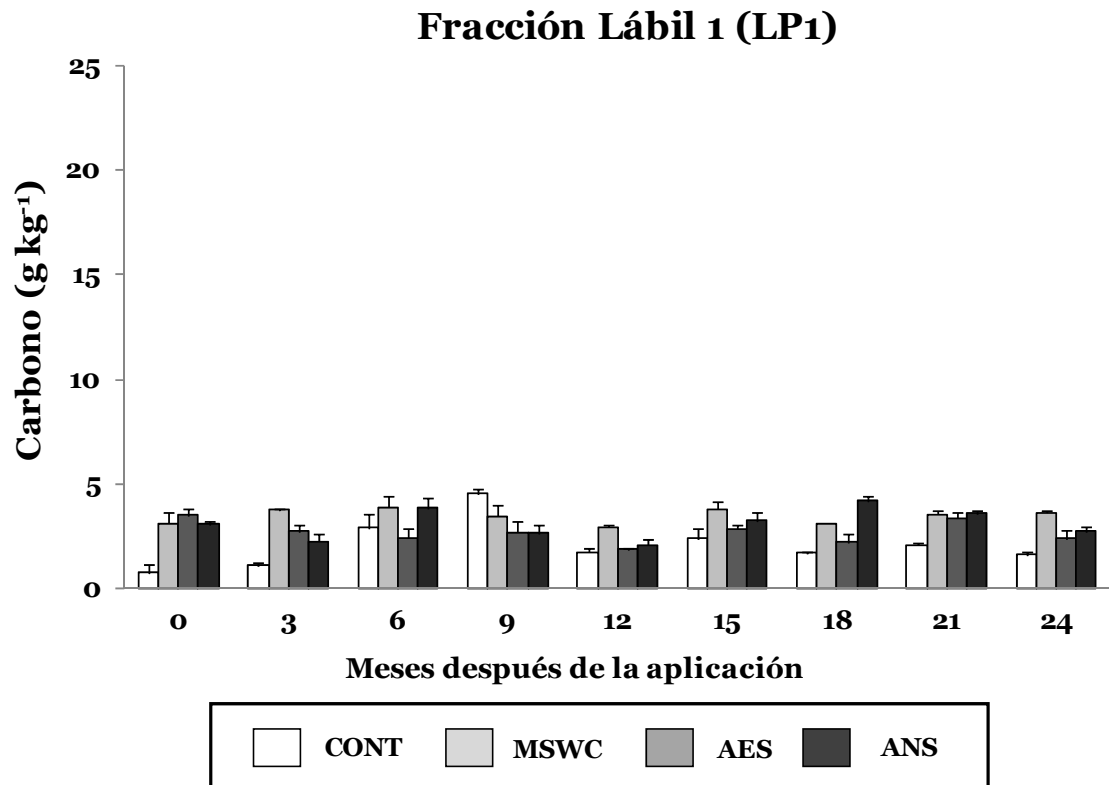
suplementaba con riego un suelo en un clima semiárido. Al cabo de dos años de la aplicación solamente en el tratamiento MSWC se observan diferencias significativas con las parcelas CONT.

- Fraccionamiento del Carbono Orgánico (LP1, LP2 y R)

El carbono aportado por las enmiendas orgánicas puede diferenciarse químicamente en compuestos lábiles (azúcares, aminoácidos y ácidos grasos) y recalcitrantes (compuestos polimerizados de elevado peso molecular) (González-Ubierna, 2013).

Las distintas fracciones de carbono orgánico se incrementaron significativamente tras la aplicación de las enmiendas orgánicas (Figura 4.1.5., Figura 4.1.6. y Figura 4.1.7.) y se observaron diferencias en el tipo de carbono aportado por cada enmienda. Mientras que la aplicación de AES aportó un mayor contenido de formas lábiles, similar a los resultados obtenidos por Fernández et al. (2007), la aplicación de ANS aportó mayor cantidad de formas recalcitrantes de carbono. En las parcelas enmendadas con MSWC el incremento en los valores de TOC del suelo fue menor y, por tanto, fue menor también el incremento de las diferentes fracciones, aunque la relevancia de las formas recalcitrantes fue mayor que en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora.

En cuanto a la dinámica de las formas lábiles, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos a los 6 meses de la aplicación de las enmiendas. Pedra et al. (2007) indican que la aplicación de enmiendas orgánicas produce un mayor "pool" de carbono lábil, pero las diferencias desaparecen rápidamente debido a intensos procesos de mineralización. Estas formas lábiles son los compuestos de carbono más fácilmente biodegradables por los microorganismos del suelo y por tanto dependerá de la actividad de los mismos. Bol et al. (2003) encontraron un aumento del contenido de las formas más lábiles (LP1) en otoño e invierno debido a una reducción de la actividad microbiana causada por la temperatura y/o humedad. Este efecto se observó en las parcelas enmendadas en los mismos meses (18 y 21 meses después de la aplicación).



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (LP1)

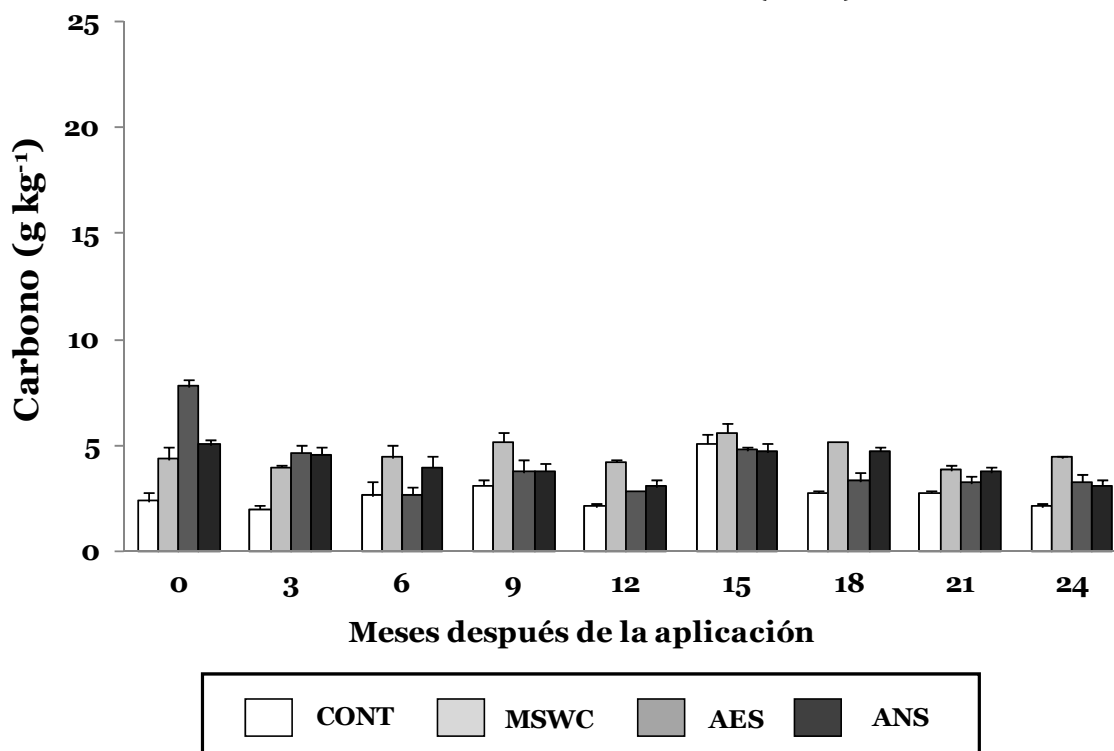
| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|
| CONT | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| MSWC | b | c | a | a | a | a | c | b | c |
| AES | b | b | a | a | a | a | ab | b | ab |
| ANS | b | b | a | a | a | a | bc | b | bc |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (LP1)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|-----|----|----|-----|----|-----|----|-----|-----|
| CONT | A | A | BC | C | AB | AB | AB | AB | AB |
| MSWC | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| AES | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| ANS | ABC | AB | BC | ABC | A | ABC | C | ABC | ABC |

Figura 4.1.5. Valores de la fracción lábil 1 (LP1) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

Fracción Lábil 2 (LP2)



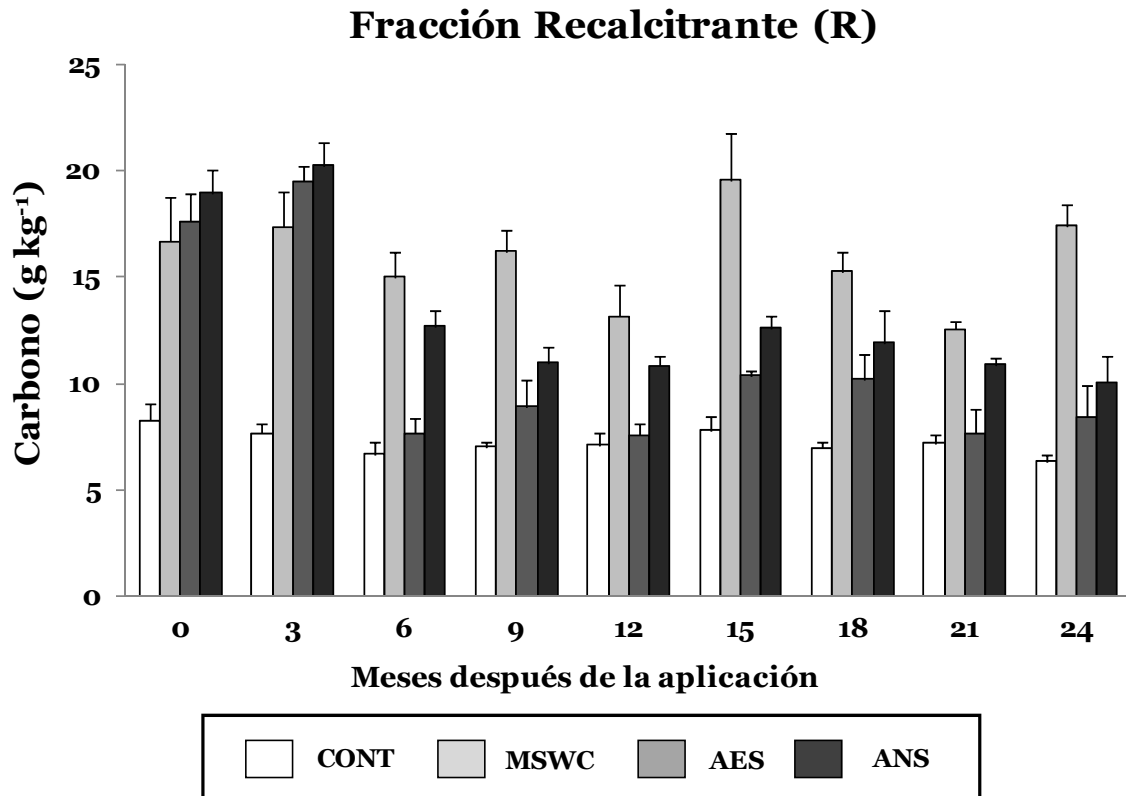
Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (LP2)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|----|---|---|---|----|----|----|----|----|
| CONT | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| MSWC | ab | b | a | a | b | a | c | c | b |
| AES | b | b | a | a | a | a | ab | ab | ab |
| ANS | ab | b | a | a | ab | a | bc | bc | ab |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (LP2)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|
| CONT | A | A | A | A | A | B | A | A | A |
| MSWC | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| AES | B | A | A | A | A | A | A | A | A |
| ANS | B | AB | AB | AB | A | AB | AB | AB | A |

Figura 4.1.6. Valores de la fracción lábil 2 (LP2) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (R)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|
| CONT | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| MSWC | b | b | b | b | b | b | c | b | b |
| AES | b | b | a | a | a | a | ab | a | a |
| ANS | b | b | b | a | ab | a | bc | ab | a |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (R)

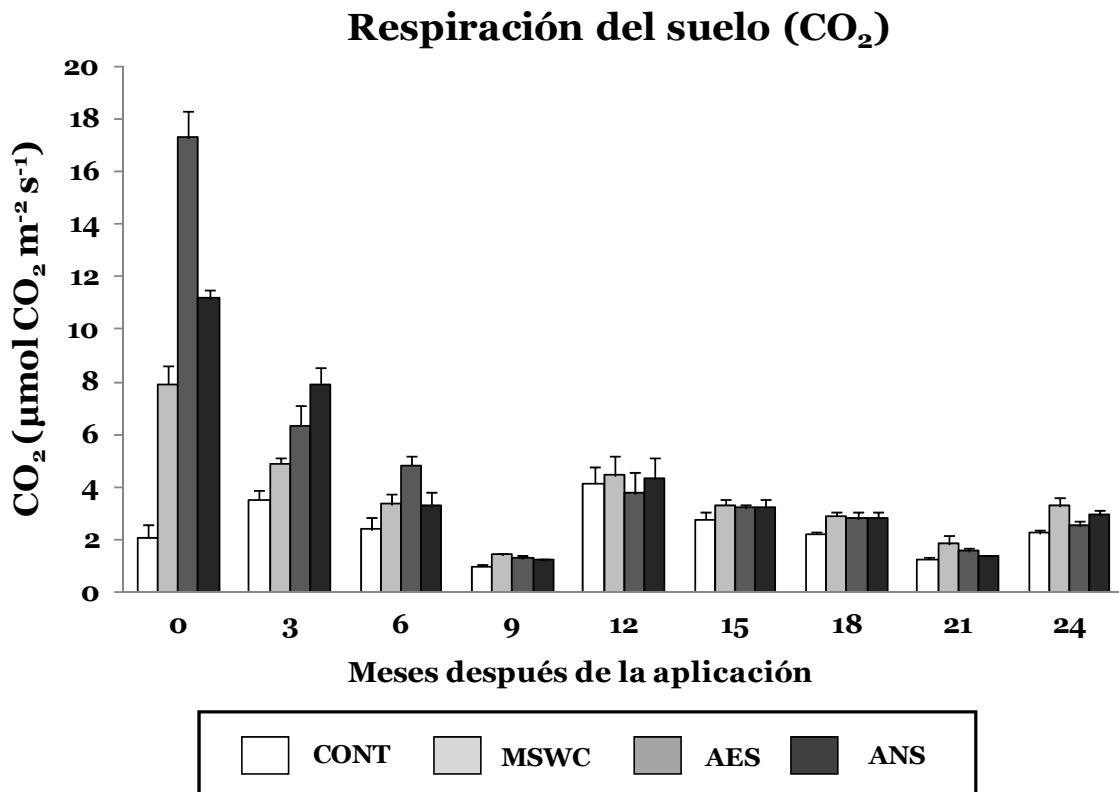
| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|
| CONT | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| MSWC | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| AES | B | B | A | A | A | A | A | A | A |
| ANS | B | B | A | A | A | A | A | A | A |

Figura 4.1.7. Valores de la fracción recalcitrante (R) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

En la fracción recalcitrante, se observó una tendencia mucho más estable que en las fracciones más lábiles, no encontrándose variaciones estacionales significativas a partir de los 3 meses. Sin embargo la tendencia en las parcelas enmendadas con los dos tipos de lodo de depuradora fue la disminución con el tiempo de las formas recalcitrantes. De este modo, las parcelas enmendadas con lodo de depuradora mostraron un descenso significativo a los 6 meses de la aplicación, especialmente las parcelas enmendadas con lodo AES. Como se ha comentado en apartados anteriores, los procesos de mineralización de la materia orgánica en estas parcelas fueron más intensos, por lo que su contenido en formas recalcitrantes disminuyó (Figura 4.1.7.). Un año después de la aplicación, el contenido de las formas recalcitrantes en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora muestra una tendencia más estable, no encontrándose diferencias significativas con las parcelas CONT al cabo de los dos años de la aplicación. Las formas recalcitrantes de carbono puede mantenerse largos periodos en el suelo, resistiendo a su degradación biótica o abiótica (Harvey et al., 2012). Por su parte, las parcelas enmendadas con MSWC mostraron la tendencia más estable, no encontrándose diferencias significativas entre los distintos muestreos. Esta enmienda proporciona una materia orgánica más estable y por tanto con un mayor contenido en formas recalcitrantes. Bolan et al. (2012) confirmaron que el proceso de compostaje de residuos orgánicos proporciona un pool de carbono exógeno que puede quedar secuestrado en el suelo. Al cabo de los dos años, MSWC es el único tratamiento que mantiene diferencias significativas con respecto al suelo CONT.

4.1.3. Evolución de las emisiones de CO₂

La aplicación de las enmiendas orgánicas al suelo causó un incremento significativo de la respiración del suelo inmediatamente después de la adición (Figura 4.1.8.), de acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores (Álvarez et al., 1998; Flavel et al., 2005; Paramasivam et al., 2008). Este efecto está corroborado por el hecho de que la actividad microbiana del suelo (sección 4.3.) se incrementó en las parcelas enmendadas, la cual podría ser atribuida a un efecto de estimulación en la descomposición por la adición de materia orgánica (Franco-Otero et al., 2012).

Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (CO₂)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|---|----|----|---|----|----|----|----|----|
| CONT | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| MSWC | b | ab | ab | a | a | a | a | a | b |
| AES | d | bc | b | a | a | a | a | a | ab |
| ANS | c | c | ab | a | a | a | a | a | ab |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (CO₂)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|----|----|-----|---|-----|-----|----|----|----|
| CONT | AB | BC | ABC | A | C | ABC | AB | A | AB |
| MSWC | C | B | AB | A | B | AB | AB | A | AB |
| AES | D | C | BC | A | ABC | AB | AB | A | AB |
| ANS | D | C | AB | B | AB | AB | AB | A | AB |

Figura 4.1.8. Valores de respiración (CO₂) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres medidas diarias en cada parcela (n=36). Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

En las parcelas enmendadas con lodo AES se observó el mayor incremento de la respiración del suelo, seguido de los tratamientos ANS y MSWC. El efecto de estimulación en los flujos de CO₂ tras la aplicación de lodo de depuradora ha sido ya confirmado previamente en trabajos de incubación en laboratorio (Raj y Antil, 2011) y en trabajos de campo (Álvarez y Lidén, 2008). Existen trabajos previos sobre el incremento de las emisiones de CO₂ después de la aplicación de enmiendas orgánicas como un resultado de las interacciones de la descomposición de las sustancias de la materia orgánica añadida (Kuzyakov, 2006; Fangueiro et al., 2007). Estas interacciones son las causantes de una liberación adicional, en un periodo corto de tiempo, del carbono del suelo en forma de CO₂ conocido con el término de efecto de activación o "priming effect".

Las tres enmiendas orgánicas aplicadas provocaron un efecto de "priming effect" en el suelo, que fue diferente según la naturaleza del material añadido. Los lodos de depuradora, AES especialmente, aportaron un mayor contenido de sustancias lábiles provocando un efecto más intenso en los procesos de mineralización y por tanto una mayor liberación de CO₂. Hernández-Apaolaza et al. (2000) indicaron que la aplicación de enmiendas más polimerizadas tenían menor influencia en la respiración inicial que otras enmiendas de composición más sencilla.

Tres meses después de la aplicación de las enmiendas, las parcelas enmendadas mostraron un descenso significativo en los valores de respiración del suelo, desapareciendo las diferencias significativas al cabo de los 9 meses de la aplicación (Figura 4.1.8.). Las parcelas enmendadas con lodo AES fueron las que mostraron un descenso más pronunciado, seguido de las parcelas enmendadas con ANS y MSWC. En las primeras etapas del estudio, las diferencias entre el comportamiento en las emisiones de CO₂ inducidas por la aplicación de las distintas enmiendas puede ser parcialmente explicado por su composición química y su biodegradabilidad. La velocidad de descomposición de la materia orgánica después de la aplicación de enmiendas orgánicas está condicionada por la composición inicial de la enmienda y su proceso de tratamiento (Smith et al., 2008). Así, la composición de los lodos de depuradora está influenciada por el proceso de digestión. La naturaleza del carbono orgánico de un lodo tratado aeróbicamente difiere de un lodo digerido anaeróbicamente (Merrington et al., 2003). La composición de la materia orgánica de un lodo es variable, pero normalmente es más rica en carbono con

radicales alquilo que la materia orgánica del suelo. La digestión del lodo disminuye el contenido de carbono total y la digestión anaerobia elimina gran parte del carbono con radicales alquilo (Smith et al., 2008). La presencia o ausencia de estos grupos de radicales de carbono alquilo en la composición del material de partida podría explicar los distintos comportamientos de los dos tipos de lodo. La mayor degradabilidad de los grupos alquilo de carbono del material podría explicar el aumento de las emisiones de CO₂ en los suelos enmendados con lodo AES cuando los comparamos con los suelos enmendados con ANS (Doelsch et al., 2009). De hecho, todavía existen diferencias significativas con respecto al suelo CONT a los 6 meses de la aplicación de las enmiendas.

Sin embargo la mineralización de la materia orgánica y por tanto la formación de CO₂, no solamente está condicionada por la naturaleza de la enmienda sino que los factores climáticos juegan un papel muy importante (González-Ubierna et al., 2013). La temperatura y la humedad del suelo son los factores climáticos más importantes que controlan la respiración del suelo y, por tanto, puede mostrar respuestas significativas a pequeños cambios climáticos (Conant et al., 2000, 2004; Chen et al., 2010). Los efectos de los factores abióticos, como son la temperatura y la humedad del suelo, en los procesos biológicos envueltos en la respiración del suelo ya han sido demostrados en ensayos en condiciones de laboratorio (Maag y Vinther, 1999). Esta influencia de los factores climáticos se observó claramente a partir de los 9 meses de la aplicación de las enmiendas y hasta el final del estudio (Figura 4.1.8.). Es en éste muestreo, correspondiente al invierno, donde se observaron los valores mínimos de respiración del suelo. Las bajas temperaturas correspondientes a esta época del año originaron un desaceleración en los procesos de descomposición de la materia orgánica. En un estudio previo en un suelo del área mediterránea (Almagro et al., 2009) encontraron valores mínimos de respiración del suelo en invierno, siendo la temperatura el factor que controlaba las tasa de respiración cuando la humedad del suelo no es limitante.

A lo largo del segundo año del experimento, la respiración del suelo sigue un comportamiento estacional, observándose valores más altos en los muestreos correspondientes a la primavera (12 y 24 meses después de la aplicación) y valores mínimos en el muestreo de invierno (21 meses después de la aplicación). La tendencia estacional en los valores de respiración del suelo se relaciona además con

la tendencia que se observa en las variables medidas para la evolución de los compuestos de carbono orgánico del suelo.

4.2. Efectos de la aplicación de enmiendas orgánicas en la evolución del nitrógeno del suelo

4.2. Efectos de la aplicación de enmiendas orgánicas en la evolución del nitrógeno del suelo

4.2.1. Evolución del contenido en Nitrógeno total (N_T)

La aplicación de las enmiendas orgánicas al suelo incrementó el contenido de nitrógeno total (N_T) comparado con el suelo CONT a lo largo de los dos años del experimento (Figura 4.2.1.). Este incremento se observó inmediatamente después de la aplicación de las enmiendas orgánicas debido al alto contenido de nitrógeno total en su composición (Tabla 3.3.). Sin embargo, se encontraron diferentes tendencias durante el experimento. Los resultados obtenidos en el ANOVA de doble-vía indicaron que el factor experimental con el mayor efecto en el contenido de nitrógeno total (N_T) fue el tipo de enmienda aplicada (Tabla 4.2.1.). Por lo que dependiendo del tipo de enmienda, la evolución del contenido de N_T en el suelo fue diferente a lo largo del tiempo.

El tratamiento MSWC fue el más estable y el contenido de N_T permaneció con los valores más altos hasta el final del experimento. De acuerdo con los resultados obtenidos en apartados anteriores (ver sección 4.1.), el tratamiento MSWC aportó un mayor porcentaje de formas recalcitrantes y una mayor estabilidad de su materia orgánica, siendo más difícil de mineralizar el nitrógeno orgánico. Corrêa et al. (2006) indicaron que el proceso de compostaje produce unas menores tasas de mineralización de la materia orgánica, a pesar de que el contenido de nitrógeno total sea mayor en otras enmiendas orgánicas digeridas por otros procesos. Por otra parte, los tratamientos AES y ANS aportaron un mayor contenido de N_T tras la aplicación de las enmiendas. Sin embargo el contenido de N_T descendió notablemente durante el primer año de experimentación (Figura 4.2.1.). Este descenso puede ser atribuible a una menor estabilización de la materia orgánica, con mayor contenido de formas lábiles aportadas por ANS y AES, que favorece los procesos de mineralización (Fernández et al., 2007).

Durante el segundo año el contenido de N_T en las parcelas AES y ANS descendió ligeramente, aunque con valores cercanos a los encontrados en el suelo CONT en el último muestreo. Como indicaron Jacinthe et al. (2002), la descomposición de las enmiendas orgánicas produce una acumulación de formas

recalcitrantes las cuales proporcionan una materia orgánica más estable. Esto podría explicar que los procesos de mineralización en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora fueran cada vez más lentos. Como se ha comentado anteriormente, el tipo de tratamiento al que fue sometido la enmienda orgánica originó distintos comportamientos en la retención de N_T a lo largo del tiempo.

| | | Tipo de enmienda (T) | Muestreo (M) | Interacción (T x M) | R^2 |
|---------------------|----------|-------------------------|-----------------|------------------------|-------|
| N_T | <i>F</i> | 61 | 18 | 4 | 0,856 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| NH_4^+ -N (0-20) | <i>F</i> | 148 | 198 | 76 | 0,982 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| NH_4^+ -N (20-40) | <i>F</i> | 3 | 46 | 1 | 0,851 |
| | <i>p</i> | * | *** | ns | |
| NO_3^- -N (0-20) | <i>F</i> | 307 | 424 | 124 | 0,990 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| NO_3^- -N (20-40) | <i>F</i> | 63 | 93 | 9 | 0,934 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| NitPot (0-20) | <i>F</i> | 41 | 12 | 8 | 0,853 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| NitPot (20-40) | <i>F</i> | 63 | 40 | 14 | 0,923 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |

n = 108; ns: no significativo, * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Tabla 4.2.1. ANOVA de doble vía considerando como factores experimentales el tipo de enmienda (T), el tiempo de muestreo (M) y su interacción (T x M), para mostrar el efecto (*F-ratio*, *p-valor*) en las variables analizadas. NitPot: Nitrificación potencial.

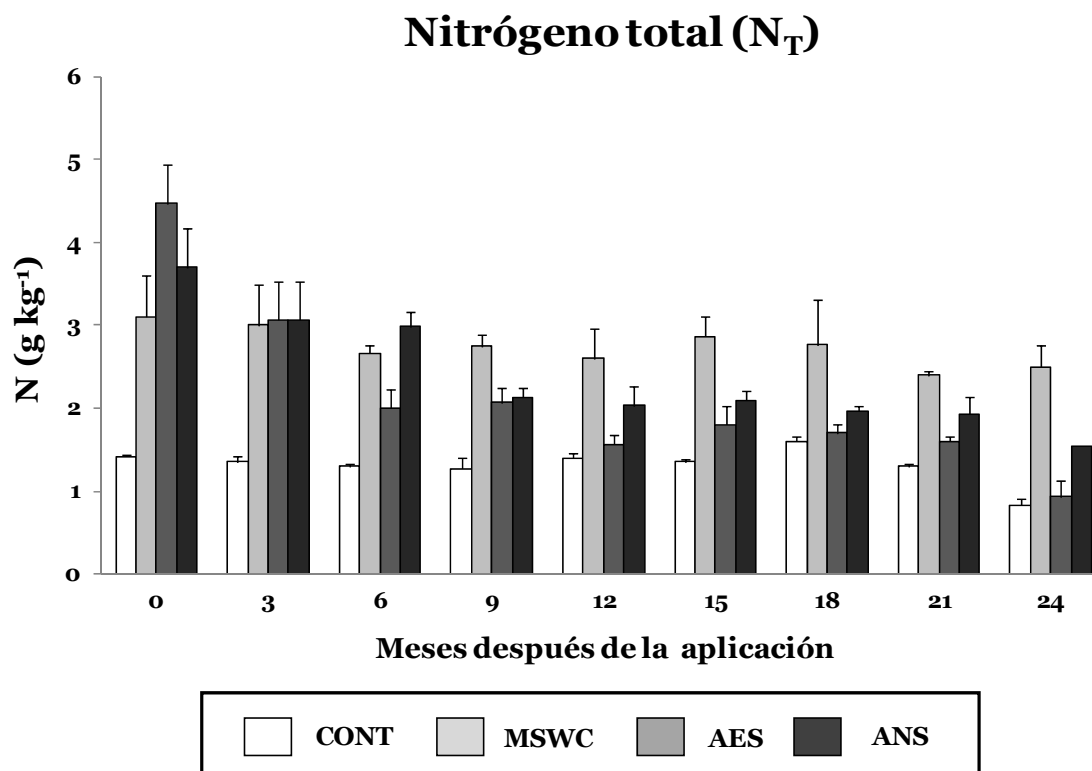


Figura 4.2.1. Evolución del contenido de nitrógeno total del suelo (N_T) en los distintos muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas.

4.2.2. Evolución de las formas inorgánicas solubles de nitrógeno

La aplicación de enmiendas orgánicas al suelo puede provocar una disrupción en la dinámica de las formas inorgánicas de nitrógeno del suelo. Fuentes externas de nitrógeno como son las enmiendas orgánicas, pueden afectar a etapas claves en el ciclo del nitrógeno del suelo (Bastida et al., 2009). Pero no solamente se ve influenciado por el tipo de enmienda orgánica, otros factores como las características del suelo o los factores climáticos también juegan un importante papel en la dinámica de las formas inorgánicas del nitrógeno del suelo. Así, la evolución del amonio (NH_4^+-N) y del nitrato ($NO_3^- -N$) fue principalmente dependiente del factor experimental tiempo de muestreo (Tabla 4.2.1.).

Sin embargo, en el comienzo del experimento el tipo de enmienda tuvo una gran influencia en el contenido de las formas inorgánicas del nitrógeno del suelo (Figura 4.2.2. y Figura 4.2.3.). Las parcelas enmendadas con lodo de depuradora

(AES y ANS) mostraron los valores más altos de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (0-20). Como se observa en la tabla de la composición de las enmiendas (Tabla 3.3.), la forma inorgánica de nitrógeno mayoritaria en la composición de los lodos de depuradora se encuentra en forma de amonio, en concordancia con otros autores (Smith et al., 1998), aumentando así su contenido en el suelo tras la aplicación. Por otra parte, se ha encontrado los valores más altos de la actividad proteasa (PA) en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora después de la aplicación (sección 4.3). Esta estimulación de la actividad proteasa podría proporcionar un incremento del contenido de amonio debido a la transformación de proteínas de bajo peso molecular en amonio (García-Gil et al., 2004). Mientras, las parcelas enmendadas con MSWC mostraron un ligero incremento en el contenido de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ comparado con las parcelas sin enmendar. Como indicó Fourti (2013), el proceso de compostaje en residuos sólidos urbanos (RSU) produce un descenso en el contenido de amonio cuando se incrementa el tiempo de maduración.

Tres meses después de la aplicación (verano), las parcelas enmendadas con AES y ANS mostraron un descenso en el contenido de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ mientras que el contenido de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ incrementó considerablemente. Estos resultados sugieren que en el suelo se ha producido un importante proceso de nitrificación. Un incremento del amonio en el suelo proveniente de la composición de la enmienda orgánica y de la aceleración de los procesos de mineralización de la materia orgánica (Figura 4.2.1.), produce una aceleración de la nitrificación (Robertson y Groffman, 2007). Además se observaron los valores más altos de nitrificación potencial en estas parcelas (Figura 4.2.4.) confirmando que las comunidades de nitrificantes estaban estimuladas por el gran aporte de sustrato. Smith y Tibbet (2004) también encontraron una nitrificación elevada en suelos enmendados con lodo de depuradora cuando el contenido de amonio fue elevado. Por otro lado, las parcelas enmendadas con MSWC mostraron un ligero aumento en el contenido de $\text{NO}_3^-\text{-N}$. Innerebner et al. (2006) indicaron que el compost puede afectar a las comunidades oxidantes del amonio en suelos tratados en un periodo corto de tiempo.

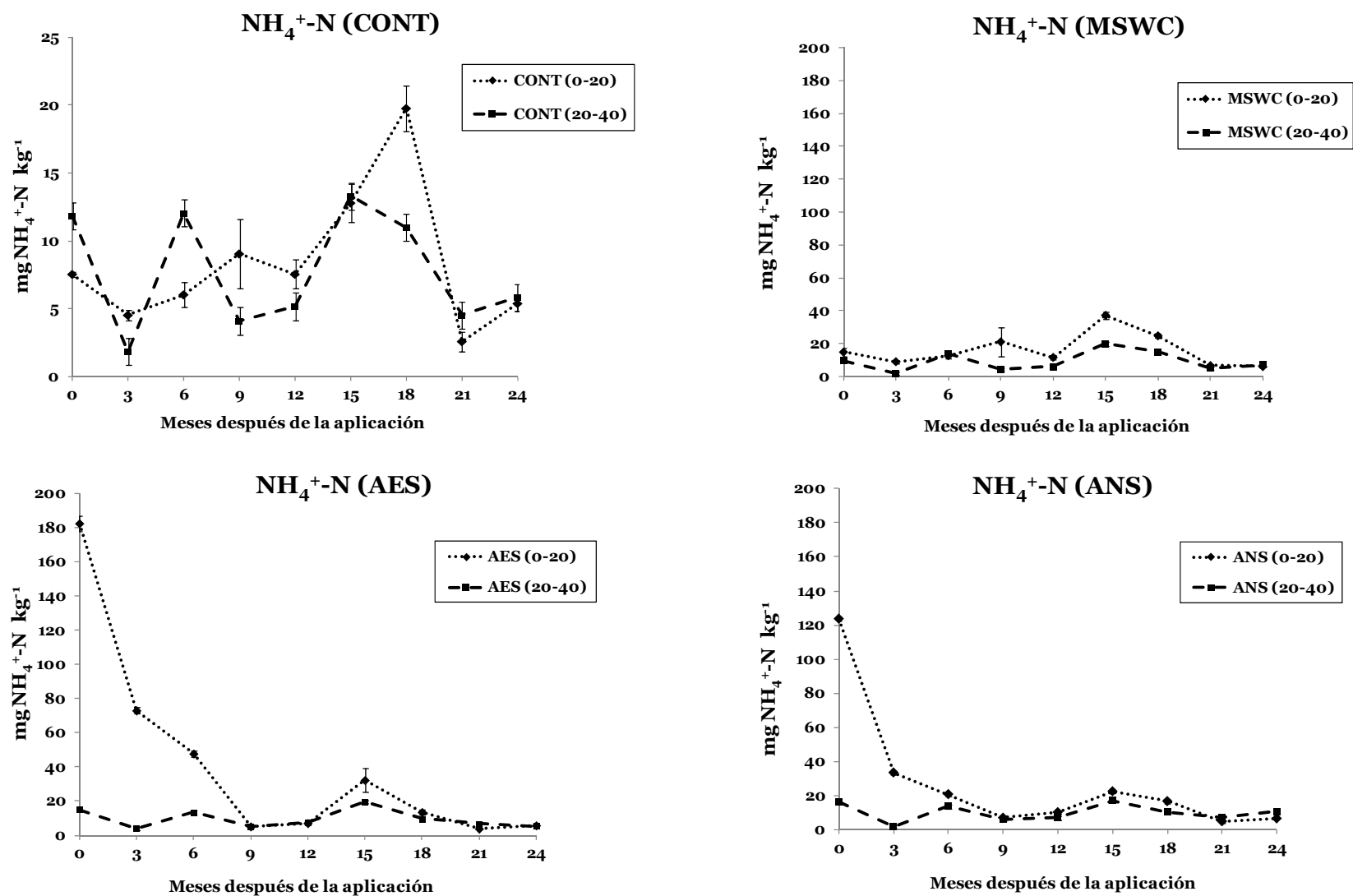
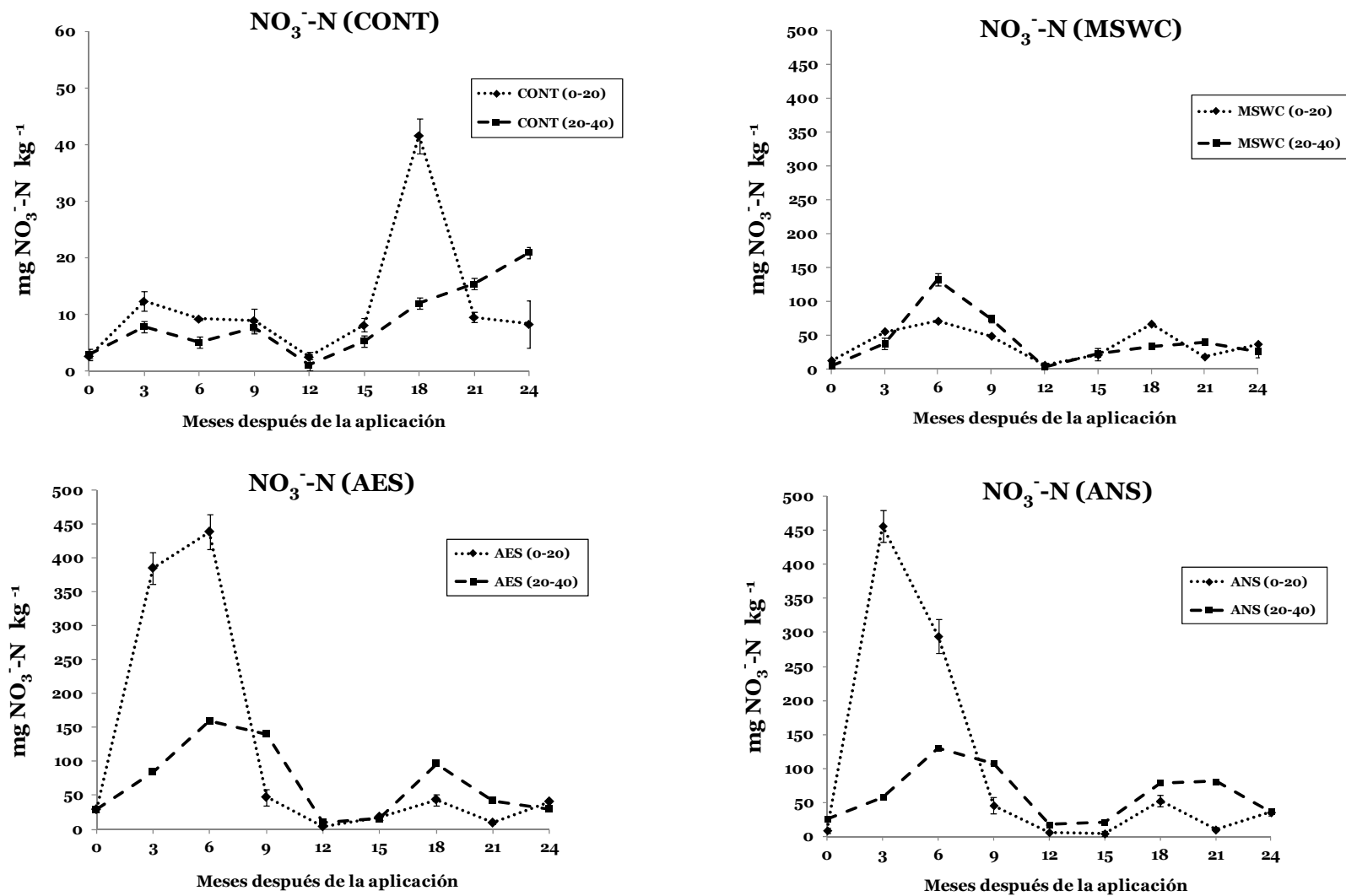


Figura 4.2.2. Evolución del contenido de amonio ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) a dos profundidades (0-20) y (20-40) en los distintos muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas.

4.2. Evolución del nitrógeno

Figura 4.2.3. Evolución del contenido de nitrato (NO_3^- -N) a dos profundidades (0-20) y (20-40) en los distintos muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas.



Transcurridos seis meses de la aplicación de las enmiendas (otoño), los procesos de nitrificación siguen siendo evidentes en los suelos enmendados. Este efecto se observó especialmente en las parcelas enmendadas con AES donde se encontraron valores elevados de nitrificación potencial (Figura 4.2.4), ya que continúan teniendo un aporte suficiente de amonio debido a la mineralización de la materia orgánica. En este muestreo se observó un máximo en el contenido de NO_3^- -N (20-40) en los suelos enmendados (Figura 4.2.3). La precipitación caída antes del muestreo (50 mm de precipitación acumulada, Figura 3.3.) unido a la gran cantidad de nitratos producidos en la capa superficial del suelo causó un lavado hacia capas más profundas, por lo que se detectó un incremento en el contenido de NO_3^- -N (20-40). De acuerdo con Carneiro et al. (2012), en el clima mediterráneo la pérdida de nitratos por lixiviación es particularmente importante en otoño y principios del invierno.

Sin embargo, no fue hasta el siguiente muestreo (9 meses después de la aplicación, invierno) cuando este efecto podría observarse. En las parcelas enmendadas con lodo de depuradora se detectó un descenso brusco en el contenido de NO_3^- -N (0-20), con valores incluso por debajo de los encontrados en el capa inferior (20-40). En el periodo entre ambos muestreos, hubo numerosos eventos de lluvia (110 mm de precipitación acumulada, Figura 3.3.) que previsiblemente habrían lixiviado el exceso de nitratos a través del perfil (Bastida et al., 2009). No obstante, es posible que el descenso en el contenido de nitratos se deba también a procesos de desnitrificación. Rutigliano et al. (2009) destacan que para que este proceso se pueda dar de manera significativa, son necesarios la combinación de varios factores, tales como un alto contenido en nitratos (valores máximos durante el experimento, Figura 4.2.3), un alto contenido en humedad (alrededor de un 30%, Figura 3.3.) y carbono lábil para el consumo de los microorganismos desnitrificantes (las parcelas enmendadas muestran valores significativamente mayores que las muestras CONT, Figura 4.1.4.). Por otra parte, aunque el potencial de nitrificación fue mayor en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora que en los muestreos anteriores (Figura 4.2.4), el contenido de amonio que puede ser oxidado por los microorganismos nitrificantes fue menor (Figura 4.2.2). Esta contribución reducida de amonio fue debida a la desaceleración de la descomposición de la materia orgánica en los suelos enmendados. Además el descenso de las temperaturas podría influir en los procesos de mineralización del nitrógeno. Zaman y Chang (2004) demostraron

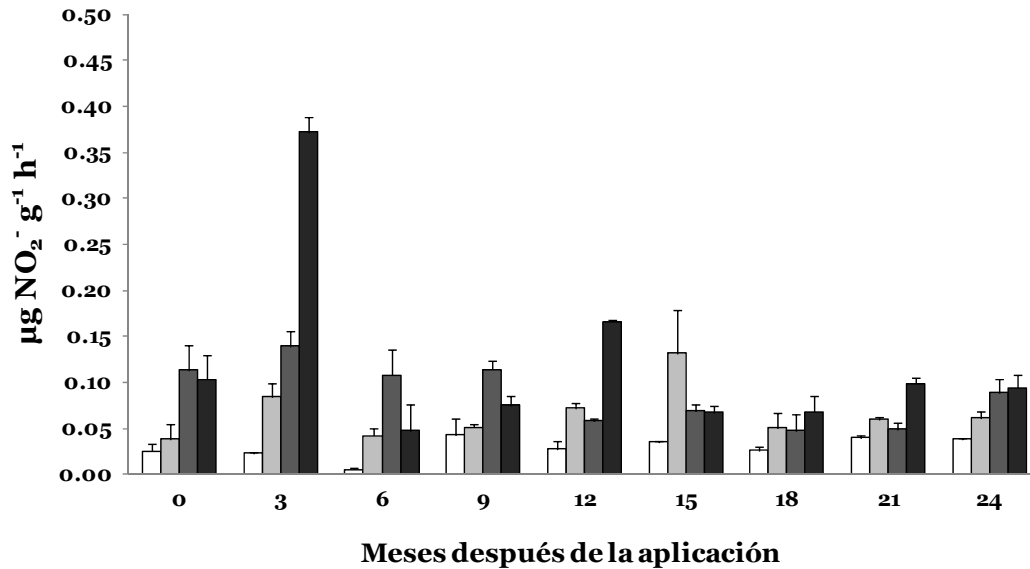
que la temperatura tiene una mayor influencia que la humedad del suelo o el tipo de sustrato en los procesos de mineralización del nitrógeno.

Durante el segundo año, la influencia que supuso la aplicación de las enmiendas orgánicas sobre la dinámica de las formas nitrogenadas en el suelo se atenuó. Un año después de la aplicación (primavera), las parcelas enmendadas mostraron un bajo contenido de formas solubles de nitrógeno a pesar de unas mejores condiciones climáticas para incrementar los procesos de mineralización del nitrógeno orgánico. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ochoa-Hueso et al. (2013) que encontraron un mínimo en el contenido de nitrógeno mineral en primavera en un suelo semiárido bajo clima mediterráneo. Tres meses después (verano) se observó un ligero incremento en el contenido de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ y $\text{NO}_3^-\text{-N}$ en las parcelas enmendadas, debido posiblemente a un incremento de la temperatura y a un periodo temprano de precipitaciones (Figura 3.3.) proporcionando unas mejores condiciones para la actividad microbiana.

Sin embargo, los efectos del periodo típico de sequía del clima mediterráneo no se observaron hasta el muestreo de otoño (18 meses tras la aplicación). En este muestreo el contenido de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ en ambas profundidades mostró un incremento en todos los tratamientos (Figura 4.2.3). El incremento en el contenido de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ en el verano y su posterior descenso puede ser debido a procesos de nitrificación, como puede observarse por el incremento del contenido de $\text{NO}_3^-\text{-N}$ en el suelo. Aunque el efecto de la sequía puede disminuir la actividad microbiana del suelo, numerosos autores han demostrado que las comunidades de nitrificantes en un suelo semiárido pueden ser metabólicamente activas durante el periodo de sequía (Gleeson et al., 2008; Parker y Schimel, 2011; Sullivan et al., 2012). No obstante, solamente se observó una nitrificación potencial elevada en las parcelas enmendadas con MSWC. Por otra parte, Cruz et al. (2008) encontraron un alto contenido de nitratos en un suelo mediterráneo durante el periodo de sequía. Esta acumulación de nitratos puede ser también resultado de una severa inhibición de los procesos de desnitrificación, debido al bajo contenido de agua en el suelo y a temperaturas elevadas (Carreira et al., 1994). Como se discutió previamente, después del verano y principios del invierno es la época del año en la que mayor probabilidad existe de movimiento de los nitratos hacia capas más profundas del perfil del suelo. La precipitación acumulada (100 mm, Figura 3.3.) hasta el muestreo de invierno (21 meses tras la aplicación) pudo causar el

incremento en el contenido de NO_3^- -N (20-40), siendo mayor que el encontrado en la capa más superficial del suelo.

Nitrificación Potencial (0-20)



Nitrificación Potencial (20-40)

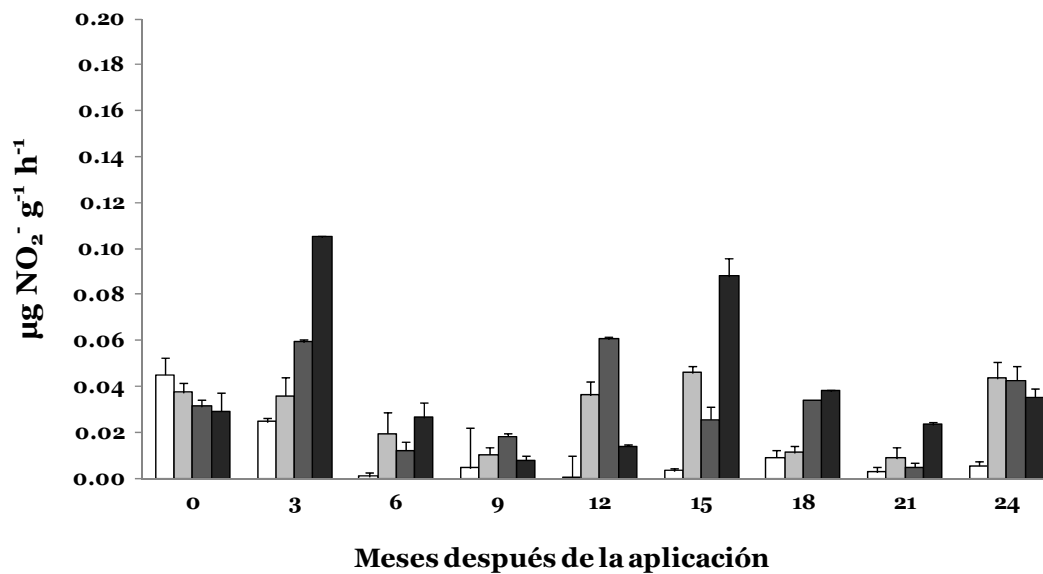


Figura 4.2.4. Evolución del potencial de nitrificación (NitPot) a dos profundidades (0-20) y (20-40) en los distintos muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas.

4.2.3. Evaluación del riesgo de contaminación de las aguas subterráneas: Modelo de flujo y transporte en la zona no saturada

- Simulación del flujo de agua

En la Figura 4.2.5. se observan los resultados de la simulación del flujo de agua para el periodo experimental, representándose la distribución de las precipitaciones (única entrada de agua al sistema) junto con los dos componentes de salida de agua del dominio simulado (evapotranspiración y percolación). La precipitación registrada (404 mm desde Abril de 2010 hasta Marzo de 2011, y 350 mm desde Abril 2011 hasta Marzo de 2012) fue menor que la precipitación media anual de la zona (430 mm), aunque todavía está en el rango de un periodo promedio.

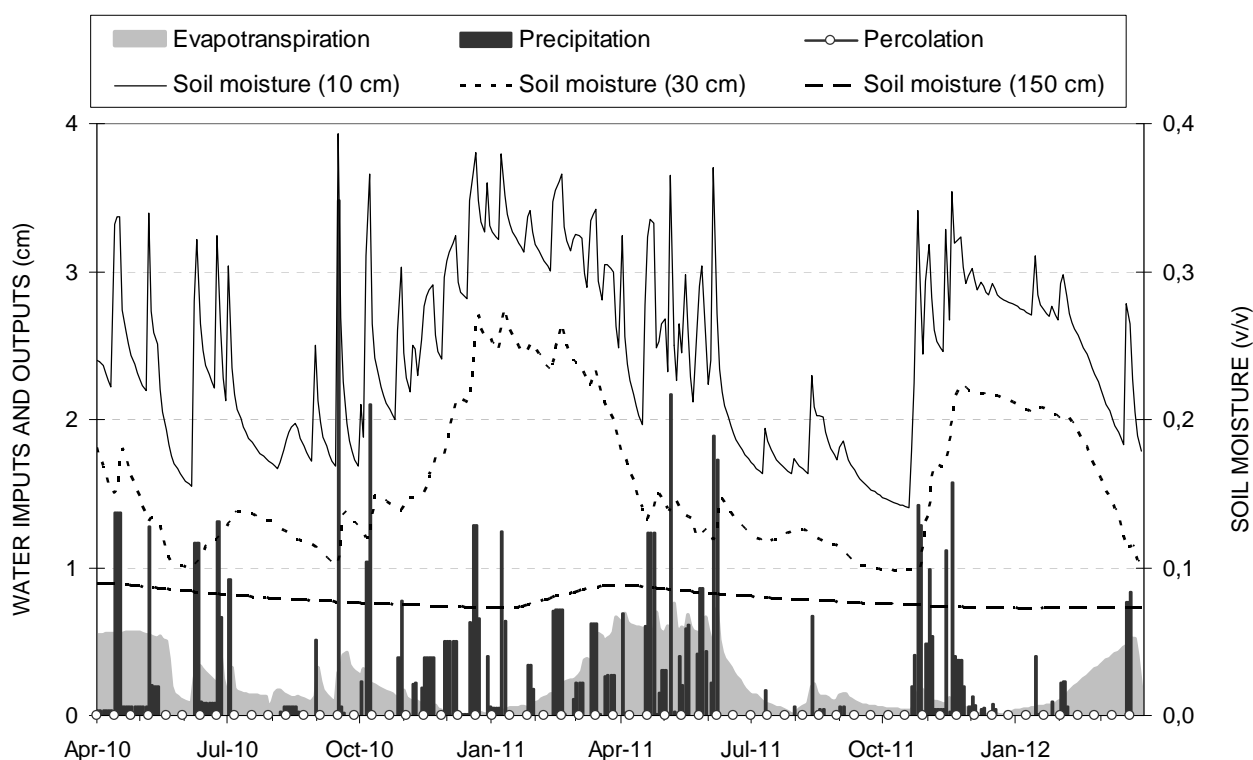


Figura 4.2.5. Simulación del flujo de agua durante el periodo experimental, con los componentes del balance de agua del modelo (evapotranspiración, precipitación y percolación) y la evolución del contenido de humedad del suelo a 10, 30 y 150 cm de profundidad.

A la vista de los resultados obtenidos en la simulación, cabe destacar que la evapotranspiración fue mayor que la precipitación y que la percolación hacia el nivel freático fue nula, observándose una variabilidad temporal en la dirección del flujo de

agua ligado al clima en regiones áridas y semiáridas (Scanlon et al., 1997). El balance entre la percolación de la precipitación y la evapotranspiración originó una alternancia de flujos ascendentes y descendentes, originando el patrón observado en la humedad del suelo (Figura 4.2.5.). Las mayores variaciones de humedad del suelo se produjeron en la zona de raíces (hasta 40 cm de profundidad). Estas variaciones de humedad fueron disminuyendo con la profundidad y los picos de lluvia se fueron suavizando progresivamente hasta desaparecer. De hecho, no se produjo prácticamente ningún cambio a 150 cm de profundidad, siendo ésta una profundidad representativa del horizonte arenoso (Tabla 3.2.). La humedad del suelo en esta profundidad permaneció muy baja a lo largo del experimento (contenido de agua volumétrica por debajo de 0,1) y, por tanto, fue insuficiente para producir percolación hacia la capa freática.

- Simulación del transporte de solutos a través del perfil del suelo

La simulación del transporte de solutos se realizó con el fin de evaluar el riesgo potencial de contaminación de las aguas subterráneas por la lixiviación de las formas solubles de nitrógeno producidas tras la aplicación de enmiendas orgánicas (Figura 4.2.6. y Figura 4.2.7.).

La primera simulación corresponde a las condiciones existentes durante el periodo de experimentación, es decir, la entrada de agua por precipitación desde Abril de 2010 hasta Marzo de 2012 (Figura 4.2.6.). El frente del soluto mostró alternancias de avances, retrocesos y estancamientos, junto con un progresivo ensanchamiento causado por la variabilidad espacial y temporal del patrón de flujo de agua descrito anteriormente. Así, la migración hacia abajo del soluto estuvo inducida por la infiltración de la lluvia, la migración hacia arriba por la evapotranspiración y si en la posición del soluto existían condiciones temporales de flujo nulo, la migración no se producía. Veinticuatro meses después de la aplicación de las enmiendas, el frente del contaminante se situó alrededor de los 40 cm de profundidad revelando, que bajo las condiciones de ensayo, la migración de los contaminantes a través del perfil del suelo fue un proceso lento.

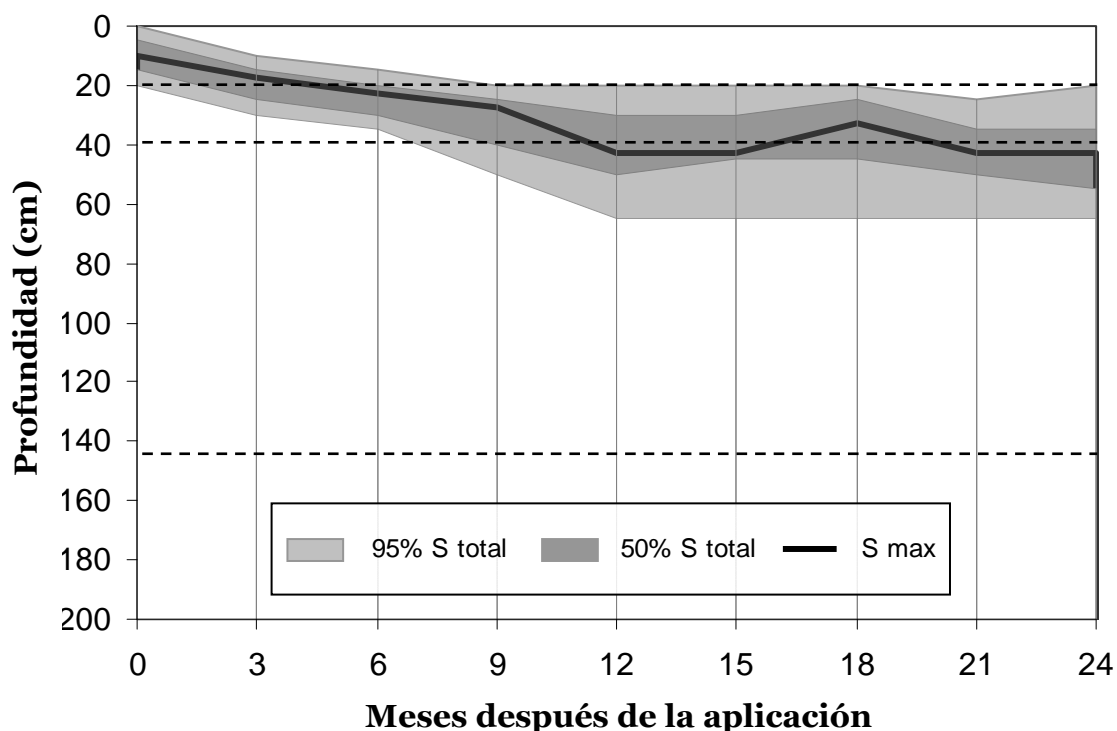


Figura 4.2.6. Simulación del transporte del soluto durante el periodo experimental. Se representa la posición de la concentración máxima del soluto (S_{\max}) y los porcentajes de la masa total del soluto (50% y 95% del S_{total}) en el perfil del suelo, en función de los meses transcurridos después de la aplicación de las enmiendas orgánicas. Las líneas de puntos: profundidades clave en 20, 40 y 145 cm de profundidad.

En la segunda simulación, la migración de los contaminantes de las aguas subterráneas originados en la capa superficial del suelo se simuló en tres escenarios diferentes, de acuerdo a la variabilidad natural en la pluviometría y a los posibles cambios en las prácticas agrícolas (Figura 4.2.7.). En el primer escenario (escenario A) se representó unas condiciones promedio considerando una precipitación anual de 400 mm y sin riego, es decir, condiciones similares a las encontradas en el experimento de campo. Seis años después de efectuar la aplicación, el frente del contaminante habría sobrepasado la zona de raíces, pero estaría todavía lejos de alcanzar el horizonte de arena subyacente (145 cm). En otras regiones semiáridas, también se han observado tiempos de tránsito largos de un contaminante en la zona no saturada, en el orden de años, décadas e incluso tiempos significativamente mayores (McMahon et al., 2006).

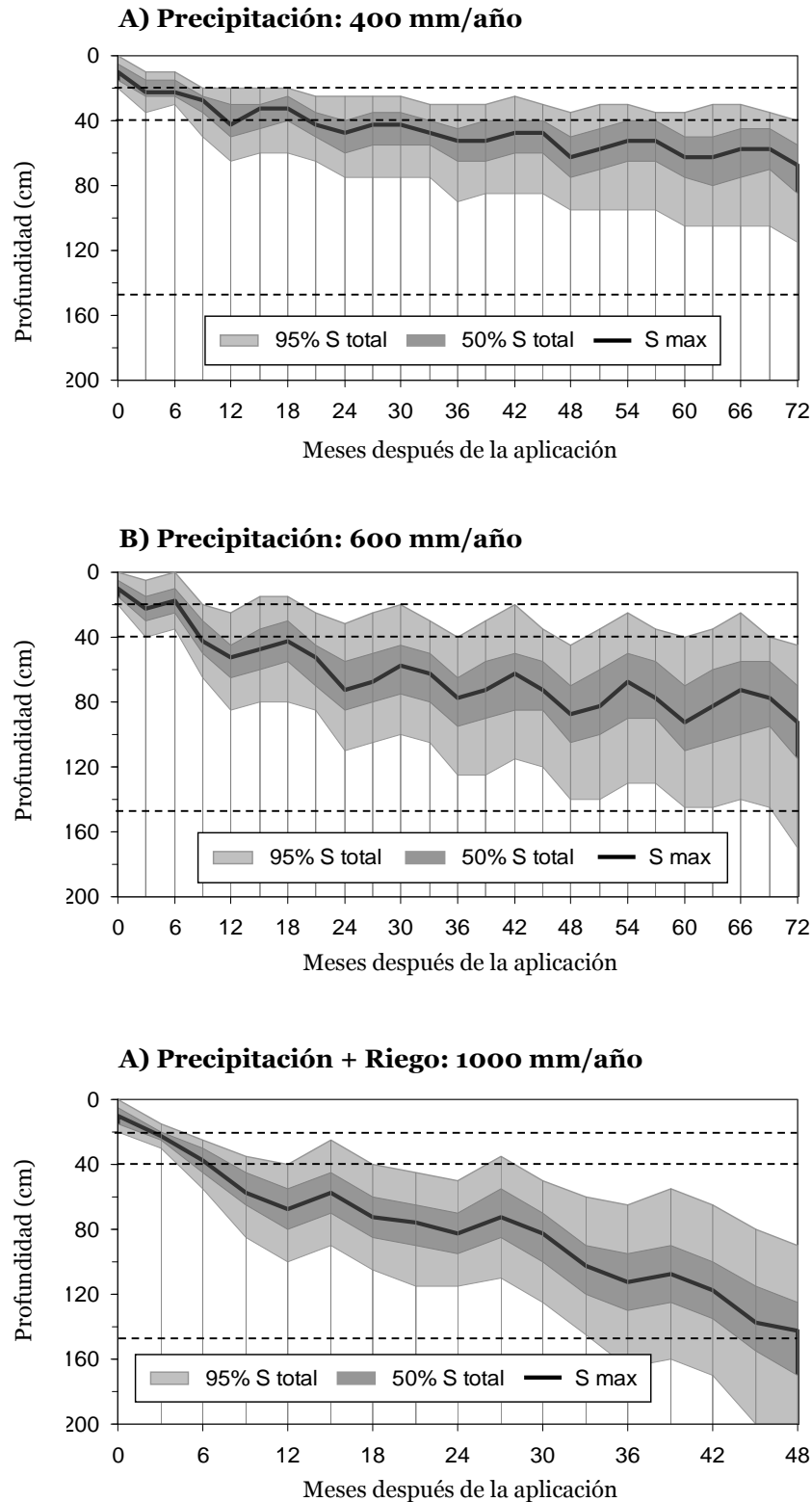


Figura 4.2.7. Simulación del transporte del soluto en tres escenarios diferentes. Se representa la posición de la concentración máxima del soluto (S_{max}) y los porcentajes de la masa total del soluto (50% y 95% del S_{total}) en el perfil del suelo, en función de los meses transcurridos después de la aplicación de las enmiendas orgánicas. Las líneas de puntos: profundidades clave en 20, 40 y 145 cm de profundidad.

Como era de esperar, en una sucesión de seis años húmedos con 600 mm de precipitación anual (escenario B), el contaminante migraría hasta una profundidad mayor en el perfil del suelo y alcanzaría el horizonte de arena (Figura 4.2.7.). Un periodo excepcionalmente húmedo similar al periodo simulado se produjo entre los años 1958 y 1964, con una precipitación anual que variaba entre 507-737 mm, según quedó registrado en la estación meteorológica más cercana y con series de precipitación más largas a partir de 1951 (Barajas, UTM X: 452900, UTM Y: 4479780). Este escenario representa las condiciones más húmedas que ocurren de forma natural en la zona de estudio, que actualmente son bastante excepcionales e incluso menos probables que ocurran en un futuro teniendo en cuenta los cambios pronosticados a condiciones más áridas (Gao y Giorgi, 2008; Abouabdillah et al., 2010).

Finalmente, en el escenario C, las entradas de agua anuales en el dominio se incrementaron hasta 1000 mm al considerar el riego diario desde abril hasta octubre para el cultivo de alfalfa, el principal cultivo forrajero en España (68% de la superficie forrajera cultivada) (MAGRAMA, 2010). Estas condiciones de riego producen la migración más rápida del soluto a través del perfil del suelo, en la que el contaminante alcanzaría los 2 m de profundidad del dominio simulado en menos de cuatro años (Figura 4.2.7.).

La migración del soluto se ha cuantificado en términos de tiempo transcurrido desde la aplicación de la enmienda orgánica hasta que el máximo de la distribución del soluto en el perfil (S_{max}) haya superado la profundidad máxima de raíces (RD). Una vez que el soluto ha superado RD se puede considerarse como un contaminante en tránsito hacia las aguas subterráneas. Los valores obtenidos para este parámetro en las simulaciones de transporte fueron 21 meses bajo condiciones climáticas promedio (escenario A), 9 meses en un periodo excepcionalmente húmedo (escenario B) y 7 meses en condiciones de riego (escenario C) (Figura 4.2.7.). El tiempo de tránsito del contaminante depende de la estación del año en el que se inicie la simulación del modelo (Jiménez-Hernández et al., 2013). Cuando la simulación del modelo de transporte empieza en otoño, los tiempos de residencia del soluto en la zona de raíces fueron 16 meses bajo condiciones climáticas promedio, 4 meses en un periodo excepcionalmente húmedo y 11 meses bajo condiciones de riego (Jiménez-Hernández et al., 2013). Por lo tanto, la época de aplicación de la enmienda puede

retrasar la migración del contaminante (si se aplica en primavera y es seguida por un periodo de sequía estival caracterizado por la existencia de flujos ascendentes) o acelerarse (si se aplica la enmienda y está en condiciones de riego en primavera y verano). De esta manera son preferibles las condiciones que favorezcan tiempos de residencia largos en la zona de raíces, para contribuir a un aumento en la utilización de los nutrientes por parte de los cultivos y así reducir el riesgo de la contaminación de las aguas subterráneas.

A la vista de los resultados, la aplicación de enmiendas orgánicas en un cultivo de secano, con una subyacente zona no saturada similar a la del presente estudio y bajo un clima mediterráneo, parece no representar un riesgo de contaminación de las aguas subterráneas. No obstante hay que destacar que puede generarse una "bomba de tiempo", debido a la acumulación de contaminantes en la zona no saturada si se repiten las aplicaciones (Wang et al., 2012). Ciertos cambios en el uso del suelo, como cambiar a condiciones de riego, podrían movilizar y transportar contaminantes que residen en la zona no saturada y alcanzar así el acuífero.

4.3. Efectos de la aplicación de enmiendas orgánicas en la evolución de las propiedades del suelo

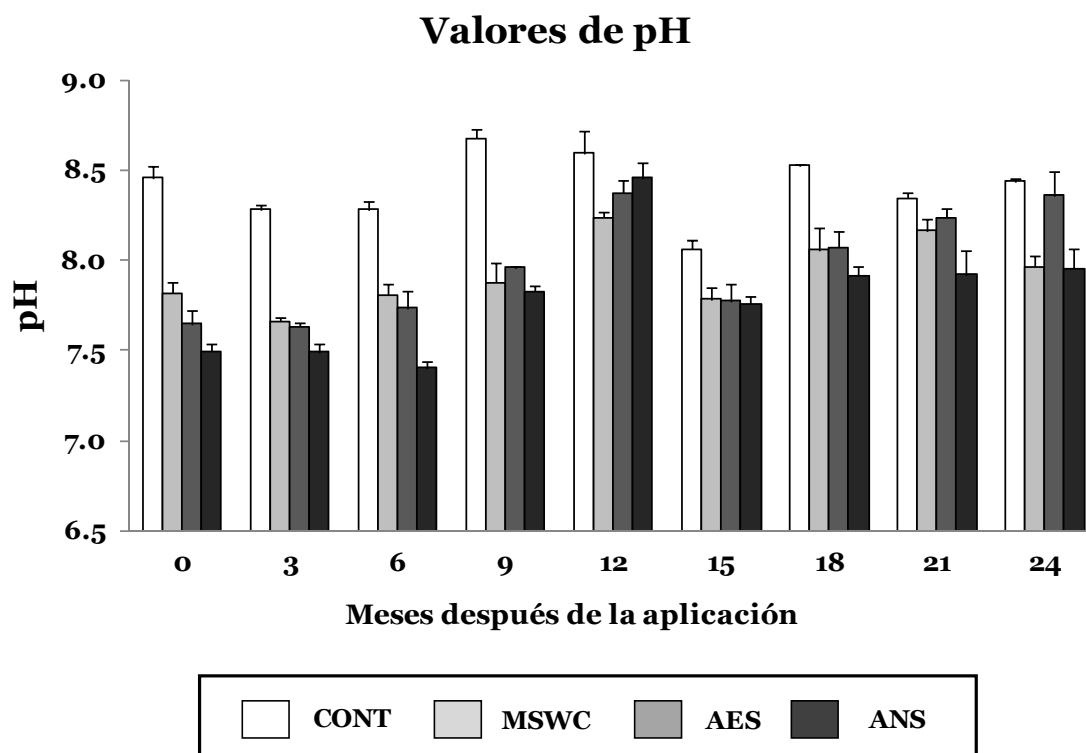
4.3. Efectos de la aplicación de las enmiendas orgánicas en la evolución de las propiedades del suelo

4.3.1. Evolución de las propiedades físico-químicas del suelo

4.3.1.1. Evolución del pH

El pH del suelo es moderadamente básico, con valores alrededor de 8-8,5 durante todo el experimento. La aplicación de las enmiendas orgánicas al suelo generó un descenso significativo en los valores de pH (Figura 4.3.1.). Este descenso en los valores del pH ha sido descrito por otros autores en suelos calcáreos (Bernal et al., 1992; Antolín et al., 2005). Los suelos enmendados con lodo de depuradora, AES y ANS especialmente, fueron los tratamientos en los que el descenso de pH fue más significativo. La reducción del pH podría estar relacionado con la formación de ácidos orgánicos procedentes de la degradación del lodo, como indican Franco-Otero et al. (2012) en un estudio de campo tras la aplicación de enmiendas orgánicas. Además, la bajada en los valores de pH puede deberse a los procesos de mineralización de la materia orgánica, especialmente intensos en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora (sección 4.1.). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Roig et al. (2012b), que encontraron una correlación significativa entre la mineralización de la materia orgánica y un descenso en los valores de pH del suelo tras la adición de enmiendas orgánicas.

El descenso del pH del suelo puede tener un efecto a largo plazo en suelos ácidos debido a su poca capacidad tamponadora, como indican Enwall et al. (2007). Sin embargo, los suelos carbonatados tienen la capacidad de tamponar las bajadas de pH del suelo (Choudhary et al., 2011) ya que neutralizan el aumento de iones H_3O^+ producidos por los procesos de mineralización de la materia orgánica mediante la disolución del carbonato (Nelson y Oades, 1998). Este efecto de recuperación de los valores del pH se observó a partir de los 9 meses de la aplicación de las enmiendas, desapareciendo al cabo de un año las diferencias significativas entre las parcelas enmendadas y el suelo CONT (Figura 4.3.1.).



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (pH)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|---|----|---|---|----|----|----|----|----|
| CONT | c | c | c | b | a | b | b | b | b |
| MSWC | b | bc | b | a | a | ab | a | ab | a |
| AES | a | b | b | a | a | ab | a | ab | ab |
| ANS | a | a | a | a | a | a | a | a | a |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (pH)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|-----|----|----|-----|----|-----|-----|-----|------|
| CONT | BCD | AB | AB | D | CD | A | BCD | ABC | BCD |
| MSWC | ABC | A | AB | ABC | D | AB | BCD | CD | ABCD |
| AES | A | A | AB | ABC | D | AB | BCD | CD | D |
| ANS | AB | AB | A | BC | D | ABC | C | C | C |

Figura 4.3.1. Valores de pH del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

A partir de este momento, los valores de pH se mantuvieron estables debido a que los procesos de mineralización en las parcelas enmendadas fueron menos intensos. Sí que se observaron ligeras variaciones estacionales, como las observadas durante el periodo de sequía (15 y 18 meses después de la aplicación) característico del clima mediterráneo. En estos muestreos se observó primero un ligero descenso de los valores de pH debido posiblemente a una mayor actividad microbiana del suelo, ya que las condiciones climáticas fueron favorables. Kaschl et al. (2002) mostraron que una reducción del pH del suelo es indicativa de una alta actividad microbiana. Además se observó un elevado contenido de carbonato ácido soluble (HCO_3^-) en este muestreo (15 meses) para seguidamente descender en el muestreo siguiente (18 meses) (Figura 4.1.2.), poniéndose de manifiesto la capacidad tampón del sistema carbonato-bicarbonato. Estas variaciones estacionales en suelos carbonatados mediterráneos ya fueron descritas por Serrano-Ortiz et al. (2010).

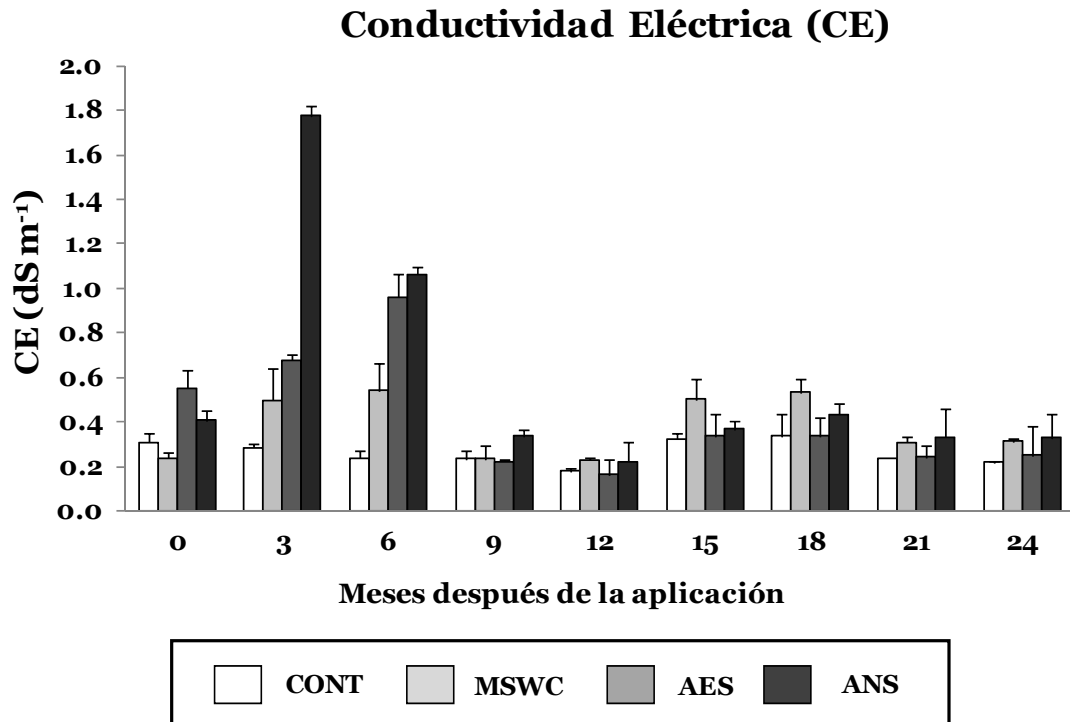
4.3.1.2. Evolución de la conductividad eléctrica (CE)

La conductividad eléctrica (CE) es utilizada como un indicador del contenido iónico en la disolución del suelo (Fernández-Gálvez et al., 2012). La aplicación de enmiendas orgánicas al suelo incrementaron significativamente los valores de CE del suelo, particularmente a los 3 y 6 meses después de la aplicación (Figura 4.3.2.). Este aumento se debe por un lado al gran aporte de elementos solubles procedentes de las enmiendas (Pascual et al., 2007) y, por otro, a una reducción de las precipitaciones correspondiendo al periodo de sequía estival (González-Ubierna et al., 2012). Sin embargo, solamente se observó un incremento significativo en las parcelas enmendadas con los dos tipos de lodo de depuradora. Varios autores (Carbonell et al., 2009; Domene et al., 2010; Paz-Ferreiro et al., 2012) han puesto de manifiesto el aumento de los valores de CE tras la aplicación de lodos de depuradora y encontrando además un efecto dosis dependiente en este incremento (Casado-Vela et al., 2007; Morugán-Coronado et al., 2011). Además otros autores (Guang-Ming et al., 2006; Li et al., 2007) han descrito una correlación inversa entre los valores de CE y los valores de pH.

Otro aspecto reseñable, es la relación directa entre el aumento de la conductividad eléctrica y el aumento del contenido en nitratos en suelos enmendados con lodo de depuradora, descrita por Eigenberg et al. (2002). Como se ha detallado anteriormente (sección 4.2.), las parcelas enmendadas con lodo de depuradora mostraron los mayores contenidos de nitratos en estos muestreos (Figura 4.2.3.). Estos resultados podrían explicar el aumento significativo de los valores de CE en estas parcelas.

Por otro lado, en las parcelas enmendadas con MSWC no se encontraron diferencias significativas con respecto al suelo CONT. Nuestros resultados no concuerdan con los resultados obtenidos por Bastida et al. (2007), que sí encontraron un incremento significativo de los valores de CE tras la aplicación de compost de RSU. Este hecho puede deberse a que los procesos de mineralización de la materia orgánica en estas parcelas fueron menos intensos, provocando una menor liberación de iones a la solución del suelo (Moreno et al., 1999).

A los 9 meses de la aplicación de las enmiendas, después de numerosos eventos de lluvia (110 mm de precipitación acumulada, Figura 3.3.), las diferencias significativas entre los tratamientos desaparecieron, manteniéndose hasta el final del experimento. Estas precipitaciones han podido lavar las sales solubles hacia horizontes más profundos, produciéndose una disminución en los valores de CE (Hao y Chang, 2003). Se observaron ligeras variaciones estacionales en el contenido de CE a lo largo del segundo año de experimentación (Figura 4.3.2.). En los muestreos de verano y otoño (15 y 18 meses después de la aplicación) vuelve a encontrarse un ligero aumento de los valores de CE, debido a una concentración de sales y a una escasa precipitación. Además vuelve a existir un incremento en los valores de nitratos en todos los tratamientos. En el muestreo de invierno (21 meses después de la aplicación) descienden los valores de CE del suelo, debido a la llegada de las lluvias. A la vista de los resultados, las condiciones climáticas juegan un papel muy importante en la evolución de los valores de CE.



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (CE)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|----|---|---|---|----|----|----|----|----|
| CONT | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| MSWC | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| AES | b | b | b | a | a | a | a | a | a |
| ANS | ab | b | b | a | a | a | a | a | a |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (CE)

| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|------|----|---|---|---|----|----|----|----|----|
| CONT | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| MSWC | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| AES | BC | C | D | A | A | AB | AB | A | A |
| ANS | A | C | B | A | A | A | A | A | A |

Figura 4.3.2. Valores de conductividad eléctrica (CE) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

4.3.2. Efectos sobre las propiedades físicas del suelo

4.3.2.1. Influencia de las enmiendas orgánicas en la porosidad (Po), capacidad de almacenamiento de agua (WHC) y densidad aparente (BD) del suelo

La aplicación de las enmiendas orgánicas mejoraron de manera inmediata y significativa las propiedades físicas del suelo (Tabla 4.3.1.), siendo este hecho atribuible al efecto beneficioso de la adición de materia orgánica (Hueso et al. , 2011). Numerosos autores han descrito este efecto en las propiedades físicas del suelo en experimentos de campo (Casado-Vela et al., 2006; Tejada and González, 2007; Song y Lee, 2010).

A la vista de los resultados obtenidos en la evolución del carbono orgánico (sección 4.1.), se esperaba encontrar diferentes respuestas entre las distintas enmiendas orgánicas aplicadas debido a su diferente naturaleza y composición química. Sin embargo no se observaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos aplicados. Esto puede deberse al hecho de que la dosis de aplicación fue muy elevada y por tanto, el alto contenido de materia orgánica enmascaró los efectos de la naturaleza de la enmienda sobre las propiedades físicas estudiadas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Hemmat et al. (2010), que encontraron diferencias significativas con la aplicación de la dosis más elevada (100 Mg ha⁻¹) pero no con el tipo de enmienda empleada.

La porosidad del suelo (Po) se incrementó significativamente con respecto al suelo CONT, tras la aplicación de las enmiendas orgánicas (Tabla 4.3.1.). Estos resultados concuerdan con los estudios de diversos autores (Aggelides y Londra, 2000; Cogger, 2005; De Lucía et al., 2013) que indican que las enmiendas orgánicas aumentan la porosidad del suelo tras su aplicación. De acuerdo con Sort y Alcañiz (1999) la aplicación de enmiendas orgánicas modifica inmediatamente la porosidad del suelo, aumentando la proporción de microporos. Este hecho está relacionado con el aumento de la capacidad de almacenamiento de agua (WHC) en los suelos enmendados. Además, los lodos de depuradora y el compost de residuos sólidos urbanos tienen un alto contenido en humedad así como una alta capacidad de retención de agua debido a su contenido de materia orgánica, que a su vez mejora la

capacidad de retención de agua del suelo (Hernando et al., 1989; Hargreaves et al., 2008). Como era de esperar, los valores de densidad aparente (BD) fueron significativamente menores que los observados en el suelo CONT. La reducción en los valores de BD se relaciona con la mezcla de suelo y material orgánico menos denso (Tester, 1990) y un aumento en el contenido de carbono orgánico del suelo (Hemmat et al., 2010). Por otra parte, se ha observado una correlación negativa y significativa entre la BD y el contenido de TOC del suelo ($p \leq 0.001$) (Tabla 4.3.2.), como ya indicaron Haynes y Naidu (1998) en un experimento tras la aplicación de enmiendas orgánicas al suelo.

| | | WHC (%) | BD (g cm ⁻³) | Po (%) |
|---------------------|-------------|------------------|--------------------------|-----------------|
| 0 meses | CONT | 17.95±1.22 A, a | 1.35±0.06 A, a | 41.34±3.29 A, a |
| | MSWC | 23.76±0.73 A, b | 1.06±0.03 A, b | 52.31±1.36 A, b |
| | AES | 23.50±1.31 AB, b | 1.08±0.00 A, b | 52.63±0.53 A, b |
| | ANS | 23.75±0.57 A, b | 1.04±0.02 A, b | 52.81±1.17 A, b |
| 12 meses | CONT | 20.21±1.60 A, a | 1.18±0.06 A, a | 49.58±3.34 A, a |
| | MSWC | 21.44±1.41 A, a | 1.00±0.05 A, a | 56.60±2.77 A, a |
| | AES | 18.74±1.32 A, a | 1.10±0.06 A, a | 53.94±2.67 A, a |
| | ANS | 21.35±0.78 A, a | 1.04±0.02 A, a | 55.27±1.60 A, a |
| 24 meses | CONT | 27.67±1.01 B, a | 1.15±0.01 A, a | 51.20±2.08 A, a |
| | MSWC | 30.21±0.85 B, a | 1.03±0.02 A, a | 54.08±1.86 A, a |
| | AES | 27.61±1.41 B, a | 1.14±0.06 A, a | 48.81±0.66 A, a |
| | ANS | 30.50±0.43 B, a | 1.06±0.01 A, a | 54.46±1.65 A, a |

Tabla 4.3.1. Propiedades físicas del suelo: capacidad de almacenamiento de agua (WHC), densidad aparente (BD) y porosidad (Po) durante los distintos muestreos realizados (0,12 y 24 meses después de la aplicación) y los distintos tratamientos: control (CONT), compost de residuos sólidos urbanos (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Los valores representan las medias y el error estándar. Las letras mayúsculas indican los resultados de la ANOVA entre los tiempos de muestreo

para cada tratamiento y las letras minúsculas indican los resultados de la ANOVA entre los distintos tratamientos dentro de cada muestreo.

Un año después de la aplicación de las enmiendas, no se observaron diferencias significativas en las propiedades físicas entre las parcelas enmendadas y el suelo CONT (Tabla 4.3.1.), acorde con los resultados obtenidos por Sort y Alcañiz (1999). Mientras que en las parcelas enmendadas los valores de Po, BD y WHC se mantuvieron estables, en las parcelas sin emendar las propiedades físicas estudiadas fueron evolucionando tras la roturación. Así se aprecia un aumento en la formación de nuevos agregados organominerales del suelo CONT que se refleja por el aumento de su estabilidad estructural (Figura 4.3.3.) y de la porosidad y WHC, observándose además una correlación significativa entre MWD y Po y BD ($p \leq 0.001$) (Tabla 4.3.2.). Esta tendencia se observó también al cabo de los dos años de la aplicación de las enmiendas. Sin embargo, en las parcelas enmendadas con lodo AES se observó un leve descenso en los valores de Po y un ligero aumento en los valores de BD. Este hecho puede ser debido al descenso progresivo en el contenido de TOC del suelo, que afecta a las propiedades físicas, incluida su estabilidad estructural.

| | WHC | BD | MDW | TOC | IR |
|-----|--------|-----------|-----------|-----------|---------|
| Po | 0,362* | -0,914*** | 0,647*** | 0.440** | |
| WHC | | -0,466*** | | | |
| BD | | | -0,699*** | -0,583*** | -0,350* |
| MDW | | | | 0,490** | 0,417* |
| TOC | | | | | 0.595* |

n=36; las correlaciones con $p > 0,05$ se han omitido. * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

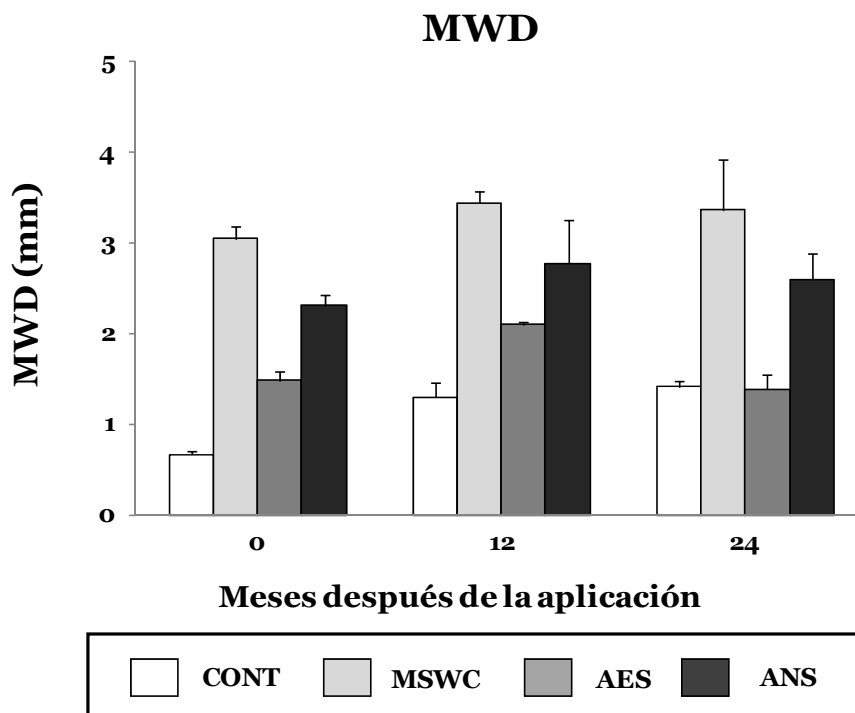
Tabla 4.3.2. Matriz de correlaciones entre las variables determinadas: porosidad (Po), capacidad de almacenamiento de agua (WHC), densidad aparente (BD), test de estabilidad de agregados (MWD), el contenido de carbono orgánico total del suelo (TOC) y el índice de recalcitrancia (RI) en la fracción (5-3,15 mm).

4.3.2.2. Influencia de las enmiendas orgánicas en la estabilidad estructural y la formación de agregados

La medida de la estabilidad de los agregados es un buen indicador para evaluar el comportamiento de la estructura del suelo (Six et al., 2000; Grosbellet et al., 2011).

El diámetro medio del peso de los agregados (MWD) es un test utilizado como una medida de la estabilidad de los agregados (Mahmoud et al., 2012), que representa la proporción relativa de los distintos tamaños de agregados del suelo. Tras la aplicación de las enmiendas orgánicas, los valores de MWD aumentaron significativamente con respecto a las parcelas CONT (Figura 4.3.3.). Aunque la estabilidad de los agregados está relacionada con muchos factores como la textura, la mineralogía de las arcillas, el contenido en cationes o los óxidos de hierro y aluminio (Aviben et al., 2009), el contenido de materia orgánica se considera como un "major factor" en la estabilidad de los agregados del suelo (Tisdall y Oades, 1982; Chenu, 1989; Bidisha et al., 2010). La materia orgánica proporciona una mayor cohesión interna de los agregados a través de uniones de los compuestos orgánicos con las partículas minerales (Ojeda et al., 2008). El aumento de los valores de MWD en las parcelas enmendadas es debido al gran aporte de materia orgánica aplicada (sección 4.1.). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por varios autores (Albiach et al., 2001; Annabi et al., 2011). Además existe una correlación positiva y significativa ($p \leq 0,01$) entre MWD y el contenido de TOC del suelo (Tabla 4.3.2.). Por otra parte, el aporte de cationes bivalentes (Ca^{2+} y Mg^{2+}) procedentes de las enmiendas orgánicas (Tabla 3.3.), podrían generar un efecto de unión entre los polímeros orgánicos, explicando el incremento en la estabilidad de los agregados en estas parcelas, como indicaron varios autores (Tejada y González, 2007; Ojeda et al., 2008) en experimentos de campo empleando distintas enmiendas orgánicas.

Al contrario que el resto de propiedades físicas del suelo mencionadas en el apartado anterior, dependiendo del tipo de enmienda orgánica aplicada la evolución de la estabilidad de los agregados fue distinta a lo largo del experimento. Las parcelas enmendadas con MSWC mostraron los valores más altos de MWD durante todo el experimento (Figura 4.3.3.). En la Figura 4.3.5. se observa un mayor porcentaje de macroagregados ($> 250 \mu\text{m}$) estables que el resto de tratamientos a lo largo del experimento, especialmente los agregados mayores de 2 mm.



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (MWD)

| | 0 | 12 | 24 |
|------|---|----|----|
| CONT | a | a | a |
| MSWC | d | b | b |
| AES | b | ab | a |
| ANS | c | b | ab |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (MWD)

| | 0 | 12 | 24 |
|------|---|----|----|
| CONT | A | B | B |
| MSWC | A | A | A |
| AES | A | A | A |
| ANS | A | A | A |

Figura 4.3.3. Evolución de los valores del test de estabilidad de agregados (MWD) del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

Spaccini y Piccolo (2013) en un experimento en suelos agrícolas mediterráneos a los que se aplicaron distintas enmiendas, observaron un aumento de la estabilidad estructural en los suelos enmendados con un compost maduro. Dichos autores explican mediante dos hipótesis la existencia de un efecto positivo a corto y a largo plazo por la adición de este tipo de enmiendas: i) a corto plazo: la estimulación de la actividad microbiana del suelo y como consecuencia la producción de exopolisacáridos y, ii) a largo plazo: la adición de un material que contiene una cantidad eficaz de compuestos hidrofóbicos humificados. Ambas hipótesis podrían explicar nuestros resultados, ya que en las parcelas enmendadas con MSWC se observó un efecto positivo en la actividad microbiana del suelo (apartado 4.3.3.) y dicha enmienda aportó una materia orgánica más recalcitrante al suelo (sección 4.1.). En este sentido, la evolución del índice de recalcitrancia (IR) calculado en la fracción de tamaño elegida para el test de estabilidad de agregados (5-3,15 mm), indicó que las parcelas enmendadas con MSWC fueron las que mayores valores de IR mostraron a lo largo del experimento (Figura 4.3.4.). Además se observó una correlación positiva ($p \leq 0.05$) entre IR y MDW (Tabla 4.3.2.). Estos resultados vuelven a confirmar que el compost de RSU (MSWC) aportó una materia orgánica más recalcitrante y, por tanto, una mayor estabilidad estructural a largo plazo.

Por otro lado, aunque las parcelas enmendadas con lodo de depuradora (AES y ANS) mostraron un aumento en los valores de MWD tras su aplicación (Figura 4.3.3.), la tendencia fue distinta a la observada en las parcelas enmendadas con MSWC. Estas enmiendas, especialmente el lodo con digestión aerobia (AES) aportaron una materia orgánica más lábil que el tratamiento MSWC. Esta materia orgánica más lábil tuvo un efecto positivo en la estabilidad de los agregados a corto plazo, desapareciendo las diferencias significativas con respecto al suelo CONT al cabo de los dos años de experimentación. Este efecto puede ser debido a que el contenido en materia orgánica en estas parcelas descendió hasta llegar a valores cercanos a los encontrados en el suelo CONT al final del experimento, especialmente en las parcelas enmendadas con AES (sección 4.1.). Abiven et al. (2009) indican que el efecto positivo en la estabilidad de los agregados al aplicar enmiendas orgánicas fácilmente descomponibles, es temporal y no perdurable en el tiempo. Asimismo, estos autores destacan que la aplicación de enmiendas orgánicas con compuestos más recalcitrantes produce un efecto positivo más a largo plazo. Como se observa en la Figura 4.3.4., los valores de IR en las parcelas enmendadas con AES van

disminuyendo significativamente a lo largo del tiempo, causando posiblemente una disminución en la estabilidad de los agregados al final del experimento (Figura 4.3.3.). Con respecto al tamaño de los agregados estables, las parcelas enmendadas con ANS muestran una tendencia más estable, con elevados porcentajes de agregados de mayor tamaño aunque siempre menores que los observados en las parcelas enmendadas con MSWC (Figura 4.3.4.). Sin embargo, en las parcelas enmendadas con AES se observaron moderados porcentajes de agregados estables de mayor tamaño (>0,5 mm), para después observarse un descenso en estas fracciones y un aumento en el porcentaje de agregados estables de menor tamaño (0,2-0,1 mm) (Figura 4.3.5.).

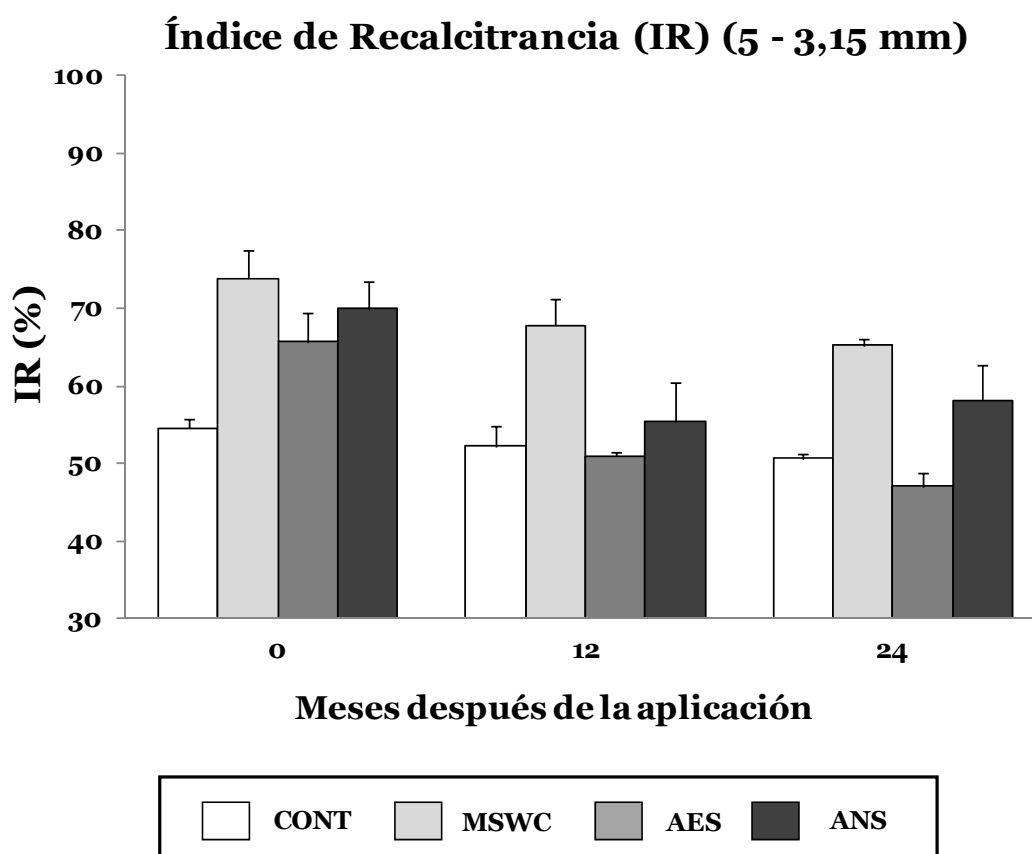


Figura 4.3.4. Evolución del índice de recalcitrancia (RI) en la fracción (5-3,15 mm) del suelo en el test de estabilidad de agregados en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas.

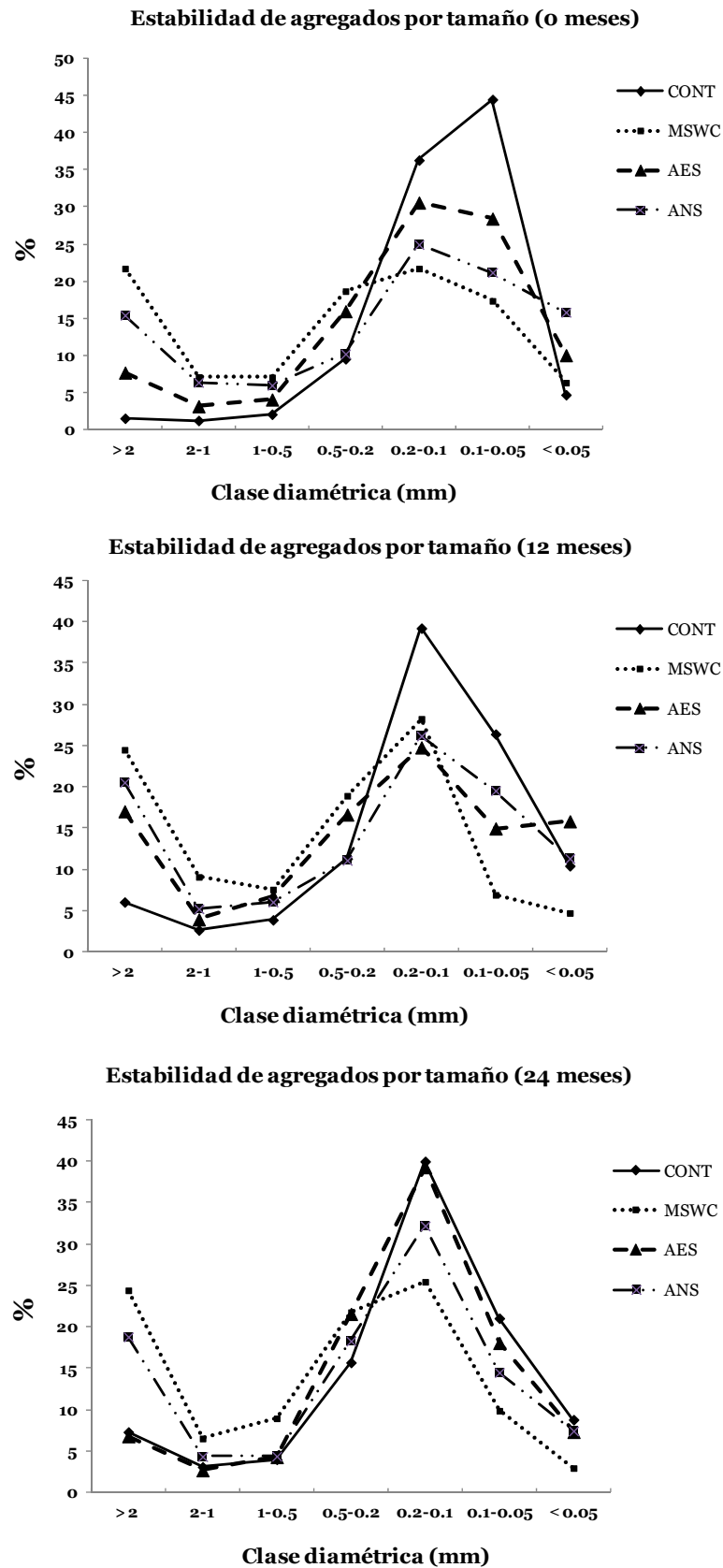


Figura 4.3.5. Estabilidad de agregados por tamaño según el método de estabilidad de Le Bissonais (1996) de los tratamientos, control (CONT), compost de residuos sólidos urbanos (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS) en los distintos tiempos de muestreo (0, 12 y 24 meses después de la aplicación).

Cabe destacar que las parcelas sin enmendar aumentan significativamente los valores de MWD después de un año de la aplicación de las enmiendas, manteniéndose estables hasta el final del experimento. He et al. (2011) indicaron que un suelo agrícola que se deja de roturar recupera las propiedades físicas del suelo a lo largo del tiempo. Nuestros resultados concuerdan con dichos autores, observándose una recuperación de los valores de las propiedades físicas del suelo, después de que el suelo CONT fuera roturado únicamente al inicio del experimento. Además, como se observa en la Figura 4.3.5, el porcentaje de agregados estables de mayor tamaño va aumentando y desplazándose el máximo porcentaje observado desde la fracción (0,1-0,05 mm) hacia la fracción (0,2-0,1 mm).

4.3.3. Efectos en la evolución de las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo

En este apartado se evalúan los efectos a corto plazo de la aplicación de las enmiendas orgánicas al suelo sobre las propiedades biológicas y bioquímicas, debido a que los mayores cambios producidos por la aplicación de las enmiendas orgánicas son visibles en poco tiempo. Por ello solamente se evaluaron los primeros cuatro muestreos.

4.3.3.1. Biomasa microbiana del suelo (MBC) y el ratio MBC/TOC

Los microorganismos del suelo representan la fracción viva de la materia orgánica. El tamaño de esta fracción se puede medir como el carbono contenido en la biomasa microbiana (MBC), que tradicionalmente se ha considerado como un indicador sensible de las perturbaciones y de la tasa de renovación de la materia orgánica del suelo (Powlson y Jenkinson, 1976).

Los resultados obtenidos en el ANOVA de doble-vía indicaron que el factor experimental con el mayor efecto en el contenido de biomasa microbiana (MBC) fue el tipo de enmienda aplicada (Tabla de 4.3.3.). Sin embargo solamente se observó una respuesta positiva en las parcelas enmendadas con MSWC y no en las parcelas enmendadas con los dos tipos de lodo de depuradora (Figura 4.3.6.). En un experimento a largo plazo, la aplicación de MSWC (García-Gil et al., 2000) aumentó la biomasa microbiana del suelo debido al aporte de biomasa microbiana y a la gran cantidad de sustratos de carbono contenidos en el compost. A los 3 meses de la aplicación (verano), el contenido de MBC aumentó significativamente en las parcelas

enmendadas con MSWC. Este hecho podría atribuirse a que el compost aportó materia orgánica más estabilizada, mejorando así la agregación del suelo (Figura 4.3.3.) y la capacidad de retención de agua (Hernando et al., 1989) (Tabla 4.3.1.), que coincidiendo con temperaturas cálidas, proporcionó mejores condiciones para el desarrollo de la biomasa microbiana y su actividad. La aplicación de dosis muy altas de lodo de depuradora puede disminuir la biomasa microbiana del suelo, como documentó Fortes Neto (2000) en Fernandes et al. (2005). Varias hipótesis podrían explicar este hecho: el tipo de estabilización y el post-tratamiento sufrido por las enmiendas orgánicas modifican las poblaciones microbianas del suelo (Calbrix et al., 2007), la baja eficiencia en la incorporación de sustratos de carbono por la biomasa microbiana (Killham, 1985) u otros factores del suelo, como el pH, la conductividad eléctrica, metales pesados, etc. (Fließbach et al., 1994).

Sin embargo, solamente teniendo en cuenta el tamaño del conjunto de microorganismos del suelo (contenido de MBC) es difícil evaluar el estado ecológico de un determinado ambiente (Banerjee et al., 1997); por lo que deberían ser evaluados otros parámetros relacionados con la actividad microbiana en el suelo (ratio MBC/TOC, respiración basal (BR), cociente metabólico (MQ)). Así, en nuestro experimento, las parcelas enmendadas con AES y ANS mostraron los ratios más bajos de MBC/TOC (Figura 4.3.7.). Franco-Otero et al. (2012) encontraron también un aumento en el contenido de carbono de la biomasa microbiana en suelos enmendados orgánicamente, teniendo el ratio MBC/TOC más bajo en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora. Estos resultados sugieren, en términos ecológicos, que los microorganismos del suelo se comportaron de manera diferente en cada uno de los tratamientos. De acuerdo con Anderson y Domsch (2010), la demanda total de mantenimiento de las células que crecen sin limitaciones de carbono será diferente de la de los organismos en un entorno natural limitado en carbono, por ejemplo un ecosistema semiárido como es nuestra área de estudio. En apartados anteriores (sección 4.1.) se observó que el lodo ANS y en particular, la aplicación del lodo AES, incrementaron la cantidad de fracciones lábiles y fácilmente mineralizables de la materia orgánica del suelo, mientras que MSWC produjo un mayor porcentaje de formas recalcitrantes de carbono. Los microorganismos en un suelo natural pueden adaptarse mejor a las condiciones de baja disponibilidad de carbono orgánico, por lo que se encontró un ratio MBC/TOC más elevado en el tratamiento del suelo sin enmendar (CONT). Al cabo de 6 meses de la aplicación, los valores más altos se

observan en el suelo CONT, pudiendo estar relacionado con un aumento en el contenido de MBC (Figura 4.3.6.) y de la actividad enzimática, favorecido por las condiciones climáticas.

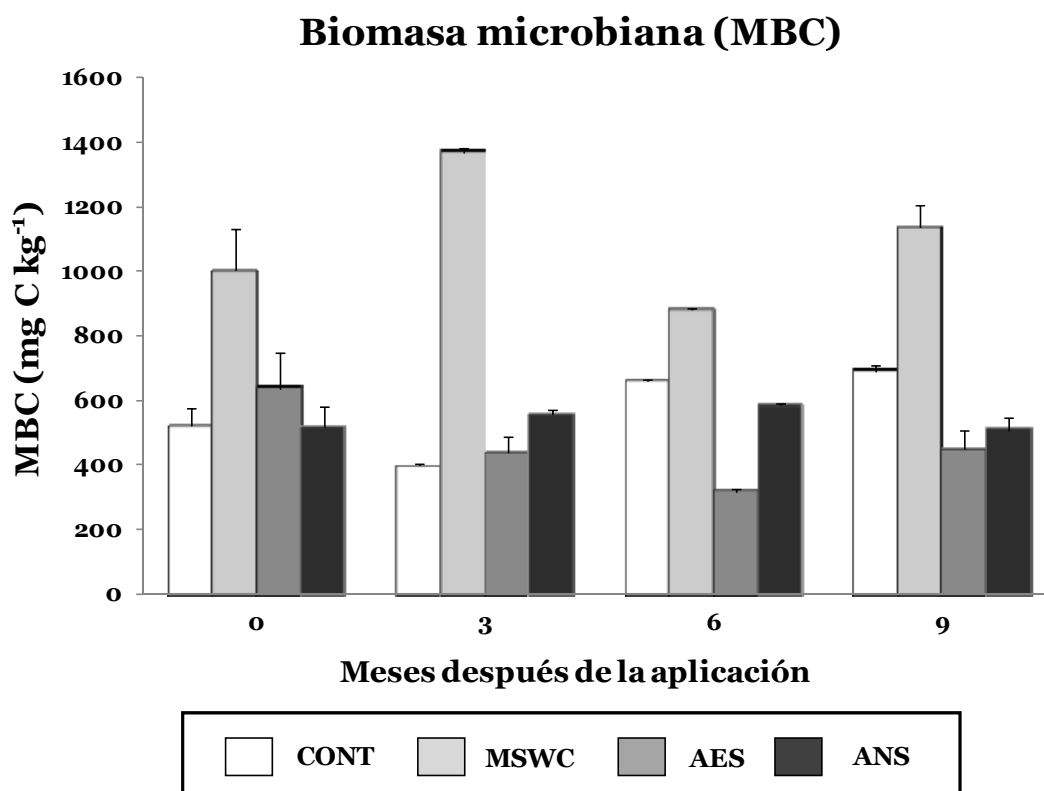
Por otra parte, la aplicación del lodo AES y lodo ANS provocó un aumento de las fracciones orgánicas lábiles (Figura 4.1.5. y Figura 4.1.6.), un aumento en la conductividad eléctrica (Figura 4.3.2.) y la reducción de una unidad en los valores de pH del suelo (Figura 4.3.1.). Estos factores pueden provocar un estrés ecológico sobre los microorganismos del suelo, lo que implicó un aumento de las necesidades de energía para el mantenimiento y una baja incorporación de sustratos de carbono por la biomasa microbiana. De hecho, existe una correlación negativa ($p \leq 0.01$) entre el ratio MBC/TOC y los valores de MQ, estando ambas variables correlacionadas ($p \leq 0.01$) con el pH del suelo (Tabla 4.3.4.). La relación entre unos valores elevados de MQ y una disminución en el pH del suelo debido a la adición de lodos de depuradora, ya ha sido mencionada en estudios anteriores (Enwall et al., 2007). Anderson y Domsch (2010) indicaron que valores elevados de MQ unido a bajos ratios de MBC/TOC pueden ser indicativos de estrés. Esta hipótesis podría explicar la respuesta observada en los suelos enmendados con lodo AES y ANS inmediatamente después de su aplicación. Jiménez et al. (2007) observaron este efecto después de un año de experimentación y consideran que es una alteración transitoria de la biomasa microbiana del suelo, debido principalmente a la alta cantidad de materia orgánica fácilmente degradable aportada por los lodos de depuradora.

En el siguiente muestreo (3 meses después de la aplicación) y hasta el final del experimento, los valores de pH del suelo aumentaron gradualmente (Figura 4.3.1.) que unido a unas condiciones climáticas favorables, hicieron que la tendencia en las parcelas enmendadas con AES y ANS fuera llegar a un estado de equilibrio, confirmado por unos ratios MBC/TOC alrededor de un 3% (Figura 4.3.7.) y unos valores de MQ más bajos (Figura 4.3.9.) (Jenkinson y Ladd, 1981).

| | | Tipo de enmienda (T) | Muestreo (M) | Interacción (T x M) | R ² |
|---------|----------|-------------------------|-----------------|------------------------|----------------|
| MBC | <i>F</i> | 109 | 2 | 8 | 0,927 |
| | <i>p</i> | *** | ns | *** | |
| MBC/TOC | <i>F</i> | 32 | 9 | 5 | 0,841 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| BR | <i>F</i> | 40 | 65 | 30 | 0,949 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| MQ | <i>F</i> | 403 | 414 | 159 | 0,992 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| CA | <i>F</i> | 121 | 34 | 37 | 0,962 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| DA | <i>F</i> | 101 | 126 | 86 | 0,969 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| UA | <i>F</i> | 68 | 33 | 4 | 0,915 |
| | <i>p</i> | *** | *** | * | |
| PA | <i>F</i> | 26 | 34 | 36 | 0,941 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| PhA | <i>F</i> | 43 | 30 | 17 | 0,922 |
| | <i>p</i> | *** | *** | *** | |
| βGA | <i>F</i> | 191 | 0.6 | 5 | 0,951 |
| | <i>p</i> | *** | ns | *** | |

n = 48; ns: no significativo, * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Tabla 4.3.3. ANOVA de doble vía considerando como factores experimentales el tipo de enmienda (T), el tiempo de muestreo (M) y la interacción entre ellos (T x M), para mostrar el efecto (*F-ratio*, *p-valor*) en las variables analizadas.



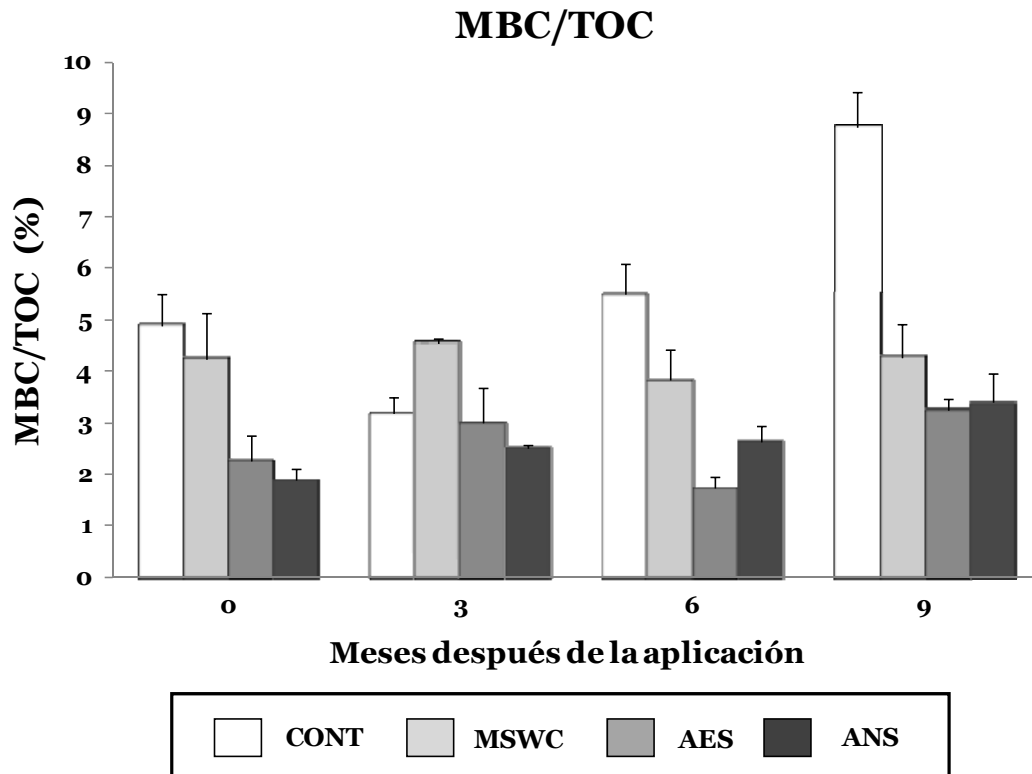
Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (MBC)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|----|----|---|----|
| CONT | a | a | c | b |
| MSWC | b | c | d | c |
| AES | ab | ab | a | a |
| ANS | a | b | b | ab |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (MBC)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|----|---|----|
| CONT | A | A | B | B |
| MSWC | A | B | A | AB |
| AES | B | AB | A | AB |
| ANS | A | A | A | A |

Figura 4.3.6. Evolución de la biomasa microbiana del suelo (MBC) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (MBC/TOC)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|----|----|----|---|
| CONT | b | ab | c | b |
| MSWC | ab | b | bc | a |
| AES | a | ab | a | a |
| ANS | a | a | ab | a |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (MBC/TOC)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|----|----|----|---|
| CONT | AB | A | B | C |
| MSWC | C | A | A | A |
| AES | A | A | A | A |
| ANS | A | AB | AB | B |

Figura 4.3.7. Evolución del ratio MBC/TOC del suelo en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

4.3. Evolución de las propiedades

| | DA | UA | PA | PhA | βGA | MBC | BR | MQ | MBC/TOC | pH |
|---------|----------|----|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|----------|-----------|
| CA | 0,559*** | | 0,518*** | 0,861*** | 0,322* | 0,319* | 0,829*** | 0,781*** | -0,433** | -0,645*** |
| DA | | | 0,891*** | 0,746*** | | | 0,489*** | 0,490*** | -0,296* | -0,450*** |
| UA | | | | | 0,677*** | 0,641*** | -0,306* | -0,478*** | 0,337* | |
| PA | | | | 0,681*** | | 0,300* | 0,420** | 0,398** | | |
| PhA | | | | | | 0,298* | 0,814*** | 0,765*** | 0,311* | -0,541*** |
| βGA | | | | | | 0,893*** | | | | |
| MBC | | | | | | | | | 0,361** | |
| BR | | | | | | | | 0,927*** | -0,298* | -0,403** |
| MQ | | | | | | | | | -0,436** | -0,402** |
| MBC/TOC | | | | | | | | | | 0,641*** |

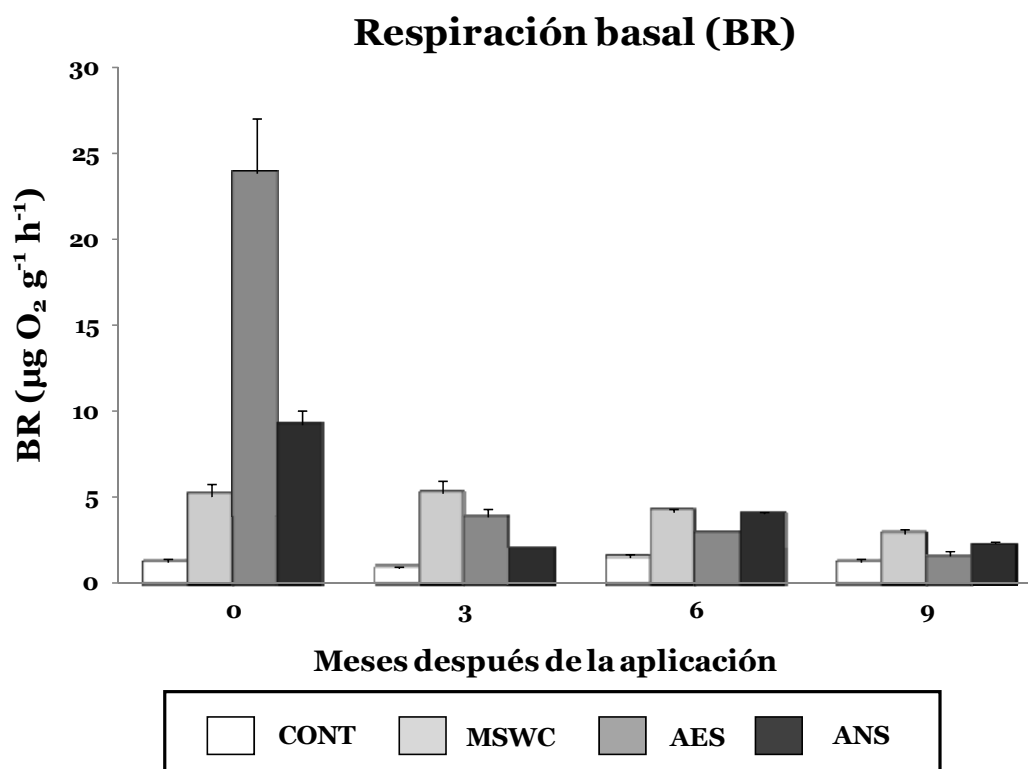
n = 48; las correlaciones con $p > 0,05$ se han omitido. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$

Tabla 4.3.4. Matriz de correlaciones entre las variables: biomasa microbiana (MBC), ratio MBC/TOC (MBC/TOC), respiración basal (BR), cociente metabólico (MQ), pH y las actividades enzimáticas del suelo (CA catalasa, DA deshidrogenasa, UA ureasa, PA proteasa, PhA fosfatasa, βGA β-glucosidasa).

4.3.3.2. Respiración basal (BR) y cociente metabólico (MQ)

La respiración basal (BR) se incrementó significativamente después de la aplicación de las enmiendas orgánicas, especialmente en las parcelas enmendadas con AES (Figura 4.3.8.), ya que la incorporación de lodos de depuradora generalmente ocasiona un efecto positivo a corto plazo sobre la respiración del suelo (Franco-Otero et al., 2012; Jiménez et al., 2007). El aumento de los valores de BR puede ser el resultado del efecto "priming effect"; como indicó Kuzyakov et al. (2000), la aplicación de sustancias orgánicas lábiles estimula la actividad microbiana del suelo y acelera las tasas de mineralización. Estos resultados coinciden con los observados en la respiración del suelo (CO_2) medidos en campo, donde las parcelas enmendadas con lodo AES mostraron los valores más altos, seguido de las parcelas enmendadas con ANS y MSWC (Figura 4.1.8.), por lo que la respiración dependerá del tipo de material orgánico añadido. Además, las parcelas enmendadas con ANS y especialmente en las parcelas enmendadas con AES mostraron un aumento en los valores del cociente metabólico (MQ), mientras que las parcelas enmendadas con MSWC no siguieron ese comportamiento. Tarrasón et al. (2010) indicaron que la presencia de materia orgánica menos estable en los lodos de depuradora podría conducir a un aumento en el cociente metabólico. En los siguientes muestreos, las parcelas enmendadas con AES y ANS mostraron una disminución en los valores de BR (Figura 4.3.8.) y MQ (Figura 4.3.9.). Esto podría explicarse por una disminución de las formas de carbono lábiles. Pedra et al. (2007) indicaron que las aplicaciones de estas enmiendas orgánicas proporcionan un mayor reservorio de carbono lábil, aunque la diferencia entre los tratamientos disminuye rápidamente debido a los rápidos procesos de mineralización.

Por otra parte, la variabilidad en la respiración basal también está influida por el tiempo de muestreo, como reflejan los resultados obtenidos en el ANOVA de doble vía (Tabla 4.3.3.). Así, se observó un mínimo en los valores de BR a los 9 meses de la aplicación (Figura 4.3.8.), coincidiendo con el invierno y por tanto con un descenso en la temperatura. En el caso de las parcelas enmendadas con MSWC mostraron una tendencia más estable en los valores de BR; esto podría explicarse por el hecho de que la actividad de los microorganismos del suelo en las parcelas MSWC es lento pero constante, debido a la mayor estabilidad de la materia orgánica (Jiménez et al., 2007).



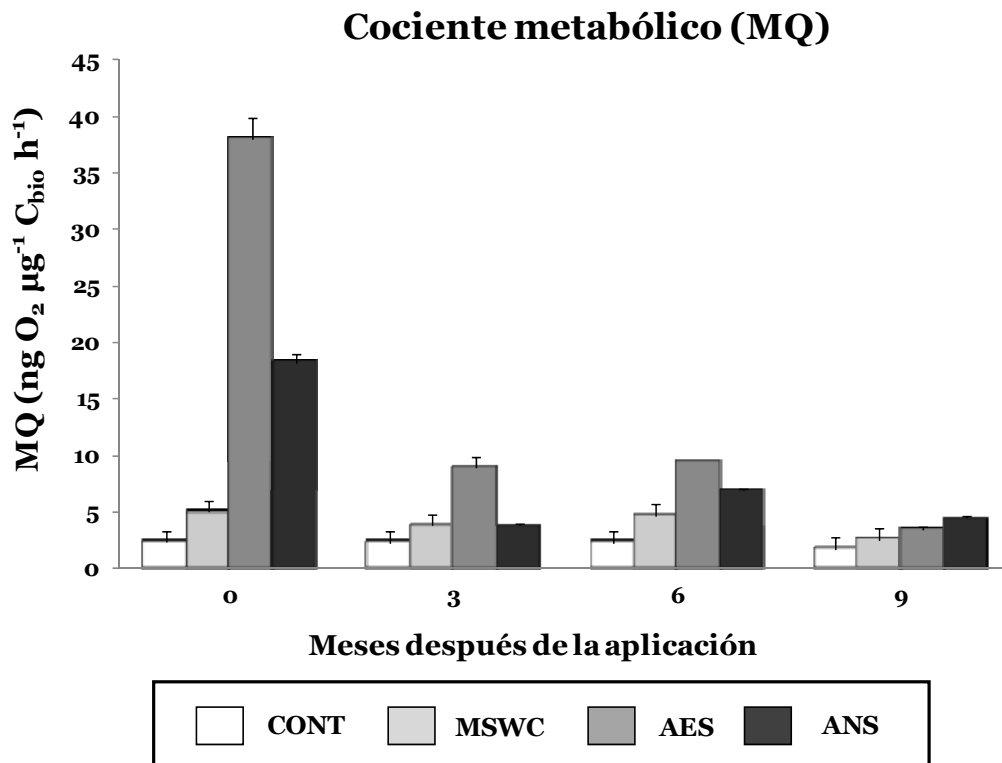
Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (MBC)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|----|----|---|----|
| CONT | a | a | a | a |
| MSWC | ab | c | c | c |
| AES | c | bc | b | ab |
| ANS | b | ab | c | bc |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (MBC)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|---|---|----|
| CONT | A | A | A | A |
| MSWC | A | A | A | A |
| AES | B | A | A | A |
| ANS | C | A | B | AB |

Figura 4.3.8. Evolución de la respiración basal del suelo (BR) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (MQ)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|---|---|---|
| CONT | a | a | a | a |
| MSWC | a | b | b | b |
| AES | c | a | d | c |
| ANS | b | a | c | d |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (MQ)

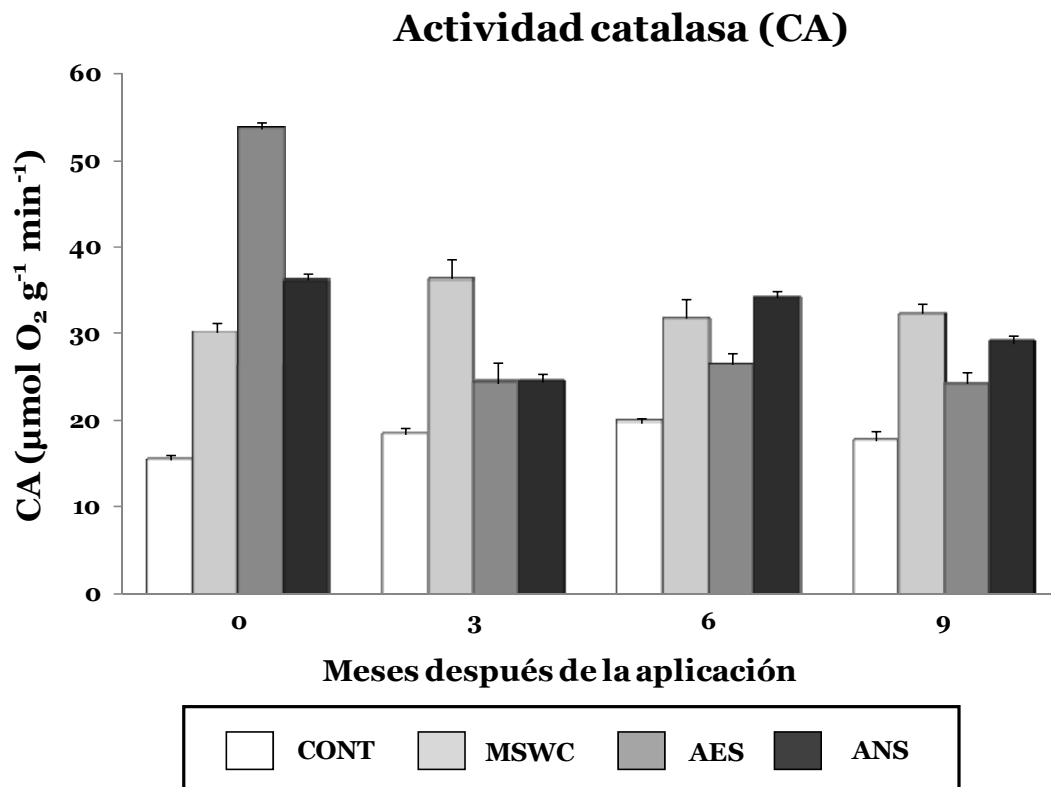
| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|---|----|---|
| CONT | A | A | A | A |
| MSWC | C | B | BC | A |
| AES | C | B | B | A |
| ANS | C | A | B | A |

Figura 4.3.9. Evolución del cociente metabólico (MQ) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

4.3.3.3. Actividad de las enzimas oxidorreductasas

La catalasa y la deshidrogenasa son enzimas intracelulares que han sido ampliamente utilizadas para evaluar el estado metabólico de los microorganismos del suelo tras la adición de residuos orgánicos. Fernández et al. (2009) encontraron fuertes correlaciones entre el contenido de carbono de la biomasa y la actividad de la deshidrogenasa y catalasa; sin embargo, sólo se ha encontrado una débil correlación entre la actividad catalasa (CA) y MBC ($p \leq 0,05$) (Tabla 4.3.4.). Esto puede confirmar, en nuestro caso, que el tamaño de la biomasa microbiana (es decir, MBC) no fue indicativo de la actividad metabólica del suelo.

La actividad catalasa (CA) y la respiración del suelo (BR) siguieron el mismo patrón durante el experimento, incrementándose significativamente después de la aplicación de las enmiendas (Figura 4.3.10.). Además se correlacionó significativa y positivamente con BR y MQ ($p \leq 0,001$). Por otro lado, se correlacionó con la actividad deshidrogenasa (DA) ($p \leq 0,001$) y la mayor parte de las actividades hidrolasas (actividad proteasa y fosfatasa ($p \leq 0,001$), y actividad β -glucosidasa ($p \leq 0,05$)) (Tabla 4.3.4.). La catalasa por lo general se ha asociado con la actividad metabólica de los microorganismos aeróbicos (Rodríguez-Kabana y Truelove, 1982) y tiende a aumentar después de la aplicación de las enmiendas orgánicas (García-Gil et al., 2000). La correlación negativa entre la CA y el ratio MBC/TOC ($p \leq 0,01$), junto con la correlación positiva y significativa con MQ (Tabla 4.3.4.), confirmó la alta actividad requerida para mantener el aumento de la demanda de energía, especialmente en suelos enmendados con lodo de depuradora. A partir de los 6 meses de aplicación de las enmiendas, los valores de CA aumentaron en las parcelas enmendadas con ANS (Figura 4.3.10.), así como otras variables (MBC/TOC, BR, MQ, actividad ureasa y β -glucosidasa), lo que confirmó la tendencia a recuperar la actividad microbiana del suelo. Por otro lado, la tendencia estable en las parcelas MSWC podría ser atribuible a la lenta mineralización de su materia orgánica (Pascual et al., 1998), como se observa en los valores de BR y en la evolución de la materia orgánica comentada anteriormente (sección 4.1.).



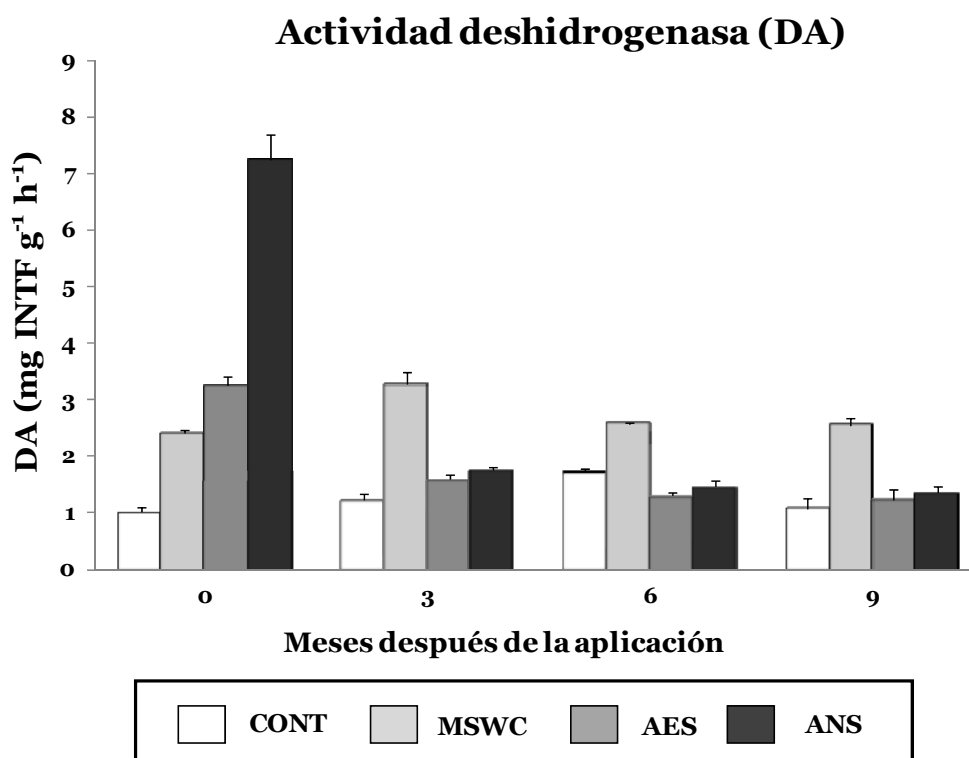
Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (CA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|---|----|----|
| CONT | a | a | a | a |
| MSWC | b | b | bc | c |
| AES | d | a | b | b |
| ANS | c | a | c | bc |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (CA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|----|---|----|
| CONT | A | AB | B | AB |
| MSWC | A | A | A | A |
| AES | B | A | A | A |
| ANS | C | A | C | B |

Figura 4.3.10. Evolución de la actividad catalasa (CA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (DA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|-------------|----------|-----------|-----------|----------|
| CONT | a | a | b | a |
| MSWC | b | c | c | b |
| AES | b | ab | a | a |
| ANS | c | b | ab | a |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (DA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|-------------|----------|-----------|----------|----------|
| CONT | A | AB | B | A |
| MSWC | A | B | A | A |
| AES | B | A | A | A |
| ANS | B | A | A | A |

Figura 4.3.11. Evolución de la actividad deshidrogenasa (DA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

La actividad deshidrogenasa (DA) se ha propuesto como un buen indicador de la actividad microbiana del suelo en zonas semiáridas (García et al., 1994). Después de la aplicación de las enmiendas, en las parcelas enmendadas con ANS se observaron los valores más altos de DA (Figura 4.3.11.), a pesar de que no se observara el contenido más alto de MBC. Además, la actividad deshidrogenasa se correlacionó con los parámetros de respiración del suelo (BR, MQ) ($p \leq 0,001$) y con las actividades hidrolasas (actividad proteasa y fosfatasa) ($p \leq 0,001$) (Tabla 4.3.4.). Los mayores valores de DA, encontrados inmediatamente después de la aplicación de las enmiendas orgánicas, pueden ser el resultado de una mayor actividad metabólica debido al alto contenido de fracciones orgánicas fácilmente mineralizables. Sin embargo, después de tres meses de la aplicación (verano) las parcelas enmendadas con MSWC mostraron los valores más altos de DA (Figura 4.3.11.). Este hecho está relacionado con el aumento de la MBC observado en este muestreo y ya discutido previamente. Hasta el final del experimento, los valores de DA en las parcelas enmendadas con MSWC fueron mayores que en los suelos enmendados con lodo de depuradora, como señalaron Marcote et al. (2001) en un experimento de campo un año después de la aplicación de compost de RSU.

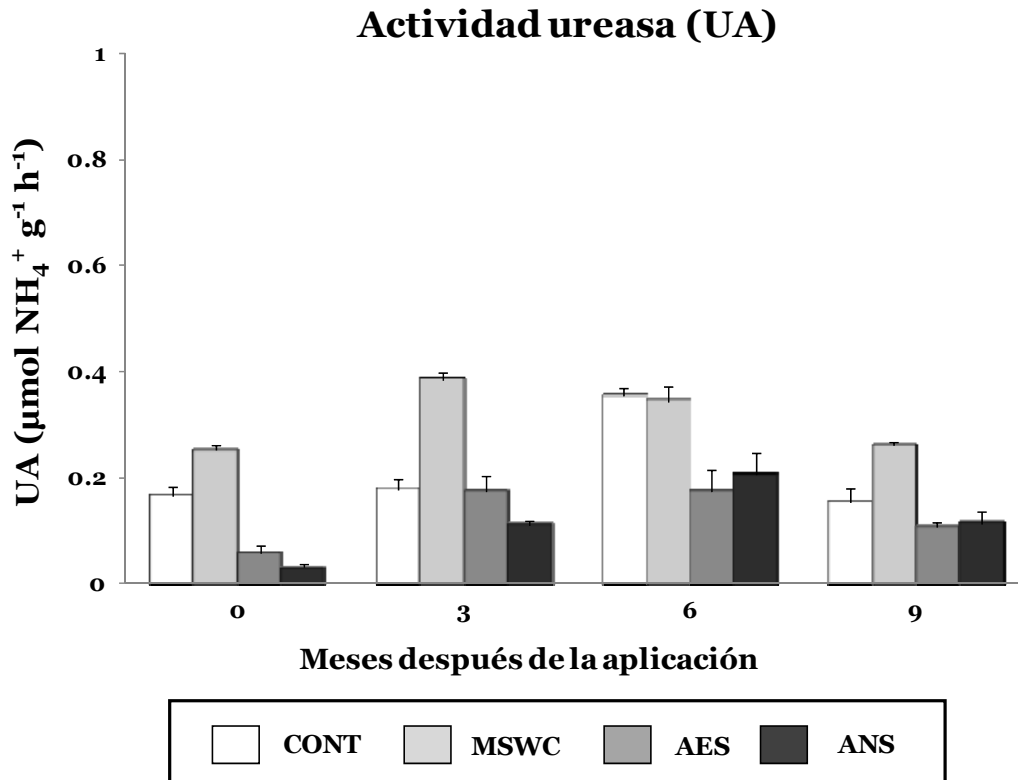
4.3.3.4. Actividad de las enzimas hidrolasas

La descomposición de la materia orgánica en el suelo incluye una variedad de procesos que son catalizados por enzimas extracelulares producidas por microorganismos (Burns, 1982). Mientras que la tasa a la cual se procesa la materia orgánica está fuertemente controlada por la calidad del material, el grado de limitación de carbono en los microorganismos es controlado por la dinámica de las exoenzimas (Schimel y Weintraub, 2003).

Ureasa y proteasa son enzimas que participan en el ciclo del nitrógeno, usando urea y proteínas de bajo peso molecular como sustratos respectivamente, para la transformación de estos compuestos en amonio (García-Gil et al., 2004). Después de la aplicación de las enmiendas orgánicas, los valores de la actividad ureasa (UA) aumentaron solamente en las parcelas enmendadas con MSWC, mientras que en las parcelas enmendadas con AES y ANS se encontraron valores más bajos que en el suelo sin enmendar (CONT) (Figura 4.3.12.). Algunos autores han constatado que la

aplicación de enmiendas orgánicas estimula la actividad de la ureasa (Pascual et al., 2002; Fernandes et al., 2005). Sin embargo, Ros et al. (2006) no observaron diferencias significativas después de la aplicación de enmiendas orgánicas, posiblemente debido a una inhibición por el producto final de la reacción (amonio). La forma principal de nitrógeno inorgánico presente en los lodos de depuradora es en forma de amonio (Smith et al., 1998). Los valores de UA se mantuvieron bajos en las parcelas enmendadas con AES y ANS durante todo el experimento, debido posiblemente a que el contenido de NH_4^+ fue lo suficientemente alto como para causar la inhibición (König et al., 1966), y como resultado del proceso de mineralización en el suelo (García-Gil et al., 2000). Las parcelas enmendadas con MSWC mostraron un patrón diferente (Figura 4.3.12.), debido probablemente a que los procesos de mineralización fueron más lentos que en los otros tratamientos, como se ha discutido anteriormente. Esto se puede atribuir al hecho de que una gran parte del material del MSWC estuvo menos disponible para ser degradado (Figura 4.1.7.), o tal vez a la resistencia a la desnaturalización (Burns, 1982) de la ureasa inmovilizada en la materia orgánica más estabilizada del MSWC (Pascual et al., 2002).

Los valores de la actividad proteasa (PA) aumentaron inmediatamente después de la aplicación de ambos tipos de lodo (Figura 4.3.13.). Sin embargo fueron las parcelas enmendadas con MSWC las que mostraron los valores más altos hasta el final del experimento, coincidiendo con los resultados obtenidos por Pascual et al. (1998). El mayor incremento de la actividad se observó en las parcelas enmendadas con ANS, seguido por las parcelas enmendadas con AES, debido a un mayor contenido de formas polimerizadas de carbono y nitrógeno orgánico (sección 4.1. y sección 4.2.). La actividad proteasa estuvo correlacionada positiva y significativamente ($p \leq 0,001$) con las enzimas relacionadas con reacciones de óxido-reducción, como son la catalasa y deshidrogenasa (Tabla 4.3.4.). La aplicación de lodo de depuradora causó un incremento en el metabolismo de los microorganismos del suelo, proporcionando sustratos disponibles a partir de la estimulación de la actividad de la proteasa. Además, el tipo de enmiendas orgánicas también puede influir en la actividad de la proteasa, ya que Goel et al. (1998) han demostrado que la actividad proteasa en el lodo anaerobio es un 40-60% más alta que en el lodo aerobio.



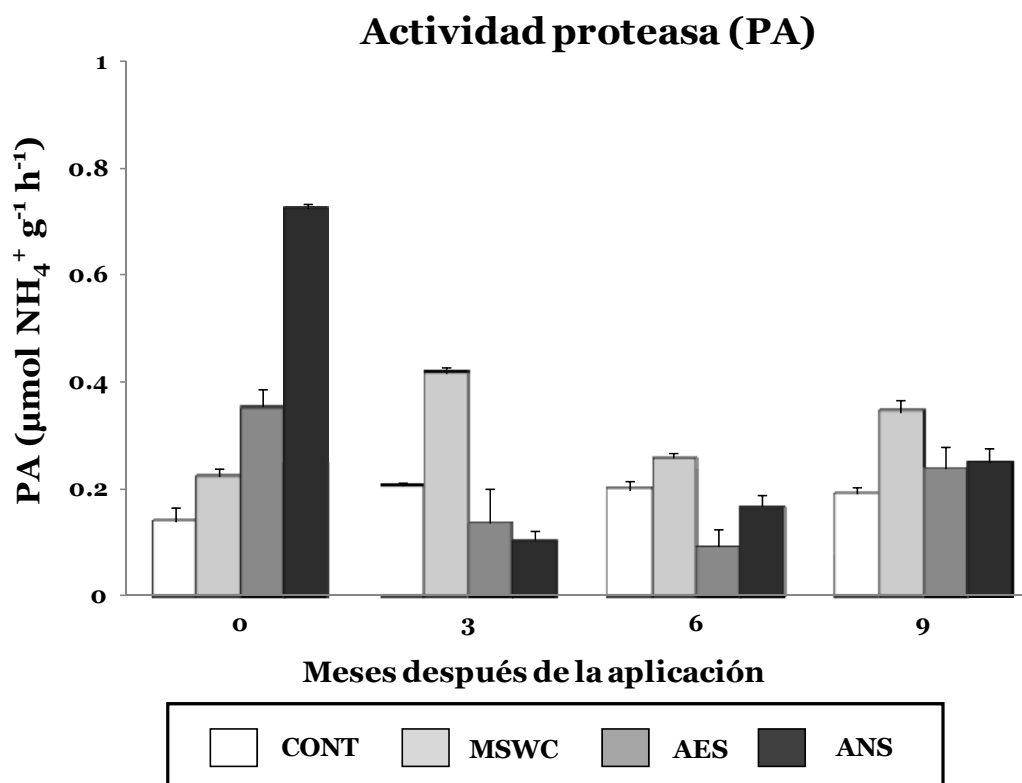
Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (UA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|---|----|---|
| CONT | b | a | c | a |
| MSWC | c | b | bc | b |
| AES | a | a | a | a |
| ANS | a | a | ab | a |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (UA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|----|---|----|
| CONT | A | A | B | A |
| MSWC | A | B | B | A |
| AES | A | A | A | A |
| ANS | A | AB | B | AB |

Figura 4.3.12. Evolución de la actividad ureasa (UA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.



Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (PA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|---|----|----|
| CONT | a | a | b | a |
| MSWC | a | b | b | b |
| AES | b | a | a | ab |
| ANS | c | a | ab | ab |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (PA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|---|----|----|
| CONT | A | A | A | A |
| MSWC | A | C | A | B |
| AES | B | A | A | AB |
| ANS | C | A | AB | B |

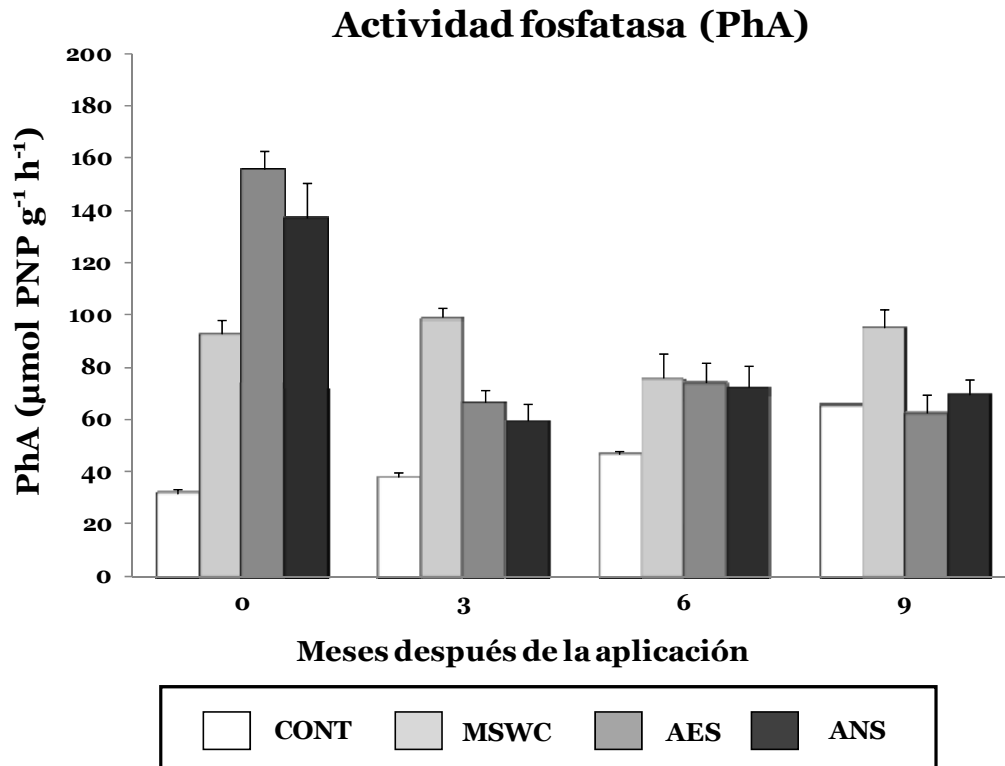
Figura 4.3.13. Evolución de la actividad proteasa (PA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

La fosfatasa es una enzima responsable de la hidrólisis de compuestos orgánicos de fósforo, provocando de este modo que se conviertan en formas inorgánicas disponibles para las plantas (Antolín et al., 2005). Se observó un incremento inicial en los valores de la actividad fosfatasa (PhA) en todos los tratamientos (Figura 4.3.14.), encontrándose los valores más elevados en las parcelas enmendadas con lodo. Este hecho puede atribuirse al contenido de detergentes, descrito por otros autores en estudios anteriores (Benítez et al., 1999; Bastida et al., 2008). Se observó una correlación significativa ($p \leq 0,001$) entre las actividades PhA, CA y DA y, sin embargo, se observó una correlación baja ($p \leq 0,05$) con MBC (Tabla 4.3.4.), a pesar de que en otros estudios la actividad fosfatasa se ha asociado con la biomasa microbiana (Albiach et al., 2000). Después del primer muestreo se observó una disminución de los valores de PhA en las parcelas enmendadas con AES y ANS (Figura 4.3.14.), debido posiblemente a la reducción de las fuentes disponibles de fósforo. Estos resultados son similares a los encontrados por Criquet et al. (2007). Estos autores indicaron que los lodos de depuradora pueden producir un aumento a corto plazo en la actividad fosfatasa del suelo, seguido de una rápida disminución. Por otro lado, las parcelas enmendadas con MSWC mostraron valores significativamente más altos de PhA en comparación con los valores de las parcelas CONT incluso hasta el final del experimento, acorde a los resultados obtenidos por Pascual et al. (1998). García et al. (1993b) demostraron que, con el tiempo, la actividad fosfatasa podía mantenerse debido a su inmovilización y estabilización en la matriz húmica del compost.

La β -glucosidasa es una enzima hidrolasa que participa en el ciclo del carbono y actúa específicamente sobre la hidrólisis de los enlaces glucosídicos de grandes cadenas de carbohidratos (Eivazi and Zakaria, 1993). Se encontró una alta correlación significativa ($p \leq 0,001$) entre la actividad β -glucosidasa (β GA) y MBC (Tabla 4.3.4.), debido probablemente a la fuerte respuesta de ambas variables a la aplicación de MSWC y su evolución a lo largo del estudio (Figura 4.3.15.). Por otra parte, la naturaleza de las enmiendas orgánicas tuvo una influencia sobre la actividad de la β -glucosidasa, como se observa en los resultados del ANOVA de doble-vía (Tabla 4.3.3.). La aplicación de MSWC añade una nueva fuente de enzimas al suelo (Vargas-García et al., 2010), formada por complejos de sustancias húmicas y enzimas durante el proceso de compostaje (Cayuela et al., 2008; Mondini et al., 2004). Marcote et al. (2001) indicaron que la materia orgánica en el compost de RSU y la de otras

enmiendas se diferencian en sus proporciones de celulosa (siendo los enlaces más importantes los β -glucosídicos) y el grado en que ésta se puede degradar.

A lo largo del experimento, los valores de β GA fueron bajos en las parcelas enmendadas con AES y ANS (Figura 4.3.15.), a pesar de que esta enzima es particularmente sensible a la adición de lodos (Paz-Ferreiro et al., 2012). La inhibición de β GA observada en nuestro caso tras la aplicación de los lodos de depuradora, puede ser atribuida a un menor contenido de celulosa, a una menor estabilidad de la enzima en los lodos (Pascual et al., 1998) o al efecto negativo provocado por una mayor disponibilidad de compuestos tóxicos (Castaldi et al., 2004), aunque los niveles de metales pesados en todos los casos estaban por debajo de los límites establecidos por la legislación europea (Tabla 3.3.).



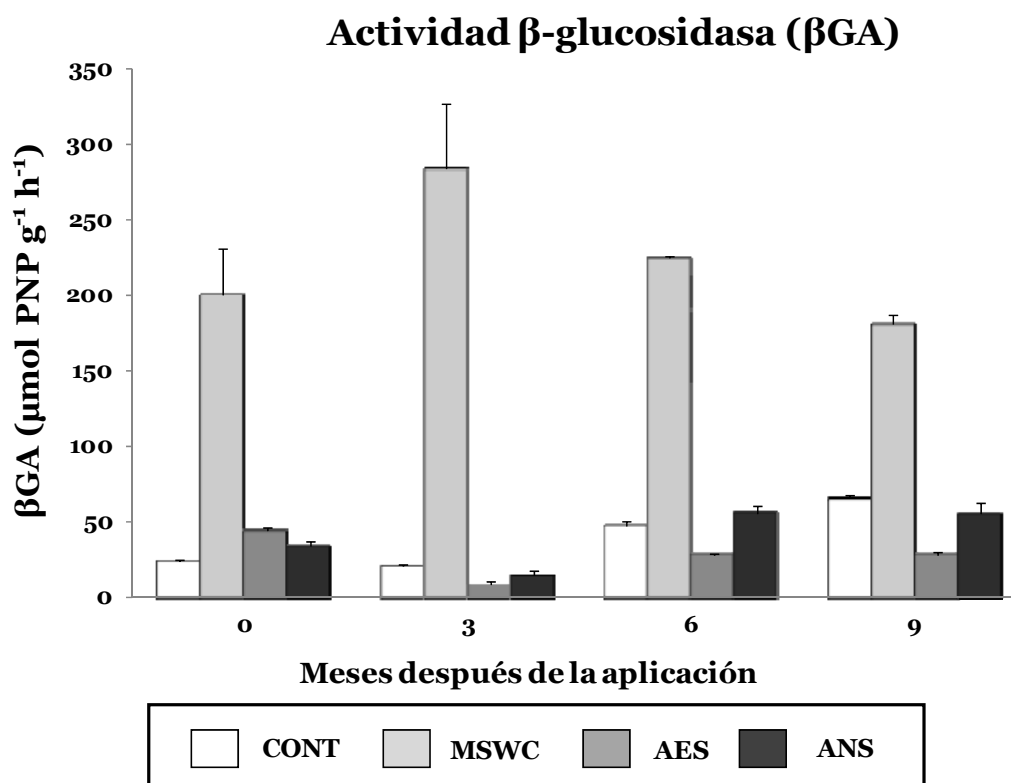
Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (PhA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|---|---|----|
| CONT | a | a | a | a |
| MSWC | b | c | a | b |
| AES | c | b | a | a |
| ANS | c | b | a | ab |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (PhA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|---|---|---|
| CONT | A | B | C | D |
| MSWC | A | A | A | A |
| AES | B | A | A | A |
| ANS | B | A | A | A |

Figura 4.3.14. Evolución de la actividad fosfatasa (PhA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: suelo control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

Resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo (β GA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|---|---|---|---|
| CONT | a | a | b | b |
| MSWC | b | b | c | c |
| AES | a | a | a | a |
| ANS | a | a | b | b |

Resultados del ANOVA entre fechas para cada tratamiento (β GA)

| | 0 | 3 | 6 | 9 |
|------|----|---|---|---|
| CONT | A | A | B | C |
| MSWC | A | A | A | A |
| AES | C | A | B | B |
| ANS | AB | A | B | B |

Figura 4.3.15. Evolución de la actividad β -glucosidasa (β GA) en los diferentes muestreos (meses después de la aplicación) y tratamientos: control (CONT), compost de RSU (MSWC), lodo aerobio (AES) y lodo anaerobio (ANS). Las barras de error representan el error estándar de la media de tres réplicas. Las letras minúsculas representan los resultados del ANOVA entre tratamientos para cada muestreo y las letras mayúsculas representan los resultados del ANOVA entre muestreos para cada tratamiento.

SINOPSIS

5. Sinopsis

A lo largo del presente estudio, se ha comprobado la influencia significativa que tiene la aplicación de residuos orgánicos biodegradables en las características edáficas. Tal y como se ha discutido en apartados anteriores, tres aspectos son fundamentales en la influencia de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables sobre los parámetros estudiados: i) tipo de enmienda aplicada, ii) factores climáticos y iii) tipo de suelo (Figura 5.1.).

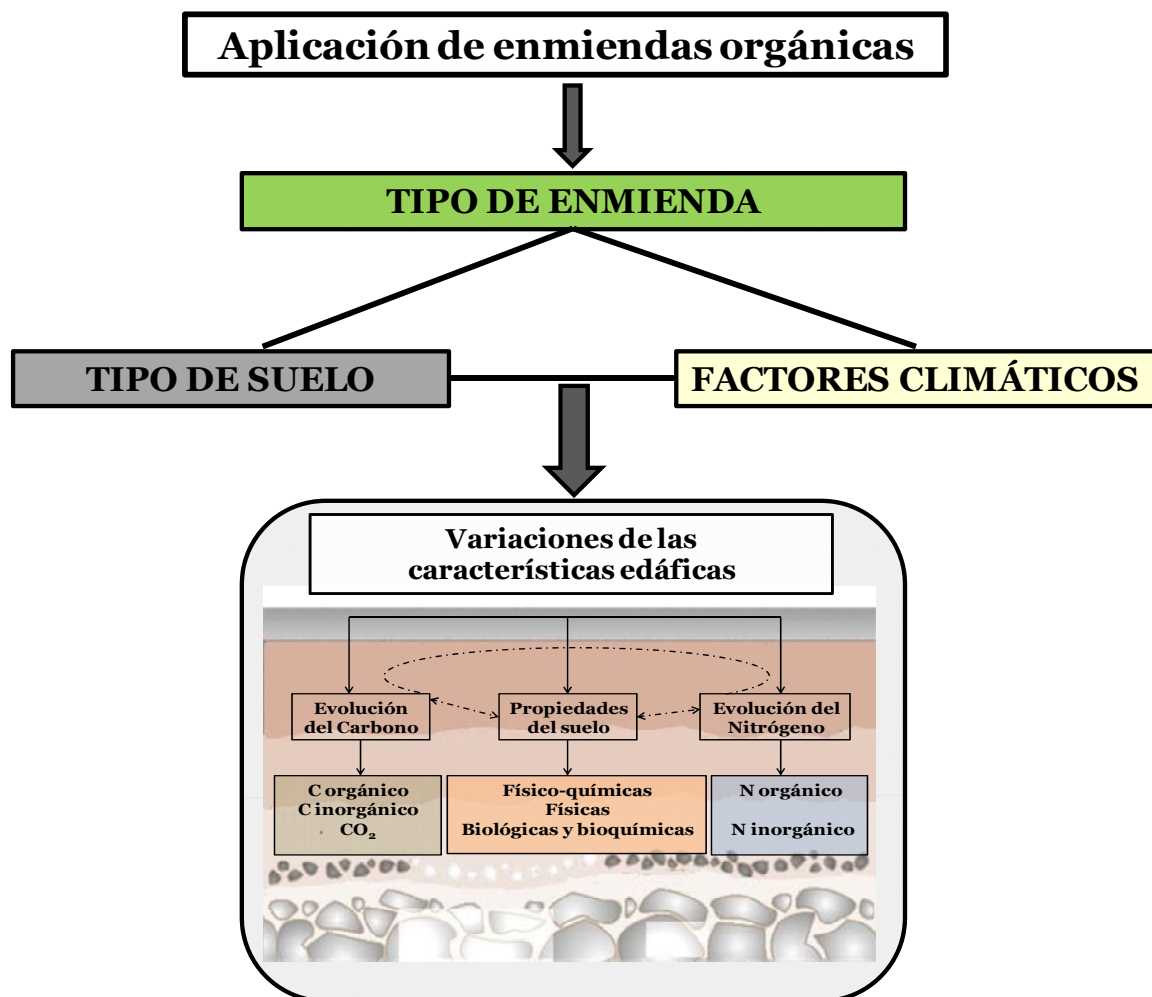


Figura 5.1. Principales factores que han influido en las variaciones de las características edáficas tras la aplicación de las enmiendas orgánicas.

5.1. ¿Cómo afecta el tipo de enmienda aplicada ?

La influencia tanto del tipo de residuo orgánico como su tratamiento de estabilización ha sido determinante en los parámetros estudiados, especialmente en las primeras etapas posteriores a la aplicación.

Como se esperaba, la aplicación de las enmiendas orgánicas incrementó inmediatamente los niveles de TOC y N_T del suelo (Sommer et al., 2011; Contin et al., 2012). Sin embargo, el tipo de materia orgánica aportada fue diferente según la enmienda aplicada. La materia orgánica es uno de los componentes más importantes del suelo, influyendo prácticamente en todas las propiedades del suelo (físicas, químicas y biológicas); es decir, en la funcionalidad ambiental y agrícola del suelo (Mondini et al., 2012). Los lodos de depuradora, especialmente el lodo aerobio (AES), aportaron una materia orgánica con compuestos menos polimerizados que la proporcionada por el compost de RSU (MSWC), observándose un aumento de los valores de fracciones lábiles y de formas solubles de carbono (sección 4.1.), y un mayor aporte de formas solubles de nitrógeno (sección 4.2.), provocando distintos efectos en los procesos que ocurren en el suelo.

En las parcelas enmendadas con lodo de depuradora, los procesos de degradación y mineralización de la materia orgánica fueron muy intensos (Bastida et al., 2012), debido a un mayor contenido de formas más fácilmente mineralizables por los microorganismos del suelo (Pedra et al., 2007). De este modo, se produjo un aumento de las emisiones de CO₂ (medidas de respiración realizadas en campo [apartado 4.1.3. y valores de BR en laboratorio (apartado 4.3.3.2.)], como resultado de la estimulación de la actividad microbiana (aumento de los valores de CA y DA, apartado 4.3.3.) por el aumento de formas orgánicas lábiles (DOC, LP1 y LP2, sección 4.1), originando el efecto de activación o "priming effect" (Kuzyakov et al., 2000). Sin embargo, este incremento de la actividad microbiana en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora no produjo un aumento en la biomasa microbiana del suelo (MBC) (apartado 4.3.3.1.). El descenso en los valores de pH del suelo provocado por los procesos de mineralización (Franco-Otero et al., 2012), el aumento de los valores de CE (apartado 4.3.1.2), unido a un aumento de formas lábiles (sección 4.1), originó un estrés ecológico en los microorganismos del suelo, corroborado por un aumento de los valores de MQ y un descenso del ratio MBC/TOC (Anderson y Domsch, 2010). Por otro lado, el compost de RSU aportó una materia

orgánica más polimerizada y estabilizada (González-Ubierna et al., 2012), con un mayor contenido de formas recalcitrantes (R) (sección 4.1), produciendo un aumento de la biomasa microbiana y un efecto positivo en la actividad microbiana (apartado 4.3.3.).

Con respecto a las formas solubles de nitrógeno, los lodos de depuradora aportaron una mayor cantidad de nitrógeno en forma de amonio que el compost de RSU (sección 4.2), debido a su composición (Tabla 3.3.) y a un aumento de la actividad proteasa (PA) (apartado 4.3.3.4.). El aumento en el contenido de amonio del suelo, procedente de la enmienda y de los procesos de mineralización del nitrógeno orgánico, provocó que los procesos de nitrificación se intensificaran (aumento significativo de los valores de potencial de nitrificación, apartado 4.2.2.), aumentando significativamente el contenido de nitratos (Robertson y Groffman, 2007) y, por tanto, incrementando la posibilidad de ser lixiviados hacia capas más profundas del perfil del suelo (Carneiro et al., 2012). En el caso del compost de RSU, la mineralización más lenta del nitrógeno orgánico, unido a que el proceso de compostaje pudo afectar a las poblaciones de oxidantes del amonio (Innerebner et al., 2006), el contenido de nitrato fue menor que en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora (apartado 4.2.2.). Además, las propiedades físicas del suelo se vieron afectadas por la aplicación de las enmiendas, aumentando la porosidad, capacidad de almacenamiento de agua, así como la estabilidad de los agregados, y disminuyendo la densidad aparente (apartado 4.3.2.). Sin embargo, el efecto que tuvo el tipo de enmienda no se observó inmediatamente.

Las parcelas enmendadas con lodo de depuradora, principalmente AES, después de un proceso de estrés ecológico y una mayor intensidad en los procesos de degradación y mineralización de la materia orgánica, recuperaron el status de equilibrio ecológico: i) descenso en los valores de respiración (apartado 4.1.3. y 4.3.3.2.) y aumento de los valores de MBC/TOC (apartado 4.3.3.1.), ii) recuperación de algunas actividades enzimáticas (apartado 4.3.3.4.), y iii) aumento del pH y descenso de CE (apartado 4.3.1.). Debido a la intensificación de los procesos de mineralización de la materia orgánica, los niveles de TOC y N_T en las parcelas enmendadas con lodo de depuradora sufrieron un descenso significativo al cabo de un año de experimentación (sección 4.1. y 4.2.). Al contrario que los lodos de depuradora, las parcelas enmendadas con compost de RSU mantuvieron niveles

elevados de TOC y N_T , y la biomasa microbiana y su actividad permanecieron elevadas y estables (sección 4.3.3.), debido al aporte de una materia orgánica más estabilizada y compleja (Jiménez et al., 2007). Este aporte de una materia orgánica con formas más recalcitrantes tuvo un efecto positivo y a largo plazo en la estabilidad estructural de los agregados (Spaccini y Piccolo, 2013), aumentando los valores de MWD en estas parcelas (sección 4.3.2.2.).

A lo largo del segundo año de experimentación, la influencia en el tipo de enmienda se va atenuando. Los procesos de transformación de la materia orgánica ya no fueron tan intensos en las parcelas enmendadas con lodo. Así, en las parcelas enmendadas con lodo aerobio los parámetros estudiados fueron muy similares a los encontrados en el suelo sin enmendar; el lodo anaerobio mostró un comportamiento intermedio, mientras que el compost de RSU fue el tratamiento que mayor influencia tuvo en los parámetros medidos en el suelo a largo plazo.

5.2. ¿Cómo interactúan los factores climáticos con los distintos tratamientos?

Los factores climáticos influyeron de manera significativa en muchas de las variables estudiadas, ya que las particularidades climáticas de la región mediterránea condicionan la mayor parte de los procesos que ocurren en el suelo. Esta influencia climática se ve reflejada en los cambios estacionales que muestran las variables estudiadas, principalmente cuando se atenúa la influencia que ejerce el tipo de enmienda.

La humedad y la temperatura, juegan un papel fundamental en la actividad de los microorganismos del suelo, por lo que los procesos de transformación de la materia orgánica se ven afectados (Sullivan et al., 2012). Esta influencia en los procesos de transformación se observa en las medidas de respiración del suelo (CO_2), encontrándose mínimos en los muestreos de invierno (9 y 21 meses después de la aplicación de las enmiendas, apartado 4.1.3.) coincidiendo con los mínimos de temperatura, y máximos en los muestreos de primavera (12 y 24 meses después de la aplicación de las enmiendas, apartado 4.1.3.), cuando la humedad y temperatura son favorables para el incremento de la actividad biológica. En cuanto a los procesos de transformación de los compuestos nitrogenados, los factores climáticos también

influyeron significativamente (Tabla 4.2.1.). Así, un alto contenido en humedad y una temperatura elevada producen un aumento de los procesos de mineralización del nitrógeno y como consecuencia un aumento del contenido en amonio. Este incremento en el contenido de amonio del suelo inducirá la activación de las poblaciones nitrificantes, intensificándose los procesos de nitrificación (apartado 4.1.3.).

Además de la influencia en los procesos de transformación, los factores climáticos fueron claves en la evolución de las propiedades físico-químicas del suelo y en los procesos de movilidad de las sustancias solubles del suelo. El clima mediterráneo se caracteriza por un periodo de sequía estival (al menos dos meses) y una alta variabilidad en las precipitaciones, concentrándose principalmente en primavera y otoño. Estas variaciones estacionales van a influir en la dinámica de la salinidad del suelo (CE). Así en periodos con temperaturas elevadas y secos (verano) se produjo un aumento de la concentración de sales en las parcelas enmendadas (apartado 4.3.1.2.), debido a las sales aportadas por las enmiendas o por los iones liberados en los procesos de mineralización de la materia orgánica. En ocasiones se pueden producir limitaciones en el desarrollo y actividad de los microorganismos (ver apartado 4.3.3.). Esta concentración de sales puede sufrir procesos de lavado hacia capas más profundas del suelo si las precipitaciones son suficientes para permitir su movilidad, como ocurre en los muestreos de invierno y primavera (apartado 4.3.1.2.). Del mismo modo, la dinámica de las formas inorgánicas de carbono se vieron afectadas por la estacionalidad, disminuyendo los valores de bicarbonato ácido soluble en los muestreos de verano y otoño (apartado 4.1.1.) debido a la falta de agua en el suelo (Serrano-Ortiz et al., 2010).

En cuanto a la movilidad de sustancias solubles a través del perfil del suelo, los factores climáticos influyeron en los procesos de lixiviación, ya que determinan las entradas (precipitación) y salidas (evapotranspiración) de agua a lo largo del año y, por tanto, la cantidad de agua que percola a través de la matriz del suelo (Nieder y Benbi, 2008). El balance entre la percolación de la precipitación y la evapotranspiración originó una alternancia de flujos ascendentes, descendentes y nulos. Este hecho es especialmente relevante para evaluar la movilidad de los nitratos producidos por la aplicación de las enmiendas. Numerosos autores han descrito que la máxima probabilidad de lixiviación de nitratos en clima mediterráneo sucede a

finales de otoño y principios de invierno (De Paz et al., 2009; Carneiro et al., 2012). Los resultados obtenidos concuerdan con esta hipótesis, observándose un descenso de los valores de nitratos en la capa superficial del suelo (0-20 cm) en las parcelas enmendadas y aumentando en la capa subsuperficial (20-40 cm) en los muestreos correspondientes a estas estaciones (apartado 4.2.2.). Además, este descenso coincide con los resultados obtenidos en la aplicación del modelo (Figura 4.2.6.), ya que en los meses de invierno (entre 9-12 y 21-24 meses después de la aplicación de las enmiendas) es cuando se produce un mayor flujo descendente, encontrándose la concentración máxima del soluto fuera de la zona de raíces (RD), aunque muy próxima a ella. A pesar de estas variaciones temporales provocadas por la variabilidad estacional, los resultados aportados por la aplicación del modelo de flujo y transporte en la zona no saturada demostraron que la percolación hacia el nivel freático fue nula (Figura 4.2.5.). Las características climáticas de las regiones semiáridas, hacen que los tiempos de tránsito de los contaminantes en la zona no saturada sean largos (McMahon et al., 2006).

5.3. ¿Cómo interacciona el tipo de suelo con las distintas enmiendas?

La tipología del suelo donde se aplican las enmiendas orgánicas, junto con los factores climáticos, proporcionan unas condiciones edafo-climáticas particulares que condicionan los procesos que ocurren en el suelo (Fumagalli et al., 2013). Entre las características particulares del suelo objeto de estudio destacan la presencia de carbonatos en la matriz del suelo, así como la existencia de cambios texturales a lo largo del perfil que condicionan la movilidad de las sustancias solubles.

El suelo de estudio se formó a partir de sedimentos de origen aluvial ricos en carbonato cálcico y yesos, con una matriz carbonatada con valores de carbonato cálcico alrededor de un 8% (Figura 3.4.). Los suelos carbonatados son típicos de zonas áridas y semiáridas y tienen la capacidad de amortiguar las variaciones de pH que se puedan producir mediante el equilibrio carbonato-bicarbonato (Choudhary et al., 2011). Este se ha puesto de manifiesto en la evolución de los valores de pH del suelo. Tras la aplicación de las enmiendas, los valores de pH disminuyeron significativamente (Figura 4.3.1.), produciendo una ligera disminución en el contenido de carbonato del suelo, especialmente en las parcelas enmendadas con los

dos tipos de lodos. Tal y como propone (Hemmat et al., 2010). Este efecto tampón no fue muy prolongado en el tiempo, ya que los valores se recuperaron después de un año de la aplicación, a diferencia de lo que sucede en suelos ácidos donde se pueden mantener este descenso del pH durante periodos de tiempo más prolongados (Enwall et al., 2007). Por lo tanto en este caso el suelo es capaz de amortiguar el descenso en los valores de pH tras la aplicación de enmiendas orgánicas.

Otro aspecto a considerar, es el carácter débilmente salino del suelo por la presencia de sales solubles procedentes de los sedimentos aluviales, principalmente yeso. La aplicación de las enmiendas, especialmente con lodos de depuradora, supuso un aumento de la salinidad del suelo, como se demuestra por el aumento en los valores de conductividad eléctrica (Figura 4.3.2.). Este incremento de la salinidad del suelo disminuyó durante el segundo año producido por una migración de elementos solubles a horizontes subyacentes, por lo que previsiblemente se estaría produciendo un aumento moderado de la salinidad del suelo.

En relación con la estructura interna del suelo, la aplicación de las enmiendas originó variaciones en las propiedades físicas del horizonte superficial, tal y como demuestran los cambios en el aumento de los valores de densidad aparente, porosidad, capacidad de almacenamiento de agua y la estabilidad de los agregados (apartado 4.3.2.). Estos cambios sólo afectaron a las propiedades físicas de los primeros 20 cm del suelo. El análisis de las propiedades texturales del suelo en horizontes subyacentes sirvió para estimar la movilidad de los solutos a través del perfil del suelo y, por tanto, la evaluación del riesgo potencial de contaminación de las aguas subterráneas. El suelo presenta una alta variabilidad en relación a su textura y conductividad hidráulica (Tabla 3.2.). Los primeros 30 cm del suelo presentan una elevada conductividad hidráulica derivada de la modificación de la estructura. Sin embargo a partir de esta profundidad (30-40 cm) se desarrolla una suela de labor, debido al uso intensivo de maquinaria agrícola, que supone una disminución considerable de la K_s pasando de más de 200 cm/d a 7 cm/d (Tabla 3.2). A partir de 40 cm de profundidad se aprecian diferentes cambios texturales derivados del antiguo origen fluvial de este suelo, observándose una variación de las clases texturales en función de un gradiente de profundidad desde horizontes ricos en arcilla (franco arcilloso) hasta arena. A partir de 150 cm, el contenido en arena es muy elevado (81%); lo que supone un drenaje libre de la solución del suelo

procedente de horizontes superiores. Este hecho supone que el riesgo de contaminación de las aguas subterráneas es potencialmente elevado. Sin embargo tal y como se ha descrito en el apartado 4.2.3., la conjunción de los factores "tipo de suelo" y "tipo de clima", impide que se produzca una contaminación efectiva y que se esté originando una acumulación de elementos solubles contaminantes ("bomba de tiempo") (Wang et al., 2012). Estos contaminantes podrían alcanzar las aguas subterráneas si se modifican las entradas de agua, ya sea por un aumento de la precipitación o mediante el establecimiento de riego adicional (Figura 4.2.7.).

5.4. Recomendaciones de uso y gestión en la aplicación de los residuos orgánicos biodegradables como enmiendas

A partir de los resultados derivados de esta investigación, se pueden establecer las siguientes recomendaciones para el uso y la gestión de los residuos orgánicos biodegradables como enmiendas:

- 1- Se recomienda el uso de enmiendas que hayan sufrido un proceso de post-tratamiento que origine una materia orgánica más estabilizada (compostaje).
- 2- En el caso de emplear lodos de depuradora, se aconseja el uso de lodos procedentes de depuradoras con tratamiento anaerobio en su línea de lodos.
- 3- Se recomienda el uso de enmiendas en cultivos sin riego y con una alta demanda de nitrógeno.
- 4- La aplicación de las enmiendas orgánicas deben estar planificadas para evitar la coincidencia de máximos en la concentración de formas solubles de nitrógeno con períodos de lluvias, con el fin de evitar su transporte hacia las aguas subterráneas.
- 5- El uso de herramientas predictivas, como modelos matemáticos de flujo y transporte de la zona no saturada, ayuda a evaluar los posibles riesgos de contaminación de las aguas subterráneas.
- 6- Se recomienda el uso de enmiendas en suelos que estén sufriendo fenómenos de compactación.

CONCLUSIONES

6. Conclusiones

La aplicación de altas dosis de residuos orgánicos biodegradables en un suelo agrícola mediterráneo modifica la evolución de los componentes de carbono y nitrógeno del suelo y sus propiedades físicas, físico-químicas y biológicas, siendo moduladas por las condiciones edafo-climáticas.

Evolución del carbono del suelo

-Al inicio de la aplicación se produce un descenso significativo del carbonato ácido soluble, principalmente en los tratamientos con lodo de depuradora. Sin embargo, la existencia de carbonato cálcico permite la recuperación de los valores

- El contenido de las diferentes formas de carbono (carbono orgánico disuelto, formas lábiles y recalcitrantes) se incrementa tras la aplicación de las enmiendas. Sin embargo el tipo de residuo es decisivo en su evolución:

- El compost de residuos sólidos urbanos aplicado aporta un carbono más recalcitrante, lo que permite su mantenimiento en el suelo durante un periodo prolongado de tiempo.
- Los lodos de depuradora aplicados, con tratamiento aerobio y anaerobio, aportan mayor proporción de carbono orgánico más lábil, que potencia los procesos de mineralización; produciendo una disminución progresiva del contenido de carbono en el suelo. Este hecho conlleva un aumento significativo de las emisiones de CO₂.

Evolución del nitrógeno del suelo

- El contenido de nitrógeno total y sus formas solubles se incrementan tras la aplicación y varía según el tipo de enmienda:

- Los lodos de depuradora aplicados proporcionan más formas solubles de nitrógeno que el compost de residuos sólidos urbanos, debido al mayor contenido de amonio que favorece los procesos de nitrificación. Además la naturaleza lábil de la materia orgánica intensifica los procesos de mineralización del nitrógeno orgánico.
- A pesar del aumento de las formas nitrogenadas solubles, el modelo matemático de flujo y transporte aplicado indica que los lixiviados no llegan a

las aguas subterráneas, debido a los factores climáticos y a las características texturales del perfil del suelo.

- Las formas nitrogenadas solubles podrían acumularse en la zona no saturada, formando una "bomba de tiempo", que obligaría a controlar la entrada de agua al sistema para evitar procesos de contaminación.

Evolución de las propiedades del suelo

- Las propiedades físico-químicas, físicas y biológicas se ven afectadas tras la aplicación de las enmiendas:

- Todas las enmiendas aplicadas provocan un descenso significativo de los valores de pH, que se amortiguan con el tiempo debido al efecto tampón del suelo carbonatado.
- La conductividad eléctrica aumenta de forma temporal en los horizontes superficiales. Sin embargo el lavado de sales hacia horizontes más profundos hace que estas diferencias desaparezcan con el tiempo.
- La aplicación de las enmiendas aumenta la porosidad, la capacidad de almacenamiento de agua y la estabilidad estructural de los agregados, siendo el compost de residuos sólidos urbanos el que contribuye de manera más eficaz a la estabilidad estructural.
- La aplicación de los lodos de depuradora supuso un incremento del cociente metabólico y la respiración basal, sin un aumento de la biomasa microbiana, lo que nos indica un estrés ambiental.
- La actividad enzimática se modifica de forma variable tras la aplicación de las enmiendas, desapareciendo las diferencias una vez superado el estrés ambiental.
- La aplicación del compost de residuos sólidos urbanos produjo un aumento de la biomasa microbiana y tuvo un efecto positivo en la actividad de los microorganismos del suelo, debido a la naturaleza más estable de los compuestos orgánicos aportados por esta enmienda.

BIBLIOGRAFÍA

7. Bibliografía

- Abbott, L.K., Murphy, D.V., 2003. Soil Biological Fertility - A key to sustainable land use in agriculture. in: Abbott, L.K., Murphy, D.V. (Eds), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 264 pp.
- Abiven, S., Menasseri, S., Chenu, C., 2009. The effects of organic inputs over time on soil aggregate stability- A literature analysis. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1-12.
- Abouabdillah, A., Oueslati, O., De Girolamo, A.M., Porto, A.L., 2010. Modeling the impact of climate change in a mediterranean catchment (Merguellil, Tunisia). *Fresenius Environmental Bulletin* 59, 2334-2347.
- Actis, G., Luzzatti, A., Marchesini, A., Siragusa, N., Milazzo, G., 1981. Compost Derived from the Bioconversion of Urban Wastes. *Studies in Environmental Science* 9, 163-171.
- Aggelides, S.M., Londra, P.A., 2000. Effects of compost produced from town wastes and sewage sludge on the physical properties of a loamy and a clay soil. *Bioresource Technology* 71, 253-259.
- AGMASM, 2011. Memoria de Actividades de la Dirección General del Parque Tecnológico de Valdemingómez, año 2011. Área de Gobierno de Medio Ambiente, Seguridad y Movilidad, Madrid, 174 pp.
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F., 2000. Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology* 75, 43-48.
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F., 2001. Organic matter components, aggregate stability and biological activity in a horticultural soil fertilized with different rates of two sewage sludges during ten years. *Bioresource Technology* 77, 109-114.
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., Smith, M., 1998. Crop evapotranspiration. Guidelines for computing crop water requirements, in: *FAO Irrigation and drainage (paper 56)*. FAO, Rome.
- Allison, L.E., Moodie, C.D., 1965. Methods of soil analysis, in: Black, C.A., (Ed.), Part 2: Chemical and microbiological properties. American Society and Agronomy, Madison, Wisconsin, pp. 1379-1396.

- Allison, S.D., Martiny, J.B.H., 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 115-129.
- Almagro, M., López J., Querejeta J.I., Martínez-Mena, M., 2009. Temperature dependence of soil CO₂ efflux is strongly modulated by seasonal patterns of moisture availability in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 594-605.
- Alvarenga, P., Palma, P., Gonçalves, A.P., Fernandes, R.M., Cunha-Queda, A.C., Duarte, E., Vallini, G., 2007. Evaluation of chemical and ecotoxicological characteristics of biodegradable organic residues for application to agricultural land. *Environment International* 33, 505-513.
- Álvarez, C.R., Alvarez, R., Grigera, M.S., Lavado, R.S., 1998. Associations between organic matter fractions and the active soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 767-773.
- Alvarez, R., Lidén, G., 2008. Semi-continuous co-digestion of solid slaughterhouse waste, manure and fruit and vegetable waste. *Renewable Energy* 33, 726-734.
- Anderson, T.H., Domsch, K.H., 2010. Soil microbial biomass: the ecophysiological approach. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2039-2043.
- Andrés, P., Mateos, E., Tarrasón, D., Cabrera, C., Figuerola, B., 2011. Effects of digested, composted, and thermally dried sewage sludge on soil microbiota and mesofauna. *Applied Soil Ecology* 48, 236-242.
- Andrews, R.J., Lloyd, J.W., Lerner, D.N., 1997. Modelling of nitrate leaching from arable land into unsaturated soil and chalk 1. Development of a management model for applications of sewage sludge and fertilizer. *Journal of Hydrology* 200, 179-197.
- Annabi, M., Le Bissonnais, Y., Le Villio-Poitrenaud, M., Houot, S., 2011. Improvement of soil aggregate stability by repeated applications of organic amendments to a cultivated silty loam soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 144, 382-389.
- Antolín, M.C., Fiasconaro, M.L., Sánchez-Díaz, M., 2010. Relationship between photosynthetic capacity, nitrogen assimilation and nodule metabolism in alfalfa (*Medicago sativa*) grown with sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials* 182, 210-216.
- Antolín, M.C., Pascual, I., García, C., Polo, A., Sánchez-Díaz, M., 2005. Growth, yield and solute content of barley in soils treated with sewage sludge under semiarid Mediterranean conditions. *Field Crops Research* 94, 224-237.

- Antoniadis, V., Alloway, B.J., 2002. The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils. *Environmental Pollution* 117, 515-521.
- Aragón, C., 2009. Optimización del proceso de lodos activos para reducir la generación de fangos residuales. PhD Thesis, Universidad de Cádiz, 2009 (España), 299 pp.
- Araújo, A.S.F., de Melo, W.J., Singh, R.P., 2010. Municipal solid waste compost amendment in agricultural soil: changes in soil microbial biomass. *Reviews in Environmental Science Biotechnology* 9, 41-49.
- Arauzo, M., Martínez-Bastida, J.J., Valladolid, M., Díez, J.A., 2010. Field evaluation of Gee Passive Capillary Lysimeters for monitoring drainage in non-gravelly and gravelly alluvial soils: A useful tool to estimate nitrogen leaching from agriculture. *Agricultural Water Management* 97, 465-474.
- Arbat, G., Roselló, A., Domingo-Olivé, F., Puig-Bargués, J., González-Llinàs, E., Duran-Ros, M., Pujol, J., Ramírez de Cartagena, F., 2013. Soil water and nitrate distribution under drip irrigated corn receiving pig slurry. *Agricultural Water Management* 120, 11-22.
- Ashworth, D.J., Alloway, B.J., 2004. Soil mobility of sewage sludge-derived dissolved organic matter, copper, nickel and zinc. *Environmental Pollution* 127, 137-144.
- Badawy, S.H., Helal, M.I.D., Chaudri, A.M., Lawlor, K., McGrath, S.P., 2002. Soil solid-phase controls leads activity in soil solution. *Journal of Environmental Quality* 31, 162-167.
- Balogh, J., Pintér, K., Fóti, S.Z., Cserhalmi, D., Papp, M., Nagy, Z., 2011. Dependence of soil respiration on soil moisture, clay content, soil organic matter, and CO₂ uptake in dry grasslands. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1006-1013.
- Banerjee, M.R., Burton, D.L., Depoe, S., 1997. Impact of sewage sludge application on soil biological characteristics. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 66, 241-249.
- Basso, B., Ritchie, J.T., 2005. Impact of compost, manure and inorganic fertilizer on nitrate leaching and yield for a 6-year maize–alfalfa rotation in Michigan. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 108, 329-341.
- Bastida, F., Jindo, K., Moreno, J.L., Hernández, T., García, C., 2012. Effects of organic amendments on soil carbon fractions, enzyme activity and humus-enzyme complexes under semi-arid conditions. *European Journal of Soil Biology* 53, 94-102.

- Bastida, F., Kandeler, E., Moreno, J.L., Ros, M., García, C., Hernández, T., 2008. Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Applied Soil Ecology* 42, 318-329.
- Bastida, F., Moreno, J.L., García, C., Hernández, T., 2007. Addition of urban waste to semiarid degraded soil: long-term effect. *Pedosphere* 17, 557-567.
- Bastida, F., Pérez-de-Mora, A., Babic, K., Hai, B., Hernández, T., García, C., Schloter, M., 2009. Role of amendments on N cycling in Mediterranean abandoned semiarid soils. *Applied Soil Ecology* 41, 195-205.
- Belser, L.W., Mays, E.L., 1980. Specific inhibition of nitrite oxidation by chlorate and its use in assessing nitrification in soils and sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 39, 505-510.
- Benitez, 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.
- Bernal, M.P., Navarro, F., Sánchez-Monedero, M.A., Roig, A., Cegarra, J., 1998. Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 305-313.
- Bernal, M.P., Roig, A., Lax, A., Navarro, A.F., 1992. Effects of the application of pig slurry on some physico-chemical and physical properties of calcareous soils. *Bioresource Technology* 42, 233-239.
- Bhogal, A., Nicholson, F.A., Chambers, B.J., Shepherd, M.A., 2003. Effects of past sewage sludge additions on heavy metals availability in light textured soils: implications for crop yields and metal uptakes. *Environmental Pollution* 121, 413-23.
- Bidisha, M., Joerg, R., Yakov, K., 2010. Effects of aggregation processes on distribution of aggregate size fractions and organic C content of a long-term fertilized soil. *European Journal of Soil Biology* 46, 365-370.
- BOE, 1990. Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario. BOE 262.
- BOE, 1996. Real Decreto 261/1996, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias. BOE 61.

- BOE, 2009. Resolución de 20 de enero de 2009, de la Secretaría de Estado de Cambio Climático, por la que se publica el Acuerdo del Consejo de Ministros por el que se aprueba el Plan Nacional Integrado de Residuos para el período 2008-2015.
- BOE, 2011. Ley 22/2011, de 28 de julio, de residuos y suelos contaminados. BOE 181.
- Bol, R., Kandeler, E., Amelung, W., Glaser, B., Marx, M.C., Preedy, N., Lorenz, K., 2003. Short-term effects of dairy slurry amendment on carbon sequestration and enzyme activities in a temperate grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 1411-1421.
- Bolan, N.S., Kunhikrishnan, A., Choppala, G.K., Thangarajan, R., Chung, J.W., 2012. Stabilization of carbon in composts and biochars in relation to carbon sequestration and soil fertility. *Science of the Total Environment* 424, 264-270.
- Bonjoch, X., Blanch, A., 2009. Resistance of faecal coliforms and enterococci populations in sludge and biosolids to different hygienisation treatments. *Microbial Ecology* 57, 478-483.
- Bozkurt, M.A., Akdeniz, H., Keskin, B., Yılmaz, İ.H., 2006. Possibilities of using sewage sludge as nitrogen fertilizer for maize. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science* 56, 143-149.
- Brady, N.C., Weil, R.R., 1999. Soil organic matter. The nature and properties of soils. 12th ed. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, New Jersey, pp. 446-489.
- Brendecke, J.W., Axelson, R.D., Pepper, I.L., 1993. Soil microbial activity as an indicator of soil fertility: Long-term effects of municipal sewage sludge on an arid. *Soil Biology and Biochemistry* 25, 751-758.
- Brookes, P.C., Cayuela, M.L., Contin, M., De Nobili, M., Kemmitt, S.J., Mondini, C., 2008. The mineralisation of fresh and humified soil organic matter by the soil microbial biomass. *Waste Management* 28, 716-722.
- Burauel, P., Baßmann, F., 2005. Soils as filter and buffer for pesticides-experimental concepts to understand soil functions. *Environmental Pollution* 133, 11-16.
- Burns, R.G., 1982. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology and Biochemistry* 14, 423-427.
- Cai, Y., Huang, G.H., Nie, X.H., Li, Y.P., Tan, Q., 2007. Municipal Solid Waste Management Under Uncertainty: A Mixed Interval Parameter Fuzzy-Stochastic Robust Programming Approach. *Environmental Engineering Science* 24, 338-352.

- Calbrix, R., Barray, S., Chabrierie, O., Fourrie, L., Laval, K., 2007. Impact of organic amendments on the dynamics of soil microbial biomass and bacterial communities in cultivated land. *Applied Soil Ecology* 35, 511-522.
- Cameira, M.R., Fernando, R.M., Ahuja, L.R., Ma, L., 2007. Using RZWQM to simulate the fate of nitrogen in field soil–crop environment in the Mediterranean region. *Agricultural Water Management* 90, 121-136.
- Carbonell, G., Pro, J., Gómez, N., Babín, M.M., Fernández, C., Alonso, E., Tarazona, J.V., 2009. Sewage sludge applied to agricultural soil: Ecotoxicological effects on representative soil organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 1309-1319.
- Carneiro, J.P., Coutinho, J., Trindade, H., 2012. Nitrate leaching from a maize × oats double-cropping forage system fertilized with organic residues under Mediterranean conditions. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 160, 29-39.
- Carreira, J.A., Niell, F.X., Lajtha, K., 1994. Soil nitrogen availability and nitrification in Mediterranean shrublands of varying fire history and successional stage. *Biogeochemistry* 26, 189-209.
- Casado-Vela, J., Sellés S., Navarro, J., Bustamante, M.A., Mataix, J.C., Guerrero, C., Gómez, I., 2006. Evaluation of composted sewage sludge as nutritional source for horticultural soils. *Waste Management* 26, 946-952.
- Casado-Vela, J., Sellés, S., Díaz-Crespo, C., Navarro-Pedreño, J., Mataix-Beneyto, J., Gómez, I., 2007. Effect of composted sewage sludge application to soil on sweet pepper crop (*Capsicum annuum* var. *annuum*) grown under two exploitation regimes. *Waste Management* 27, 1509-1518.
- Casermeiro, M.A., Castaño, S., de la Cruz, M.T., García-Montero, L.G., Hernando, M.I., Navarro-García, F., 2007. Metodología para estudiar el impacto sobre el cambio climático de la aplicación de lodos de depuradora al suelo. Efectos en el secuestro de carbono, in: Casermeiro, M.A., Espluga, A.P., Desdentado, L.D., Díaz, M., García-Montero, L.G., Sobrini, I., Andrés, M. (Eds.), *Evaluación de Impacto Ambiental en España: nuevas perspectivas*. Asociación Española de EIA, Madrid, pp. 29-34.
- Castaldi, S., Rutigliano, F.A., Virzo de Santo, A., 2004. Suitability of soil microbial parameters as indicators of heavy metal pollution. *Water Air Soil Pollution* 158, 21-35.

- Cayuela, M.L., Mondini, C., Sánchez-Monedero, M.A., Roig, A., 2008. Chemical properties and hydrolytic enzyme activities for the characterisation of two-phase olive mill wastes composting. *Bioresource Technology* 99, 4255-4262.
- Chalhoub, M., Garnier, P., Coquet, Y., Mary, B., Lafolie, F., Houot, S., 2013. Increased nitrogen availability in soil after repeated compost applications: Use of the PASTIS model to separate short and long-term effects. *Soil Biology and Biochemistry* 65, 144-157.
- Chen, S., Huang, Y., Zou, J., Shen, Q., Hu, Z., Qin, Y., Chen, H., Pan, G., 2010. Modeling interannual variability of global soil respiration from climate and soil properties. *Agriculture and Forest Meteorology* 150, 590-605.
- Chenu, C., 1989. Influence of a fungal polysaccharide, scleroglucan, on clay microstructures. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 299-305.
- Choudhary, O.P., Ghuman, B.S., Bijay-Singh, Thuy, N., Buresh, R.J., 2011. Effects of long-term use of sodic water irrigation, amendments and crop residues on soil properties and crop yields in rice–wheat cropping system in a calcareous soil. *Field Crops Research* 121, 363-372.
- Clarke, B.O., Smith, S.R., 2011. Review of ‘emerging’ organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids. *Environment International* 37, 226-247.
- Cogger, C.G., 2005. Potential compost benefits for restoration of soils disturbed by urban development. *Compost Science and Utilization* 13, 243-251.
- Cogger, C.G., Bary, A.I., Fransen, S.C., Sullivan, D.M., 2001. Seven Years of Biosolids versus Inorganic Nitrogen Applications to Tall Fescue. *Journal of Environmental Quality* 30, 2188-2194.
- Conant, R.T., Dalla-Betta, P., Klopatek, C.C., Klopatek, J.M., 2004. Controls on soil respiration in semiarid soils. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 945-951.
- Conant, R.T., Klopatek, J.M., Klopatek, C.C., 2000. Environmental factors controlling soil respiration in three semiarid ecosystems. *Soil Science Society of America Journal* 64, 383-390.
- Contin, M., Goi, D., De Nobili, M., 2012. Land application of aerobic sewage sludge does not impair methane oxidation rates of soils. *Science of the Total Environment* 441, 10-18.

- Corrêa, R.S., White, R.E., Weatherley, A.J., 2006. Effect of compost treatment of sewage sludge on nitrogen behavior in two soils. *Waste Management* 26, 614-619.
- Criquet, S., Braud, A., Nèble, S., 2007. Short-term effects of sewage sludge application on phosphatase activities and available P fractions in Mediterranean soils. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 921-929.
- Crooke, W.M., Simpson, W.E., 1971. Determination of ammonium in Kjeldahl digests of crops by an automated procedure. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 22, 9-10.
- Cruz, C., Bio, A.M.F., Jullioti, A., Tavares, A., Dias, T., Martins-Loução, M.A., 2008. Heterogeneity of soil surface ammonium concentration and other characteristics, related to plant specific variability in a Mediterranean-type ecosystem. *Environmental Pollution* 154, 414-423.
- Davidson, E.A., Savage, K., Verchot, L.V., Navarro, R., 2002. Minimizing artefacts and biases in chamber-based measurements of soil respiration. *Agriculture and Forest Meteorology* 113, 21-37.
- DBK, 2012. Informe sobre la actividad de explotación de plantas de depuración de aguas residuales (EDAR) en España. DBK, Grupo CESCE.
- De las Heras, J., Mañas, P., Labrador, J., 2005. Effects of several applications of digested sewage sludge on soils and plants. *Journal of Environmental Science and Health Part. A* 40, 437-451.
- Delgado-Rodríguez, M.R., 2012. Optimización de las variables implicadas en el proceso de compostaje de RSU para minimizar la emisión de compuestos orgánicos volátiles. PhD Thesis, Universidad de Huelva, 2012 (España), 174 pp.
- De Lucia, B., Cristiano, G., Vecchietti, L., Bruno, L., 2013. Effect of different rates of composted organic amendment on urban soil properties, growth and nutrient status of three Mediterranean native hedge species. *Urban Forestry and Urban Greening* 12, 537-545.
- De Neve, S., Hofman, G., 2000. Influence of soil compaction on carbon and nitrogen mineralization of soil organic matter and crop residues. *Biology and Fertility of Soils* 30, 544-549.

- De Paz, J.M., Albert, C., Delgado, J.A., 2009. NLEAP-GIS modelling in a Mediterranean region of Spain, in: Grignani, C., Acutis, M., Zavattaro, L., Bechini, L., Bertota, C., Gallina, P., Sacco, D. (Eds.), *Proceedings of the 16th Nitrogen Workshop Connecting Different Scales of Nitrogen Use in Agriculture*. Turin, pp. 515-516.
- Dere, A.L., Stehouwer, R.C., 2011. Labile and stable nitrogen and carbon in mine soil reclaimed with manure-based amendments. *Soil Science Society of America Journal* 75, 890-897.
- de Santiago-Martín, A., Valverde-Asenjo, I., Quintana, J.R., Vázquez, A., Lafuente, A.L., González-Huecas, C., 2013. Metal extractability patterns to evaluate (potentially) mobile fractions in periurban calcareous agricultural soils in the Mediterranean area—analytical and mineralogical approaches. *Environmental Science and Pollution Research*, doi: 10.1007/s11356-013-1684-z.
- Deviren Saygın, S., Cornelis, W.M., Erpul, G., Gabriels, D., 2012. Comparison of different aggregate stability approaches for loamy sand soils. *Applied Soil Ecology* 54, 1-6.
- Dexter, A.R., Bird, N.R.A., 2001. Methods for predicting the optimum and the range of soil water contents for tillage based on the water retention curve. *Soil and Tillage Research* 57, 203-212.
- Díaz-Hernández, J.L., Barahona-Fernández, E., Linares-González, J., 2003. Organic and inorganic carbon in soils of semiarid regions: a case study from the Guadix–Baza basin (Southeast Spain). *Geoderma* 114, 65-80.
- Dick, R.O., Breakwell, D.P., Turco, R.F., 1996. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators, in: Doran, J.W., Jones A.J., (Eds.), *Methods for Assessing Soil Quality*, Special Publication, vol. 49, Soil Science Society of America, Madison, pp. 247-271.
- Dick, W.A., Tabatabai, M.A., 1993. Significance and potential use of soil enzymes, in: Meeting, F.B. (Ed.), *Soil Microbial Ecology: Application in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker, New York, pp. 95-125.
- Doelsch, E., Masion, A., Cazevieuille, P., Condom, N., 2009. Spectroscopic characterization of organic matter of a soil and vinasse mixture during aerobic or anaerobic incubation. *Waste Management* 29, 1929-1935.

- Domene, X., Colón, J., Uras, M.V., Izquierdo, R., Àvila, A., Alcañiz, J.M., 2010. Role of soil properties in sewage sludge toxicity to soil collembolans. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1982-1990.
- Doran, J.W., Zeiss, M.R., 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology* 15, 3-11.
- Dou, F., Wright, A.L., Hons, F.M., 2007. Depth distribution of soil organic C and N after long-term soybean cropping in Texas. *Soil Tillage and Research* 94, 530-536.
- Eigenberg, R.A, Doran, J.W., Nienaber, J.A., Ferguson, R.B., Woodbury, B.L., 2002. Electrical conductivity monitoring of soil condition and available N with animal manure and a cover crop. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 88, 183-193.
- Eivazi, F., Zakaria, A., 1993. β -glucosidase activity in soils amended with sewage sludge. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 43, 155-161.
- Emberger, L., Gaussen, H., Kassas, M., De Philippis, A., 1963. Carte bioclimatique de la zone méditerranéenne, notice explicative, UNESCO - FAO.
- Enwall, K., Nyberg, K., Bertilsson, S., Cederlund, H., Stenström, J., Hallin, S., 2007. Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 106-115.
- Epstien, E., 1997. *The Science of Composting*. Technomic Publishing Company, CRC Press, Boca Ratón, Florida, 504 pp.
- Escudero, A., González-Arias, A., del Hierro, O., Pinto, M., Gartzia-Bengoetxea, N., 2012. Nitrogen dynamics in soil amended with manures composted in dynamic and static systems. *Journal of Environmental Management* 108, 66-72.
- Esteller, M.V., Martínez-Valdés, H., Garrido, S., Uribe, Q., 2009. Nitrate and phosphate leaching in a Phaeozem soil treated with biosolids, composted biosolids and inorganic fertilizers. *Waste Management* 29, 1936-1944.
- European Commission, 1975. Council Directive 75/442/EEC of 15 July 1975 on waste. *Official Journal of the European Communities*, L 78, pp. 32-37.
- European Commission, 1986. Council Directive 86/278/EEC of 12 June 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. *Official Journal of the European Communities*, L 181, pp. 6-12.

- European Commission, 1991a. Council Directive 91/271/EEC of 21 May 1991 concerning urban wastewater treatment. Official Journal of the European Union, L 135, pp. 40-52.
- European Commission, 1991b. Council Directive 91/676/EEC of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources. Official Journal of the European Journal, L 375, pp. 1-8.
- European Commission, 2000. Council Directive 2000/60/EEC of 23 October 2000 establishing a framework for the community action in the field of water policy (EEU Water Framework Directive). Official Journal of the European Union, L 327, pp. 1-73.
- European Commission, 2001. Organic contaminants in sewage sludge for agricultural use. European Commission Joint Research Centre, Institute for Environment and Sustainability, Soil and Waste Unit. UMEG Center for Environmental Measurements, Environmental Inventories and Product Safety.
- European Commission, 2004. DG Environment. (2004). Preliminary Impact Assessment for an Initiative on the Biological Treatment of Biodegradable Waste. Final Study Report. 16 December, 2004. European Commission. Luxembourg.
- European Commission, 2006. Council Directive 2006/12/EC of 5 April 2006 on waste. Official Journal of the European Union, L 114, pp. 9-21.
- European Commission, 2008. Council Directive 2008/98/EC of 19 November 2008 on waste and repealing certain Directives. Official Journal of the European Communities, L 312, pp. 3-29.
- Fagnano, M., Adamo, P., Zampella, M., Fiorentino, N., 2011. Environmental and agronomic impact of fertilization with composted organic fraction from municipal solid waste: A case study in the region of Naples, Italy. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 141, 100-107.
- Fangueiro, D., Chadwick, D., Dixon, L., Bol, R., 2007. Quantification of priming and CO₂ emission sources following the application of different slurry particle size fractions to a grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2608-2620.
- FAO, 2000. Evaluación de la contaminación del suelo. Manual de referencia. Colección FAO: eliminación de plaguicidas n° 8. FAO, Roma, 209 pp.
- FAO, 2006. World reference base for soil resources (2006). A framework for international classification, correlation and communication. FAO, Roma, 145 pp.

- Farrell, M., Hill, P.W., Farrar, J., Bardgett, R.D., Jones, D.L., 2011. Seasonal variation in soluble soil carbon and nitrogen across a grassland productivity gradient. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 835-844.
- Fernandes, S.A.P., Bettiol, W., Cerri, C.C., 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. *Applied Soil Ecology* 30, 65-77.
- Fernández, J.M., Plaza, C., Hernández, D., Polo, A., 2007. Carbon mineralization in an arid soil amended with thermally-dried and composted sewage sludge. *Geoderma* 137, 497-503.
- Fernández, J.M., Plaza, C., García-Gil, J.C., Polo, A., 2009. Biochemical properties and barley yield in a semiarid Mediterranean soil amended with two kinds of sewage sludge. *Applied Soil Ecology* 42, 18-24.
- Fernández-Gálvez, J., Gálvez, A., Peña, A., Mingorance, M.D., 2012. Soil hydrophysical properties resulting from the interaction between organic amendments and water quality in soils from Southeastern Spain—A laboratory experiment. *Agricultural Water Management* 104, 104-112.
- Ferreras, L., Gomez, E., Toresani, S., Firpo, I., Rotondo, R., 2006. Effect of organic amendments on some physical, chemical and biological properties in a horticultural soil. *Bioresource Technology* 97, 635-640.
- Flavel, T.C., Murphy, D.V., Lalor, B.M., Fillery, I.R.P., 2005. Gross N mineralization rates after application of composted grape marc to soil. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1397-1400.
- Fließbach, A., Martens, R., Reber, H.H., 1994. Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. *Soil Biology and Biochemistry* 26, 1201-1205.
- Fortes Neto, P., 2000. Degradação de biossólido incorporado ao solo avaliada através de medidas microbiológicas. PhD Thesis, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, (Brasil), 113 pp.
- Fourti, O., 2013. The maturity tests during the composting of municipal solid wastes. *Resources, Conservation and Recycling* 72, 43-49.
- Fox, T.R., Comerfield, N.B., 1990. Low molecular weight organic acid in selected forest soils of the south-eastern USA. *Soil Science Society of America Journal* 54, 1763-1767.

- Franco-Otero, V.G., Soler-Rovira, P., Hernández, D., López-de-Sá, E.G., Plaza, C., 2012. Short-term effects of organic municipal wastes on wheat yield, microbial biomass, microbial activity, and chemical properties of soil. *Biology and Fertility of Soils* 48, 205-216.
- Fterich, A., Mahdhi, M., Mars, M., 2012. Impact of grazing on soil microbial communities along a chronosequence of *Acacia tortilis subsp. raddiana* in arid soils in Tunisia. *European Journal of Soil Biology* 50, 56-63.
- Fytili, D., Zabaniotou, A., 2008. Utilization of sewage sludge in EU application of old and new methods—A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 12, 116-140.
- Gao, X., Giorgi, F., 2008. Increased aridity in the Mediterranean region under greenhouse gas forcing estimated from high resolution simulations with a regional climate model. *Global and Planetary Change* 62, 195-209.
- García C., 1990. Estudio del compostaje de residuos orgánicos. Valoración agronómica. PhD Thesis, Universidad de Murcia, 1990 (España).
- García, C., Hernández, T., Costa, F., Ceccanti, B., Masciandaro, G., 1993a. The dehydrogenase activity of soil as an ecological marker in processes of perturbed system regeneration, in: Gallardo-Lancho, J. (Ed.) *Proceedings of the XI international symposium of environmental biochemistry*, Salamanca, Spain, pp. 89-100.
- García, C., Hernández, T., Costa, F., Ceccanti, B., Ganni, A., 1993b. Hydrolases in the organic matter fractions of sewage sludge. Changes with composting. *Bioresource Technology* 45, 47-52.
- García, C., Hernández, T., Costa, F., Ceccanti, B., 1994. Biochemical parameters in soils regenerated by the addition of organic wastes. *Waste Management and Research* 12, 457-466.
- García-Gil, J.C., Plaza, C., Soler-Rovira, P., Polo, A., 2000. Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1907-1913.
- García-Gil, J.C., Plaza, C., Senesi, N., Brunetti, G., Polo, A., 2004. Effects of sewage sludge amendment on humic acids and microbiological properties of a semiarid Mediterranean soil. *Biology and Fertility of Soils* 39, 320-328.

- García-Orenes, F., Cerdá, A., Mataix-Solera, J., Guerrero, C., Bodí, M.B., Arcenegui, V., Zornoza, R., Sempere, J.G., 2009. Effects of agricultural management on surface soil properties and soil-water losses in eastern Spain. *Soil and Tillage Research* 106, 117-123.
- Geisseler, D., Horwath, W.R., Joergensen, R.G., Ludwig, B., 2010. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms – A review. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2058-2067.
- Ghosh, S., Wilson, B., Ghoshal, S., Senapati, N., Mandal, B., 2012. Organic amendments influence soil quality and carbon sequestration in the Indo-Gangetic plains of India. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 156, 134-141.
- Gibson, R., Wang, M.J., Padgett, E., Beck, A.J., 2005. Analysis of 4-nonylphenols, phthalates, and polychlorinated biphenyls in soils and biosolids. *Chemosphere* 61, 1336-1344.
- Gilmour, J.T., Cogger, C.G., Jacobs, L.W., Evanylo, G.K., Sullivan, D.M., 2003. Decomposition and plant available nitrogen in biosolids: laboratory studies, field studies, and computer simulation. *Journal of Environmental Quality* 32, 1498-1507.
- Giubergia, J.P., Martellotto, E., Lavado, R.S., 2013. Complementary irrigation and direct drilling have little effect on soil organic carbon content in semiarid Argentina. *Soil and Tillage Research* 134, 147-152.
- Gleeson, D.B., Herrmann, A.M., Livesley, S.J., Murphy, D.V., 2008. Influence of water potential on nitrification and structure of nitrifying bacterial communities in semiarid soils. *Applied Soil Ecology* 40, 189-194.
- Goel, R., Takashi, M., Satoh, H., Matsuo, T., 1998. Enzyme activities under anaerobic and aerobic conditions in activated sludge sequencing batch reactor. *Water Research* 32, 2081-2088.
- Gondim-Porto, C., 2012. Análisis microbiológico de un suelo agrícola mediterráneo tras la aplicación de lodos de depuradora urbana. PhD Thesis, Universidad Complutense de Madrid, 2012 (España), 241 pp.
- González, M., Gomez, E., Comese, R., Quesada, M., Conti, M., 2010. Influence of organic amendments on soil quality potential indicators in an urban horticultural system. *Bioresource Technology* 101, 8897-8901.

- González-Ubierna, S., 2013. Efecto de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables y del clima mediterráneo sobre el ciclo del carbono en un suelo agrícola calcáreo. Universidad Complutense de Madrid (España), 221 pp.
- González-Ubierna, S., Jorge-Mardomingo, I., Carrero-González, B., de la Cruz, M.T., Casermeiro, M.A., 2012. Soil organic matter evolution after the application of high doses of organic amendments in a Mediterranean calcareous soil. *Journal of Soils and Sediments* 12, 1257-1268.
- González-Ubierna, S., Jorge-Mardomingo, I., de la Cruz, M.T., Valverde, I., Casermeiro, M.A., 2013. Sewage sludge application on Mediterranean agricultural soil: dose effects upon soil carbon cycle. *International Journal of Environmental Research* 7, 945-956.
- González-Ubierna, S., de la Cruz, M.T., Casermeiro, M.A., 2014. How do biodegradable organic residues affect soil CO₂ emissions? Case study of a Mediterranean agro-ecosystem. *Australian Journal of Soil Research* (under review).
- Gouveia, S.E.M., Pessenda, L.C.R., 1999. Dating of the humin fraction of soil organic matter and its comparison with ¹⁴C ages of fossil charcoal. *Quimica Nova* 22, 810-814.
- Gregorich, E.G., Beare, M.H., Stoklas, U., St-Georges, P., 2003. Biodegradability of soluble organic matter in maize-cropped soils. *Geoderma* 113, 237-252.
- Grosbellet, C., Vidal-Beaudet, L., Caubel, V., Charpentier, S., 2011. Improvement of soil structure formation by degradation of coarse organic matter. *Geoderma* 162, 27-38.
- Guang-Ming, L., Jing-Song, Y., Rong-Jiang, Y., 2006. Electrical conductivity in soil extracts: chemical factors and their intensity. *Pedosphere* 16, 100-107.
- Habteselassie, M.Y., Miller, B.E., Thacker, S.G., Stark, J.M., Norton, J.M., 2006. Soil nitrogen and nutrient dynamics alter repeated application of treated dairy-waste. *Soil Science Society of America Journal* 70, 1328-1337.
- Hao, Q., Cheng, B., Jiang, C., 2013. Long-term tillage effects on soil organic carbon and dissolved organic carbon in a purple paddy soil of Southwest China. *Acta Ecologica Sinica* 33, 260-265.
- Hao, X., Chang, C., 2003. Does long-term heavy cattle manure application increase salinity of a clay loam soil in semi-arid southern Alberta?. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 94, 89-103.

- Hargreaves, J.C., Adl, M.S., Warman, P.R., 2008. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 123, 1-14.
- Harvey, O.R., Kuo, L.J., Zimmerman, A.R., Louchouart, P., Amonette, J.E., Herbert, B.E., 2012. An Index-Based Approach to Assessing Recalcitrance and Soil Carbon Sequestration Potential of Engineered Black Carbons (Biochars). *Environmental Science Technology* 46, 1415-1421.
- Haynes, M.H.B., Clapp, C.E., 2001. Humic substances: considerations of compositions, aspects of structure, and environmental influences. *Soil Science* 166, 723-737.
- Haynes, R.J., Murtaza, G., Naidu, R., 2009. Inorganic and Organic Constituents and Contaminants of Biosolids: Implications for Land Application. *Advances in Agronomy* 104, 165-267.
- Haynes, R.J., Naidu, R., 1998. Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 51, 123-137.
- He, J., Hongwen, L., Rasaily, R.G., Qingjie, W., Guohua, C., Yanbo, S., Xiaodong, Q., Lijin, L., 2011. Soil properties and crop yields after 11 years of no tillage farming in wheat–maize cropping system in North China Plain. *Soil and Tillage Research* 113, 48-54.
- He, X., Logan, T.J., Traina, S.J., 1995. Physical and chemical characteristics of selected US municipal solid waste composts. *Journal of Environmental Quality* 24, 543-552.
- Healy, R.W., 1990. Simulation of solute transport in variably saturated porous media with supplemental information on modifications to the U.S. Geological Survey's computer program VS2D. *Water Resources Investigations Report 90-4025*. USGS, Denver, CO, 125 pp.
- Hemmat, A., Aghilinategh, N., Rezainejad, Y., Sadeghi, M., 2010. Longterm impacts of municipal solid waste compost, sewage sludge and farmyard manure application on organic carbon, bulk density and consistency limits of a calcareous soil in central Iran. *Soil and Tillage Research* 108, 43-50.
- Hernández, T., Moral, R., Perez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., Perez-Murcia, M.D., García, C. Nitrogen mineralisation potential in calcareous soils amended with sewage sludge. *Bioresource Technology* 83, 213-219.

- Hernández-Apaolaza, L., Gascó, J.M., Guerrero, F., 2000. Initial organic matter transformation of soil amended with composted sewage sludge. *Biology and Fertility of Soils* 32, 421-426.
- Hernando, S., Lobo, M.C., Polo, A., 1989. Effect of the application of a municipal refuse compost on the physical and chemical properties of a soil. *Science of the Total Environment* 81-82, 589-596.
- Hogg, D., Favoino, E., Nielsen, N., Thompson, J., Wood, K., Penschke, A., Economides, D., Papageorgiou, S., 2002. Economic Analysis of Options for Managing Biodegradable Municipal Waste. Final Report.
- Hsieh, P.A., Wingle, W., Healy, R.W., 2000. A graphical software package for simulating fluid flow and solute or energy transport in variably saturated porous media. *Water-Resources Investigations Report 99-4130*. USGS, Denver, CO, 16 pp.
- Hueso, S., Henández, T., García, C., 2011. Resistance and resilience of the soil microbial biomass to severe drought in semiarid soils: The importance of organic amendments. *Applied Soil Ecology* 50, 27-36.
- IDAE, 2007. Biomasa: Digestores anaerobios. Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía (IDAE), 42 pp.
- IGME, 1990. Mapa geológico de España. Escala 1:50.000. Hoja de Arganda (583). IGME, Madrid.
- Innerebner, G., Knapp, B., Vasara, T., Romantschuk, M., Insam, H., 2006. Traceability of ammonia-oxidizing bacteria in compost-treated soils. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 1092-1100.
- ISO 17155, 2002. International Organization for Standardization. International Standard ISO 17155:2002. Soil quality – Determination of abundance and activity of soil microflora using respiration curves.
- ISRIC, 2002. Procedures for soil analysis. International Soil Reference and Information Center (ISRIC). L.P. van Reeuwijk (Ed).
- Iwai, C.B., Oo, A.N., Topark-ngarm, B., 2012. Soil property and microbial activity in natural salt affected soils in an alternating wet–dry tropical climate. *Geoderma* 189-190, 144-152.

- Jacinthe, P.A., Lal, R., Kimble, J.M., 2002. Carbon budget and seasonal carbon dioxide emission from a central Ohio Luvisol as influenced by wheat residue amendment. *Soil and Tillage Research* 67, 147-157.
- Jamali, M.K., Kazi, T.G., Arain, M.B., Afridi, H.I., Memon, A.R., Jalbani, N., Shah, A., 2008. Use of Sewage Sludge After Liming as Fertilizer for Maize Growth. *Pedosphere* 18, 203-213.
- Jandl, R., Sollins, P., 1997. Water extractable soil carbon in relation to the belowground carbon cycle. *Biology and Fertility of Soils* 25, 196-201.
- Jansson, M., Bergström, A.K., Blomqvist, P., Drakare, S., 2000. Allochthonous organic carbon and phytoplankton/bacterioplankton production relationships in lakes. *Ecology* 81, 3250-3255.
- Jenkinson, D.S., Ladd, J.N., 1981. Microbial biomass in soil: Measurement and turnover, in: Paul, E.A., Ladd J.N. (Eds), *Soil biochemistry vol 5*, Marcel Dekker, New York, pp. 415-471.
- Jha, P., Garg, N., Lakaria, B.L., Biswas, A.K., Subba Rao, A., 2012. Soil and residue carbon mineralization as affected by soil aggregate size. *Soil and Tillage Research* 121, 57-62.
- Jia, G.M., Liu, B.R., Wang, G., Zhang, B., 2010. The microbial biomass and activity in soil with shrub (*Caragana korshinskii* K.) plantation in the semi-arid loess plateau in China. *European Journal of Soil Biology* 46, 6-10.
- Jiménez, P., Ortiz, P., Tarrasón, D., Ginovart, M., Bonmatí, M., 2007. Effect of differently post-treated dewatered sewage sludge on β -glucosidase activity, microbial biomass carbon, basal respiration and carbohydrates contents of soils from limestone quarries. *Biology and Fertility of Soils* 44, 393-398.
- Jiménez-Hernández, M.E., de la Losa, A., Valverde, M.I., Moreno, L., Castaño, S., 2009. Caracterización de las propiedades hidráulicas de la ZNS: determinaciones en laboratorio y ensayos "in situ" en una parcela agrícola de Arganda del Rey (Madrid), in: Silva, O., Carrera, J. (Eds.), *Estudios en la Zona no Saturada del Suelo*, vol IX, CIMNE, Barcelona, pp. 113-120.

- Jiménez-Hernández, M.E., Moreno, L., de la Losa, A., 2013. Impacto sobre el agua subterránea del uso agrícola de lodos de depuradora: asesoramiento mediante la aplicación de un modelo numérico de flujo en zona no saturada, in: Fernández Uria, A. (Ed.), Hidrogeología y Recursos Hidráulicos, X Simposio de Hidrogeología, IGME, Madrid, pp. 743-752.
- Joergensen, R.G., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1990. Survival of the soil microbial biomass at elevated temperatures. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 1129-1136.
- Johnson, J.L., Temple, K.L., 1964. Some variables affecting the measurement of "catalase activity" in soil. *Soil Science Society of America Journal* 28, 207-209.
- Jorge-Mardomingo, I., 2010. Dinámica de las formas nitrogenadas en el suelo tras la aplicación de dosis elevadas de lodos de depuradora. Thesis, Master en Ciencias Farmacéuticas. Universidad Complutense de Madrid, 2010 (España), 19 pp.
- Kaschl, A., Römheld, V., Chen, Y., 2002. The influence of soluble organic matter from municipal solid waste compost on trace metal leaching in calcareous soils. *Science of the Total Environment* 291, 45-57.
- Kaschuk, G., Alberton, O., Hungria, H., 2010. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1-13.
- Kelessidis, A., Stasinakis, A.S., 2012. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. *Waste Management* 32, 1186-1195.
- Keskin, B., Yilmaz, İ.H., Bozkurt, M.A., Akdeniz, H., 2009. Sewage sludge as nitrogen source for irrigation silage sorghum. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8, 573-578.
- Kidd, P.S., Domínguez-Rodríguez, M.J., Díez, J., Monterroso, C., 2007. Bioavailability and plant accumulation of heavy metals and phosphorus in agricultural soils amended by long-term application of sewage sludge. *Chemosphere* 66, 1458-1467.
- Killham, K., 1985. A physiological determination of the impact of environmental stress on the activity of microbial biomass. *Environmental Pollution* 38, 283-294.
- Kirchmann, H., Johnston, A.E.J., Bergstrom, L.F., 2002. Possibilities for reducing nitrate leaching from agricultural land. *Ambio* 31, 404-408.

- Kleber, M., Nikolaus, P., Kuzyakov, Y., Stahr, K., 2000. Formation of mineral N (NH_4^+ , NO_3^-) during mineralization of organic matter from coal refuse material and municipal sludge. *Journal of Plant Nutrient Soil Science* 163, 73-80.
- König, C., Kaltwasser, H., Schlegel, H.G., 1966. Die bildung von urease nach verbrauch der äußeren N-Quelle bei *Hydrogenomonas* H16. *Archives Mikrobiologic* 53, 231-241.
- Kuzyakov, Y., 2006. Sources of CO_2 efflux from soil and review of partitioning methods. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 425-448.
- Kuzyakov, Y., Bol, R., 2006. Sources and mechanisms of priming effect induced in two grassland soils amended with slurry and sugar. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 747-758.
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K., Stahr, K., 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1485-1498.
- Laik, R., Kumar, K., Das, D.K., Chaturvedi, O.P., 2009. Labile soil organic matter pools in a calciorthent after 18 years of afforestation by different plantations. *Applied Soil Ecology* 42, 71-78.
- Lakhdar, A., Scelza, R., ben Achiba, W., Scotti, R., Rao, M.A., Jedidi, N., Abdelly, C., Gianfreda, L., 2011. Effect of municipal solid waste compost and sewage sludge on enzymatic activities and wheat yield in a clayey-loamy soil. *Soil Science* 176, 15-21.
- Lal, R., 2004. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* 123, 1-22.
- Lázaro, F., Elías, F., Nieves, M., 1978. Regímenes de humedad de los suelos de la España peninsular. Colección Monografías INIA, nº20.
- Le Bissonsais, Y., 1996. Aggregate stability and assessment of soil crustability and erodibility: I. Theory and methodology. *European Journal of Soil Science* 47, 425-437.
- Leff, J.W., Nemergut, D.R., Grandy, A.S., O'Neill, S.P., Wickings, K., Townsend, A.R., Cleveland, C.C., 2012. The effects of soil bacterial community structure on decomposition in a tropical rain forest. *Ecosystems* 15, 284-298.
- Leroy, B.L.M., Herath, H.M.S.K., Sleutel, S., De Neve, S., Gabriels, D., Reheul, D., Moens, M., 2008. The quality of exogenous organic matter: short-term effects on soil physical properties and soil organic matter fractions. *Soil Use and Management* 24, 139-147.

- Lester, J.N., Sterriet, R.M., Kirk, P.W.W., 1983. Significance and behaviour of metals in wastewater treatment processes, part II: sludge treatment and disposal. *Science of the total Environment* 30, 45-83.
- Li, X., Li, Z., Ding, Y., Liu, S., Zhao, Z., Luo, L., Pang, H., Li, C., Li, H., You, X., Wang, F., 2007. Seasonal variations of pH and electrical conductivity in a snow-firn pack on Glacier No. 1, eastern Tianshan, China. *Cold Regions Science and Technology* 48, 55-63.
- Lloret, E., Pascual, J.A., Ruiz, L., Herrero, O., Pastor, L., Pradas, P., Simón, P., Lardín, C., 2009. Higienización de fangos mediante digestión aerobia termófila autotérmica de la EDAR de Molina de Segura (Murcia). *Gestión de lodos de depuradora, Depuración de Aguas del Mediterráneo (DAM)*. *Residuos* 111, 2-9.
- Lugato, E., Simonetti, G., Morari, F., Nardi, S., Berti, A., Giardini, L., 2010. Distribution of organic and humic carbon in wet-sieved aggregates of different soils under long-term fertilization experiment. *Geoderma* 157, 80-85.
- Lundin, M., Olofson, M., Pettersson, G., Zetterlund, H., 2004. Environmental and economic assessment of sewage sludge handling options. *Resource Conservation and Recycling*, 41, 255-78.
- Lynch, J., Bragg, E., 1985. Microorganisms and soil aggregate stability. *Advances in Soil Science* 2, 133-171.
- Maag, M., Vinther, F.P., 1999. Effect of temperature and water on gaseous emissions from soils treated with animal slurry. *Soil Science Society of America Journal* 63, 858-865.
- Madejón, E., Burgos, P., López, R., Cabrera, F., 2003. Agricultural use of three organic residues: effect on orange production and properties of a soil of the "Comarca Costa de Huelva" (SW Spain). *Nutrient Cycling in Agroecosystem* 65, 281-288.
- MAGRAMA, 2010. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medioambiente. *Anuario de Estadística 2010*.
- Mahmoud, M., Janssen, M., Peth, S., Horn, R., Lennartz, B., 2012. Long-term impact of irrigation with olive mill wastewater on aggregate properties in the top soil. *Soil and Tillage Research* 124, 24-31.
- Marcote, I., Hernández, T., García, C., Polo, A., 2001. Influence of one or two successive annual applications of organic fertiliser on the enzyme activity of a soil under barley cultivation. *Bioresource Technology* 79, 147-154.

- MARM, 2009. Caracterización de los lodos de depuradoras generados en España. Ed. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid.
- Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second edition. London: Academic Press, 889 pp.
- Martens, R., 1995. Current methods for measuring microbial biomass C in soil: potentials and limitations. *Biology and Fertility of Soils* 19, 87-99.
- Martínez-Murillo, J.F., Gabarrón-Galeote, M.A., Ruiz-Sinoga, J.D., 2013. Soil water repellency in Mediterranean rangelands under contrasted climatic, slope and patch conditions in southern Spain. *Catena* 110, 196-206.
- MCA, 2010. Mapa de cultivos y aprovechamientos (MCA). Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM).
- McMahon, P.B., Dennehy, K.F., Bruce, B.W., Böhlke, J.K., Michel, R.L., Gurdak, J.J., Hurlbut, D.B., 2006. Storage and transit time of chemicals in thick unsaturated zones under rangeland and irrigated cropland, High Plains, United States. *Water Resources Research* 42, W03413.
- Merrington, G., Oliver, I., Smernik, R.J., Mclaughlin, M.J., 2003. The influence of sewage sludge properties on sludge-borne metal availability. *Advances in Environmental Research* 8, 21-36.
- Mondini, C., Coleman, K., Whitmore, A.P., 2012. Spatially explicit modelling of changes in soil organic C in agricultural soils in Italy, 2001-2100: Potential for compost amendment. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 153, 24-32.
- Mondini, C., Dell'Abate, M.T., Leita, L., Benedetti, A., 2003. An integrated chemical, thermal, and microbiological approach to compost stability evaluation. *Journal of Environmental Quality* 32, 2379-2386.
- Mondini, C., Fornasier, F., Sinicco, T., 2004. Enzymatic activity as a parameter for the characterization of the composting process. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 1587-1594.
- Moreno, J.L., Hernández, T., García, C., 1999. Effects of a cadmium-contaminated sewage sludge compost on dynamic of organic matter and microbial activity in an arid soil. *Biology and Fertility of Soils* 28, 230-237.

- Morugán-Coronado, A., García-Orenes, F., Mataix-Solera, J., Arcenegui, V., Mataix-Beneyto, J., 2011. Short-term effects of treated wastewater irrigation on Mediterranean calcareous soil. *Soil and Tillage Research* 112, 18-26.
- Motta, S.R., Maggiore, T., 2013. Evaluation of nitrogen management in maize cultivation grows on soil amended with sewage sludge and urea. *European Journal of Agronomy* 45, 59-67.
- Murray, R.S., Quirk, J.P., 1992. Comment on "Clay fabric response to consolidation" by F.J. Griffiths and R.C. Joshi. *Applied Clay Science* 5-6, 411-413.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B., Cervelli, S., Matarese, E., 1980. Extraction of phosphatase, urease, protease, organic carbon and nitrogen from soil. *Soil Science Society of America Journal* 44, 1011-1016.
- Nannipieri, P., Grego, S., Ceccanti, B., 1990. Ecological significance of the biological activity in soils, in: Bollag, J.M., Stotzky, G. (Eds.), *Soil Biochemistry*. Marcel Dekker, New York, pp. 293-355.
- Nannipieri, P., Kandeler, E., Ruggiero, P., 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil, in: Burns, R.G., Dick, R.P., (Eds.), *Enzymes in the Environment. Activity, Ecology and Applications*, Marcel Dekker, New York, pp. 1-33.
- Navarro-García, F., Casermeiro, M.A., Schimel, J.P., 2012. When structure means conservation: Effect of aggregate structure in controlling microbial responses to rewetting events. *Soil Biology and Biochemistry* 44, 1-8.
- Nelson, P.N., Oades, J.M., 1998. Organic matter, sodicity and soil structure. in: Sumner, M.E., Naidu, R. (Eds.), *Sodic Soil: Distribution, Management and Environmental Consequences*. Oxford University Press, New York, pp. 51-75.
- Nieder, R., Benbi, D.K., 2008. *Carbon and Nitrogen in the Terrestrial Environment*. Springer.
- Nogales R. (1994). Efecto de los compost de R.S.U. sobre el suelo en Cuadernos del ICE, nº13. Ediciones de la Universidad Autónoma de Madrid, pp. 77-99.
- Nosrati, K., Govers, G., Smolders, E., 2012. Dissolved organic carbon concentrations and fluxes correlate with land use and catchment characteristics in a semi-arid drainage basin of Iran. *Catena* 95, 177-183.

- O'Connor, G.A., Elliot, H.A., Basta, N.T., Bastian, R.K., Pierzynski, G.M., Sims, R.C., Smith, J.E.Jr., 2005. Sustainable land application: an overview. *Journal of Environmental Quality* 34, 7-17.
- Ochoa-Hueso, R., Stevens, C.J., Ortiz-Llorente, M.J., Manrique, E., 2013. Soil chemistry and fertility alterations in response to N application in a semiarid Mediterranean shrubland. *Science of the Total Environment* 452-453, 78-86.
- Odlare, M., Pell, M., Svensson, K., 2008. Changes in soil chemical and microbiological properties during 4 years of application of various organic residues. *Waste Management* 28, 1246-1253.
- Ojeda, G., Alcañiz, J.M., Le Bissonais, Y., 2008. Differences in aggregate stability due to sewage sludge treatments on a Mediterranean calcareous soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 125, 48-56.
- Ojeda, G., Tarrasón, D., Ortiz, O., Alcañiz, J.M., 2006. Nitrogen losses in runoff waters from a loamy soil treated with sewage sludge. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 117, 49-56.
- Paramasivam, S., Fortenberry, G.Z., Julius, A., Sajwan, K.S., Alva, A.K.J., 2008. Evaluation of emission of greenhouse gases from soils amended with sewage sludge. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic hazardous substances and Environmental Engineering* 43, 178-85.
- Parker, S.S., Schimel, J.P., 2011. Soil nitrogen availability and transformations differ between the summer and the growing season in a California grassland. *Applied Soil Ecology* 48, 185-192.
- Pascual, I., Antolín, M.C., García, C., Polo, A., Sánchez-Díaz, M., 2007. Effect of water deficit on microbial characteristics in soil amended with sewage sludge or inorganic fertilizer under laboratory conditions. *Bioresource Technology* 98, 29-37.
- Pascual, J.A., Hernández, T., García, C., Ayuso, M., 1998. Enzymatic activities in an arid soil amended with urban organic wastes: laboratory experiment. *Bioresource Technology* 64, 131-138.
- Pascual, J.A., Moreno, J.L., Hernández, T., García, C., 2002. Persistence of immobilised and total urease and phosphatase activities in a soil amended with organic wastes. *Bioresource Technology* 82, 73-78.

- Paz-Ferreiro, J., Gascó, G., Gutiérrez, B., Méndez, A., 2012. Soil biochemical activities and the geometric mean of enzyme activities after application of sewage sludge and sewage sludge biochar to soil. *Biology and Fertility of Soils* 48, 511–517.
- Pedra, F., Polo, A., Ribeiro, A., Domingues, H., 2007. Effects of municipal solid waste compost and sewage sludge on mineralization of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1375-1382.
- Poch, R., 2012. Riego y fertilización nitrogenada en maíz (*Zea mays L.*): Efecto sobre el rendimiento del cultivo y la contaminación subterránea por nitratos. PhD Thesis. ETSECCP-UPC, Barcelona (España), 391 pp.
- Powlson, D.S., Jenkinson, D.S., 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. II. Gamma irradiation, autoclaving, air-drying and fumigation. *Soil Biology and Biochemistry* 8, 179-188.
- Puget, P., Angers, D.A., Chenu, C., 1999. Nature of carbohydrates associated with water-stable aggregates of two cultivated soils. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 55-63.
- Raj, D., Antil, R.S., 2011. Evaluation of maturity and stability parameters of composts prepared from agro-industrial wastes. *Bioresource Technology* 102, 2868-2873.
- Rivas-Martínez, S., 1987. Nociones sobre Fitosociología, Biogeografía y Bioclimatología en la vegetación de España, in: Peinado, M., Rivas-Martínez, S., (Eds.).
- Rivas-Martínez, S., Penas, A., Díaz, T.E., 2004. Cartographic Service. University of León, Spain.
- Robertson, G.P., Groffman, P., 2007. Nitrogen transformations, in: Paul, E.A. (Ed.), *Soil Microbiology, Biochemistry, and Ecology*. Springer, New York, New York, USA, pp. 341-364.
- Rodríguez-Kábana, R., Truelove, B., 1982. Effects of crop rotation and fertilization on catalase activity in a soil of the south-eastern United States. *Plant and Soil* 69, 97-104.
- Roig, N., Sierra, J., Nadal, M., Martí, E., Navalón-Madrigal, P., Schuhmacher, M., Domingo, J.L., 2012a. Relationship between pollutant content and ecotoxicity of sewage sludges from Spanish wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment* 425, 99-109.

- Roig, N., Sierra, J., Martí, E., Nadal, M., Schuhmacher, M., Domingo, J.L., 2012b. Long-term amendment of Spanish soils with sewage sludge: Effects on soil functioning. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 158, 41-48.
- Romkens, P.F.A.M., Dolfing, J., 1998. Effect of Ca on the Solubility and Molecular Size Distribution of DOC and Cu Binding in Soil Solution Samples. *Environmental Science and Technology* 32, 363-369.
- Ros, G.H., Hoffland, E., Temminghoff, E.J.M., 2010. Dynamics of dissolved and extractable organic nitrogen upon soil amendment with crop residues. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2094-2101.
- Ros, M., Hernández, M.T., García, C., 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 463-469.
- Ros, M., Pascual, J.A., García, C., Hernández, M.T., Insam, H., 2006. Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with different composts. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 3443-3452.
- Rosolen, V., Herpin, U., Fränzle, S., Breulmann, G., de Camargo, P.B., Paganini, W.S., Cerri, C.C., Melfi, A.J., Markert, B.A., 2005. Land Application of Wastewater in Brazil – A Scientific Challenge: Chemical Characterization of Soil at Populina, São Paulo State. *Journal of Soils and Sediments* 5, 112-120.
- Rovira, P., Ramón-Vallejo, V., 2007. Labile, recalcitrant, and inert organic matter in Mediterranean forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 202-215.
- Ruellan, A., 1999. The main rules of soil distribution in the Mediterranean World, in: Bech, J. (Ed.), *Extended Abstracts Volume. 6th International Meeting of Soils with Mediterranean Type of Climate, Opening Lecture*, pp. 31-32.
- Rutigliano, F.A., Castaldi, S., D'Ascoli, R., Papa, S., Carfora, A., Marzaioli, R., Fioretto, A., 2009. Soil activities related to nitrogen cycle under three plant cover types in Mediterranean environment. *Applied Soil Ecology* 43, 40-46.
- Sánchez-Monedero, M.A., Mondini, C., de Nobili, M., Leita, L., Roig, A., 2004. Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter. *Waste Management* 24, 325-332.
- Santibáñez, C., Ginocchio, R., Varnero, M.T., 2007. Evaluation of nitrate leaching from mine tailings amended with biosolids under Mediterranean type climate conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 58, 49-59.

- Sardinha, M., Muller, T., Schmeisky, H., Joergensen, R.G., 2003. Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. *Applied Soil Ecology* 23, 237-244.
- Saviozzi, A., Bufalino, P., Levi-Minzi, Riffaldi, R., 2002. Biochemical activities in a degraded soil restored by two amendments: a laboratory study. *Biology and Fertility of Soils* 35, 96-101.
- Saviozzi, A., Vanni, G., Cardelli, R., 2014. Carbon mineralization kinetics in soils under urban environment. *Applied Soil Ecology* 73, 64-69.
- Scanlon, B.R., Tyler, S.W., Wierenga, P.J., 1997. Hydrologic issues in arid, unsaturated systems and implications for contaminant transport. *Reviews of Geophysics* 35, 461-490.
- Schimel, J.P., Weintraub, M.N., 2003. The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. *Soil Biology and Biochem* 35, 549-563.
- Schoeneberger, P.J., Wysocki, D.A., Benham, E.C., Broderson, W.D., 2002. Field book for describing and sampling soils, Version 2.0. Natural Resources Conservation Service, National Soil Survey Center, Lincoln, NE.
- Schulten, H.R., Schnitzer, M., 1998. The chemistry of soil organic nitrogen: a review. *Biology and Fertility of Soils* 26, 1-15.
- Sciubba, L., Cavani, L., Negroni, A., Zanaroli, G., Fava, F., Ciavatta, C., Marzadori, C., 2014. Changes in the functional properties of a sandy loam soil amended with biosolids at different application rates. *Geoderma* 221-222, 40-49.
- SEC, 2010. Commission staff working document: Accompanying the Communication from the Commission On future steps in bio-waste management in the European Union. Brussels, 18.5.2010. SEC(2010) 577 final.
- Serrano-Ortiz, P., Roland, M., Sanchez-Moral, S., Janssens, I.A., Domingo, F., Godd eris, Y., Kowalski, A.S., 2010. Hidden, abiotic CO₂ flows and gaseous reservoirs in the terrestrial carbon cycle: review and perspectives. *Agricultural and Forest Meteorology* 150, 321-329.
- Simek, M., Cooper, J.E., Picek, T., Santruckova, H., 2000. Denitrification in arable soils in relation to their physico-chemical properties and fertilization practice. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 101-110.

- Singh, R.P., Agrawal, M., 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Management* 28, 347-358.
- Six, J., Elliott, E.T., Paustian, K., 2000. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 2099-2103.
- Smith, J.L., Doran, J.W., 1996. Measurement and use of pH and electrical conductivity for soil quality analysis. In *Methods for assessing soil quality*. Soil Science Society of America Special Publication 49, 169-182.
- Smith, M.T.E., Smernik, R.J., Merrington, G., Tibbett, M., 2008. Changes in sewage sludge carbon forms along a treatment stream. *Chemosphere* 72, 981-985.
- Smith, M.T.E., Tibbett, M., 2004. Nitrogen dynamics under *Lolium perenne* after a single application of three different sewage sludge types from the same treatment stream. *Bioresource Technology* 91, 233-241.
- Smith, S.R., 2009. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environmental International* 35, 142-156.
- Smith, S.R., Woods, V., Evans, T.D., 1998. Nitrate dynamics in biosolids-treated soils. III. Significance of the organic nitrogen, a twin-pool exponential model for nitrogen management and comparison with the nitrate production from animal wastes. *Bioresource Technology* 66, 161-174.
- Soler-Rovira, P., 1998. Evaluación del impacto ambiental y riesgos de contaminación producida por la aplicación agrícola de lodos de depuradoras. PhD Thesis, Universidad Autónoma de Madrid, 1998 (España).
- Soler-Rovira, P., Soler-Soler, J., Soler-Rovira, J., Polo, A., 1996. Agricultural use of sewage sludge and its regulation. *Fertilizer Research* 43, 173-177.
- Sommer, R., Ryan, J., Masri, S., Singh, M., Diekmann, J., 2011. Effect of shallow tillage, moldboard plowing, straw management and compost addition on soil organic matter and nitrogen in a dryland barley/wheat-vetch rotation. *Soil and Tillage Research* 115-116, 39-46.
- Song, U., Lee, E.J., 2010. Environmental and economical assessment of sewage sludge compost application on soil and plants in a landfill. *Resources, Conservation and Recycling* 54, 1109-1116.

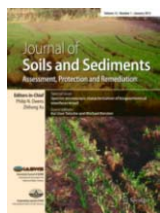
- Sort, X., Alcañiz, J.M., 1999. Modification of soil porosity after application of sewage sludge. *Soil and Tillage Research* 49, 337-345.
- Spaccini, R., Piccolo, A., 2013. Effects of field managements for soil organic matter stabilization on water-stable aggregate distribution and aggregate stability in three agricultural soils. *Journal of Geochemical Exploration* 129, 45-51.
- Spaccini, R., Piccolo, A., Conte, P., Haberhauer, G., Gerzabek, M.H., 2002. Increased soil organic carbon sequestration through hydrophobic protection by humic substances. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 1839-1851.
- Sullivan, B.W., Selmants, P.C., Hart, S.C., 2012. New evidence that high potential nitrification rates occur in soils during dry seasons: Are microbial communities metabolically active during dry seasons?. *Soil Biology and Biochemistry* 53, 28-31.
- Supan, 1998. *Grundzüge des physischen Erdkunde*, Leipzig.
- Tabatabai, M.A., 1982. Soil enzymes, in: Page, A.L., Miller, E.M., Keeney, D.R. (Eds.), *Methods of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties*. ASA, Madison, WI, pp. 903-947.
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1969. Use of p-nitrophenol phosphate in assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1, 301-307.
- Tarrasón, D., Ojeda, G., Ortiz, O., Alcañiz, J.M., 2010. Effects of different types of sludge on soil microbial properties: A field experiment on degraded mediterranean soils. *Pedosphere* 20, 681-691.
- Tarrasón, D., Ortiz, O., Alcañiz, J.M., 2007. A multi-criteria evaluation of organic amendments used to transform an unproductive shrubland into a Mediterranean dehesa. *Journal of Environmental Management* 82, 446-456.
- Tejada, M., González, J.L., 2007. Influence of organic amendments on soil structure and soil loss under simulated rain. *Soil and Tillage Research* 93, 197-205.
- Tester, C.F., 1990. Organic amendment effects on physical and chemical properties of a sandy soil. *Soil Science Society of America Journal* 54, 827-831.
- Thangarajan, R., Nanthi S. Bolan, N.S., Tian, G., Naidu, R., Kunhikrishnan, A., 2013. Role of organic amendment application on greenhouse gas emission from soil. *Science of the Total Environment* 465, 72-96.

- Thorntwaite, C.W., 1948. An approach towards a rational classification of climate. *Geographical Review* 38, 55-94.
- Tisdall, J.M., Oades, J.M., 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science* 33, 141-163.
- Toreci, I., Kennedy, K.J., Droste, R.L., 2009. Evaluation of continuous mesophilic anaerobic sludge digestion after high temperature microwave pretreatment. *Water Research* 43, 1273-1284.
- Trindade, H., Coutinho, J., Van Beusichem, M.L., Scholefield, D., Moreira, N., 1997. Nitrate leaching from sandy loam soils under a double-cropping forage system estimated from suction-probe. *Plant and Soil* 195, 247-256.
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703-707.
- Vargas-García, M.C., Suárez-Estrella, F., López, M.J., Moreno, J., 2010. Microbial population dynamics and enzyme activities in composting processes with different starting materials. *Waste Management* 30, 771-778.
- Wang, L., Stuart, M.E., Bloomfield, J.P., Butcher, A.S., Goody, D.C., McKenzie, A.A., Lewis, M.A., Williams, A.T., 2012. Prediction of the arrival of peak nitrate concentrations at the water table at the regional scale in Great Britain. *Hydrological Processes* 26, 226-239.
- Wardle, D.A., Ghani, A., 1995. A critique of the microbial metabolic quotient (qCO_2) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 1601-1610.
- Warman, P.R., Termeer, W.C., 2005. Evaluation of sewage sludge, septic waste and sludge compost applications to corn and forage: yields and N, P and K content of crops and soils. *Bioresource Technology* 96, 955-961.
- Wei, Y., Van Houten, R.T., Borger, A.R., Eikelboom, D.H., Fan, Y., 2003. Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment. *Water Research* 37, 4453-4467.
- Zaman, X., Chang, S.X., 2004. Substrate type, temperature, and moisture content affect gross and net N mineralization and nitrification rates in agroforestry systems. *Biology and Fertility of Soils* 39, 269-279.

- Zhang, J.B., Song, C.C., Wang, S.M., 2007. Dynamics of soil organic carbon and its fractions after abandonment of cultivated wetlands in Northeast China, *Soil Tillage and Research* 96, 350-360.
- Zhao, M., Zhou, J., Kalbitz, K., 2008. Carbon mineralization and properties of water extractable organic carbon in soils of the south Loess Plateau in China. *European Journal of Soil Biology* 44, 158-165.
- Zhao, Y., Wang, P., Li, J., Chen, Y., Ying, X., Liu, S., 2009. The effects of two organic manures on soil properties and crop yields on a temperate calcareous soil under a wheat–maize cropping system. *European Journal of Agronomy* 31, 36-42.
- Zimmerman, A.R., Gao, B., Ahn, M., 2011. Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1169-1179.
- Zuloaga, O., Navarro, P., Bizkarguenaga, E., Iparraguirre, A., Vallejo, A., Olivares, M., Prieto, A., 2012. Overview of extraction, clean-up and detection techniques for the determination of organic pollutants in sewage sludge: A review. *Analytica Chimica Acta* 736, 7-29.

8. ANEJO

Publicaciones derivadas de la Tesis doctoral:



González-Ubierna, S., Jorge-Mardomingo, I., Carrero-González, B., de la Cruz, M.T., Casermeiro, M.A., 2012. Soil organic matter evolution after the application of high doses of organic amendments in a Mediterranean calcareous soil.

Publicado en: *Journal of Soils and Sediments* 12, 1257-1268.



González-Ubierna, S., Jorge-Mardomingo, I., de la Cruz, M.T., Valverde, I., Casermeiro, M.A., 2013. Sewage sludge application on Mediterranean agricultural soil: dose effects upon soil carbon cycle.

Publicado en: *International Journal of Environmental Research* 7, 945-956.



Jorge-Mardomingo, I., Soler-Rovira, P., Casermeiro, M.A., de la Cruz, M.T., Polo, A., 2013. Seasonal changes in microbial activity in a semiarid soil after application of a high dose of different organic amendments.

Publicado en: *Geoderma* 206, 40-48.



Jorge-Mardomingo, I., Jiménez-Hernández, M.E., Moreno, L., de la Losa, A., de la Cruz, M.T., Casermeiro, M.A., 2014. Application of high doses of organic amendments in a semi-arid agricultural soil: an approach for assessing the risk of groundwater contamination.

Publicado en: *Journal of Environmental Management* (en revisión)

