

Marcadores moleculares subrogados a la repelencia al agua en suelos afectados por el fuego

Molecular markers surrogated to water repellency in fire-affected soils

Nicasio T. Jiménez-Morillo^{1,*}, Gonzalo Almendros², Nuno Guiomar¹, Ana Z. Miller^{3,4}, Cristina Barrocas-Dias⁴, José M. de la Rosa³, Patrick G. Hatcher⁵ & José A. González-Pérez³

¹ Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento (MED), University of Évora, Núcleo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal

² Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN-CSIC), Serrano 115 B, 28006 Madrid, España

³ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC), Grupo MOSS, Avda. Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla, España

⁴ Laboratório Hercules, University of Évora, Largo Marquês de Marialva, 8, 7000-809 Évora, Portugal

⁵ Department of Chemistry and Biochemistry, Old Dominion University, Norfolk, VA 23529, USA

(*E-mail: ntjm@uevora.pt)

<https://doi.org/10.19084/rca.28639>

RESUMEN

La repelencia al agua del suelo (RAS) se atribuye a la acumulación de compuestos hidrofóbicos (lípidos), pero su extracción no siempre elimina la RAS, lo que sugiere que componentes macromoleculares no extraíbles también pueden estar relacionados con una RAS. Se han estudiado suelos quemados (B) y control (UB) del Parque Nacional de Doñana (Huelva, España) bajo dos tipos de vegetación (alcornoque y brezo) y fracciones de suelo: gruesa (1–2 mm) y fina (<0.05 mm). La composición molecular de la materia orgánica del suelo (MOS) se analizó mediante espectrometría de masas de ultra-alta resolución. Además, se empleó la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) para explorar la relación entre la RAS y la MOS definida por la abundancia de los 1221 compuestos orgánicos comunes. También se utilizaron índices para obtener gráficas que faciliten la identificación de biomarcadores de la RAS. En los suelos quemados, la RAS estaba significativamente relacionada ($P < 0.05$) con compuestos aromáticos y condensados, mientras que, en los suelos control, la MOS incluía compuestos aromáticos y ligninas. En las fracciones finas, la RAS estuvo relacionada principalmente con lípidos, pero, no se encontró correlación en las fracciones gruesas. Los resultados permiten concluir que la hidrofobicidad depende de varias familias de compuestos orgánicos. La combinación de la FT-ICR/MS con herramientas estadísticas ha facilitado la obtención de nuevos biomarcadores de RAS.

Palabras clave: Hidrofobicidad, incendios forestales, espectrometría de masas, quimiometría, diagrama de van Krevelen

ABSTRACT

Soil water repellency (SWR) is often attributed to the accumulation of hydrophobic organic compounds, mainly lipids. Nonetheless, lipid extraction not always suppress SWR and unextractable soil constituents may be related with residual SWR. Burnt (B) and unburnt (UB) soils (Doñana National Park, Huelva) under two vegetations (cork oak and heather) and two soil fractions, coarse (1–2 mm) and fine (<0.05 mm) were studied. Soil organic matter (SOM) molecular composition was studied by ultra-high resolution mass spectrometry. Partial least squares regression (PLS) was employed to explore SWR in function the abundance of the 1221 common compounds found. An omic approach using various indices (e.g., factor loadings of PLS models, etc.) was applied to identify compounds which could be used as proxies for SWR. In the case of B soils, SWR was related ($P < 0.05$) to aromatic and condensed compounds, while in UB soils it relied mainly on aromatics and lignins. In the fine fractions, lipids were associated with SWR, and no correlation was found in the coarse fractions. In conclusion, hydrophobicity was related to lipids as expected, but also to lignin and aromatic components. The combination of FT-ICR/MS with graphical statistical approach was effective in finding molecular predictors of SWR.

Keywords: Chemometrics, forest fires, hydrophobicity, mass spectrometry, van Krevelen diagram

INTRODUCCIÓN

La repelencia al agua en el suelo (RAS) es una propiedad física que dificulta la infiltración del agua y en la que influye un considerable número de factores medioambientales, en general poco conocidos, con una fuerte dependencia de las características y tipo de suelo. Esta propiedad del suelo tiene una importante influencia sobre el funcionamiento de los ecosistemas a nivel hidrológico, geomorfológico y ecológico. La RAS determina el aumento del flujo superficial, lo que se traduce en una erosión acelerada y por tanto en la pérdida de nutrientes, así como la alteración de la dinámica de humectación del suelo (flujos preferentes de infiltración), lo que afecta directamente al desarrollo de la vegetación. Sin embargo, la RAS también confiere propiedades positivas al suelo, cómo es el incremento de estabilidad de agregados y el secuestro de C.

Tradicionalmente, la RAS se ha explicado a partir de la translocación y acumulación de compuestos orgánicos de carácter hidrofóbico, principalmente sustancias de naturaleza lipídica (ceras, ácidos grasos, etc.) a lo largo del perfil del suelo (Jiménez-Morillo *et al.*, 2017). Sin embargo, experimentos basados en extracción secuencial de todas las formas libres e hidrolizables de lípidos del suelo, utilizando disolventes orgánicos de diversa polaridad, demuestran que la RAS disminuye, pero no desaparece totalmente. Por tanto, se puede pensar en la contribución de factores adicionales, como pueden ser cambios en la naturaleza y composición de la fracción orgánica recalcitrante, insoluble, de la MOS, que incluye las denominadas sustancias húmicas y en particular la fracción no-extraíble o humina (De Blas *et al.*, 2010).

En efecto, estos constituyentes de la MOS también pueden desempeñar un importante papel en la hidrofobicidad que presente el suelo. Éste es el caso de los suelos afectados por incendios, donde el fuego puede inducir, incrementar o incluso destruir la RAS. Esta alteración está directamente relacionada con los cambios producidos en la composición molecular de la MOS. Jiménez-Morillo *et al.* (2017) demostraron que existe una relación directa entre el grado de alteración de los compuestos lipídicos y la RAS. Sin embargo, otros estudios han mostrado como otras familias de compuestos orgánicos también influyen en la hidrofobicidad (Deus *et al.*, 2021).

El objetivo principal de este trabajo fue la identificación de marcadores moleculares de la RAS. Para ello combinamos técnicas avanzadas de espectrometría de masas de ultra-alta resolución con tratamientos estadísticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para facilitar la identificación de los constituyentes moleculares de la MOS involucrados en la RAS, se llevó a cabo el estudio comparado de muestras de suelos quemados y control bajo dos tipos de cubiertas vegetales, arbórea (*Quercus suber* L.) y arbustiva (*Erico scopariae-Ullicetum australis*) en el Parque Nacional de Doñana (Huelva, España). Las muestras quemadas fueron producto de los incendios que tuvieron lugar durante el verano de 2014 y que afectaron >300 ha, siendo la intensidad alta. El test de hidrofobicidad basado en el tiempo de penetración de una gota de agua (WDPT) se empleó para evaluar el grado de la RAS en dos fracciones de tamaño de partícula: gruesa (1–2 mm) y fina (<0,05 mm).

La composición molecular de la MOS fue analizada mediante espectrometría de masas por resonancia de ión ciclotrón con transformada de Fourier (FT-ICR/MS) y los resultados fueron analizados mediante regresión por PLS. Este tratamiento estadístico permite construir modelos de predicción y comprobar si los valores de la RAS (variable dependiente) pueden explicarse a partir de las proporciones de los constituyentes orgánicos de las muestras analizadas (variables independientes).

Por otro lado, se obtuvieron diversos índices para ilustrar el grado en que los compuestos orgánicos pueden emplearse como variables predictoras de la RAS: a) los factores de carga de las variables latentes de los modelos de PLS, b) los coeficientes de correlación de Pearson entre la variable dependiente y cada una de las variables independientes, y c) las diferencias entre valores promedio de la composición molecular de grupos de suelos con valores extremos de WDPT. En todos los casos, los valores se presentan gráficamente en forma de superficies de densidad sobre el plano definido por las relaciones atómicas H/C y O/C de los compuestos orgánicos comunes detectados por FT-ICR/MS; se trata de diagramas de van Krevelen clásicos, introduciendo

una tercera dimensión para representar dichos índices que expresan la influencia diferencial de los distintos compuestos en la RAS observada (Jiménez-Morillo *et al.*, 2022).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis comparativo de los valores de WDPT indicó la existencia de cuatro grupos independientes de muestras con diferentes grados de RAS. Cabe destacar que las muestras de suelos bajo cubierta arbustiva presentaron un bajo grado de repelencia respecto a las muestras bajo cubierta arbórea.

El empleo de la espectrometría de masas de alta resolución ha permitido identificar más de 7000 compuestos orgánicos diferentes para cada muestra de MOS analizada. Sin embargo, en esta investigación sólo se han considerado las 1221 moléculas orgánicas comunes en todas las muestras analizadas, principalmente moléculas constituidas por C, H y O. Estos compuestos presentaban valores de H/C y O/C comprendidos entre 0.4–2.0 y 0.1–1.2, respectivamente. Ello sugiere que la MOS está constituida por compuestos derivados de lignina, taninos, carbohidratos, proteínas, lípidos, compuestos aromáticos y aromáticos condensados (Jiménez-Morillo *et al.*, 2018).

El empleo de análisis estadísticos multivariante, y más concretamente la regresión por PLS nos permite generar un modelo predictivo del grado de RAS (Figura 1) a partir de los 1221 compuestos orgánicos comunes a las 8 muestras analizadas mediante FT-ICR/MS.

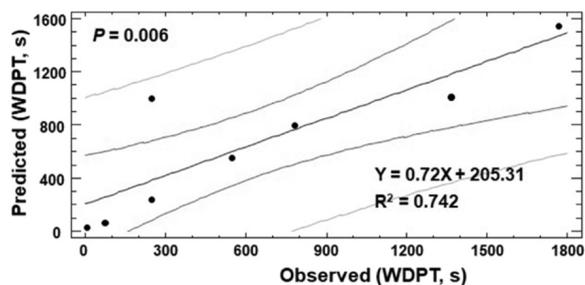


Figura 1 - Representación gráfica de la validación cruzada de valores observados frente a los predichos de la WDPT, obtenidos mediante el modelo de predicción para la WDPT generado por PLS ($R^2 = 0.742$), utilizando 6 variables latentes sugeridas por los valores de error cuadrático medio (RMSE) y el criterio de información de Akaike (AIC).

El siguiente paso fue la identificación de los principales marcadores moleculares asociados a los diferentes grados de RAS. Para ello, se construyeron mapas de densidad a partir de valores de sustracción entre abundancias de compuestos en muestras con diferentes niveles de RAS, que ilustran los compuestos orgánicos cuya proporción aumenta o disminuye a consecuencia del incendio (Figura 2A), el tamaño de partícula (Figura 2B), y el grado de hidrofobicidad (Figura 2C). Esta aproximación metodológica ha sido empleada recientemente para la identificación de biomarcadores en matrices complejas (Jiménez-Morillo *et al.*, 2022). En el caso de las muestras de suelos afectados por el incendio, frente a las tomadas en zonas inalteradas, se ha observado que la proporción de compuestos aromáticos y condensados están significativamente correlacionada con la RAS, mientras que las muestras control presentan una fuerte relación con compuestos derivados de lignina y taninos. Estos resultados sugieren que el fuego produjo una alteración de las propiedades coloidales del conjunto de constituyentes de la MOS, lo que aumenta el grado de RAS en los suelos afectados por el fuego. La comparación respecto al tamaño de partícula mostró la existencia de una fuerte correlación entre la RAS y los compuestos derivados de tipo lipídico y aromático fuertemente condensados para el caso de la fracción fina (<0,05 mm). Recientemente, Jiménez-Morillo *et al.* (2018) han demostrado que la MOS presente en la fracción más fina del suelo está principalmente constituida por material fuertemente humificado, mientras que la MOS en la fracción más gruesa está dominada por biomasa vegetal relativamente menos transformada. Por último, la comparación con respecto al nivel de RAS muestra que las principales diferencias entre la concentración de constituyentes de la MOS se encuentran en los compuestos lipídicos y los derivados de lignina. Por el contrario, las muestras procedentes de suelos menos hidrofóbicos presentan mayores proporciones de compuestos aromáticos, con un valor O/C > 0.7, lo que indica un elevado número de grupos polares.

La comparación del conjunto de los tres gráficos de la Figura 2A–C ilustra que el grado de RAS puede estar significativamente relacionado con diferentes aspectos estructurales, de la MOS, dependiendo de la fracción o tipo de suelo, así como del tipo de recubrimiento hidrofóbicos, o el grado de

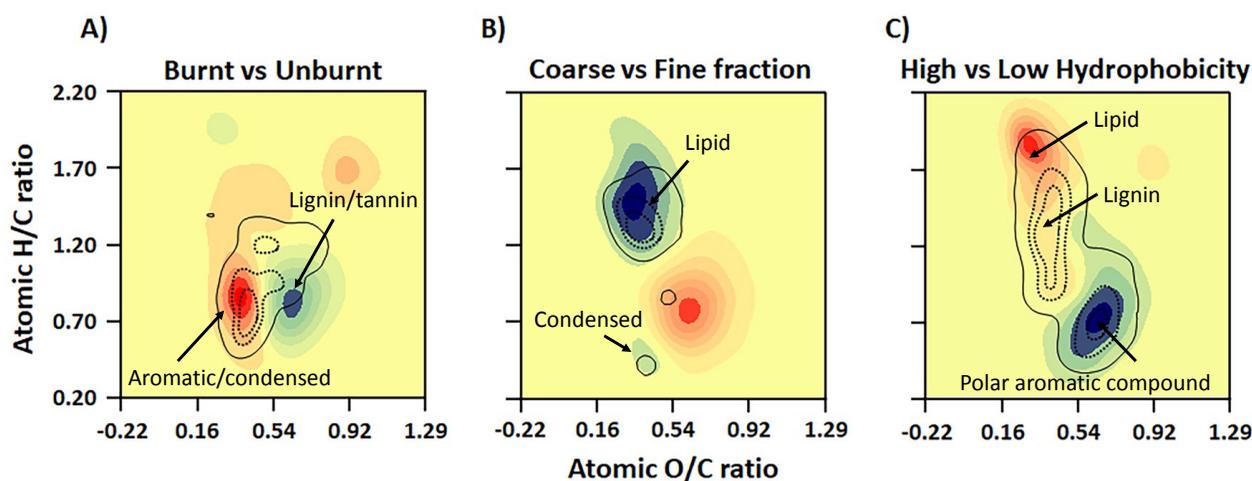


Figura 2 - Gráficos de densidad obtenidos a partir de los valores sustracción de las proporciones de las 1221 moléculas orgánicas comunes en muestras agrupadas en función de diferentes criterios: A) muestras afectadas por el fuego (rojo) frente a no afectadas (azul), B) fracciones gruesas (rojo) frente a fracciones finas (azul), y C) alta hidrofobicidad (rojo) frente a baja (azul). Los valores se representaron en el espacio definido por las relaciones atómicas H/C y O/C de los correspondientes compuestos (diagrama de Van Krevelen). Las diferencias más significativas entre los grupos de muestras se representan mediante un gráfico de contorno ($P < 0.1$ en contorno externo, $P < 0.01$ en el interno).

desfuncionalización de los compuestos orgánicos con grupos polares, principalmente taninos y ligninas oxidadas.

CONCLUSIONES

La combinación de la espectrometría de masa de ultra-alta resolución con tratamientos gráfico-estadísticos constituye una estrategia ómica con gran potencial para el análisis exploratorio de los complejos factores responsables de cambios en la RAS tras un incendio forestal. De hecho, los resultados ilustran que esta aproximación metodológica puede ser de gran interés en investigaciones con elevado número de muestras, por cuanto facilita en gran medida la reducción de datos y su interpretación.

Además, la aproximación analítica propuesta puede ser útil para evaluar la calidad de la MOS lo que

ofrece una información valiosa sobre la alteración molecular de la MOS inducida por efecto de factores naturales y antropogénicos, y su impacto en el ecosistema.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo parcialmente financiado por los proyectos EROFIRE (PCIF/RPG/0079/2018 y MICROCENO (PTDC/CTA-AMB/ 0608/2020) de la Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) y MarkFire (PAIDI2020, PY20_01073) de la Junta de Andalucía con fondos EU FEDER e INTERCARBON (2017/19) del Espacio Natural de Doñana y la EBD-CSIC. Además, NTJM y AZM agradecen los contratos CEECs (2021/00711/CEECIND y CEECIND/01147/2017, respectivamente, de la FCT) y el contrato Ramón y Cajal (ref. RYC2019-026885-I) del Ministerio de Ciencia e Innovación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- De Blas, E.; Rodríguez-Alleres, M. & Almendros, G. (2010) - Speciation of lipid and humic fractions in soils under pine and eucalyptus forest in northwest Spain and its effect on water repellency. *Geoderma*, vol. 155, n. 3-4, p. 242–248. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.12.007>
- Deus, M.; Miller, A.Z. & Jiménez-Morillo, N.T. (2021) - Molecular Characterization of Burned Organic Matter at Different Soil Depths and Its Relationship with Soil Water Repellency: A Preliminary Result. *Agronomy*, vol. 11, n. 12, art. 2560. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122560>
- Jiménez-Morillo, N.T.; Almendros, G.; Miller, A.Z.; Hatcher, P.G. & González-Pérez, J.A. (2022) - Hydrophobicity of soils affected by fires: An assessment using molecular markers from ultra-high resolution mass spectrometry. *Science of the Total Environment*, vol. 817, art. 152957. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.152957>
- Jiménez-Morillo, N.T.; González-Pérez, J.A.; Almendros, G.; de la Rosa, J.M.; Waggoner, D.C.; Jordán, A.; Zavala, L.M.; González-Vila, F.J. & Hatcher, P.G. (2018) - Ultra-high resolution mass spectrometry of physical speciation patterns of organic matter in fire-affected soils. *Journal of Environmental Management*, vol. 225, p. 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.069>
- Jiménez-Morillo, N.T.; Spangenberg, J.E.; Miller, A.Z.; Jordán, A.; Zavala, L.M.; González-Vila, F.J. & González-Pérez, J.A. (2017) - Wildfire effects on lipid composition and hydrophobicity of bulk soil and soil size fractions under *Quercus suber* cover (SW-Spain). *Environmental Research*, vol. 159, p. 394–405. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.022>