



UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE  
MADRID



Universidad  
Rey Juan Carlos



POLITÉCNICA

## TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

# **Efecto del uso combinado de biochar y fertilizantes sobre la estabilización del carbono orgánico en suelos agrícolas semiáridos**

## **Máster Universitario en Restauración de Ecosistemas**

**Presentado por:**

**D<sup>a</sup> Fátima Esteban Ruiz**

**Director:**

**D. Juan Carlos García-Gil Gallego**

**Codirectores:**

**D. César Plaza de Carlos**

**D<sup>a</sup> María del Mar Delgado Arroyo**

**Tutor académico:**

**D<sup>a</sup> María Dolores Jiménez Escobar**

**En Madrid, a 30 de octubre de 2019**



## **AGRADECIMIENTOS**

Las actividades desarrolladas en este Trabajo Fin de Máster han recibido financiación del Ministerio de Economía y Competitividad a través de los proyectos AGL2016-75762-R y CGL2015-65162-R.

La realización de este Trabajo de Fin de Máster ha sido posible gracias al apoyo y paciencia del Dr. Juan Carlos García-Gil y del Dr. César Plaza de Carlos, que han transmitido y compartido su conocimiento científico conmigo. Así como su orientación y disponibilidad de tiempo para aconsejarme durante el desarrollo del trabajo.

Agradecer a Dra. Esther López de Sá sus consejos y conocimientos técnicos compartidos conmigo. Al Mgtr. Iria Benavente Ferraces y al Mgtr. Paloma Díaz Martínez por su paciencia, apoyo, cariño y ayuda en todas y cada una de las etapas de este proyecto.

Agradezco al Instituto de Ciencias Agrarias del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) por haberme permitido participar y desarrollar las actividades realizadas en este trabajo en sus instalaciones de campo y de laboratorio. En concreto, a la Dra. María del Mar Delgado Arroyo por sus enseñanzas y apoyo constante.

Agradecer a mis compañeros de laboratorio, en especial a Roxana y Elena, y a mis compañeras de máster y carrera, Paula y Marta, por sus aportaciones, consejos y apoyo moral en la elaboración de este trabajo.

Por último, agradecer a mi familia por el cariño y apoyo incondicional que siempre me dan.



## **RESUMEN**

Los sistemas agrarios proporcionan diversos servicios ecosistémicos de vital importancia, desde la producción de alimentos hasta el almacenamiento de carbono en el suelo. Los cambios de usos del suelo y las actuales prácticas intensivas sobre estos ecosistemas están produciendo su degradación, lo que conlleva una pérdida de estos servicios.

Uno de los problemas principales que presentan los suelos agrícolas sujetos a climas mediterráneos es la pérdida de materia orgánica y desertificación. Una de las técnicas que se están empleando para aumentar el carbono orgánico del suelo es el aporte de biochar, un producto procedente de la pirólisis de materia orgánica. La adición de biochar al suelo produce múltiples efectos positivos sobre sus propiedades, como la mejora de su estructura, una mayor capacidad de retención de agua, adsorción de pesticidas y metales pesados, o su capacidad para almacenar carbono al suelo de manera estable. Este secuestro de carbono implica la reducción de las emisiones de CO<sub>2</sub> atmosférico generadas por la actividad microbiana, por lo que el biochar puede tener un papel muy importante sobre la mitigación del cambio climático.

En el presente proyecto se evalúa los efectos del biochar en combinación con otros fertilizantes sobre el potencial de mineralización de carbono en el suelo. Con el aporte de estas enmiendas se pretende aumentar la cantidad de carbono orgánico del suelo asociado a los minerales y en los agregados estables estando más protegidos frente a la actividad microbiana. Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas entre los tratamientos aplicados sobre la emisión de CO<sub>2</sub>.

**Palabras clave:** mineralización del carbono, enmienda orgánica, fraccionamiento del suelo, compost municipal, lodos de depuradora secados térmicamente, fertilizante mineral.



## **ABSTRACT**

Agricultural systems provide several vital ecosystem services, from food production to carbon storage in the soil. Land use changes and current intensive practices on these ecosystems are causing their degradation, which leads to a loss of these services.

One of the main problems presented by agricultural soils under Mediterranean climates is the loss of organic matter and desertification. One of the techniques that is being used to increase soil organic carbon is the addition of biochar, which is a product obtained from the pyrolysis of organic matter. Biochar addition to soil produce multiple positive effects on its properties such as improving soil structure, water holding capacity, adsorption of pesticides and heavy metals or enhancing long-term soil carbon storage. Carbon sequestration involves the reduction of atmospheric CO<sub>2</sub> emissions generated by microbial activity; hence biochar can play a very important role in mitigating climate change.

This project evaluates the effects of biochar in combination with other fertilizers on the potential for soil carbon mineralization. The addition of these amendments it is intended to increase the amount of soil organic carbon associated to minerals and in stable aggregates being protected against microbial activity. The results obtained show significant differences between the treatments applied on the soil CO<sub>2</sub> emissions.

**Keywords:** carbon mineralization, organic amendment, soil fractionation, municipal solid waste compost, sewage sludge, mineral fertilizer.





# ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>XIX</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>XXII</b>
<b>ACRÓNIMOS</b> .....	<b>XXIII</b>
<b>GLOSARIO</b> .....	<b>XXIV</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Servicios ecosistémicos y agricultura: la importancia del suelo.....	1
1.2 La materia orgánica .....	4
1.3 Carbono orgánico: papel de los suelos en el ciclo del carbono .....	6
1.4 Biochar y sus aplicaciones .....	7
<b>2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1 JUSTIFICACIÓN .....	11
2.2 OBJETIVOS .....	11
2.2.1 Objetivo general .....	11
2.2.2 Objetivos específicos.....	11
<b>3 MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>13</b>
3.1 Diseño experimental .....	13
3.1.1 Toma y preparación de muestras.....	15
3.2 Caracterización fisicoquímica del suelo .....	16
3.2.1 Caracterización física .....	16
3.2.2 Caracterización química.....	16
<b>4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>25</b>
<b>5 CONCLUSIONES</b> .....	<b>43</b>
<b>6 BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>45</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Algunos servicios ecosistémicos prestados por la agricultura (FAO, 2013)	<b>2</b>
<b>Figura 2</b>	Adsorción de carbono sobre y bajo la superficie (FAO, 2013)	<b>6</b>
<b>Figura 3</b>	Resumen de los principales efectos del biochar sobre las características del suelo (Olmo, 2016)	<b>9</b>
<b>Figura 4</b>	Diseño experimental. Distribución de los diferentes tratamientos aplicados	<b>14</b>
<b>Figura 5</b>	Analizador de humedad por termogravimetría	<b>16</b>
<b>Figura 6</b>	Matraces Kjeldahl preparados para la digestión de la materia orgánica del suelo y reducción del nitrógeno a ión amonio. Disolución de NaOH al 20% que recoge los gases que son emitidos.	<b>17</b>
<b>Figura 7</b>	a) Matraz Kjendahl y erlenmeyer con ácido bórico al inicio de la destilación b) Amoniaco recogido en el erlenmeyer después de su destilación	<b>18</b>
<b>Figura 8</b>	Destilador de amonio y nitrato	<b>19</b>
<b>Figura 9</b>	Botes grandes de 100 mL con filtros en su interior (izquierda) Tubos de centrífuga de 50 mL con muestras de suelo en su interior (derecha)	<b>20</b>
<b>Figura 10</b>	a) Centrífuga con los tubos colocados en su interior b) Tubo de centrífuga con la materia orgánica flotante separada de la materia pesada c) Sistema Sterifil d) Filtro con la materia orgánica libre recogida.	<b>21</b>
<b>Figura 11</b>	a) Aparato de ultrasonido preparado b) Aparato de ultrasonido en funcionamiento c) Tubo de centrífuga después de la acción del ultrasonido d) Tubo de centrífuga después de su agitación y centrifugación	<b>22</b>
<b>Figura 12</b>	a) Molino de bolas b) Botes pequeños con la materia orgánica separada y molida c) Cápsulas de estaño y plata utilizadas para el análisis de C y N	<b>22</b>
<b>Figura 13</b>	a) EMG-4 de infrarrojos, analizador de CO <sub>2</sub> b) Recipiente de vidrio con 50 g de muestra de suelo utilizado para determinar la respiración	<b>23</b>
<b>Figura 14</b>	Ejemplo de una pendiente obtenida de la relación entre la emisión de C - CO <sub>2</sub> y el tiempo transcurrido	<b>24</b>
<b>Figura 15</b>	Contenido de C orgánico total del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).	<b>28</b>

<b>Figura 16</b>	Contenido de N total del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).	<b>28</b>
<b>Figura 17</b>	Relación C/N del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).	<b>28</b>
<b>Figura 18</b>	Contenido de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).	<b>30</b>
<b>Figura 19</b>	Contenido de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).	<b>31</b>
<b>Figura 20</b>	Contenido de C orgánico libre del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B)	<b>33</b>
<b>Figura 21</b>	Contenido de C orgánico ocluido en los agregados del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B)	<b>33</b>
<b>Figura 22</b>	Contenido de C orgánico asociado al mineral del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B)	<b>34</b>
<b>Figura 23</b>	Contenido de N libre del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B)	<b>34</b>
<b>Figura 24</b>	Contenido de N ocluido en los agregados del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).	<b>35</b>
<b>Figura 25</b>	Contenido de N asociado al mineral del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B)	<b>35</b>
<b>Figura 26</b>	Relación C/N orgánico libre del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).	<b>36</b>
<b>Figura 27</b>	Relación C/N ocluido en los agregados del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).	<b>36</b>

- Figura 28** Relación C/N asociado al mineral del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B) **37**
- Figura 29** Mineralización del carbono basal  $C_0$  ( $\mu\text{g C} - \text{CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ suelo seco d}^{-1}$ ) del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B) **40**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	Clasificación de los servicios ecosistémicos (MEA, 2005)	<b>1</b>
<b>Tabla 2</b>	Principales funciones de la materia orgánica sobre las propiedades físicas, biológicas y químicas del suelo (Aguilera, 2000; Marañón y Madejón, 2016).	<b>5</b>
<b>Tabla 3</b>	Propiedades del suelo, biochar, fertilizante mineral, compost y lodos de depuradora ( $n = 4 \pm 1$ ES).	<b>15</b>
<b>Tabla 4</b>	pH en el suelo con los diferentes tratamientos ( $n = 4 \pm 1$ ES). Los valores en la columna con una letra común no son significativamente diferentes según el test LSD de Fisher ( $P < 0.05$ ).	<b>25</b>
<b>Tabla 5</b>	Resumen estadístico del ANOVA de dos factores (Biochar y Fertilizante) sobre el pH del suelo ( $n = 4 \pm 1$ ES). Los números en negrita son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).	<b>25</b>
<b>Tabla 6</b>	CE en el suelo con los diferentes tratamientos ( $n = 4 \pm 1$ ES). Los valores en la columna con una letra común no son significativamente diferentes según el test LSD de Fisher ( $P < 0.05$ ).	<b>26</b>
<b>Tabla 7</b>	Resumen estadístico del contraste no paramétrico sobre la CE del suelo ( $n = 4 \pm 1$ ES).	<b>26</b>
<b>Tabla 8</b>	Resumen estadístico del ANOVA de dos factores (Biochar y Fertilizante) sobre el contenido en $\text{NH}_4^+$ y $\text{NO}_3^-$ del suelo ( $n = 4 \pm 1$ ES). Los números en negrita son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).	<b>29</b>
<b>Tabla 9</b>	Resumen estadístico del ANOVA de dos factores (Biochar y Fertilizante) sobre el contenido en $\text{NH}_4^+$ y $\text{NO}_3^-$ del suelo ( $n = 4 \pm 1$ ES). Los números en negrita son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).	<b>31</b>
<b>Tabla 10</b>	Análisis de varianza del C orgánico total y las diferentes fracciones del suelo. Los números en negrita son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).	<b>38</b>
<b>Tabla 11</b>	Resumen estadístico del ANOVA de dos factores (Biochar y Fertilizante) sobre la tasa de mineralización del carbono del suelo ( $n = 4 \pm 1$ ES). Los números en negrita son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).	<b>40</b>

## ACRÓNIMOS

<b>ANOVA</b>	Análisis de la varianza
<b>pH</b>	Potencial de Hidrógeno
<b>CE</b>	Conductividad Eléctrica
<b>CSIC</b>	Consejo Superior de Investigaciones Científicas
<b>FAO</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
<b>GEIs</b>	Gases de Efecto Invernadero
<b>IBI</b>	Iniciativa del Biochar Internacional
<b>IPCC</b>	Grupo Internacional de Expertos sobre el Cambio Climático
<b>MEA</b>	Evaluación de los Ecosistemas del Milenio
<b>MO</b>	Materia Orgánica
<b>FM</b>	Fertilizante Mineral
<b>LD</b>	Lodos de Depuradora secados térmicamente
<b>CM</b>	Compost Municipal
<b>C<sub>0</sub></b>	Tasa de mineralización del carbono
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>N<sub>2</sub>O</b>	Óxido nitroso
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido sulfúrico
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Amonio
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Nitrato
<b>N</b>	Nitrógeno
<b>C</b>	Carbono

## GLOSARIO

**Biochar:** material carbonoso producido de la biomasa por tratamiento termoquímico, sin o con una limitada cantidad de oxígeno (< 1%).

**Enmienda:** sustancias que se mezclan con las tierras para modificar favorablemente sus propiedades y hacerlas más productivas

**Enmienda orgánica:** enmienda procedente de materiales carbonados de origen vegetal o animal, utilizada para mantener o aumentar el contenido en materia orgánica del suelo, mejorar sus propiedades fisicoquímicas y biológica.

**Materia orgánica:** parte de la fracción sólida del suelo que está constituida bien por tejidos vegetales o por animales frescos, o bien por complejos orgánicos sintetizados por actividad microbiana, o bien por una mezcla de ambos.

**Mineralización del carbono:** proceso por el cual la materia orgánica del suelo se transforma en CO<sub>2</sub> como resultado de la actividad metabólica de los microorganismos del suelo.

**Pirólisis:** proceso de descomposición térmica de materia orgánica y toda clase de materiales, con una cantidad mínima o sin presencia de oxígeno.

**Suelo:** sistema tridimensional que ocupa la parte más superficial de la corteza terrestre y que tiene propiedades que lo diferencian del material rocoso subyacente como resultado de interacciones entre clima, organismos vivos (incluyendo la actividad del hombre), material parental y relieve a través del tiempo.

**Suelo agrícola:** suelo destinado a la producción de alimentos, fibras y biocombustibles.

**Fertilizante:** producto que hace que el suelo sea más fértil.

**Lodos de depuradora:** residuo generado del tratamiento de las aguas residuales urbanas (hogares y oficinas) y de otras estaciones depuradoras que traten aguas similares (industria agroalimentaria)

**Compost:** enmienda orgánica resultante del tratamiento aerobio controlado de residuos orgánicos (desechos domésticos, hierbas, deyecciones animales, etc.).

**Fraccionamiento del suelo:** separación del carbono orgánico de un suelo en diferentes fracciones orgánicas.



# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 Servicios ecosistémicos y agricultura: la importancia del suelo

Los servicios ecosistémicos son definidos por la Evaluación de los Ecosistemas del Milenio como bienes y servicios proporcionados por la naturaleza para satisfacer las necesidades humanas esenciales, es decir, aquellos beneficios que las personas obtenemos de los ecosistemas (MEA, 2005). Se diferencian dos tipos de servicios: directos e indirectos. Los servicios directos son los servicios de aprovisionamiento (productos obtenidos de los ecosistemas) y de regulación (servicios obtenidos de procesos ecosistémicos); mientras que los servicios indirectos son aquellos que brindan beneficios no materiales, como son los servicios culturales y los servicios de apoyo, aquellos necesarios para la producción de otros servicios (Tabla 1).

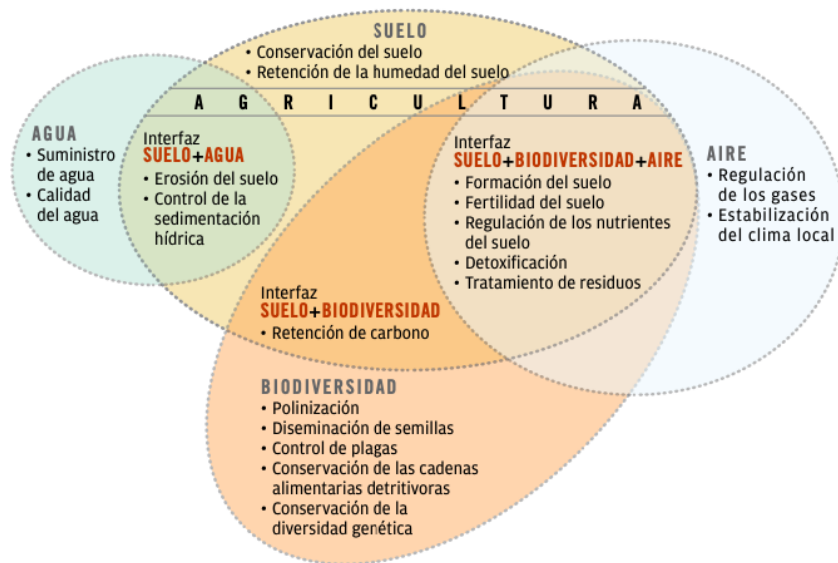
**Tabla 1.** Clasificación de los servicios ecosistémicos (MEA, 2005)

SERVICIOS DE APROVISIONAMIENTO	SERVICIOS DE REGULACIÓN	SERVICIOS CULTURALES
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alimentos</li> <li>• Materias primas</li> <li>• Agua dulce</li> <li>• Recursos medicinales</li> <li>• Recursos genéticos</li> <li>• Recursos ornamentales</li> <li>• Madera y combustibles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Regulación del clima y calidad del aire</li> <li>• Secuestro y almacenamiento de carbono</li> <li>• Regulación del ciclo del agua</li> <li>• Polinización</li> <li>• Prevención de la erosión y conservación de la fertilidad del suelo</li> <li>• Control biológico de plagas</li> <li>• Reducción de daños ante catástrofes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Turismo</li> <li>• Actividades de recreo y salud mental y física</li> <li>• Apreciación estética e inspiración para la cultura, arte y diseño</li> <li>• Experiencia espiritual y sentimiento de pertenencia</li> <li>• Educación</li> </ul>
SERVICIOS DE APOYO		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ciclo de nutrientes</li> <li>• Producción primaria</li> <li>• Formación del suelo</li> </ul>		

Ecosistemas como los agrosistemas son proveedores y consumidores de servicios ecosistémicos (Power, 2010); siendo altamente importantes ya que ocupan casi el 40% de la superficie terrestre de la Tierra (FAO, 2013) A lo largo de la historia, la agricultura ha sido uno de los principales motores de cambio, constituyendo un ejemplo más de cómo los humanos hemos modificado los ecosistemas en función de nuestras necesidades principales: producción de alimentos, fibra y combustible (Swinton *et al.*, 2007)

Tradicionalmente, la agricultura se han considerado fuente de servicios de aprovisionamiento, ya que la calidad del suelo agrícola ha sido evaluada por su capacidad productiva. Pero según la gestión que se lleve a cabo, también pueden proporcionar servicios culturales o servicios de regulación (secuestro y almacenamiento de carbono o prevención de la erosión), a la vez que exige de servicios de apoyo que le permitan ser productiva (formación o fertilidad del suelo).

La agricultura contribuye positivamente a los servicios ecosistémicos (FAO, 2013), favoreciendo la formación de suelo y su conservación, la regulación de los nutrientes o el control de la erosión del suelo, entre otros servicios (Figura 1). Pero también puede ser una fuente de pérdida debido a las prácticas intensivas como la contaminación agroquímica por pesticidas y fertilizantes, deforestación, emisiones de gases de efecto invernadero, escorrentía y sedimentación (Swinton *et al.*, 2007).



**Figura 1.** Algunos servicios ecosistémicos prestados por la agricultura (FAO, 2013).

Por lo tanto, el efecto de la agricultura sobre los servicios ecosistémicos es altamente dependiente del suelo, un componente crítico en el mantenimiento de la biodiversidad y la calidad medioambiental, entre otras cosas (Trujillo-gonzález *et al.*, 2018).

El suelo definido por Burbano-Orjuela (2016) es un recurso natural finito y no renovable que brinda diferentes servicios ecosistémicos:

- Permite la producción de alimento y biomasa, ya que da soporte y suministro de nutrientes.
- Elemento indispensable en los ciclos biogeoquímicos.

- Favorece el almacenamiento o fijación de carbono, es el mayor sumidero terrestre de carbono.
- Da soporte a las actividades humanas.
- Permite el almacenamiento y filtración de agua.
- Es una reserva de biodiversidad.
- Depósito de patrimonio geológico y arqueológico.
- Entorno físico y cultural para la humanidad: registro de actividades humanas del pasado.

Debido a la importancia de los suelos, su protección y conservación debe ser una acción necesaria, pues son sistemas ecológicamente frágiles (Martínez-Murillo *et al.*, 2016). Según el MEA, aproximadamente el 60% de los servicios ecosistémicos se están degradando o se utilizan de manera no sostenible.

La degradación del suelo es definida por González-Quíñonez (2006), como *“una alteración del equilibrio existente en sus propiedades físicas, químicas, biológicas o bioquímicas, que conducen a una disminución de su fertilidad y capacidad del suelo, en términos de cantidad y calidad, para generar bienes o servicios”*. Es decir, una disminución a largo plazo de las funciones y productividad del ecosistema, causada por perturbaciones de las cuales no puede recuperarse sin ayuda.

En los últimos 25 años, el 24% de la superficie terrestre ha sido degradada, siendo el 19% de las tierras degradadas suelos de cultivo (Bai *et al.*, 2008). Esta degradación del suelo afecta negativamente a los rendimientos de los cultivos, siendo menor la productividad (Bakker *et al.*, 2007). Pero esta degradación de los suelos también es producto del turismo, la actividades industriales y urbanas, la naturaleza de los suelos y la influencia del clima.

En las regiones semiáridas Mediterráneas, donde se registran temperaturas elevadas y los largos periodos de sequía se intercalan con las precipitaciones escasas e intensas, se ha producido una gran degradación del suelo debido al clima y a las actividades humanas sobre este recurso natural, como la deforestación, las malas prácticas agrarias o el sobrepastoreo (Martínez-Murillo *et al.*, 2016). En esta región, los suelos agrícolas se

caracterizan por presentar un bajo contenido de materia orgánica y bajos niveles de fertilidad (García *et al.*, 1994). Estas condiciones climáticas y de manejos del suelo propician desequilibrios y alteraciones en los ciclos biogeoquímicos que favorecen los procesos de mineralización de la materia orgánica (Imaz *et al.*, 2010).

El objetivo número 15 de los Objetivos de Desarrollo Sostenible del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, expone que se debe asegurar la conservación, restauración y uso sostenible de los ecosistemas terrestres, detener y revertir la degradación de los suelos. Se plantea como parte de este objetivo, la restauración de al menos el 15% de los ecosistemas degradados actualmente, incluyéndose la restauración de los suelos degradados por actividades agrícolas (Sanahuja, 2014). Una de las formas de abordar este objetivo ha sido mediante el aporte de materia orgánica exógena. Las enmiendas orgánicas aplicadas a los suelos mejoran su fertilidad y actividad microbiana (Izquierdo, 2003). Sin embargo, también pueden generar efectos adversos (aumento de la mineralización de la materia orgánica nativa del suelo) si no se tratan adecuadamente antes de su aplicación (Plaza *et al.*, 2004).

### **1.2 La materia orgánica**

Para que un suelo sea productivo y proporcione algunos de los servicios ecosistémicos previamente mencionados, debe poseer una estructura que permita la circulación del agua y aire, y a su vez, estar formado por una fracción mineral o inorgánica y una fracción orgánica, que es sustento de la actividad biológica (Aguilera, 2000).

Esta fracción o materia orgánica del suelo (MO), aun representando un porcentaje minoritario, constituye una parte vital en estos sistemas, pues tiene un papel determinante en sus propiedades físicas, químicas y biológicas. En la Tabla 2, se reúnen los principales procesos en los que interviene la MO en función de dichas propiedades (Aguilera, 2000; Marañón y Madejón, 2016).

**Tabla 2.** Principales funciones de la materia orgánica sobre las propiedades físicas, biológicas y químicas del suelo (Aguilera, 2000; Marañón y Madejón, 2016).

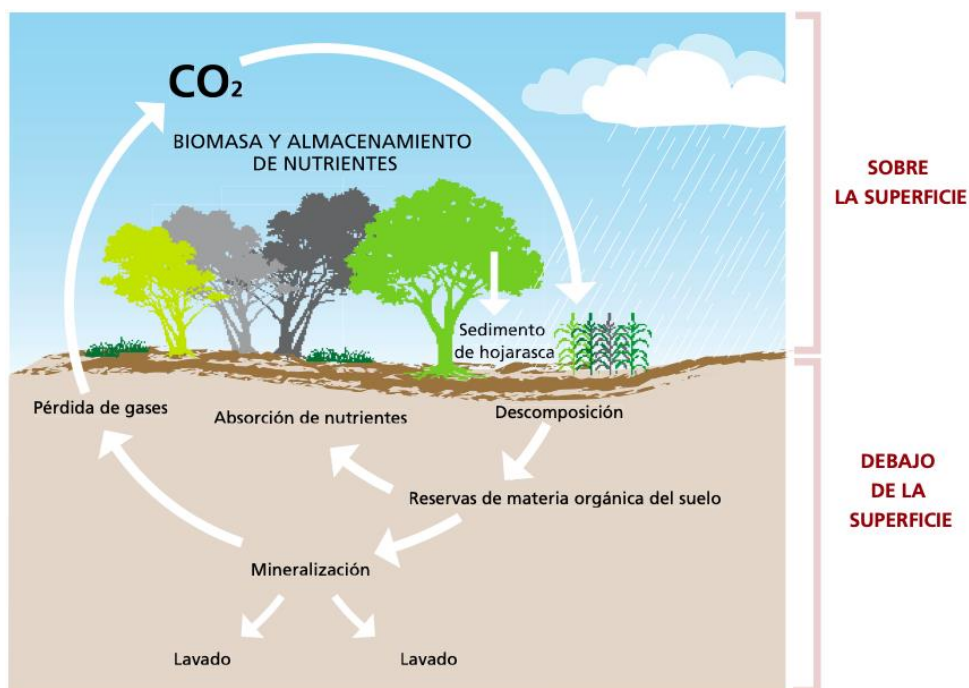
Propiedades	Funciones
FÍSICAS	Posee gran capacidad amortiguadora frente a cambios de pH Regula térmicamente el sistema Permite la retención de agua, aumentando su disponibilidad en periodos de sequía
BIOLÓGICAS	Fuente de energía gracias a su contenido de carbono disponible Fuente primaria de macro y micronutrientes Favorece la diversidad microbiana
QUÍMICAS	Permite el almacenamiento de los nutrientes en forma de humus Protege al suelo frente a metales pesados y pesticidas (fija sustancias contaminantes) Mejora la permeabilidad y el intercambio de gases del suelo al interactuar con los minerales

Unos de los principales problemas del suelo en los agroecosistemas mediterráneos es la pérdida de materia orgánica y desertificación. Para poder restaurar, mantener o aumentar los contenidos de M.O. se utilizan tanto técnicas de laboreo de conservación como la aplicación directa de enmiendas orgánicas a partir de residuos orgánicos (Marañón y Madejón, 2016). La agricultura de conservación consiste en un laboreo mínimo, que permite la incorporación de residuos de la propia cosecha, creándose una cobertura protectora vegetal sobre la superficie del suelo (FAO, 2002).

En la actualidad, no solo se utiliza el compost para la mejora de la calidad del suelo, sino que también se están empleando otras fuentes de materia orgánica, como los lodos de depuradora (Mosquera-Losada *et al.*, 2010), los cuales tienen efectos positivos sobre la producción de los cultivos comparables con los obtenidos mediante el uso de fertilizantes minerales. Con la aplicación de estas enmiendas orgánicas se consigue aumentar el carbono orgánico de las distintas fracciones que forman parte de la materia orgánica del suelo (Pedra *et al.*, 2007).

### 1.3 Carbono orgánico: papel de los suelos en el ciclo del carbono

El carbono orgánico del suelo definido por la (FAO, 2017) es una parte del ciclo global del carbono y el elemento porcentualmente mayoritario en la materia orgánica del suelo, que representa la mayor reserva de carbono del planeta, ya que se estima que almacenan en torno a 1500 Pg de C (1Pg=  $10^{15}$  g). En otras palabras, el suelo contiene más carbono que la atmósfera y la vegetación terrestre (FAO, 2015). Los flujos de carbono entre el suelo y la atmósfera son importantes, pues pueden ser flujos positivos que permitan su captura u almacenamiento (Figura 2), o flujos negativos, que emitan dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ).



*Figura 2. Adsorción de carbono sobre y bajo la superficie (FAO, 2013).*

El ciclo del carbono engloba al conjunto de procesos biogeoquímicos por el cual se relacionan entre sí los 4 reservorios de carbono: la atmósfera, el sistema terrestre, los océanos y los sedimentos. En el suelo, comienza con la fijación del  $\text{CO}_2$  atmosférico a través de las plantas que realizan la fotosíntesis y otros microorganismos. Cuando los restos de plantas y animales se descomponen, es decir, cuando la materia orgánica se oxida, se libera  $\text{CO}_2$  a la atmósfera, este proceso es lo que se conoce como respiración heterótrofa del suelo, y es llevada a cabo principalmente por el microbioma que alberga el conjunto de comunidades microbianas que habita en los suelos. De esta manera, el ciclo queda completado (Burbano-Orjuela, 2018). Una parte del input de carbono pasa a formar

parte la fracción más estable de la MO y puede persistir en el suelo durante mucho tiempo, mientras que otra parte del carbono que se incorpora al suelo puede perderse en forma de CO<sub>2</sub> o metano (CH<sub>4</sub>) por procesos de mineralización (FAO, 2017).

El CO<sub>2</sub> es el GEI que mayor incidencia tiene sobre el cambio climático y el calentamiento global (Valderrama *et al.*, 2015). Sus concentraciones en la atmósfera se han incrementado notablemente por la actividad humana desde mediados del siglo XX, siendo la agricultura la segunda causa de estas emisiones, pues contribuye con un 24% del total de emisiones de GEI (IPCC, 2014). Pero el suelo también desempeña una función importante como sumidero, llegando a concentrar el 80% del carbono presente en la Tierra (Swift, 2001). Este término es definido por Macías Gómez, en la Convención Marco de Naciones Unidas sobre Cambio Climático (1998), como “*cualquier proceso, actividad o mecanismo que absorbe un gas de efecto invernadero, un aerosol, o un precursor de un GEI de la atmósfera*”. Por consiguiente, dependiendo del balance de entrada y salida de carbono en el sistema edáfico, los suelos pueden actuar como sumidero de carbono o ser una fuente de emisiones de gases de efecto invernadero (GEIs).

Los ecosistemas terrestres pueden ser modificados por la actividad humana mediante el cambio del uso del suelo, siendo la agricultura una estrategia factible de reducción de emisiones de GEIs (FAO, 2002). Para potenciar este secuestro de CO<sub>2</sub> en los agroecosistemas, la aplicación del biochar se presenta como una posible forma de estabilización del carbono en el suelo (Lehmann y Joseph, 2009) a más largo plazo que otras enmiendas orgánicas.

#### **1.4 Biochar y sus aplicaciones**

El biochar o biocarbón es un producto orgánico procedente de la pirolisis o gasificación de materiales orgánicos bajo condiciones reductoras, a temperaturas relativamente bajas (inferiores a 700°C). Es definido por la *International Biochar Initiative* (IBI) como “*un material sólido obtenido de la conversión termoquímica de biomasa en un ambiente con poco oxígeno*”. Su aplicación en los suelos se establece con el objetivo de mejorar y favorecer el secuestro de carbono en el suelo (Escalante Rebolledo *et al.*, 2016). Debido a sus propiedades físicas y químicas, posee una gran estabilidad y un elevado grado de recalcitrancia química que le confiere una gran resistencia frente a su degradación

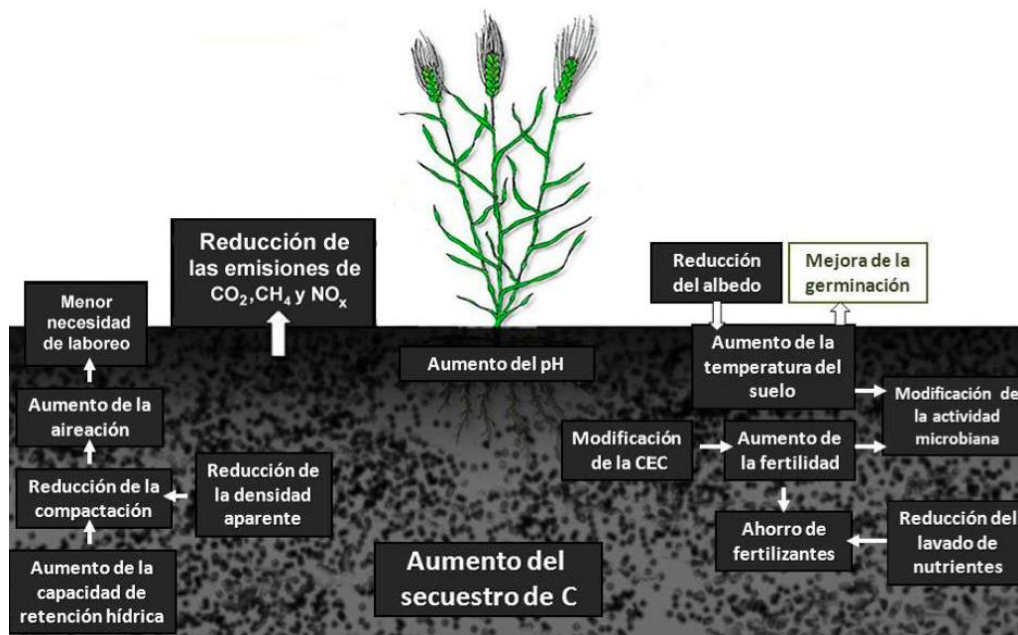
microbiana en el suelo, en comparación con otros tipos de enmiendas orgánicas (Cheng *et al.*, 2008).

Algunas de sus principales aplicaciones y ventajas según Jaramillo-Rodríguez (2015) son: la mejora de las propiedades físicas y químicas del suelo, el reciclado de residuos, la generación de energía a partir de su producción, la mitigación del cambio climático mediante la reducción de la emisión de GEI favoreciendo el secuestro de carbono, la mejora de la actividad microbiana del suelo y prevención de la contaminación de aguas superficiales y acuíferos mediante la adsorción de carbono orgánico soluble y otros compuestos tóxicos. También es usado en otros procesos como la regulación de la humedad o en la remediación de suelos contaminados por pesticidas, fertilizantes y metales pesados, entre otros (Schmidt y Wilson, 2014).

El biochar debido a sus propiedades es un buen ejemplo de enmienda orgánica (Figura 3), pues mejora la fertilidad, productividad y contenido de materia orgánica en el suelo (Sohi *et al.*, 2010; Lehmann *et al.*, 2011). También contribuye positivamente sobre la respiración microbiana, favoreciendo el intercambio gaseoso y la oxigenación (Glaser *et al.*, 2002; Laird *et al.*, 2010).

Actualmente, se considera como una posible solución frente a la mejora de la calidad del suelo como fertilizante, pero también se evalúa su papel frente al cambio climático gracias a su naturaleza recalcitrante que le permite almacenar carbono en el suelo (Lehmann, 2007), reduciendo así las emisiones de dióxido de carbono en los suelos agrícolas (Lehmann y Joseph, 2009, 2015). Se ha calculado que las emisiones netas anuales de dióxido de carbono podrían reducirse en un 12%, sin poner en peligro la seguridad alimentaria, el hábitat o la conservación del suelo (Woolf *et al.*, 2010).





**Figura 3.** Resumen de los principales efectos del biochar sobre las características del suelo (Olmo, 2016).



## 2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

### 2.1 JUSTIFICACIÓN

La agricultura es una de las principales actividades humanas emisoras de gases de efecto invernadero (dióxido de carbono, óxido nitroso y metano). El papel de los suelos agrícolas en los flujos de GEIs está relacionado con los cambios en los usos del suelo. Un manejo más sostenible de los agroecosistemas puede contribuir a modular y mitigar gran parte de las emisiones dióxido de carbono a la atmósfera. Existen evidencias de que el biochar contribuye a almacenar el carbono a más largo plazo en el suelo, pero la mayoría de los estudios realizados sobre la aplicación de biochar en suelos agrícolas se han llevado a cabo en climas tropicales y subtropicales (Vaccari *et al.*, 2011). Es necesario investigar los efectos del biochar y su combinación con otros fertilizantes y enmiendas orgánicas en ecosistemas semiáridos, para conocer mejor que influencia tiene el biochar y su aplicación combinada con fertilizantes sobre la materia orgánica autóctona de los suelos.

### 2.2 OBJETIVOS

#### 2.2.1 *Objetivo general*

El objetivo principal de este trabajo es determinar el efecto del uso combinado de biochar y de diferentes fertilizantes (orgánicos y mineral) sobre la estabilización del carbono orgánico en un suelo agrícola sujeto a condiciones semiáridas.

#### 2.2.2 *Objetivos específicos*

- Caracterizar un suelo agrícola semiárido, así como el biochar, fertilizante mineral, compost municipal y lodo de depuradora secado térmicamente empleados en el estudio.
- Determinar las propiedades físicas y químicas de un suelo después de administrar diferentes fertilizantes en combinación con biochar.
- Determinar las fracciones de nitrógeno y carbono orgánico libre, ocluido en los agregados y asociado a los minerales de un suelo agrícola semiárido, tras la aplicación de biochar y su combinación con los fertilizantes mencionados.

- Cuantificar la respiración heterótrofa a través de los flujos de dióxido de carbono de un suelo, para determinar cómo se ve afectada la mineralización del carbono en un suelo agrícola semiárido al añadir diferentes enmiendas de fertilizantes y biochar.

### 3 MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 Diseño experimental

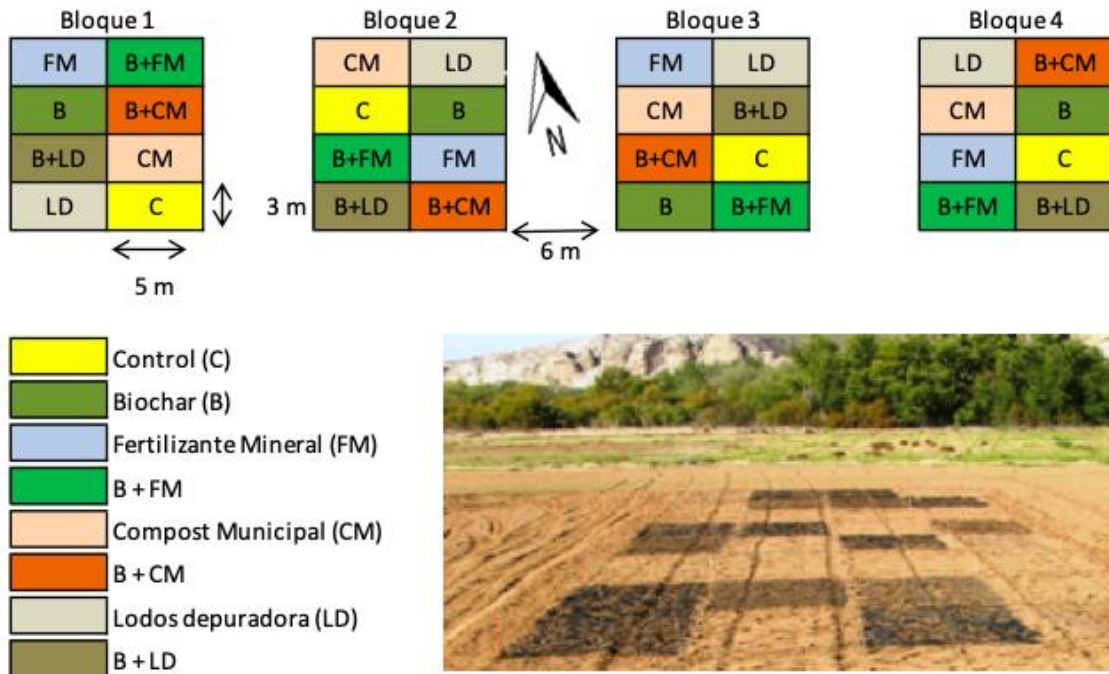
Este estudio se ha realizado en un experimento de campo localizado en la finca experimental de “La Poveda”, perteneciente al Instituto de Ciencias Agrarias (ICA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), ubicada en el municipio de Arganda del Rey al sureste de Madrid (40° 19'N, 3° 29'W), a 534 m sobre el nivel del mar. El clima en esta zona es mediterráneo semiárido con una precipitación media de 436 mm y una temperatura anual de 14°C.

La Poveda presenta un suelo de textura franco-limosa, clasificándose dentro del orden taxonómico como Xerofluvent, al ser un suelo con régimen de humedad “xérico” (Soil Survey Staff, 2014). Desde el año 2012 en el experimento se cultivan diferentes especies de secano. En el año 2017 hubo un cultivo de cebada (*Hordeum vulgare*), mientras que en 2018 se sembró un cultivo de camelina (*Camelina sativa*).

El experimento consistió en un diseño de 4 bloques aleatorios en los que se dispusieron parcelas de 5 x 3 m<sup>2</sup> distribuidas al azar. En la Figura 4, se muestra la distribución de los diferentes tratamientos empleados. Es un diseño factorial con dos factores: a) biochar (20 t ha<sup>-1</sup> ó 0 t ha<sup>-1</sup>); y b) fertilizante (MC, SS, MF y sin fertilizante (C)). Se distinguen 8 tratamientos:

- Control (C) → suelo sin fertilización ni enmiendas orgánicas.
- Biochar (B) → biochar aplicado a una dosis de 20 t ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>.
- Fertilizantes → parcelas que recibieron fertilización mineral (FM) y parcelas que fueron enmendadas con lodos de depuradora secados térmicamente (LD) o compost de residuos urbanos (CM).
- Biochar + fertilizante → parcelas enmendadas con biochar (20 t ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>) combinado con fertilizante mineral (B+FM), y con enmiendas orgánicas de lodos de depuradora secados térmicamente (B+LD) y compost de residuos urbanos (B+CM).

El número total de parcelas es de 32 (4 réplicas x 8 niveles de enmienda). Mediante un timón rotativo se aplicaron las diferentes enmiendas en los 15 primeros centímetros del suelo.



**Figura 4.** Diseño experimental. Distribución de los diferentes tratamientos aplicados.

El biochar empleado en este experimento fue elaborado a partir de residuos agroforestales; en concreto, restos de poda de encina (*Quercus ilex* L.) mediante un proceso de pirólisis lenta a una temperatura de 600°C, sin aditivos químicos. El biochar fue suministrado por la empresa Piroeco Bioenergy especializada en la producción de carbones vegetales y biochars ecológicos.

Los tratamientos con fertilizante mineral consisten en un abonado anual de fondo con N-P-K, de proporciones 8-15-15, en función del contenido nutricional del suelo y las necesidades del cultivo. A este tratamiento se le añade un abonado de cobertera con nitrosulfato amónico.

El lodo de depuradora secado térmicamente se obtuvo del secado de los sólidos contenidos en un agua residual urbana a una temperatura de 75°C. El compost de residuos urbanos se obtuvo de un proceso de compostaje en pilas. Estas enmiendas se administraron en dosis agronómicas aplicadas de forma anual antes de la siembra.

El biochar, el suelo y las diferentes enmiendas empleadas en este trabajo fueron caracterizados inicialmente por Fernández *et al.* (2014); las propiedades químicas han sido resumidas en la Tabla 3. Estos datos corresponden a los primeros 15 cm del suelo.

**Tabla 3.** Propiedades del suelo, biochar, fertilizante mineral, compost y lodos de depuradora ( $n = 4 \pm 1$  ES).

Propiedades	Suelo	B	FM	CM	LD
pH	8.8 ± 0.03	10.06 ± 0.01	4.03 ± 0.01	6.79 ± 0.01	7.30 ± 0.03
EC (dS m <sup>-1</sup> )	0.11 ± 0.00	2.4 ± 0.0	111.9 ± 1.3	10.8 ± 1.0	2.2 ± 0.2
C orgánico total (g kg <sup>-1</sup> )	10.0 ± 0.1	597 ± 31	-	295 ± 3	277 ± 4
C inorgánico (g kg <sup>-1</sup> )	5.9 ± 0.1	14.7 ± 1.6	-	9.4 ± 3.8	9.3 ± 4.0
N total (g kg <sup>-1</sup> )	1.2 ± 0.0	4.1 ± 0.6	80.9 ± 1.8	16.0 ± 0.2	43.9 ± 0.5
C/N	8.3 ± 0.1	151 ± 18	-	18.45 ± 0.02	6.31 ± 0.09
P (g kg <sup>-1</sup> )	0.006 ± 0.001	2.0 ± 0.2	70.0 ± 1.9	3.1 ± 0.2	19.2 ± 0.8
K (g kg <sup>-1</sup> )	0.21 ± 0.02	9.1 ± 0.7	123.4 ± 5.0	6.9 ± 0.2	3.6 ± 0.1
Ca (g kg <sup>-1</sup> )	2.93 ± 0.14	52.4 ± 4.0	48.4 ± 2.5	38.2 ± 1.6	30.3 ± 0.8
Mg (g kg <sup>-1</sup> )	0.25 ± 0.02	3.5 ± 0.3	3.0 ± 0.0	3.5 ± 0.2	6.2 ± 0.1
Na (g kg <sup>-1</sup> )	0.069 ± 0.006	0.3 ± 0.0	3.5 ± 0.1	4.5 ± 0.2	0.7 ± 0.0

EC, conductividad eléctrica

P, K, Ca, Mg y Na se refieren a los contenidos disponibles de P, K, Ca, Mg y Na del suelo y los contenidos totales de P, K, Ca, Mg y Na de biochar, fertilizante mineral, compost y lodos de depuradora.

La aplicación de cada enmienda se llevó a cabo cada año, entre los meses de octubre y noviembre, antes de la siembra. En el año 2012/2013 se comenzó la siembra con cebada (Moreno-jiménez *et al.*, 2016), y se continuó la rotación de los cultivos con girasol en el año 2014 y trigo entre los años 2014/2015. A inicios de noviembre del periodo 2015/2016 se aplicó la siembra de camelina (*Camelina sativa*). En el año 2016/2017 se sembró cebada (*Hordeum vulgare*), mientras que en el periodo 2017/2018 se sembró de nuevo camelina. En el año 2018/2019 se dejó en barbecho la zona.

### 3.1.1 Toma y preparación de muestras

El muestreo se realizó en el horizonte superficial. Se extrajo tres muestras al azar mediante una sonda cilíndrica de 3 cm de diámetro en cada parcela, de los primeros 15 cm de la capa arable del suelo después de la cosecha en julio de 2018. Las muestras se homogeneizaron y se tamizaron a 2 mm para el análisis en el laboratorio de los diferentes tratamientos del suelo. Posteriormente, se almacenaron a 4°C para su conservación.

## 3.2 Caracterización fisicoquímica del suelo

### 3.2.1 Caracterización física

#### Determinación de la humedad del suelo

El contenido de humedad se determinó mediante un analizador de humedad por termogravimetría (Sartorius mod. MA30, Figura 5). Se calentó entre 5 a 10 g de muestra de homogeneizada de suelo sobre la balanza, a una temperatura de 105°C. El porcentaje de humedad se calculó a través de la pérdida de peso de la muestra al calentarse.



*Figura 5. Analizador de humedad por termogravimetría.*

### 3.2.2 Caracterización química

#### Determinación del pH

El pH se determinó mediante una suspensión suelo:agua (1:2.5), se pesó 10 g de la muestra correspondiente de suelo y se añadió 25 mL de agua destilada. Se agitó 1 min la solución y se dejó reposar durante 30 min.

Se calibró el pHmetro Crison Basic 20 utilizando patrones de pH 4 y pH 7, a una temperatura de 25°C. Antes de introducir el electrodo del pHmetro, se agitó cada suspensión. Se introdujo el electrodo en el sobrenadante y se midió el pH.



### **Determinación de la conductividad eléctrica**

La conductividad eléctrica fue determinada en el extracto acuoso suelo:agua (1:5). Se pesó 10 g de suelo y se añadió 50 mL de agua destilada. Se agitaron las soluciones durante 30 min y se filtraron en tubos de ensayo.

Se calibró el conductímetro Crison GLP con diferentes disoluciones de distintas concentraciones de KCl a 25°C y se midió la conductividad.

### **Determinación del nitrógeno total**

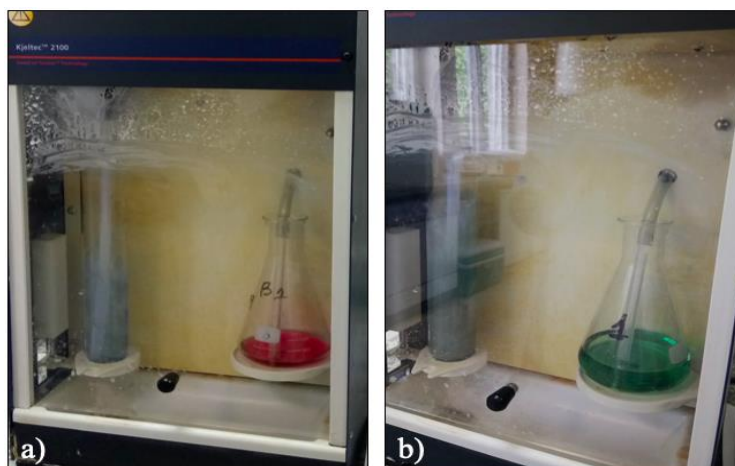
La determinación del nitrógeno total se llevó a cabo por el método Kjeldahl (Bremner, 1996). Este consiste en la digestión de la muestra con ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) y catalizadores de Selenio para la transformación del nitrógeno en ión amonio, su posterior destilación en medio alcalino y su valoración.

Inicialmente, se pesó 1 g de suelo y se introdujo en un matraz Kjeldahl. Se añadió una pastilla de catalizador (selenio, sulfato de cobre y sulfato potásico) y 10 mL de  $H_2SO_4$  concentrado. Se introdujo en el digestor (Figura 6) durante 3 h a 420°C. Una vez sacado del digestor, se añadió a cada muestra 40 mL de agua destilada.



**Figura 6.** Matrices Kjeldahl preparados para la digestión de la materia orgánica del suelo y reducción del nitrógeno a ión amonio (izquierda). Disolución de NaOH al 20% que recoge los gases que son emitidos (derecha).

Cada matraz Kjeldahl se colocó en el destilador donde se adicionaron 50 mL de NaOH al 40% (Figura 7). El amoniaco formado se recogió en erlenmeyers que contenían 25 mL de ácido bórico.



**Figura 7.** a) Matraz Kjendahl y erlenmyer con ácido bórico al inicio de la destilación. b) Amoniaco recogido en el erlenmeyer después de su destilación.

A continuación, se realizó la valoración del borato formado con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.025 M. Se añadió el  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a la disolución inicial de color rosa (Figura 7a), que contenía el sobrante de ácido bórico y el borato formado, se transformó en una disolución de color verde, con ácido bórico e ión amonio (Figura 7b). La determinación del nitrógeno se obtuvo a partir de la siguiente ecuación:

$$N = \frac{V \cdot N_v}{p} \times 1.4 \times 10$$

Donde:

- N = contenido de nitrógeno del suelo ( $\text{g kg}^{-1}$ )
- V = volumen de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gastado en la valoración de la muestra (mL)
- $N_v$  = normalidad del  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0.26884)
- p = peso seco de la muestra (g)
- 1.4 = factor de conversión para 100 g de muestra teniendo en cuenta los mEq de N de la muestra (0.014)
- 10 = factor de conversión de unidades de % en peso a  $\text{g kg}^{-1}$

### Determinación del nitrógeno asimilable

El nitrógeno asimilable es el que se encuentra en el suelo en forma de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). La determinación se realizó siguiendo el método de (Bremner, 1965). Inicialmente, se realizó un tratamiento de limpieza del destilador (Figura 8). Después, se

pesó 5 g de suelo y se colocó en un matraz. Se añadió 25 mL de una solución de  $\text{CaCl}_2$  0.01 M, en la que son solubles el  $\text{NH}_4^+$  y el  $\text{NO}_3^-$ . Se añadió a cada matraz una cucharada de MgO y se colocó en el aparato, donde se llevó a cabo una destilación de unos 30 mL (3 - 4 min).

Se recogió en un frasco con ácido bórico que contenía indicadores. En esta destilación se recogió el N procedente del  $\text{NH}_4^+$ .



*Figura 8. Destilador de amonio y nitrato.*

A continuación, se añadió a cada matraz 2 cucharadas de aleación Devarda (Cu, Zn y Al) y se colocaron dos nuevos frascos con ácido bórico e indicadores. Se dejó destilar durante 3-4 min, recogiendo el amoníaco procedente del  $\text{NO}_3^-$ .

Se valoraron las disoluciones recogidas con ácido sulfúrico 0.005 N. El viraje debe pasar de verde a morado intenso. El cálculo del N (mg/Kg) se realizó con dos blancos con la finalidad de realizar las correcciones adecuadas para determinar el  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$ .

### **Determinación del carbono orgánico total**

El carbono orgánico total se determinó por combustión seca mediante un analizador de suelo Thermo Scientific Flash 2000 NC. Primero, se pesó 100 g de suelo molido en cápsulas de estaño y se obtuvo el carbono total. Posteriormente, se pesó 30 g de suelo molido en cápsulas de plata y se fumigó con ácido clorhídrico, este proceso se llevó a cabo para eliminar los carbonatos o carbono inorgánico (Harris *et al.*, 2001).

### Fraccionamiento del suelo

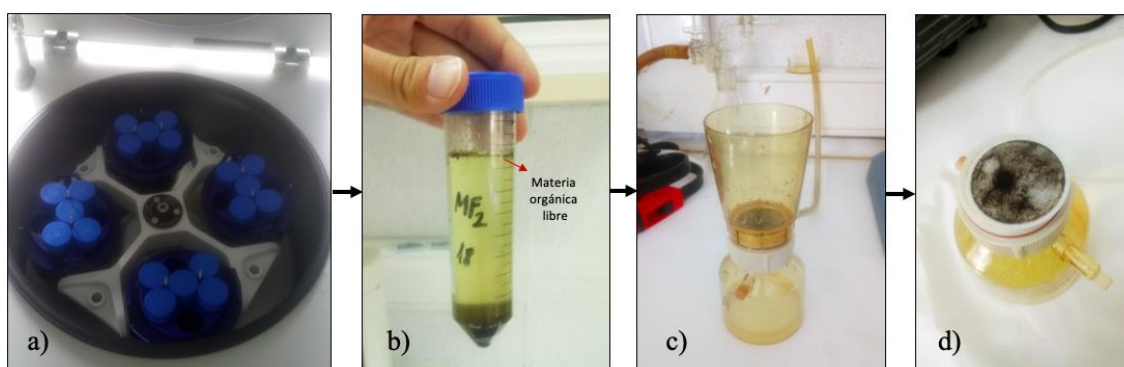
La materia orgánica (MO) del suelo se separó en MO libre, ocluida dentro de los agregados y asociada a los minerales según el esquema descrito por Golchin *et al.* (1994). Inicialmente, se pesó y rotuló diferentes tubos de centrifuga (TC) de 50 mL y botes grandes de 100 mL (Figura 9). A continuación, se introdujo en cada bote grande un filtro (Whatman 47 mm O Circles G/FA Gass Microfibre filters Cat N° 1820-047). Se pesó 20 g de cada muestra previamente tamizada en tubos de centrifuga y se dejó secar en estufa a 65°C durante un día. Después, se tomó el peso de cada TC junto con la muestra de suelo seca en su interior (Figura 9).



**Figura 9.** Botes grandes de 100 mL con filtros en su interior (izquierda). Tubos de centrifuga de 50 mL con muestras de suelo en su interior (derecha).

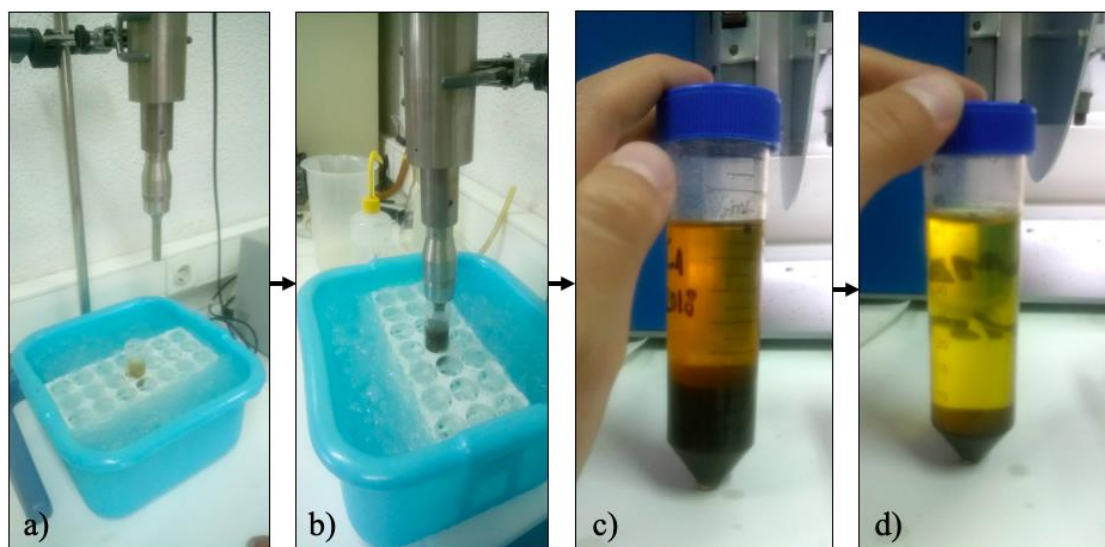
A cada TC se le añadió 148 g de yoduro de sodio a una densidad de 1.85 g mL<sup>-1</sup>. Seguidamente, fueron agitados durante 30 s a 60 rpm y centrifugados durante 1 h a 2500 rpm (Figura 10a). La MO libre o materia flotante (Figura 10b), fue separada de la materia orgánica restante por succión y filtración a través de un portafiltros y sistema Sterifil (Figura 10c), lavado con agua desionizada posteriormente.

El filtro con la MO libre recogida se colocó en un bote grande, junto con la materia arrastrada con agua desionizada (Figura 10d). Los botes con los filtros de materia orgánica libre fueron secados en estufa a 65°C. Los TC con el resto de yoduro y materia orgánica pesada, fueron guardados en oscuridad.



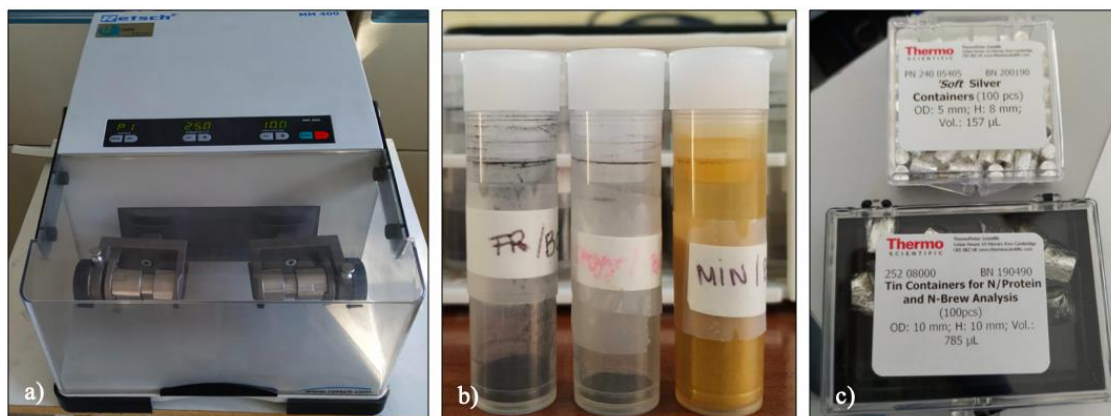
**Figura 10.** a) Centrífuga con los tubos colocados en su interior b) Tubo de centrífuga con la materia orgánica flotante separada de la materia pesada c) Sistema Sterifil d) Filtro con la materia orgánica libre recogida.

Una vez separada la MO libre, se separó la MO ocluida en los agregados. Se añadió el yoduro de sodio recogido y se rompieron los agregados con ultrasonidos a 6750 julios (Figura 11a, b). Una vez fríos (Figura 11c), se niveló cada TC con yoduro, se centrifugaron a 2500 rpm durante 1 h (Figura 11d) y se retiró el yoduro. El resto del material contenido en los TC fue lavado con 70 mL de agua desionizada. Los tubos fueron agitados durante 15 min a 60 rpm y centrifugados durante 1 h a 2500 rpm. El líquido de lavado se recogió y los TC con la materia lavada fueron colocados en la estufa a 65° C. Una vez seca la materia mineral, se trituroó el material mediante un molino de bolas durante 10 min a una frecuencia de 0.04 Hz, este fue guardado en botes pequeños de plástico (Figura 12b).



**Figura 11.** a) Aparato de ultrasonido preparado b) Aparato de ultrasonido en funcionamiento c) Tubo de centrífuga después de la acción del ultrasonido d) Tubo de centrífuga después de su agitación y centrifugación.

Los botes grandes con los filtros y la MO seca recogida (libre, ocluida dentro de los agregados y asociada a los minerales), fueron pesados. Posteriormente, fueron molidos por separado durante 10 min a una frecuencia de 0.04 Hz y guardados en botes pequeños como la fracción mineral.



**Figura 12.** a) Molino de bolas b) Botes pequeños con la materia orgánica separada y molida c) Cápsulas de estaño y plata utilizadas para el análisis de C y N.

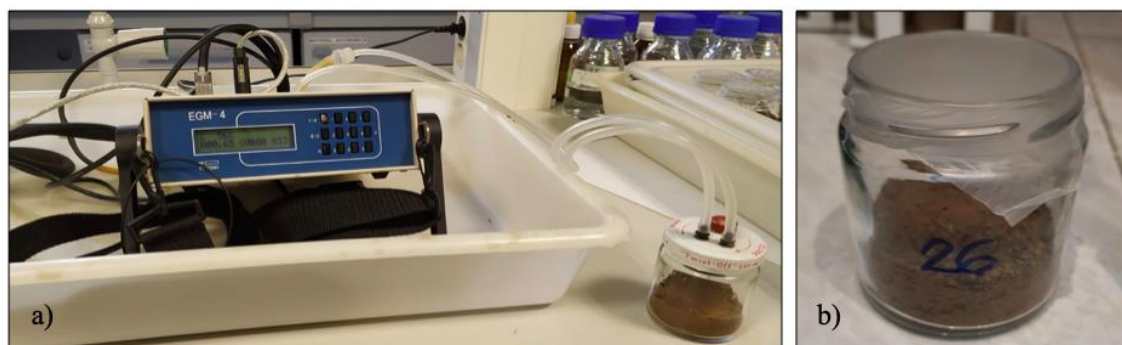
A continuación, los contenidos totales de C y N de cada fracción se determinaron por combustión seca mediante un analizador de suelo Thermo Scientific Flash 2000 NC. La MO libre y ocluida en los agregados se analizó introduciendo 25 mg de MO en cada cápsula de estaño (Tin Containers for N/Protein and N-Brew Analysis, Vol: 785  $\mu$ L), en el caso de la materia mineral se pesó 100 mg. El contenido de carbono orgánico se determinó por combustión seca de muestras de suelo molido, secado inicialmente al aire mediante su fumigación con ácido clorhídrico, se eliminó el contenido en carbonatos o carbono inorgánico. Se pesó para la fumigación, 30 mg de materia mineral molida en cápsulas de plata (Figura 12c. Soft Silver Containers, Vol:157 $\mu$ L).

### Mineralización del carbono

La respiración microbiana del suelo o mineralización consiste en la determinación del oxígeno consumido o el CO<sub>2</sub> emitido por los microorganismos del suelo en un determinado periodo de tiempo. Estas emisiones proceden principalmente de la descomposición bioquímica de la MO del suelo.

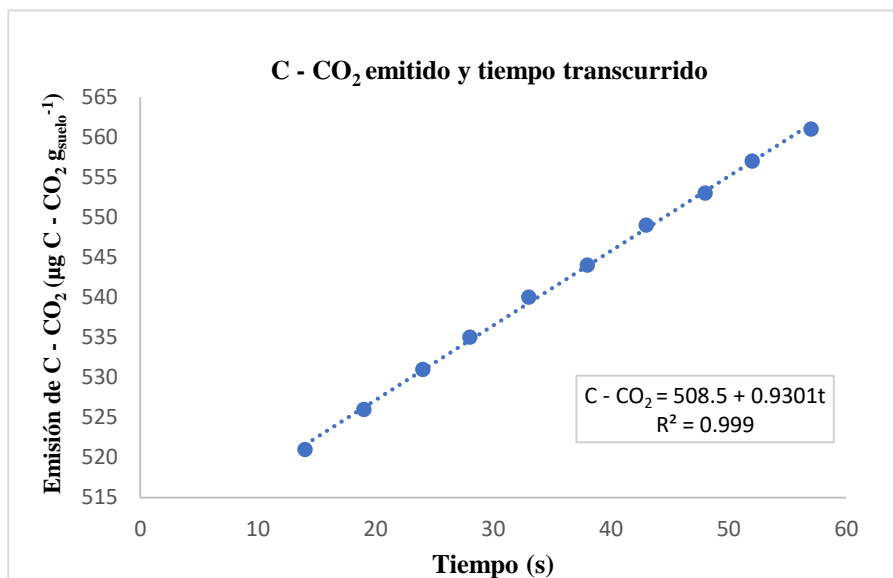
Mediante un analizador de gas por infrarrojo (IRGA) de CO<sub>2</sub> (EGM-4, 2002), se estimó la tasa de mineralización del carbono del suelo. El analizador de gas EGM-4 (Figura 13a) funciona como un sistema cerrado con una bomba que hace circular el aire a través de un sensor de infrarrojos (IR) que proyecta un haz de luz infrarroja que incide sobre una muestra de aire dentro de un recinto o “IRGA bench”. El dióxido de carbono tiene una banda de absorción muy fuerte en el infrarrojo. Dependiendo de dicha absorción, la radiación que llega al sensor decrece y se puede conocer que cantidad de moléculas de CO<sub>2</sub> existe en la muestra de aire. La técnica de análisis de gas infrarrojo determina fácilmente las concentraciones de CO<sub>2</sub> en ppm.

En este proceso se pesó 50 g de suelo en un recipiente de vidrio de 160 mL (Figura 13b) para asegurar las condiciones óptimas de la actividad microbiana, se humedeció previamente el suelo, al 40% (p/p) de su capacidad de campo (9,98 g de H<sub>2</sub>O cada 50 g de suelo), se tapó cada recipiente con un poco de parafilm agujereado y se dejó incubar durante 24 h en una estufa a 25°C (temperatura ambiente) para evitar mediciones de actividad no representativa.



**Figura 13.** a) EGM-4 de infrarrojos, analizador de CO<sub>2</sub> b) Recipiente de vidrio con 50 g de muestra de suelo utilizado para determinar la respiración.

Transcurrido este periodo de incubación, se realizó la medición de las emisiones de CO<sub>2</sub> en ppm. Los datos obtenidos mediante el software propio del equipo EGM-4 se descargaron y se estimó la pendiente de cada muestra, como se puede apreciar en la Figura 14.



**Figura 14.** Ejemplo de una pendiente obtenida de la relación entre la emisión de C - CO<sub>2</sub> y el tiempo transcurrido.

Una vez obtenido el valor de la pendiente, con la ecuación de los gases ideales, se calculan los  $\mu\text{g CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g peso seco}$  y los  $\mu\text{g CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g C}^{-1}$ .

### Análisis estadístico

El efecto de los distintos tratamientos se examinó mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de dos factores: BIOCHAR (2 niveles: sin biochar y con biochar) y FERTILIZANTE (4 niveles: sin fertilizante, FM, CM y LD). Para aquellas variables en las que el modelo fue significativo ( $P = 0.05$ ), se realizó un test LSD de Fisher para determinar qué tratamientos diferían en esa variable.

Previamente, se testaron los datos para comprobar su normalidad (test de Shapiro-Wilk) y homocedasticidad (test de Levene). Para aquellas variables que no se ajustaron a una distribución normal, se realizó una transformación logarítmica de los datos. Posteriormente, para aquellas variables transformadas que tampoco se ajustaban a una distribución normal se realizó un contraste no paramétrico (test de Friedman) de un factor: TRATAMIENTO (8 niveles). Todo el análisis de datos se ejecutó mediante el programa RStudio (RStudio Team, 2019).



## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efectos sobre el pH y la Conductividad Eléctrica del suelo

Los datos obtenidos sobre el pH se recogen en la Tabla 4. Los cambios de pH en el suelo tras las diferentes enmiendas son notables. Los fertilizantes (CM, LD y FM) provocan una ligera acidificación del suelo de referencia, siendo el fertilizante mineral la enmienda que produce el valor más ácido con respecto a los demás tratamientos. No obstante, la aplicación combinada de los fertilizantes con el biochar no presenta cambios importantes sobre esta variable en comparación con el pH inicial del suelo.

**Tabla 4.** pH en el suelo con los diferentes tratamientos ( $n = 4 \pm 1$  ES). Los valores en la columna con una letra común no son significativamente diferentes según el test LSD de Fisher ( $P < 0.05$ ).

Tratamiento	pH
C	8.68 $\pm$ 0.05a
B	8.67 $\pm$ 0.01ab
B+CM	8.66 $\pm$ 0.03ab
B+LD	8.65 $\pm$ 0.04ab
B+FM	8.64 $\pm$ 0.02ab
CM	8.59 $\pm$ 0.03abc
LD	8.58 $\pm$ 0.03bc
FM	8.51 $\pm$ 0.04c

Los resultados del ANOVA de dos vías (Tabla 5) realizado para el pH, mostró que esta propiedad fue influenciada significativamente por el BIOCHAR y FERTILIZANTE ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, no presentó diferencias significativas para la interacción entre BIOCHAR x FERTILIZANTE ( $P > 0.05$ ).

**Tabla 5.** Resumen estadístico del ANOVA de dos factores (Biochar y Fertilizante) sobre el pH del suelo ( $n = 4 \pm 1$ ES). Los números en negrita son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).

Variable	Factor	gl*	SC*	F*	P*
pH	BIOCHAR	1	0.03	7.60	<b>&lt;0.05</b>
	FERTILIZANTE	3	0.04	3.30	<b>&lt;0.05</b>
	BIOCHAR X FERTILIZANTE	3	0.02	1.43	0.26

\*gl, grados de libertad; SC, suma de cuadrados; F, distribución F; P, probabilidad.

En suelos calcáreos de zonas áridas y semiáridas, el elevado contenido en carbonato, atenúa el efecto de la aplicación de enmiendas orgánicas sobre el suelo, debido a su efecto tampón (Mardomingo, 2014). El pH del biochar puede variar, pero a menudo posee valores altos o alcalinos. El aumento del pH de suelo ácidos a ligeramente ácidos-neutros puede proporcionar

diferentes beneficios como una mayor disponibilidad de nutrientes en el suelo (Major, 2012). La naturaleza alcalinizante que presenta el biochar reduce el efecto acidificante de los fertilizantes al ser aplicado en combinación. Aunque se ha visto que, la aplicación de biochar a un suelo cuyo pH ya es básico, puede reducir el rendimiento de los cultivos (Chan y Xu, 2009).

En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos para la Conductividad Eléctrica (CE). En general, se observa un aumento de la salinidad del suelo al añadir compost municipal y biochar. Los valores obtenidos para la CE de la combinación de biochar con fertilizante mineral y la combinación de biochar con compost municipal, son los más elevados respectivamente. Por el contrario, el valor de la CE del suelo inicial es notablemente inferior a estos.

**Tabla 6.** CE (dS m<sup>-1</sup>) en el suelo con los diferentes tratamientos ( $n = 4 \pm 1$  ES). Los valores en la columna con una letra común no son significativamente diferentes según el test LSD de Fisher ( $P < 0.05$ ).

Tratamiento	CE
<b>B+FM</b>	0.11 ± 0.01a
<b>B+CM</b>	0.10 ± 0.01ab
<b>CM</b>	0.10 ± 0.01ab
<b>B+LD</b>	0.10 ± 0.02ab
<b>B</b>	0.20 ± 0.15abc
<b>LD</b>	0.08 ± 0.01abc
<b>FM</b>	0.07 ± 0.01bc
<b>C</b>	0.07 ± 0.00c

Los resultados del test de Friedman (no paramétrico) realizado para analizar los datos obtenidos en cuanto a la CE del suelo se presentan en la Tabla 7. Se aprecian diferencias entre los tratamientos.

**Tabla 7.** Resumen estadístico del contraste no paramétrico sobre la CE del suelo ( $n = 4 \pm 1$ ES).

Variable	Factor	gl*	$\chi^2$ *	P*
CE	TRATAMIENTO	7	11.90	0.104

\*gl, grados de libertad;  $\chi^2$ , chi-cuadrado; P, probabilidad.

La CE es un parámetro que muestra la capacidad de una disolución para transmitir corriente eléctrica y depende directamente del contenido de aniones y cationes presentes en la misma. El valor de CE depende de la concentración de sales disueltas. La CE es un parámetro importante del suelo, pues una salinidad elevada reduce la calidad y productividad de los cultivos (Paranychianakis y Chartzoulakis, 2005). Otro estudio muestra que los tratamientos con

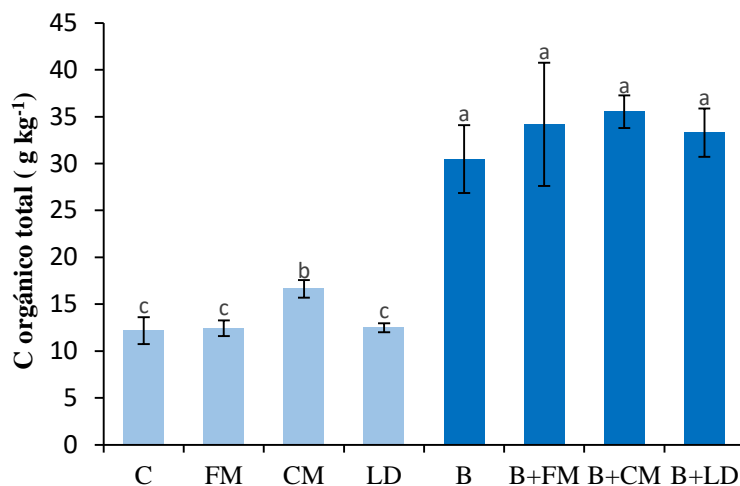
fertilizantes, en concreto, con fertilizante mineral y con lodos, sí producen cambios sobre los valores de conductividad, siendo mayores que los valores del suelo inicial (Abenza, 2012). La aplicación de lodos en suelos semiáridos conlleva el riesgo de un aumento en la concentración de sales, pues la escasez de precipitaciones limita su lavado (Jordán *et al.*, 2004). Un aumento de la CE en suelos agrícolas, representa una limitación para el desarrollo de la actividad microbiana (Iwai *et al.*, 2012). También se ha observado que, con el tiempo, debido al lavado de los iones y su lixiviación, se produce una disminución de la conductividad eléctrica tras el aporte de biochar, pues se alcanza un equilibrio con los valores iniciales del suelo (Rosado *et al.*, 2016).

### **Efectos sobre el contenido en carbono orgánico total y nitrógeno total del suelo**

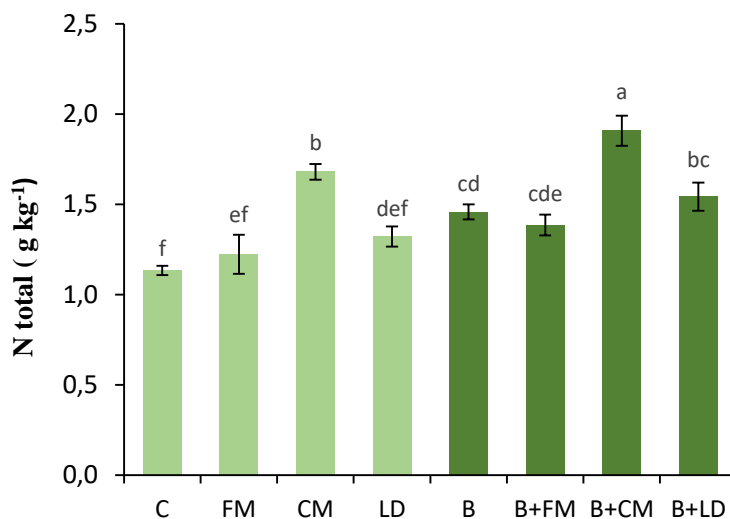
Los efectos sobre el carbono orgánico total aparecen representados en la Figura 15. Los resultados muestran que la adición de biochar aumenta de manera notoria la cantidad de C orgánico en el suelo tras su aplicación. Asimismo, la aplicación de biochar combinado con los diferentes fertilizantes sobre el suelo logra incrementar sus contenidos de C orgánico. No obstante, el C orgánico presente en el suelo fertilizado con lodos de depuradora y compost municipal presenta valores inferiores a los obtenidos en el suelo inicial.

En la Figura 16 se presentan los datos obtenidos para el nitrógeno total del suelo. Al igual que el C orgánico, la cantidad de N total se ve aumentada con la aplicación de biochar en comparación con el N total inicial del suelo. El tratamiento combinado de biochar y fertilizante mineral presenta los valores más altos de N, seguido del tratamiento combinado de biochar y lodos de depuradora. En cambio, la aplicación de compost municipal sobre el suelo presenta un valor inferior en la cantidad de N con respecto al contenido inicial.

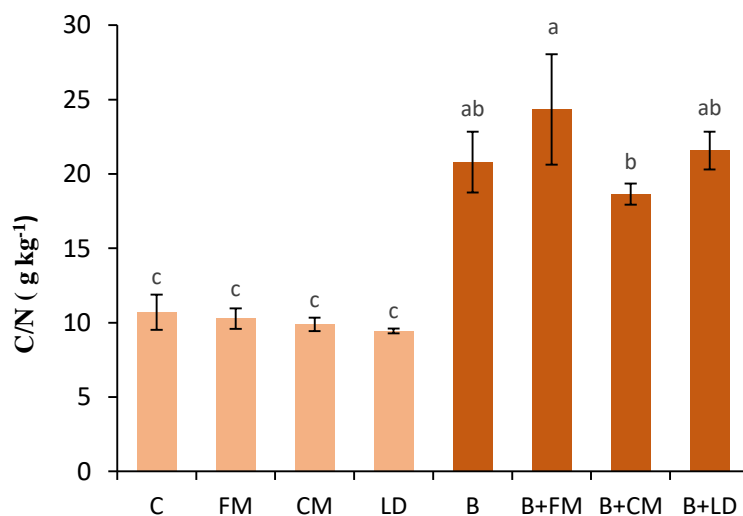
Los valores resultantes de la relación C/N se muestran en la Figura 17. Como se puede observar, se aprecian diferencias entre los tratamientos frente a la relación C/N del suelo. Los valores obtenidos tras la aplicación de biochar sobre el suelo indican un aumento de esta relación con respecto los valores iniciales. Sin embargo, no presentan diferencias evidentes.



**Figura 15.** Contenido de C orgánico total del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).



**Figura 16.** Contenido de N total del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).



**Figura 17.** Relación C/N del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).

Los resultados del ANOVA de dos vías realizado para el C orgánico total, el N total y la relación C/N se mostraron en la Tabla 8. El C orgánico se vio influenciado significativamente por el tratamiento de BIOCHAR ( $P < 0.001$ ). Sin embargo, el contenido en C orgánico no presentó diferencias significativas para la interacción entre BIOCHAR x FERTILIZANTE ( $P > 0.05$ ), ni la aplicación de FERTILIZANTE sobre el suelo ( $P > 0.05$ ).

Por otra parte, el análisis realizado para el N total indica que existen diferencias significativas para este elemento frente a los tratamientos de BIOCHAR y FERTILIZANTE ( $P < 0.001$ ). No obstante, no se observaron diferencias significativas en la cantidad de N total para el tratamiento combinado de BIOCHAR x FERTILIZANTE ( $P > 0.05$ ).

Al igual que la cantidad de C orgánico total en el suelo, la relación C/N solo se vio influenciada significativamente por el tratamiento de BIOCHAR ( $P < 0.001$ ) sobre el suelo.

**Tabla 8.** Resumen estadístico del ANOVA de dos factores (Biochar y Fertilizante) sobre el contenido en  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  del suelo ( $n = 4 \pm 1\text{ES}$ ). Los números en negrita son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).

Variable	Factor	gl*	SC*	F*	P*
<b>C orgánico total</b>	BIOCHAR	1	6.56	188.69	<b>&lt;0.001</b>
	FERTILIZANTE	3	0.276	2.645	0.076
	BIOCHAR X FERTILIZANTE	3	0.06	0.579	0.635
<b>N total</b>	BIOCHAR	1	0.4366	24.021	<b>&lt;0.001</b>
	FERTILIZANTE	3	1.3086	24.001	<b>&lt;0.001</b>
	BIOCHAR X FERTILIZANTE	3	0.027	0.496	0.689
<b>C/N total</b>	BIOCHAR	1	4.38	221.246	<b>&lt;0.001</b>
	FERTILIZANTE	3	0.079	1.324	0.293
	BIOCHAR X FERTILIZANTE	3	0.065	1.099	0.372

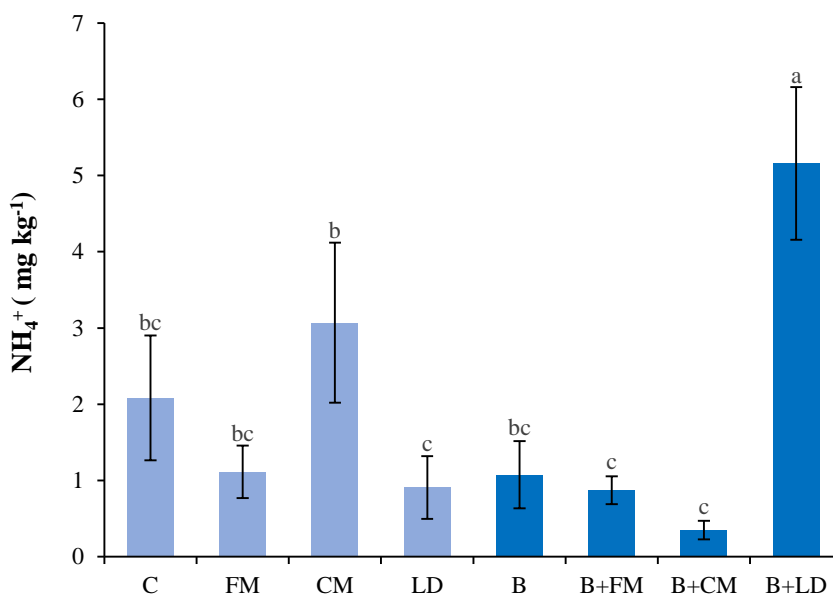
\*gl, grados de libertad; SC, suma de cuadrados; F, distribución F; P, probabilidad.

La relación entre C orgánico total y N total es muy relevante puesto que determina la velocidad de mineralización u oxidación de los compuestos orgánicos. En función de esta velocidad, los aportes de MO pueden ceder nitrógeno o necesitar N para su descomposición. Normalmente, en los suelos cultivados, la liberación de N dependerá del contenido de materia orgánica en el suelo (Orús Pueyo *et al.*, 2011). En los suelos mediterráneos semiáridos la cantidad de materia orgánica es escasa (García *et al.*, 1994), por ello al aplicar biochar, la cantidad de C orgánico aumenta con respecto al contenido inicial. Si además añadimos fertilizante mineral rico en N, el N total se ve incrementado de manera notable. El aporte de este elemento al suelo, favorece la dinámica del C

orgánico, aumentando las entradas de C en el suelo a través de los cultivos o biomasa de cultivo (Lal, 2004; Luo *et al.*, 2010).

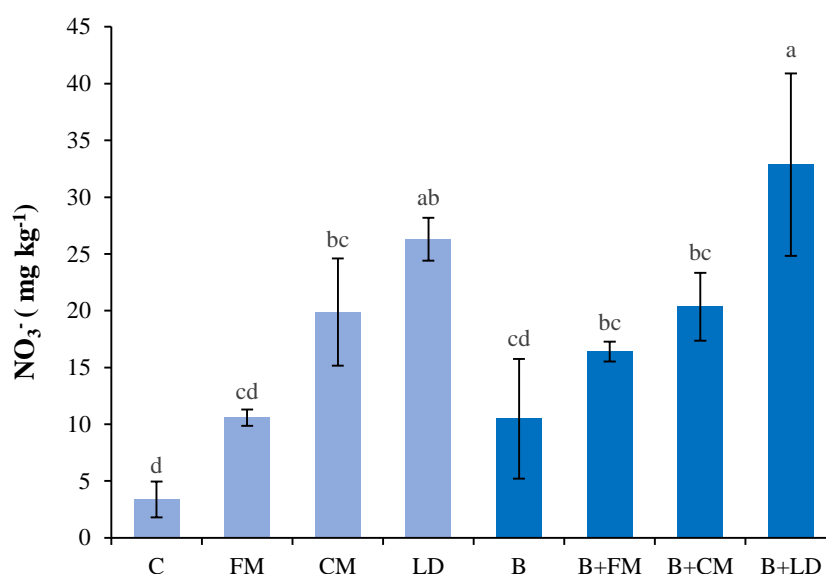
### Efectos sobre el nitrógeno asimilable del suelo

Los contenidos en amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) fueron recogidos en la Figura 18. Los resultados muestran que el mayor valor obtenido para la cantidad de  $\text{NH}_4^+$  en el suelo es presentado por el tratamiento de biochar combinado con lodos de depuradora, seguido por la aplicación de compost municipal sobre el suelo



**Figura 18.** Contenido de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).

Los efectos sobre las concentraciones de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) aparecen representados en la Figura 19. Los resultados muestran que la adición de biochar junto con lodos de depuradora, aumenta los contenidos de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo. También aumenta esta cantidad de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo al aplicar lodos de depuradora, aunque en menor medida. El suelo control presentó los valores más bajos con respecto a la cantidad de nitrato en el suelo.



**Figura 19.** Contenido de nitrato ( $NO_3^-$ ) del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).

El ANOVA de dos factores (Tabla 9) para el nitrógeno asimilable mostró que el contenido en  $NH_4^+$  fue influido por el FERTILIZANTE ( $P < 0.05$ ), aunque los resultados muestran un efecto estadísticamente más significativo para la combinación de BIOCHAR y FERTILIZANTE ( $P < 0.001$ ). No obstante, esto no sucedió para el contenido en  $NO_3^-$ , pues solo fue afectado por el FERTILIZANTE ( $P < 0.001$ ).

**Tabla 9.** Resumen estadístico del ANOVA de dos factores (Biochar y Fertilizante) sobre el contenido en  $NH_4^+$  y  $NO_3^-$  del suelo ( $n = 4 \pm 1ES$ ). Los números en negrita son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).

Variable	Factor	gl*	SC*	F*	P*
$NH_4^+$	BIOCHAR	1	0.04	0.02	0.887
	FERTILIZANTE	3	17.79	3.15	<b>0.047</b>
	BIOCHAR X FERTILIZANTE	3	53.03	9.38	<b>&lt;0.001</b>
$NO_3^-$	BIOCHAR	1	199.2	3.22	0.087
	FERTILIZANTE	3	2243.8	12.10	<b>&lt;0.001</b>
	BIOCHAR X FERTILIZANTE	3	56.3	0.30	0.822

\*gl, grados de libertad; SC, suma de cuadrados; F, distribución F; P, probabilidad.

El N, después del agua, es el factor más limitante en la producción de los cultivos en zonas semiáridas, pues en estas regiones el contenido en N es escaso en la materia orgánica del suelo (Celaya-Michel y Castellanos-Villegas, 2011). En este estudio, los contenidos en N inorgánico o mineral obtenidos en forma de  $NH_4^+$ , presentan diferencias significativas al aplicar fertilizantes y la combinación de estos con biochar. La cantidad de  $NH_4^+$  en el suelo aumenta al incorporar compost; esto se debe al proceso de compostaje, en el cual aumenta la mineralización de la materia

orgánica (Bueno Márquez *et al.*, 2008). La aplicación de lodos de depuradora combinados con biochar también incrementa el contenido de N en el suelo, pues los lodos suponen una fuente importante de N (Tarrasón *et al.*, 2008). En suelos semiáridos, el contenido de  $\text{NH}_4^+$  se ve influenciado por el manejo empleado y por los aportes de N al sistema (Ojeda *et al.*, 2006; Ben Moussa-Machraoui *et al.*, 2010).

Por otro lado, el contenido en  $\text{NO}_3^-$  del suelo se ve influenciado por la aplicación de los fertilizantes, aumentando en gran medida con el aporte de lodos de depuradora. Este aumento significativo se atribuye a la presencia de fracciones nitrogenadas fácilmente mineralizables presentes en los lodos y a las condiciones climáticas de la zona de estudio, pues la escasez de precipitaciones favorece su acumulación al limitar su lavado (Tarrasón *et al.*, 2008).

Además, se ha demostrado que el biochar reduce eficazmente las emisiones de N inducidas por los fertilizantes nitrogenados aplicados comúnmente en la agricultura (Yanai *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2012). Estas emisiones se producen en forma de óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), generado de forma natural a través de la actividad microbiana. El problema reside en que el  $\text{N}_2\text{O}$  constituye uno de los principales GEIs. No obstante, la aplicación de biochar sobre el suelo, permite que se reduzcan dichas emisiones y, por lo tanto, disminuya la cantidad total de N que se pierde por el proceso de desnitrificación (Nelissen, 2013). Es decir, queda mayor cantidad de N total en el suelo disponible para las plantas al transformarse menos nitrato por los microorganismos.

### **Efectos sobre las distintas fracciones de la materia orgánica del suelo**

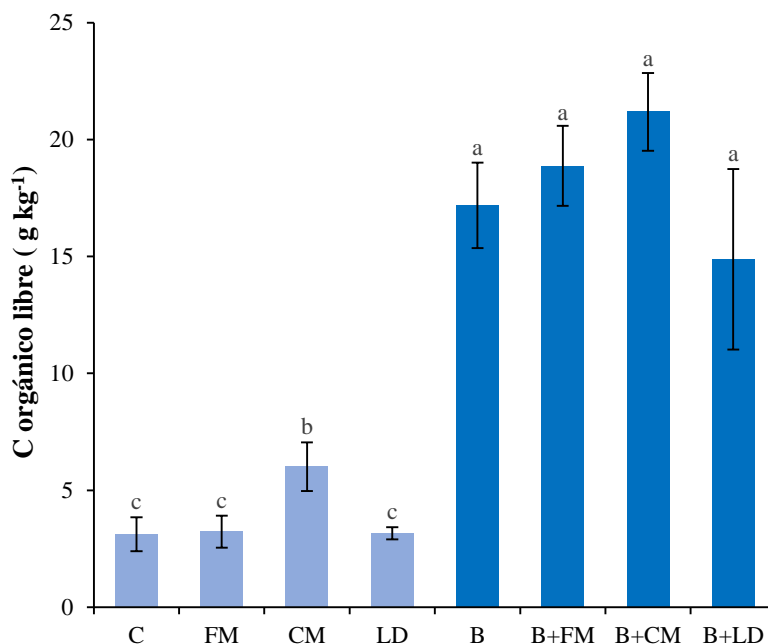
Se aprecian diferencias notables en la cantidad de C orgánico libre y ocluido en los agregados cuando el biochar se incorporó combinado con los distintos fertilizantes (Figura 20, 21). El contenido de C orgánico del suelo enmendado con biochar fue hasta 5 veces mayor que el contenido de C orgánico inicial del suelo. Estos resultados son comparables a lo observado para los contenidos obtenidos de N libre y N ocluido en los agregados (Figura 23, 24).

El contenido de N al aplicar biochar en el suelo se duplicó con respecto a al contenido de N en el suelo control. No obstante, no se apreciaron diferencias entre los valores de C orgánico y N asociado al mineral del suelo control y los valores obtenidos en los suelos enmendados con biochar (Figura 26, 27).

Pese a estos resultados, el contenido de C/N libre del suelo control se vio incrementado hasta un 38% frente al contenido de C/N libre obtenido tras el empleo de biochar (Figura 22). Del mismo

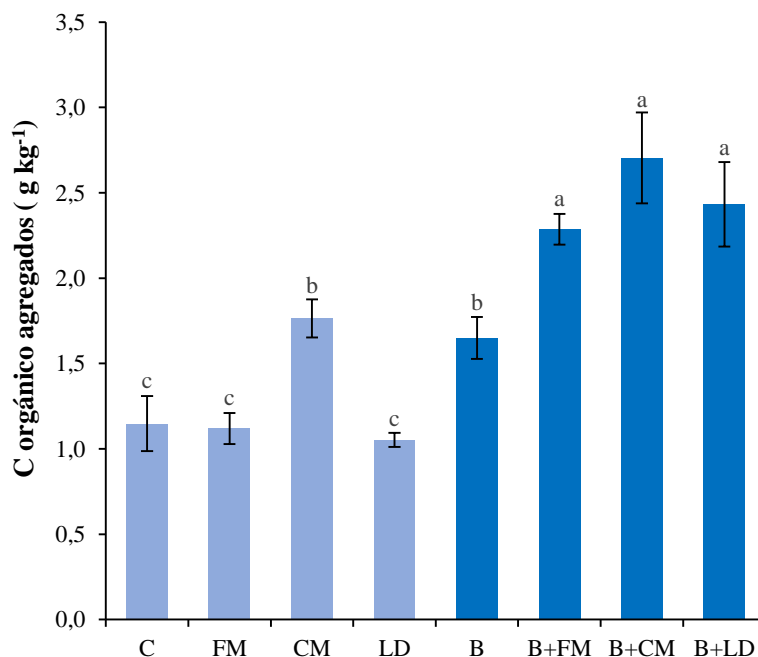


modo, la cantidad inicial de C/N ocluida en los agregados aumentó hasta un 61% en los suelos enmendados con biochar (Figura 25). No se apreciaron diferencias notables en la cantidad de C/N

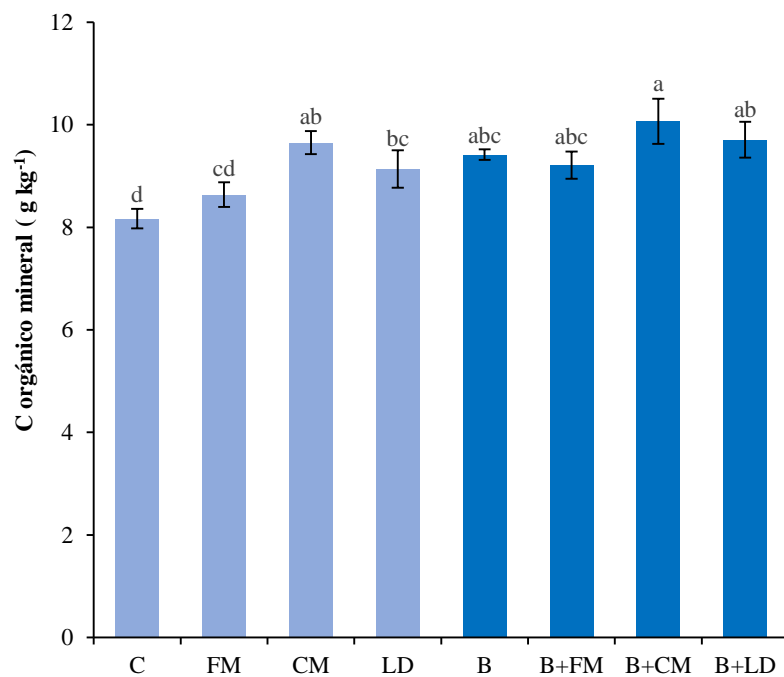


asociada al mineral inicial con respecto a la cantidad obtenida tras la aplicación de biochar (Figura 28).

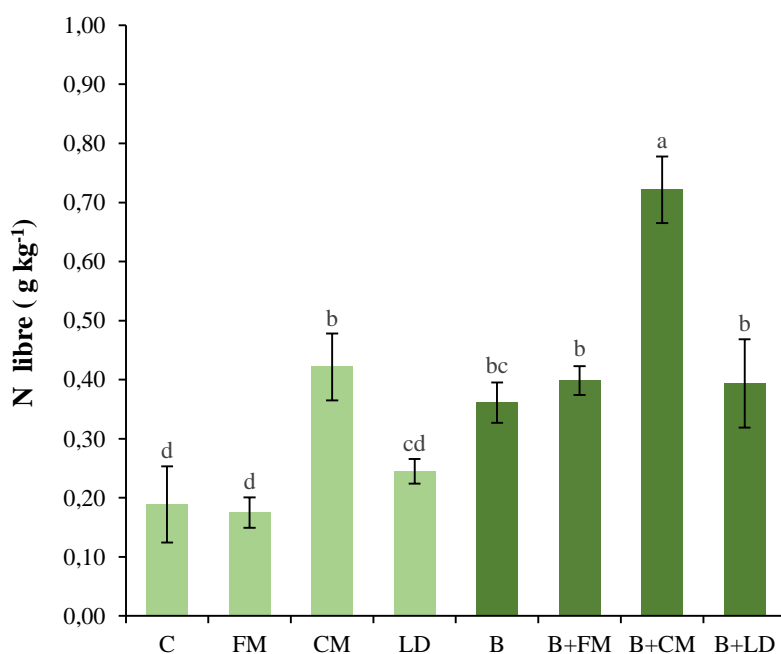
**Figura 20.** Contenido de C orgánico libre del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).



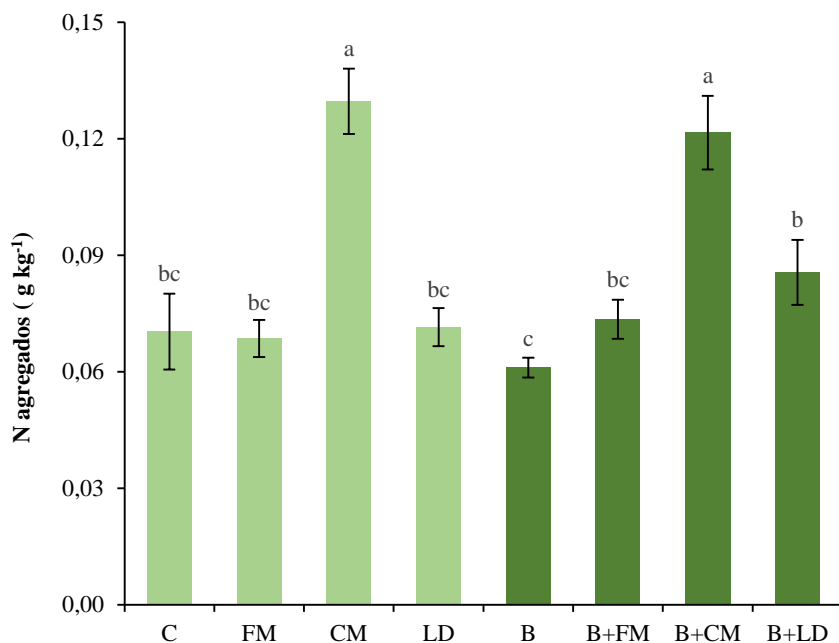
**Figura 21.** Contenido de C orgánico ocluido en los agregados del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).



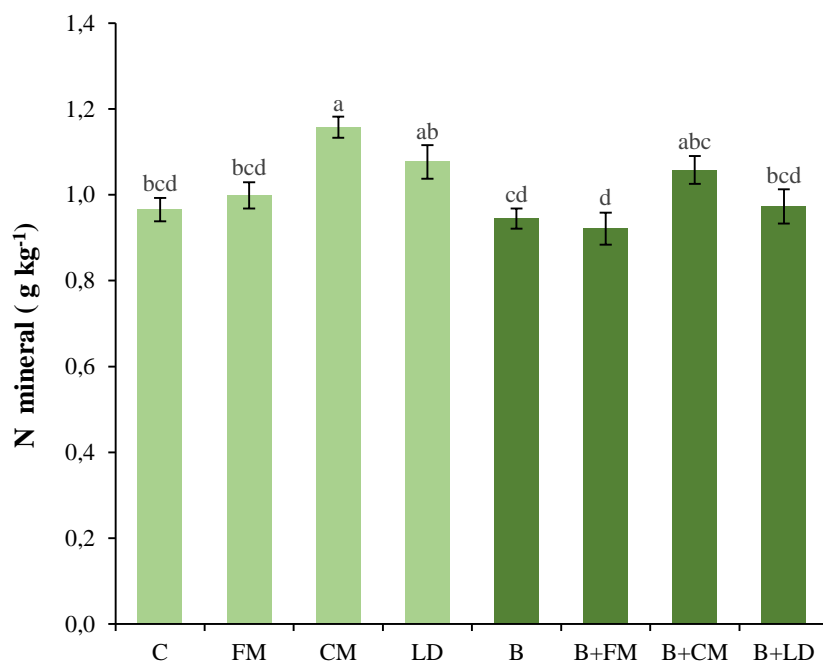
**Figura 22.** Contenido de C orgánico asociado al mineral del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).



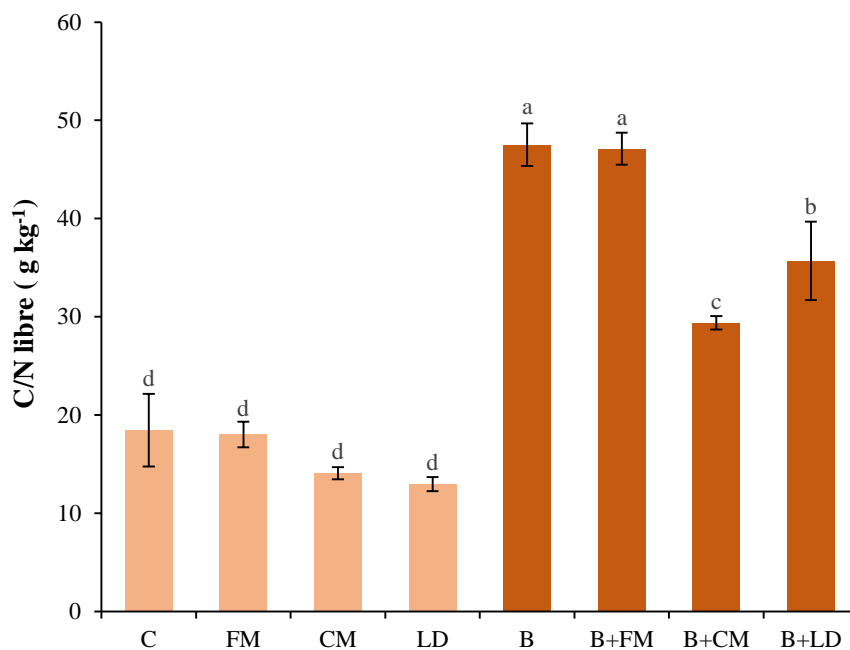
**Figura 23.** Contenido de N libre del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).



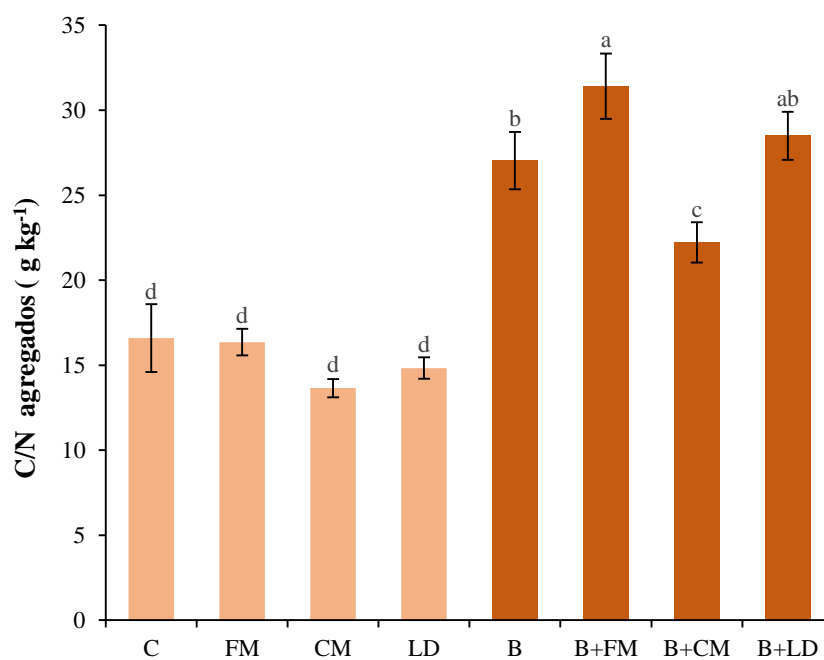
**Figura 24.** Contenido de N ocluido en los agregados del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).



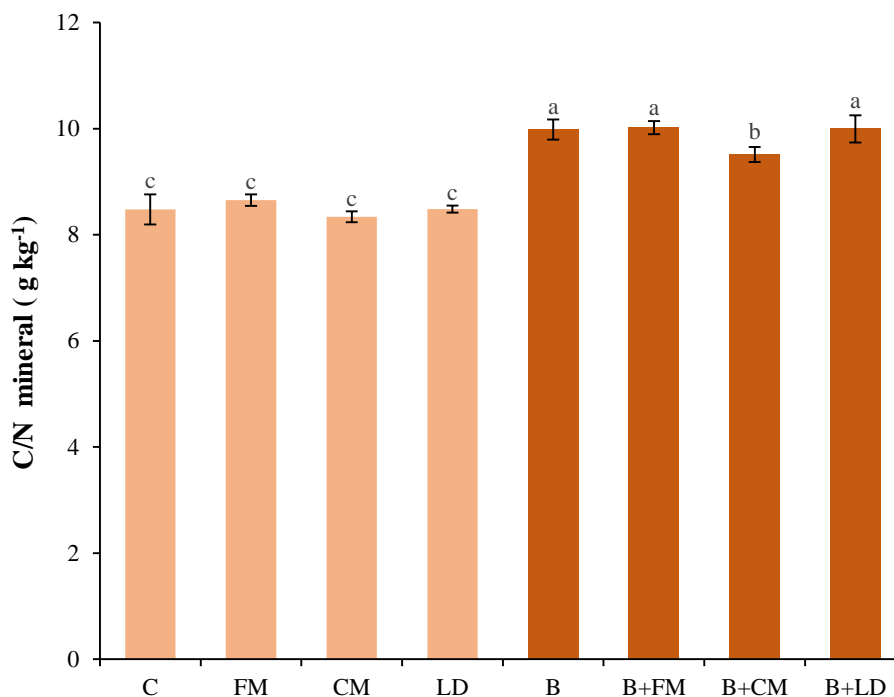
**Figura 25.** Contenido de N asociado al mineral del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).



**Figura 26.** Relación C/N orgánico libre del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).



**Figura 27.** Relación C/N ocluido en los agregados del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).



**Figura 28.** Relación C/N asociado al mineral del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B).

Un resumen de los test ANOVA de dos factores realizados para el contenido de C orgánico, N y la relación C/N de las distintas fracciones del suelo se presenta en la Tabla 10.

El contenido de C orgánico total del suelo se vio afectado por el tratamiento con BIOCHAR ( $P < 0.001$ ), mientras que el tipo de FERTILIZANTE aplicado en el suelo no resultó significativo. Asimismo, el contenido de N total del suelo se vio afectado por la enmienda de BIOCHAR y el tipo de FERTILIZANTE ( $P < 0.001$ ).

En general, la combinación de BIOCHAR y FERTILIZANTE no resultó significativa para el C y N totales del suelo ( $P > 0.05$ ). Mientras que esta interacción para el C orgánico ocluido en los agregados presentó significancia ( $P < 0.05$ ).

El BIOCHAR mostró resultados significativos ( $P < 0.001$ ) para la relación C/N (Tabla 10). También fueron significativos los resultados extraídos del tipo de FERTILIZANTE aplicado en el suelo sobre la relación C/N de la fracción libre y de los agregados ( $P < 0.001$ ).

En general, la ratio C/N frente a la interacción entre BIOCHAR y FERTILIZANTE no resultó significativo, exceptuando la relación C/N de la fracción libre que fue significativa ( $P < 0.01$ ).

**Tabla 10.** Análisis de varianza del C orgánico total y las diferentes fracciones del suelo. Los números en negrita son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).

Variable	Factores		
	BIOCHAR	FERTILIZANTE	BIOCHAR x FERTILIZANTE
C orgánico total	<0.001	0.076	0.635
C orgánico libre	<0.001	<b>0.049</b>	0.460
C orgánico ocluido en los agregados	<0.001	<0.001	<b>0.038</b>
C orgánico asociado al mineral	<b>0.003</b>	<b>0.007</b>	0.527
N orgánico total	<0.001	<0.001	0.689
N orgánico libre	<0.001	<0.001	0.449
N orgánico ocluido en los agregados	0.928	<0.001	0.273
N orgánico asociado al mineral	<b>0.002</b>	<0.001	0.523
C/N total	<0.001	0.293	0.372
C/N libre	<0.001	<0.001	<b>0.010</b>
C/N ocluido en los agregados	<0.001	<0.001	0.061
C/N asociado al mineral	<0.001	0.063	0.639

El grado de estabilización y la naturaleza de la materia orgánica aportada con las enmiendas resulta clave en el flujo de C una vez aplicadas al suelo, pues se producirán diferentes fracciones del C (Mondini *et al.*, 2003). En estas enmiendas, el C se encuentra en formas lábiles fácilmente asimilables o mineralizadas por los microorganismos (Zimmerman *et al.*, 2011) y en una fracción recalcitrante más difícilmente de degradar (Saviozzi *et al.*, 2002), por lo que su mineralización es más lenta. El aporte de enmiendas orgánicas ricas en C lábil favorece la mineralización (Merrington *et al.*, 2003); sin embargo, el C recalcitrante se almacenará durante más tiempo en el suelo.

Los efectos del biochar respecto a la acumulación de C orgánico en el suelo dependen de su interacción con la materia orgánica inicial de los suelos. En el estudio realizado por Kimetu y Lehmann (2010), se observó que la pérdida de carbono fue mayor en los suelos ricos en carbono que en los suelos pobres, independientemente del tipo de biochar utilizado y que su estabilidad es más eficiente que la de cualquier otra enmienda.

El estudio de Plaza *et al.* (2016) sobre el contenido de la materia orgánica del suelo tras el aporte de biochar, compost y lodos de depuradora sobre un suelo semiárido, demuestra que tras ocho meses después de la aplicación, el biochar afecta de manera notable al C y N libre en el suelo, aumentando su contenido promedio en el suelo. El aporte de fertilizantes orgánicos mostró que intervienen de manera similar al biochar, aumentan el contenido de N libre sobre el suelo. Sin embargo, los efectos de interacción del biochar con los fertilizantes orgánicos no fueron significativos sobre el contenido de C y N en el suelo.

Nuestros resultados exponen que tras cinco años de aplicación de biochar, fertilizantes orgánicos y mineral sobre el suelo, los contenidos en C y N libre, ocluido en los agregados y asociado al mineral aumentan notablemente. A excepción del N ocluido en los agregados que no presenta diferencias tras la aplicación de biochar. La interacción del biochar con los fertilizantes a largo plazo, sí presenta diferencias significativas sobre el C ocluido en los agregados. La combinación del biochar con el compost municipal presentó los valores más altos para el contenido de C orgánico ocluido en los agregados.

A corto plazo (Plaza *et al.*, 2016), los suelos tratados con biochar presentan una relación C / N de la MO libre menor para los suelos fertilizados orgánicamente que para el suelo sin enmiendas. Por el contrario, la relación C/N asociada a minerales de los suelos sin biochar, disminuye con la aplicación de los fertilizantes orgánicos. No se observaron efectos sobre la relación C/N en los suelos tratados con biochar.

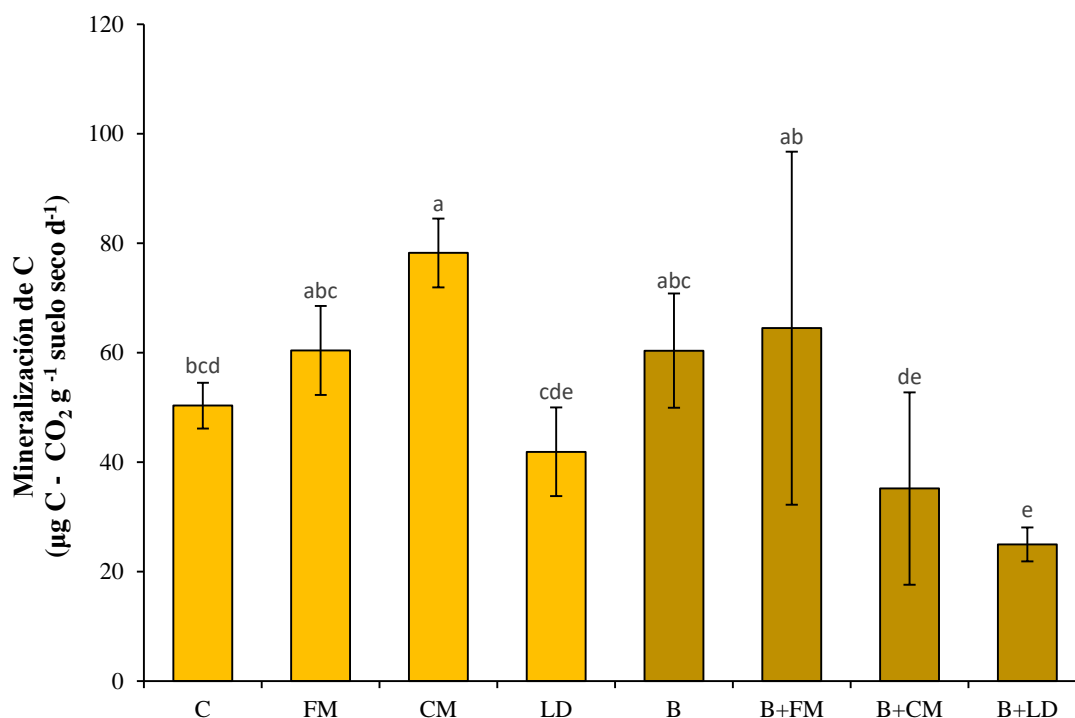
Sin embargo, a largo plazo, la relación C/N presenta efectos significativos en los suelos tratados con biochar, aumentando dicha relación. Y presentando diferencias significativas en la relación C/N libre al utilizar la combinación de fertilizante con biochar, obteniéndose los mayores resultados para la adición de fertilizante mineral y biochar.

En general, la aplicación del biochar a corto plazo solo influye sobre el contenido de C y N libre en el suelo. No obstante, a largo plazo, aumenta el contenido del N y C orgánico en su mayoría. Además, a largo plazo, presenta una relación C/N más elevada, por lo que, promueve la estabilización del C en el suelo mediante la formación de complejos minerales, es decir, se produce una fijación del C al suelo.

Por otro lado, la combinación de biochar con fertilizantes minerales y compost municipal a largo plazo, influyen sobre el contenido de C orgánico ocluido en los agregados y sobre la relación C/N en el suelo.

### **Efectos sobre la mineralización de carbono del suelo**

La figura 29 recoge los resultados obtenidos para la tasa de mineralización del carbono ( $C_0$ ). Se observó principalmente que la  $C_0$  aumentó en los suelos tratados con biochar. También aumentó en los suelos tratados con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y biochar combinado con fertilizante mineral (B+FM). Sin embargo, el efecto de la aplicación de biochar y compost municipal (B+CM) provocó una reducción del 30% de la tasa inicial. La combinación de biochar y lodos de depuradora (B+LD) generó la menor tasa de  $C_0$ , disminuyendo en un 50% la emisión de  $CO_2$ .



**Figura 29.** Mineralización del carbono basal  $C_0$  ( $\mu\text{g C} - \text{CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ suelo seco d}^{-1}$ ) del suelo tratado sin enmienda (C), enmendado con fertilizante mineral (FM), compost municipal (CM) y lodos de depuradora (LD), junto con la presencia o no de biochar (B)

El análisis de la varianza para la mineralización de C (Tabla 11) fue significativo con el BIOCHAR ( $P < 0.05$ ). Asimismo, el FERTILIZANTE y la combinación de BIOCHAR y FERTILIZANTE presentó mayor nivel de significación ( $P < 0.01$ ).

**Tabla 11.** Resumen estadístico del ANOVA de dos factores (Biochar y Fertilizante) sobre la tasa de mineralización del carbono del suelo ( $n = 4 \pm 1\text{ES}$ ). Los números en negrita son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).

Variable	Factor	gl*	SC*	F*	P*
<b>C<sub>0</sub></b>	BIOCHAR	1	1053	6.20	<b>0.021</b>
	FERTILIZANTE	3	3901	7.67	<b>0.001</b>
	BIOCHAR X FERTILIZANTE	3	3465	6.81	<b>0.002</b>

\*gl, grados de libertad; SC, suma de cuadrados; F, distribución F; P, probabilidad.

Los suelos constituyen la mayor reserva terrestre de C en la Tierra (Morell *et al.*, 2010). Este flujo de carbono en el suelo está vinculado con la actividad microbiana y radicular, por lo que cualquier perturbación sobre estos procesos puede crear desequilibrios en el balance del C, favoreciendo la emisión de CO<sub>2</sub> a la atmósfera (Àlvaro-Fuentes *et al.*, 2008).

El aporte de enmiendas orgánicas y minerales sobre los suelos para estudiar el efecto en la emisión de CO<sub>2</sub> es uno de los objetivos de recientes estudios. La aplicación de fertilizantes orgánicos con mayor contenido en carbono lábil provocará un aumento en las emisiones de CO<sub>2</sub> (Flavel *et al.*,



2005), no obstante, el empleo de un fertilizante con mayor contenido en C recalcitrante, disminuirá la actividad respiratoria microbiana inicial (Hernández-Apaolaza *et al.*, 2000).

En estudios previos se ha observado que la adición de biochar aumenta las emisiones de CO<sub>2</sub> del suelo, aunque las diferencias entre el control y el tratamiento no eran significativas (Zavalloni *et al.*, 2011). Sin embargo, en este estudio sí se presentan dichas diferencias. Estos resultados de emisión pueden estar relacionados con las propiedades del suelo y del biochar empleado, así como el contenido en MO, la porosidad o la CE entre otras (Cely Parra, 2016). La porosidad del biochar es una propiedad importante puesto que podría atribuirse a la adsorción de CO<sub>2</sub> en la superficie del biochar (Thies y Rilling, 2009).

En el estudio de Mardomingo (2014), las enmiendas realizadas con lodo de depuradora sobre el suelo presentaron valores de respiración inferiores a los obtenidos por las enmiendas realizadas con compost. Esto se debe al efecto a largo plazo de la aplicación de enmiendas, que es el mismo efecto que observamos en los resultados del presente estudio. Inicialmente, los niveles de materia orgánica más estabilizada y compleja, es decir, con mayor contenido en C recalcitrante deben ser mayores en las enmiendas con compost, y menores en los lodos de depuradora, donde el contenido en C lábil debe ser mayor. Transcurrido un periodo de tiempo, los niveles de respiración en los suelos enmendados con lodos disminuyeron notablemente en comparación con los niveles obtenidos en las parcelas enmendadas con compost, donde se mantuvieron altos los niveles de respiración.

Los resultados obtenidos indican que la combinación de biochar con otros fertilizantes orgánicos como los lodos de depuradora o el compost, pueden reducir notablemente las emisiones de CO<sub>2</sub> o mineralización del C en el suelo a lo largo del tiempo. Las diferencias entre los tratamientos combinados o no con biochar, residen en las diferentes propiedades del biochar empleado y a la duración del experimento (Zimmerman *et al.*, 2011).

Pero el aporte de materia orgánica al suelo no es la única solución a las emisiones de CO<sub>2</sub>, la reducción de la intensificación de los cultivos es otra estrategia principal para compensar las emisiones de este GEI (Paustian *et al.*, 1997). Tanto en suelos enmendados como en suelos sin fertilizar, los valores máximos y mínimos de flujos de CO<sub>2</sub> se han obtenido respectivamente en otoño y verano, durante la realización de las labores y aumento de las precipitaciones, y durante las altas temperaturas y déficit hídrico medio (Haller Polo, 2011). Morell Soler *et al.* (2011) observaron que la fertilización con N mineral incrementaba la emisión de este GEI en época de precipitaciones, pero a lo largo del tiempo aumentaba las reservas de C bajo el suelo. Alvarez (2005) o Morell *et al.* (2010) ponen de manifiesto que, en sistemas edáficos donde se realizan manejos de conservación, se observa una mayor tasa de secuestro de C en el suelo.



## 5 CONCLUSIONES

- La aplicación de fertilizantes tanto orgánicos como mineral sobre el suelo, acidifica el pH del suelo. Sin embargo, debido al carácter alcalinizante del biochar, los niveles de pH no varían en combinación con los fertilizantes. Por otro lado, la administración de dichas enmiendas no influye sobre la CE del suelo.
- El contenido en C, N y la relación C/N aumentó al tratar los suelos con las diferentes enmiendas. El tratamiento combinado de biochar con fertilizante mineral, presentó los valores más altos para estos elementos.
- La cantidad de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  obtenida en el suelo tras los distintos tratamientos fue mayor al aportar lodos de depuradora al suelo, tanto en presencia como ausencia de biochar.
- A corto plazo, solo incrementa el contenido en C y N libre en el suelo. No obstante, a largo plazo, el contenido en C y N libre, ocluido en los agregados y asociado al mineral del suelo, aumenta al aplicar enmiendas sobre el suelo. Se estabiliza mayor C en el suelo.
- El empleo de biochar sobre el suelo agrícola, incrementa la emisión de  $\text{CO}_2$  a la atmósfera.
- Entre los diferentes tratamientos empleados, la combinación de lodos de depuradora junto con biochar, presentó la menor tasa de mineralización de carbono en el suelo.



## 6 BIBLIOGRAFÍA

- Abenza, D.P. 2012. *Evaluación de efectos de varios tipos de biochar en suelo y planta*. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Aguilera, S.M. 2000. Importancia de la protección de la materia orgánica en suelos. En Universidad de Chile.
- Alvarez, R. 2005. A review of nitrogen fertilizer and conservation tillage effects on soil organic carbon storage. *Soil Use and Management* 21: 38-52.
- Àlvaro-Fuentes, J., López, M. V., Arrúe, J.L., Cantero-Martínez, C. 2008. Management effects on soil carbon dioxide fluxes under semiarid Mediterranean conditions. *Soil Science Society of America Journal* 72: 194-200.
- Bai, Z.G., Dent, D.L., Olsson, L., Schaepman, M.E. 2008. Proxy global assessment of land degradation. *Soil Use and Management* 24: 223-234.
- Bakker, M.M., Govers, G., Jones, R.A., Rounsevell, M.D.A. 2007. The effect of soil erosion on Europe's crop yields. *Ecosystems* 10: 1209-1219.
- Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-Total. En Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., Loeppert, R. H. (eds.), *Methods of Soil Analysis Part 3—Chemical Methods*, SSSA Book Series SV - 5.3, pp. 1085-1121. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, Madison, WI.
- Bremner, J.M. 1965. Nitrogen availability indexes. En *Methods of soil analysis, Part 2*, pp. 1179-1237. Am. Soc. of Agron, Madison, WI.
- Bueno Márquez, P., Cabrera, F., Díaz Blanco, M.J. 2008. Factores que afectan al proceso de compostaje.
- Burbano-Orjuela, H. 2018. El carbono orgánico del suelo y su papel frente al cambio climático. *Revista de Ciencias Agrícolas* 35: 82-96.
- Burbano-Orjuela, H. 2016. El suelo y su relación con los servicios ecosistémicos y la seguridad alimentaria. *Revista de Ciencias Agrícolas* 33: 117-124.
- Celaya-Michel, H., Castellanos-Villegas, A.E.. 2011. Nitrogen mineralization on arid and semi-arid land soil. *Terra Latinoamericana* 29: 343-356.
- Cely Parra, P.A. 2016. *Evaluación del uso de residuos orgánicos para la producción de biochar y su aplicación como enmienda orgánica*. Universidad Politécnica de Madrid.

- Chan, K.Y., Xu, Z. 2009. Biochar: Nutrient Properties and Their Enhancement. En Lehmann, J., Joseph, S. (eds.), *Biochar for Environmental Management. Science and Technology*, pp. 416. Earthscan.
- Cheng, C.H., Lehmann, J., Thies, J.E., Burton, S.D. 2008. Stability of black carbon in soils across a climatic gradient. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 113: 1-10.
- EGM-4. 2002. Environmental Gas Monitor For CO<sub>2</sub>.
- Escalante Rebolledo, A., Pérez López, G., Hidalgo Moreno, C., López Collado, J., Campo Alves, J., Valtierra Pacheco, E., Etchevers, J.D. 2016. Biocarbón (biochar) I: Naturaleza, historia, fabricación y uso en el suelo Biocarbon (biochar). *Terra Latinoamericana* 34: 367-382.
- FAO. 2002. *Captura de carbono en los suelos para un mejor manejo de la tierra*. Robert, M. (ed.),. Roma.
- FAO. 2017. *Carbono Orgánico del Suelo: el potencial oculto*. Wiese, L., Viridiana, A., Rainer, B., Ronald, V. (eds.),. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, Roma.
- FAO. 2015. *Learning tool on Nationally Appropriate Mitigation Actions (NAMAs) in the agriculture, forestry and other land use (AFOLU) sector Mitigation of Climate Change in Agriculture (MICCA) Programme Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*. Avagyan, A., Karttunen, K., Devit, C., Rioux, J. (eds.),. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, Roma.
- FAO. 2013. *Los Pagos por Servicios Ecosistémicos*.
- Fernández, J.M., Nieto, M.A., López-de-Sá, E.G., Gascó, G., Méndez, A., Plaza, C. 2014. Carbon dioxide emissions from semi-arid soils amended with biochar alone or combined with mineral and organic fertilizers. *Science of The Total Environment* 482-483: 1-7.
- 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.
- García, C., Hernández, T., Costa, F. 1994. Microbial activity in soils under mediterranean environmental conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 26: 1185-1191.
- Glaser, B., Lehmann, J., Zech, W. 2002. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal - A review. *Biology and Fertility of Soils* 35: 219-230.

- Golchin, A., Oades, J.M., Skjemstad, J.O., Clarke, P. 1994. Soil structure and carbon cycling. *Australian Journal of Soil Research* 32: 1043-1068.
- Gómez, M., Fernando, L. 1998. *Introducción al derecho ambiental: incluye convenios internacionales*. 1.<sup>a</sup> ed. Legis Editores, S.A., Santafé de Bogotá.
- González-Quiñonez, V. 2006. *Metodología, formulación y aplicación de un índice de calidad de suelos con fines agrícolas para Castilla - La Mancha*. Universidad Autónoma de Madrid.
- Haller Polo, I. 2011. *Efectos de la aplicación de lodos E.D.A.R. secados térmicamente sobre la dinámica de la materia orgánica en suelos sometidos a manejos convencionales y de conservación*. Universidad Autónoma de Madrid.
- Harris, D., Horwath, W.R., Van Kessel, C. 2001. Acid fumigation of soils to remove carbonates prior to total organic carbon or carbon-13 isotopic analysis. *Soil Science Society of America Journal* 65: 1853-1856.
- 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.
- Imaz, M.J., Virto, I., Bescansa, P., Enrique, A., Fernandez-Ugalde, O., Karlen, D.L. 2010. Soil quality indicator response to tillage and residue management on semi-arid Mediterranean cropland. *Soil and Tillage Research* 107: 17-25.
- IPCC. 2014. *Cambio climático 2014: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático*. Ginebra.
- 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.
- Izquierdo, C.G. 2003. *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana*. Ediciones Mundi-Prensa.
- Jaramillo-Rodríguez, M.G. 2015. *Aplicación de enmiendas orgánicas y biochars derivados de la industria oleícola en el cultivo del arroz: influencia en la dinámica de plaguicidas y en propiedades agronómicas*. Universidad de Sevilla.
- Jordán, M.M., Navarro-Pedreño, J., García-Sánchez, E., Mateu, J., Juan, P. 2004. Spatial dynamics of soil salinity under arid and semi-arid conditions: Geological and environmental implications. *Environmental Geology* 45: 448-456.

- Kimetu, J.M., Lehmann, J. 2010. Stability and stabilisation of biochar and green manure in soil with different organic carbon contents. *Australian Journal of Soil Research* 48: 577-585.
- Laird, D., Fleming, P., Wang, B., Horton, R., Karlen, D. 2010. Biochar impact on nutrient leaching from a Midwestern agricultural soil. *Geoderma* 158: 436-442.
- Lal, R. 2004. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* 123: 1-22.
- Lehmann, J. 2007. A handful of carbon. *Nature* 447: 143-144.
- Lehmann, J., Joseph, S. 2015. Biochar for environmental management: an introduction. En Lehmann, J., Joseph, S. (eds.), *Biochar for Environmental Management: Science, Technology and Implementation*, pp. 1-14. Routledge.
- Lehmann, J., Joseph, S. 2009. *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*.
- Lehmann, J., Rillig, M.C., Thies, J., Masiello, C. a., Hockaday, W.C., Crowley, D. 2011. Biochar effects on soil biota - A review. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 1812-1836.
- Liu, X. yu, Qu, J. jing, Li, L. qing, Zhang, A. feng, Jufeng, Z., Zheng, J. wei, Pan, G. xing. 2012. Can biochar amendment be an ecological engineering technology to depress N<sub>2</sub>O emission in rice paddies?-A cross site field experiment from South China. *Ecological Engineering* 42: 168-173.
- Luo, Z., Wang, E., Sun, O.J. 2010. Soil carbon change and its responses to agricultural practices in Australian agro-ecosystems: A review and synthesis. *Geoderma* 155: 211-223.
- Major, J. 2012. *Biochar for soil quality improvement, climate change mitigation and more*.
- Marañón, T., Madejón, E. 2016. Funciones Del Suelo y Servicios Ecosistémicos: Importancia De La Materia Orgánica. V *Jornadas de la Red Española de Compostaje* 13-16.
- Mardomingo, I.J. 2014. *Universidad Complutense de Madrid Un.* Universidad Complutense de Madrid.
- Martínez-Murillo, J.F., Hueso-González, P., Ruiz-Sinoga, J.D., Lavee, H. 2016. Short-term experimental fire effects in soil and water losses in southern of Spain. *Land Degradation and Development* 27: 1513-1522.
- MEA. 2005. *Evaluación de los Ecosistemas del Milenio: Informe de Síntesis*.



- 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., Teresa, M., Abate, D., Leita, L., Benedetti, A. 2003. to Compost Stability Evaluation. *Journal of Environment Quality* 32: 2379-2386.
- Morell, F.J., Álvaro-Fuentes, J., Lampurlanés, J., Cantero-Martínez, C. 2010. Soil CO<sub>2</sub> fluxes following tillage and rainfall events in a semiarid Mediterranean agroecosystem: Effects of tillage systems and nitrogen fertilization. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 139: 167-173.
- Morell Soler, F.J., Cantero-Martínez, C., Lampurlanés Castel, J., Plaza-Bonilla, D., Álvaro-Fuentes, J. 2011. Soil Carbon Dioxide Flux and Organic Carbon Content: Effects of Tillage and Nitrogen Fertilization. *Soil Science Society of America journal* 75: 1874-1884.
- Moreno-jiménez, E., Manuel, J., Puschenreiter, M., Williams, P.N., Plaza, C. 2016. Agriculture, Ecosystems and Environment Availability and transfer to grain of As, Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in a barley agri-system: Impact of biochar, organic and mineral fertilizers. «*Agriculture, Ecosystems and Environment*» 219: 171-178.
- Mosquera-Losada, M.R., Muñoz-Ferreiro, N., Rigueiro-Rodríguez, A. 2010. Agronomic characterisation of different types of sewage sludge: Policy implications. *Waste Management* 30: 492-503.
- Ben Moussa-Machraoui, S., Errouissi, F., Ben-Hammouda, M., Noura, S. 2010. Comparative effects of conventional and no-tillage management on some soil properties under Mediterranean semi-arid conditions in northwestern Tunisia. *Soil and Tillage Research* 106: 247-253.
- Nelissen, V. 2013. *Effects of biochar on soil processes, soil functions and crop growth*. Universidad de Ghent.
- 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.
- Olmo Prieto, M. 2016. *Efectos del biochar sobre el suelo, las características de la raíz y la producción vegetal*. Universidad de Córdoba.
- Orús Pueyo, F., Betrán Aso, J., Iguácel Soteras, F., López Sánchez, M. V. 2011. *Fertilización con subproductos orgánicos (Hacia una gestión sostenible de los nutrientes en la agricultura)*. 1.<sup>a</sup> ed. Gobierno de Aragón, Departamento de Agricultura Ganadería y Medio Ambiente, Dirección General de Alimentación y Fomento Agroalimentario, Servicio de Recursos Agrícolas (eds.). Informaciones Técnicas del Departamento de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente del Gobierno de Aragón, Zaragoza.

- Paranychianakis, N. V., Chartzoulakis, K.S. 2005. Irrigation of Mediterranean crops with saline water: from physiology to management practices. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 106: 171-187.
- Paustian, K., Collins, H.P., Paul, E.A. 1997. Management controls on soil carbon. En Paul, E. A., Paustian, K. A., Elliot, E. T., Cole, V. C. (eds.), *Soil Organic Matter in Temperate Agroecosystems: Long-Term experiments in North America*, pp. 15-49. CRC Press, Boca Raton, FL.
- 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.
- Plaza, C., Giannetta, B., Fernández, J.M., López-de-Sá, E.G., Polo, A., Gascó, G., Méndez, A., Zaccone, C. 2016. Response of different soil organic matter pools to biochar and organic fertilizers. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 225: 150-159.
- Plaza, C., Hernández, D., García-Gil, J.C., Polo, A. 2004. Microbial activity in pig slurry-amended soils under semiarid conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 1577-1585.
- Power, A.G. 2010. Ecosystem services and agriculture: Tradeoffs and synergies. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365: 2959-2971.
- Rosado, J., Paneque, M., Miller, A.Z., López, R., Knicker, H. 2016. Evaluación de la alteración de biochars utilizados como enmienda de un cultivo de girasol bajo condiciones de clima mediterráneo. *Red española de compostaje* 245-249.
- RStudio Team. 2019. RStudio: Integrated Development for R.
- Sanahuja, J.A. 2014. De los Objetivos del Milenio al desarrollo sostenible: Naciones Unidas y las metas globales post-2015. *Anuario CEIPAZ 2014-15* 49-83.
- Saviozzi, A., Bufalino, P., Levi-Minzi, R., Riffaldi, R. 2002. Biochemical activities in a degraded soil restored by two amendments: A laboratory study. *Biology and Fertility of Soils* 35: 96-101.
- Schmidt, H.-P., Wilson, K. 2014. The 55 uses of biochar. *the Biochar Journal*.
- Sohi, S.P., Krull, E., Lopez-Capel, E., Bol, R. 2010. A Review of Biochar and Its Use and Function in Soil. En Sparks, D. L. (ed.), *Advances in Agronomy*, pp. 47-82. Academic Press.
- Soil Survey Staff. 2014. *Soil taxonomy: A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys*. 12th ed.

- Swift, R.S. 2001. Sequestration of carbon by soil. *Soil Science* 166: 858-871.
- Swinton, S.M., Lupi, F., Robertson, G.P., Hamilton, S.K. 2007. Ecosystem services and agriculture: Cultivating agricultural ecosystems for diverse benefits. *Ecological Economics* 64: 245-252.
- Tarrasón, D., Ojeda, G., Ortiz, O., Alcañiz, J.M. 2008. Differences on nitrogen availability in a soil amended with fresh, composted and thermally-dried sewage sludge. *Bioresource Technology* 99: 252-259.
- Thies, E., Rilling, M. 2009. Characteristics of biochar: biological properties. En Lehmann, J., Joseph, S. (eds.), *Biochar for environmental management. Science and technology*, pp. 448. Earthscan, London.
- Trujillo-gonzález, J.M., Pulido Mahecha, J.D., Torres-mora, M.A. 2018. El recurso suelo : un análisis de sus funciones , capacidad de uso e indicadores de calidad. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental study* 9: 29-37.
- Vaccari, F.P., Baronti, S., Lugato, E., Genesio, L., Castaldi, S., Fornasier, F., Miglietta, F. 2011. Biochar as a strategy to sequester carbon and increase yield in durum wheat. *European Journal of Agronomy* 34: 231-238.
- Valderrama, F., Castillo, J., Torres, C., Guzman, R., Forero, F., Duque, M., Sepulveda, A., Montenegro, P. 2015. Secuestro y Almacenamiento De Carbono: Capturas De Carbono Por Pagos De Servicios Ambientales. En *Línea de Investigación: Desarrollo rural*, pp. 106-117. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.
- Woolf, D., Amonette, J.E., Street-Perrott, F.A., Lehmann, J., Joseph, S. 2010. Sustainable biochar to mitigate global climate change. *Nature communications* 1: 56.
- Yanai, Y., Toyota, K., Okazaki, M. 2007. Effects of charcoal addition on N<sub>2</sub>O emissions from soil resulting from rewetting air-dried soil in short-term laboratory experiments. *Soil Science and Plant Nutrition* 53: 181-188.
- Zavalloni, C., Alberti, G., Biasiol, S., Vedove, G.D., Fornasier, F., Liu, J., Peressotti, A. 2011. Microbial mineralization of biochar and wheat straw mixture in soil: A short-term study. *Applied Soil Ecology* 50: 45-51.
- Zhang, A., Cui, L., Pan, G., Li, L., Hussain, Q., Zhang, X., Zheng, J., Crowley, D. 2010. Effect of biochar amendment on yield and methane and nitrous oxide emissions from a rice paddy from Tai Lake plain, China. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 139: 469-475.
- Zimmerman, A.R., Gao, B., Ahn, M.Y. 2011. Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 1169-1179.