



Universidad de Jaén

Facultad de ciencias experimentales

Trabajo de fin de grado

Biorremediación de suelo degradado de olivar usando fuentes de materia orgánica y microorganismos

Alumno: David Fernández Lozano

Jaén, junio 2020



Universidad de Jaén

Facultad de ciencias experimentales

Trabajo de fin de grado

Biorremediación de suelo degradado de olivar usando fuentes de materia orgánica y microorganismos

David Fernández Lozano

Jaén, junio 2020

Índice

1)	Resumen.....	3
2)	Introducción	
	2.1) Evolución histórica de la agricultura.....	4
	2.2) El modelo de la agricultura actual acarrea impactos ambientales.....	5
	2.3) El cultivo del olivo.....	6
	2.4) Políticas agrarias de la UE.....	10
	2.5) El olivar, vertebra de la vida socio-económica, cultural, y paisaje dominante de extensas áreas de Andalucía.....	10
	2.6) Principales prácticas de manejo en el olivar que derivan en impactos ambientales.....	12
	2.7) Estrategias para la restauración de la calidad y fertilidad del suelo.....	14
	2.8) La materia orgánica como estrategia para recuperar suelos degradados.....	16
3)	Objetivos.....	17
4)	Material y método	
	4.1) Diseño experimental	
	4.1.1) Fuentes de variación.....	18
	4.1.2) Nivel replicación y nº de unidades experimentales.....	24
	4.1.3) Variables dependientes.....	24
	4.2) Montaje experimental.....	25
	4.3) Análisis estadístico.....	26
5)	Resultados	
	5.1) Emisión de CO ₂ en suelos con nivel de degradación contrastados.....	26
	5.2) Emisión de CO ₂ en suelos con nivel de degradación contrastados, con la adición de microorganismos.....	30
	5.3) Porcentaje de carbono respirado con respecto al añadido.....	34
6)	Discusión	
	6.1) Efectos de la adición de fuentes de materia orgánica en la producción de CO ₂ en el suelo con niveles de degradación contrastada.....	35
	6.2) Grado de remediación del suelo degradado.....	36
	6.3) Valoración de la adición de microorganismos en las fuentes de materia orgánica.....	37
7)	Conclusión.....	37
8)	Referencias bibliográficas.....	38

1) Resumen

Hoy en día, es esencial promover la mejora continua de nuestros suelos, ya que, a fin de cuentas, es el principal sustento de la vida ecológica y agrícola. El suelo va a estar influenciado por las características climáticas y orográficas del lugar, siendo por tanto, un papel determinante en la naturaleza físico-química del suelo de esa región. La actividad antrópica ha ocasionado una alteración en la capacidad de autoregeneración del suelo, lo que ha incrementado en una enorme extensión de suelo que se ha visto degradado. Este hecho es bastante apreciable en regiones áridas o semiáridas que se dedican a la agricultura, como puede ser un cultivo de olivar. En esos lugares, las tasas de degradación del suelo, sumado a la enorme pérdida de suelo ocasionado por la erosión, están ocasionando graves problemas al sustrato edáfico del cultivo.

Para paliar en la medida de lo posible los efectos adversos que ocurren en el cultivo del olivar, se emplean una serie de tratamientos, que son capaces de influir en la naturaleza física, química y biológica del suelo. Mediante la aportación de diferentes fuentes de materia orgánica y de rizobacterias, se busca reinstaurar las características idóneas del suelo, además de promover su recuperación mediante tratamientos ecológicos.

Los resultados obtenidos nos ayudaron a cuantificar la mejora que se realiza en el suelo, tras la adición de las diferentes fuentes de materia orgánica y rizobacterias. Las mayores tasas de emisión de CO₂ al igual que la mayor relación de C/N, consistió en el biochar. Tras la adición de rizobacterias en las diferentes fuentes de materia orgánica, no se llegaron a alcanzar los resultados esperados, debido a la ausencia de vegetación en las muestras de suelo. Finalmente, los tratamientos muestran tendencias divergentes en las etapas temporales de la respiración, debido a que no se amoldan a una tendencia análoga, además, este hecho lo podemos trasladar en mayor o menor medida en ambos tipos de suelo, dado que la tendencia en los tratamientos se asemejan.

Abstract

Nowadays, it is essential to promote the continuous land improvement. Because, after all, it is the main sustenance of ecological and agricultural life. Land is going to be influenced by the climatic and orographic characteristics of the place. Being therefore, a determining role in the physical-chemical nature of land region. Anthropogenic activity has caused an alteration in the self-regeneration capacity of the land, which has increased in a enormous area of land that has been degraded. This fact is quite appreciable in arid or semi-arid regions that are dedicated to agriculture, such as an

olive grove. In this place, land degradation rates, added to the huge land loss caused by erosion, are causing serious problems to the edaphic substrate of the crop.

To mitigate, as far as possible, the adverse effects those occur in the olive grove cultivation, a series of treatments are used that are influencing alterations in the physical, chemical and biological nature of the land. Through the contribution of different organic matter sources and rhizobacteria, the aim is to restore the ideal characteristics of the land, in addition to promoting their recovery through ecological treatments.

Results obtained helped us to quantify the improvement made in the land, after adding the different organic matter sources and rhizobacteria. The highest CO₂ emission rates, as well as the highest C/N ratio, consisted of the biochar. After the addition of rhizobacteria in the different organic matter sources, the expected results were not reached, due to the absence of vegetation in the land samples. Finally, the treatments show divergent trends in the temporal stages of respiration, because it does not conform to a similar trend. In addition, this fact can be transferred to a greater or lesser extent in both land types. Due to the trend in the treatments are similar.

2) Introducción

El suelo es un recurso no renovable a escala humana, teniendo en cuenta este importante hecho, la preservación de este, y la adopción de medidas para prevenir en la medida de lo posible su degradación, es crucial. Es por ello, que para garantizar la preservación y la mejora continua de los recursos edáficos, se deba implementar una serie de medidas, que se adapten a las necesidades del lugar y a las características del suelo. Este punto es de vital importancia a la hora de corregir el déficit en el sistema, dado que no todos los suelos presentan los mismos problemas, y por ende, debemos aplicar medidas diferentes.

2.1) Evolución histórica de la agricultura

La idea de aplicar técnicas que proporcionasen una mejora en las propiedades físico-químicas del suelo, no son actuales, sino que, algunas de ellas se remontan desde la antigüedad. A pesar de no poseer maquinaria sofisticada que indicasen las propiedades del suelo, sabían de la importancia del mismo, y de la necesidad de aplicar técnicas, que garantizasen el “descanso” del suelo y el aporte de nutrientes, como es el caso del barbecho.

Fueron a partir de las técnicas de antaño, donde surge la necesidad de idear medidas más eficaces y rápidas para sustentar a una población en crecimiento exponencial. Fue entonces cuando la agricultura fue llevada a una fuerte producción, y las técnicas que antes eran naturales, se convirtieron en técnicas manipuladas por productos químicos

y por la manipulación genética, que garantizaban la supervivencia del cultivo, y, además, ocasionaban una mayor producción.

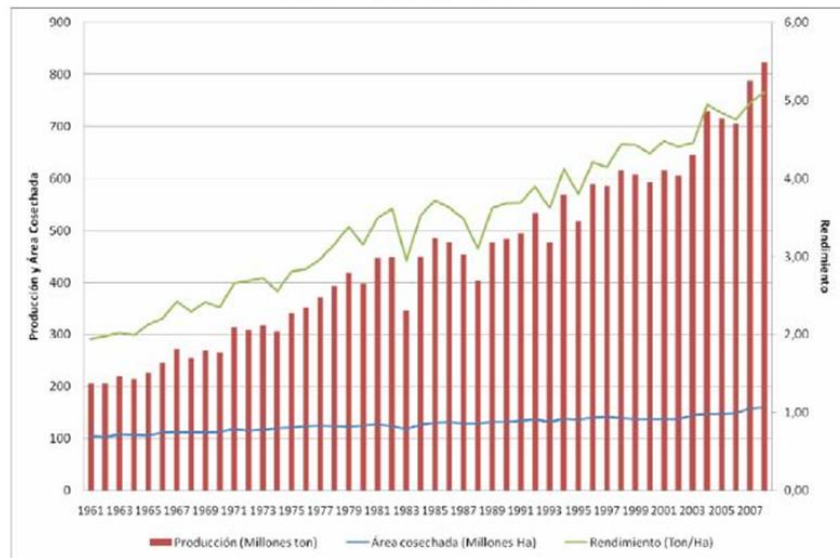


Figura 1: Evolución de la producción mundial, área dedicada al cultivo y rendimiento del maíz durante el periodo 1961-2008 (FAO, 2010)

Hoy día, vivimos en una sociedad en donde “primero se actúa y luego se soluciona”. Las técnicas agrícolas que se utilizan actualmente, están ocasionando la degradación de los suelos a nivel global. Sin embargo, este hecho no afecta únicamente al suelo, sino que se traslada al resto del medio. Esto es debido a que las técnicas que se emplean en los cultivos, ocasionan una completa manipulación de la red trófica del medio, ocasionando estragos a nivel biótico y abiótico.

2.2) El modelo de la agricultura actual acarrea impactos ambientales

La agricultura es una de las principales actividades humanas que están detrás de algunos de los impactos antrópicos en el planeta, teniendo por tanto un alto grado de responsabilidad en la emisión directa de gases de efecto invernadero, donde se llega a contabilizar hasta el 12% (IPCC, 2007). De manera integrada, a ese grado de responsabilidad hay que añadir las emisiones procedentes de la deforestación. Los ecosistemas forestales son los principales sumideros de carbono, por lo que la eliminación de estos ecosistemas y su transformación en campos de cultivo, ocasiona la liberación neta de CO₂ a la atmósfera. De manera paralela, la agricultura provoca la extinción y la migración de numerosas especies que habitaban en los ecosistemas naturales y semi-naturales, donde se ha llevado a cabo una transformación del territorio necesaria para ejecutar de forma adecuada las actividades agrícolas (Rey Benayas et al. 2015). Además, la agricultura provoca también la destrucción de innumerables hábitats. La figura 2 muestra un ejemplo del impacto que provoca la actividad agrícola sobre las especies avícolas.

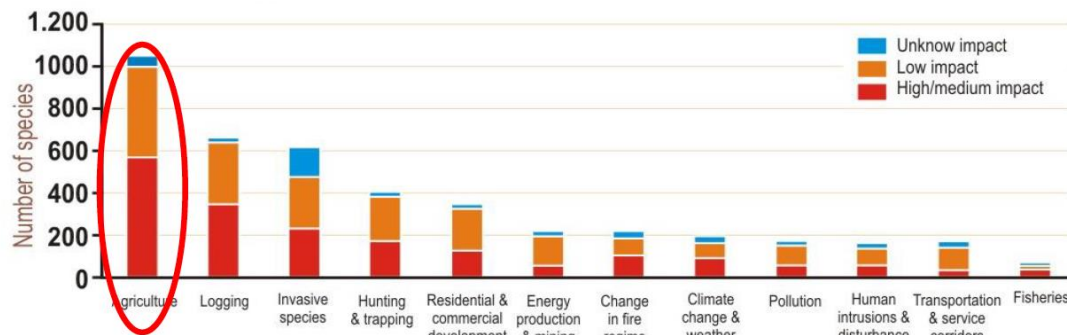


Figura 2: Impacto sobre especies avícolas de distintas actividades directa o indirectamente relacionadas con las actividades humanas (Birdlife international 2010)

Entre aquellas actividades agrícolas que están detrás de estos impactos, destacan el laboreo y la aplicación de herbicidas, que no permiten el desarrollo de productores primarios, base de las redes tróficas, debido a la aplicación de insumos sintéticos (fertilizantes, fungicidas, insecticidas...), cuya producción y transporte emiten gases de efecto invernaderos, y a su vez, afectan de manera directa e indirecta al monocultivo.

El cultivo del olivo es un buen ejemplo de la intensificación agrícola en los climas mediterráneos.

2.3) El cultivo del olivo

El olivar es un monocultivo que se ha desarrollado especialmente en climas mediterráneos, aunque también está presente en subclimas semiáridos dentro del mediterráneo. A su vez, presenta una gran variabilidad en la densidad de árboles, que está íntimamente relacionada con el marco de plantación. Se puede distinguir 3 tipos de plantaciones (Cubero, 2010):

- ❖ Tradicional: Olivo de varios pies (2-3), marcos de plantación amplios (10-12 m) con densidad de árboles baja, entre 80 y 120 olivos ha^{-1} , normalmente en régimen de secano y de edad media avanzada (>25 años) (figura 3).



Figura 3: Plantación de olivar tradicional

- ❖ De alta densidad: Un solo pie y con riego, pueden ser de dos tipos:

- Intensivo: 200-600 olivos ha^{-1} , con calle ancha de al menos 6 m y con vida útil superior a 40 años (figura 4a).
- Superintensivo (en seto): 1000-2000 olivos ha^{-1} , con calle ancha, como máximo 4 m y con vida útil de hasta 12-14 años, dada la reducida ventilación que existe en el cultivo, el riesgo de enfermedades es alta (figura 4b).



Figura 4: Plantaciones de olivar de alta densidad intensivo (a, izquierda), y superintensivo (b, derecha).

Los marcos de plantación dominantes, son aquellos que corresponden al del olivar tradicional, con una baja densidad de plantación. Esta característica también se relaciona con la edad de la plantación, pues no ha sido hasta los últimos años cuando se han comenzado a implantar los marcos de plantación intensiva y superintensivos. Así, aproximadamente el 70% del olivar andaluz se encuentra en plantaciones cuya densidad se encuentra entre 80 y 200 olivos ha^{-1} (figura 5). En relación al regadío, éste es más abundante en los olivares con mayor densidad de plantación. En las plantaciones con menos de 200 olivos ha^{-1} la superficie de olivar regada es de menos del 30%, mientras que en los olivares de más de 600 olivos ha^{-1} la cifra asciende hasta en torno un 70%.

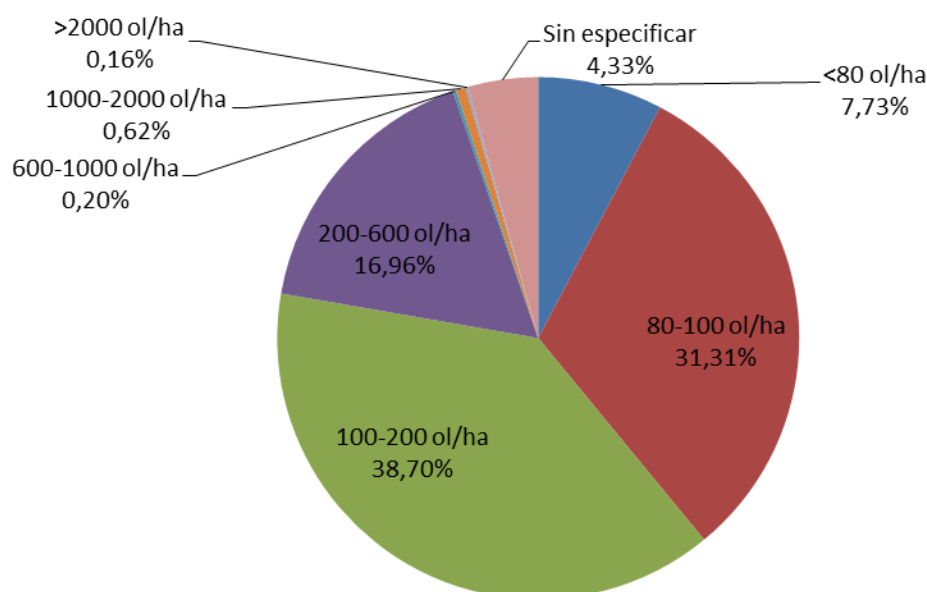


Figura 5: Superficie de olivar (%) con densidades de plantación presentes en el olivar andaluz (Elaboración propia) (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2013).

Dada la nueva reforma de la PAC que se espera en breve, el olivar andaluz, y especialmente el jienense, será perjudicado debido a que una parte de los olivares dejarán de ser rentables por la reducción en las subvenciones. Ante este escenario, es de esperar cambios significativos en los marcos de plantación (incrementándose la densidad de olivos) y en la presencia de olivares abandonados. Otro cambio previsible, será el relativo a los manejos de las plantaciones. Actualmente, la mayoría poseen un manejo de tipo convencional. Con la nueva PAC y los cambios en la legislación andaluza comentados anteriormente, el olivar ecológico y sobre todo el olivar con producción integrada, sufrirán un aumento significativo en detrimento del olivar convencional. Actualmente, las prácticas de manejo en el olivar con incidencia en la acumulación de SOC (Carbono orgánico del suelo) son:

- i. Laboreo convencional, no laboreo y mantenimiento de la cubierta vegetal.
- ii. Aplicación de fuentes de materia orgánica externa (estiércol y alpeorujos compostados principalmente).
- iii. Aplicación de fuentes de materia orgánica procedente de la poda (restos triturados de poda o biocarbón en el caso de que ésta se queme).

Algunos manejos inciden en la pérdida de SOC por pérdida de suelo (no laboreo sin cubierta vegetal y laboreo convencional) y aumento de la tasa de descomposición (laboreo convencional), mientras que otros aumentan las entradas de C orgánico (presencia de cubierta vegetal y aplicación de materia orgánica). Por otra parte, es

difícil establecer el efecto de un manejo específico sobre los cambios en las reservas de SOC, ya que un manejo determinado puede venir acompañado por otros.

El laboreo convencional, manejo más extendido actualmente en el olivar, consiste habitualmente en labrar los primeros 10 – 20 cm de suelo entre 2 – 5 veces al año con cultivador, grada de discos o púa con el fin de no permitir el desarrollo de una cubierta vegetal y bajo la creencia de que esta práctica al disgregar las partículas de suelo permite una adecuada exploración radicular y aumenta la infiltración de agua hacia capas más profundas del suelo.

Sin embargo, esta práctica de manejo se asocia en la gran mayoría de los casos a efectos negativos que inciden sobre el contenido en SOC. Estos efectos son:

- Aumento de las tasas de erosión (fundamentalmente erosión hídrica).
- Aumento en las tasas de descomposición (mineralización de la materia orgánica) y destrucción de los macroagregados del suelo con una menor formación de microagregados.

Las técnicas que se desarrollan ocasionan graves impactos ambientales, tanto a nivel biótico como abiótico. A su vez, las practicas utilizadas en el desarrollo de la agricultura actual, están enfocadas únicamente con la intención del “favorecimiento” del cultivo, en donde se observa una mayor producción por parte del olivar, pero sin mirar las consecuencias que ocasionan estas técnicas en el medio. Este hecho ha provocado que el 33% de la superficie de cultivo, se encuentren afectadas por algún tipo de degradación del suelo.

El hecho de albergar una reducida población de especies, junto a un delicado suelo, en donde las actividades lo castigan severamente, deriva a una situación bastante precaria. Debemos ser conscientes de ello, a la hora de implantar unas determinadas actividades que logren la corrección de la zona afectada, y por tanto, que no agrave el problema.

Dado los importantes impactos ambientales que surgen a partir de la agricultura convencional, aparecen otras ideas para mitigar el efecto de la agricultura en el medio. De esta forma, podemos desarrollar un sistema agroecosistémico, en donde las diferentes comunidades de plantas y animales sean capaces de interactuar con el ambiente físico-químico que han sido modificadas por la agricultura, reduciendo de esta forma la intensificación agrícola. Por otra parte, la agricultura ecológica se encuentra actualmente en auge, y consiste en el empleo de técnicas y productos de origen natural, para un desarrollo sostenible de los cultivos.

2.4) Políticas agrarias de la UE

Desde que se fundó la UE, y de forma continua, se han diseñado una serie de políticas de subsidios económicos con el fin de modernizar la agricultura, aumentar la rentabilidad del agricultor y/o ganadero para hacerlo más competitivo, y todo ello, aunque no de forma exclusiva, para mantener la población rural en el campo. La política agraria comunitaria (PAC), consiste en otorgar subvenciones económicas a los agricultores y ganaderos de la UE. A partir del cumplimiento del articulado de la PAC, los agricultores reciben un pago directo, que consiste en un pago básico por hectárea, además de un pago verde, que incrementa hasta un 30% el pago básico por hectárea. El cultivo del olivar, como cultivo leñoso, recibe automáticamente el pago verde. Además, como medida complementaria a la PAC, está el fondo europeo agrícola de desarrollo rural (FEADER). Este fondo es un instrumento de financiación, y el que establece las normas generales que deben cumplir los agricultores para la aceptación de las ayudas. Dejando de lado las subvenciones, existen también las etiquetas ecológicas, que aunque no otorgan beneficios económicos a las empresas que las obtienen, es un distintivo para asegurar que el producto ha sido producido, aplicando técnicas y métodos de naturaleza ecológica.

Por otra parte, existen proyectos que se encuentran financiados por la UE que tratan de minimizar los impactos derivados de manejos inadecuados de los cultivos. En el caso del olivo, los proyectos más destacados son “*Olivares vivos*”, que trata de revertir los efectos adversos del cultivo del olivar, incrementando la rentabilidad del olivar por medio de la recuperación de la biodiversidad, y “*Sustainolive*” (sustainolive.eu), cuyo objetivo es incrementar la sostenibilidad del olivar a través de la implementación de paquetes tecnológicos sostenibles que promuevan el desarrollo y la creación de servicios ecosistémicos en el olivar.

2.5) El olivar, vertebra de la vida socio-económica, cultural, y paisaje dominante de extensas áreas de Andalucía

El olivar es uno de los principales cultivos que se desarrollan a lo largo de la cuenca mediterránea. Andalucía, y dentro de esta región, la provincia de Jaén (figura 3 y 4), es el principal productor de aceite de oliva de mundo (tabla 1), llegando a ser el principal ingreso económico de numerosos pueblos de Andalucía, llegando a aportar 10.226,775 millones de € (Producción de la rama agraria andaluza, 2007).

Año	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Mundo*	7.948.602	7.665.702	7.899.788	8.137.315	8.047.148	8.076.533
Unión Europea (15)*	4.283.248	4.385.893	4.379.336	4.418.784	4.573.859	4.579.123
España**	2.125.600	2.157.544	2.194.100	2.201.700	2.300.000	2.423.841
Andalucía***	1.366.621	1.393.575	1.397.828	1.442.442	1.454.590	1.480.162

Fuente: *FAO.

** Años 1995-1999 MAPA, año 2000 FAO y año 2001 Agencia para el Aceite de Oliva.

*** Años 1995-2000 Consejería de Agricultura y Pesca y año 2001 Agencia para el Aceite de Oliva.

Tabla 1: Superficie de cultivo de olivar (hectáreas)

Tal y como se puede apreciar en la tabla 1, Andalucía presenta el 18% de la superficie total de olivar a nivel global, llegando a tener por tanto una gran influencia, proveniente de este sector agrario.

Año	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Mundo*	2.585.074	2.598.040	2.404.176	2.344.580	2.539.620	2.698.460
Unión Europea (15)*	1.755.581	2.227.657	1.751.329	1.810.930	1.925.926	2.057.800
España**	954.148	1.120.952	846.851	962.600	1.117.700	1.360.300
Andalucía***	798.641	861.417	701.288	465.484	849.817	1.131.620

Fuente: *FAO.

** MAPA.

***Consejería de Agricultura y Pesca.

Tabla 2: Producción de aceite de oliva (Toneladas)

Como se puede observar en la tabla 2, Andalucía produce el 42% de la producción mundial de aceite de oliva. Siendo este, por tanto, un sector bastante importante para la economía de esta región. Debido a que anualmente genera millones de jornales y hay numerosas empresas (almazaras, refinerías, proveedoras de insumos...), que se encuentran tanto directa e indirectamente vinculada al sector del aceite de oliva.

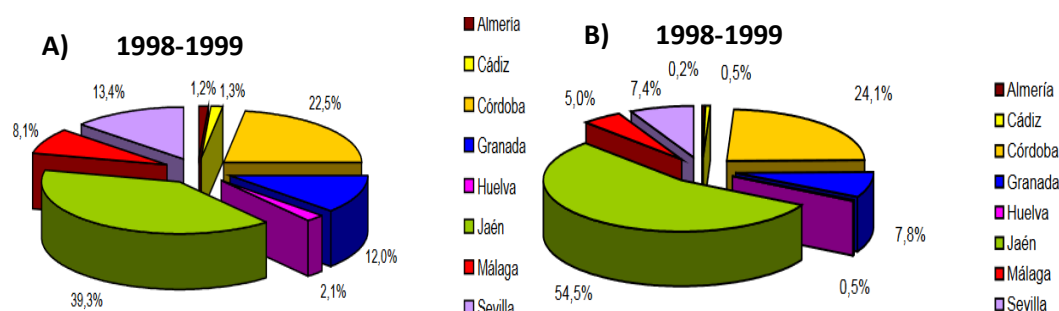


Figura 6: Superficie olivar en Andalucía (A), producción aceite de oliva en Andalucía (B) (Consejería de agricultura y pesca, 2002)

La figura 6, muestran el importante sector que constituye el olivar en la comunidad andaluza, especialmente en Jaén, donde llega a liderar el puesto mundial de producción de aceite de oliva. Este es un importante aspecto, dado que la economía de Jaén depende principalmente de la agricultura del olivar, siendo por tanto, una provincia principalmente agrícola.

El hecho de que en la provincia de Jaén haya tan baja diversidad de cultivos, por la marcada predominancia del cultivo del olivar, hace que esta sea muy vulnerable, porque la actividad económica agrícola, depende casi exclusivamente de un solo cultivo. Las fluctuaciones marcadas en el precio del mercado, los efectos de la degradación del suelo, fruto del manejo inadecuado de este cultivo, y otros aspectos como el cambio climático, tienen un gran impacto en los aspectos económicos, sociales, culturales y ambientales de la provincia.

Es por todo ello, que la sociedad en general tiene la importante tarea de solucionar o minimizar, aquellos problemas que puedan incidir tanto de manera directa o indirecta en la vulnerabilidad del cultivo del olivar.

2.6) Principales prácticas de manejo en el olivar que derivan en impactos ambientales

En una parte significativa del olivar andaluz, las prácticas de manejo actuales, ocasionan a medio y largo plazo un impacto en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, además de influir en los procesos ecológicos. Dado que los problemas que atañen al olivar son muy amplios y engloban muchos campos de estudio, el enfoque de este apartado se concretara en aquellas prácticas de cultivo que atentan con la degradación del suelo del olivar.

Posiblemente, el proceso que más influye en la degradación del suelo, tanto por su impacto, como por su rapidez de actuación, es la erosión. La ausencia de barreras físicas que reduzcan la energía, con la que las gotas de agua impactan con las partículas del suelo, ocasiona desestabilidad en los agregados del suelo, especialmente si estos son inestables y/o las partículas del suelo son finas (arcillas y limo). La parte superficial del suelo, que es generalmente la más fértil, escapan del olivar por escorrentía superficial, a raíz de los procesos comentados anteriormente.

Cualificación erosión	Superficie geográfica		Vida útil (años)	Pérdida de suelo		Pérdidas medias ($t \cdot ha^{-1} \cdot año^{-1}$)
	ha	%		$T \cdot año^{-1}$	%	
Nula	352.962	26,1	-	923.520	2,1	2,6
Muy leve	234.308	17,3	>100	1.689.786	3,9	7,2
Leve	289.600	21,4	50-100	4.708.305	11,0	16,2
Moderada	189.977	14,0	25-50	6.772.542	15,9	35,6
Grave	148.643	11,0	10-25	10.491.953	24,7	70,5
Muy grave	79.693	5,9	5-10	10.853.504	25,5	136,2
Extremadamente grave	24.375	1,8	>5	7.062.489	16,6	289,7

Tabla 3: Estimación de la tasa de erosión en los olivares de Andalucía (Inventario nacional de erosión de suelos, 2002)

La tabla 3 muestra los valores estimados de pérdida de suelo anual asociados al cultivo del olivar en Andalucía. Las pérdidas de suelo de más de 80% del olivo son superiores a

35 toneladas por hectárea y año, valores muy elevados, y muy por encima de las estimaciones de las tasas de la renovación natural del suelo, estimada en $10 \text{ t-ha}^{-1}\text{año}^{-1}$ (Gómez *et al.* 2009). A estas tasas, se pronostica que la vida media inferior de 1/3 de los suelos de los olivares, será de aproximadamente 25 años.

Una de las características del manejo del suelo del cultivo convencional del olivar, y también de una parte del olivar en producción integrada, es la ausencia o presencia pero de forma muy rala de la cubierta vegetal, que se controla a través del laboreo, herbicidas de pre y post-emergencia e incluso una combinación de ambos. Debemos tener presente la superficie de entrecalle, que no se encuentra cubierta por la copa de olivo, su equivalencia a una hectárea es variable, porque depende del marco de plantación, y del volumen de copa de cada olivo, que oscila entre 30-60%. Es decir, entre $3000\text{-}6000 \text{ m}^2$ del suelo de cada hectárea de un olivar, con pendientes generalmente superiores al 5% sin cubierta vegetal, estarían sin cubrir. Este hecho es una de las principales razones por las que la erosión es tan importante en el olivar, dado que el suelo no está cubierto, se produce en toda su magnitud el “efecto splash”, efecto que se produce cuando las gotas de lluvia impactan directamente con las partículas de suelo, ocasionando la destrucción de los agregados del suelo. Es mediante este tipo de erosión hídrica, donde surgen las cárcavas en los campos de cultivo del olivar, y a su vez, uno de los principales problemas del olivar, pues ocasiona una destrucción total del suelo.

Además, buena parte de los nutrientes aportados, pero no asimilados por el árbol, se pueden perder por escorrentía superficial, pudiendo ocasionar problemas de eutrofización de las aguas de ríos, lagos y embalses. Asimismo, el exceso de fertilizantes, especialmente aquellos basados en el nitrógeno, puede también conllevar su lixiviación y movilización hacia acuíferos subterráneos (Gómez *et al.* 2004).

Otro de los problemas de los que el cultivo del olivar se debe hacer frente, consiste en la compactación de los horizontes superficiales del suelo, a causa de la maquinaria pesada en las labores del suelo. La creación de una suela de labor, reduce considerablemente la infiltración, y aumenta la escorrentía superficial, debido a que el agua es incapaz de penetrar en el sustrato edáfico. (Lal and Shukla, 2004)

Muchas de estas consecuencias adversas se reflejan en la degradación del suelo del olivar. Esta guarda una relación con la disminución en la fertilidad de suelo, dado que cualquier factor que provoque la variación de las condiciones físico-químicas del suelo, van a derivar en una clara pérdida de la fertilidad del suelo. Por ejemplo, cada vez que se pierde suelo por erosión, se pierden microorganismos, materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, nutrientes totales y disponibles, carbono orgánico, etc.

Aunque hay esfuerzos para minimizar las consecuencias ambientales del cultivo del olivar, todavía hay mucho camino por recorrer. Parte de estos esfuerzos deberían de ir

dirigidos a romper las barreras de transferencias de conocimiento, entre aquellos centros responsables de inculcar conocimiento, y los olivareros, porque existe cierto grados de desinformación por parte de los olivareros, debido a que todavía aplican prácticas de manejo que favorecen en gran medida la degradación del suelo, agravando las consecuencias ambientales, y dificultando la ejecución de soluciones plausibles. Por ello, se debe ser consciente de cuáles son los principales impactos ambientales que se acontecen en estos lugares, a la par de saber ejecutar las actividades que propiciarían su mejoría.

2.7) Estrategias para la restauración de la calidad y fertilidad del suelo

Para mitigar las consecuencias ambientales, pero en particular en el suelo del cultivo del olivo, de la manera más acertada y correcta posible, es necesario llevar a cabo una evaluación de las técnicas que se plantean, para buscar las prácticas más plausibles que incidan en la recuperación de suelos degradados.

Como comentábamos anteriormente, en función de la problemática del suelo, debemos llevar a cabo uno u otro tratamiento, para procurar brindar la mayor restauración en el suelo. Para ello, en la figura 7, se expondrá de manera general, las diferentes estrategias que se pueden realizar, para llevar a cabo una restauración en el suelo.

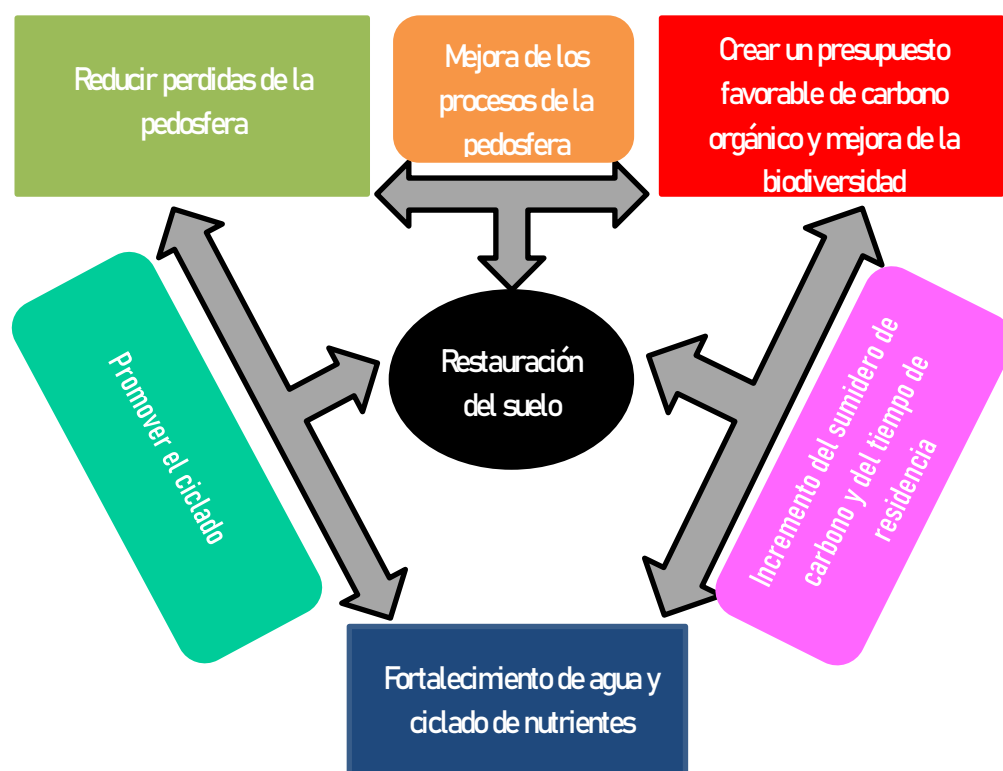


Figura 7: Estrategias empleadas frente a la degradación (Elaboración propia)

El suelo está compuesto por diferentes tipos de horizontes, la naturaleza del mismo, dependerá del grado de maduración del suelo y del ambiente donde se localice.

Debemos centrarnos en las capas más superficiales, pues son en ellas donde se llevan a cabo los procesos más importantes, en vista del cultivo.

Por ello, algunas de las técnicas empleadas para mejorar el suelo, van a estar relacionadas con la recuperación de aquellos procesos que perjudican al mismo, y que incluye planes para mitigar la pérdida de los horizontes superficiales del suelo. El principal factor que se busca solucionar, consiste en corregir aquellas porciones donde el suelo se encuentra descubierto ante cualquier condición climática, especialmente de aquellos suelos donde la consistencia de los agregados del suelo, se encuentran bastantes inestables. Para revertir este tipo de consecuencias, se pueden implementar la aplicación de restos de vegetación, “mulching” o cubiertas vivas, que evitan el impacto directo de las gotas de lluvia en el suelo, y por ende, disminuye la erosión del suelo. Además, las cubiertas vivas facilitan la retención, y por tanto reducen las pérdidas de nutrientes dentro del agroecosistema. De la misma forma, el sistema radicular de las cubiertas, favorecen el grado de agregación de las partículas del suelo, debido a que se encuentran adheridos a las raíces “efecto butressing”, disminuyendo la capacidad de erosión de este.

El suelo es un complejo ecosistema, en donde nos podemos encontrar con una amplia gama de macro y microorganismos, que interaccionan en los procesos edáficos, mediante la transformación y manipulación de diversos compuestos del suelo. De igual manera, el carbono orgánico del suelo (COS) se relaciona con la sustentabilidad de los sistemas agrícolas, afectando a las propiedades del suelo, relacionadas con el rendimiento del cultivo (*Acevedo et al. 2008*).

Otras técnicas encaminadas a proporcionar una mejora físico-química en el suelo, están relacionadas con el incremento en la biodiversidad del suelo, por ejemplo, mediante el aporte de macroorganismos y/o microorganismos, que van a influir en el mantenimiento de la estructura del suelo, haciendo que sea posible una adecuada aireación, y por tanto, un intercambio óptimo de gases. A parte, contribuye a la descomposición de la materia orgánica, influyendo de manera directa en el ciclo de los nutrientes, y realizando al mismo tiempo una eliminación de parásitos y posibles enfermedades a los cultivos (*Manivannan et al. 2009*). Por último, existe una amplia gama de organismos que presentan relaciones simbióticas con las plantas y las raíces, facilitando de esta forma el aporte de nutrientes y agua al vegetal, y por ende, contribuyendo al crecimiento vegetal (*FAO, 2015*).

Acometer medidas para el incremento de los niveles de materia orgánica del suelo, y por tanto de COS, es también un conjunto de estrategias diseñadas para restaurar los suelos degradados. De hecho, los niveles de C orgánico en el suelo, sirve como indicador de degradación del suelo (*Acevedo et al. 2008*), especialmente cuando esta es causada por erosión. La degradación del suelo y niveles bajos en materia orgánica, están estrechamente relacionados con las características de las regiones semiáridas

del mediterráneo. Para ello, mejorar la captación de COS, derivara en una mejora de la productividad agronómica. El suelo puede actuar como fuente o reservorio de C dependiendo de su uso y manejo (*Lal et al. 1990*), por ello, se pueden emplear prácticas agronómicas que favorecen la captura de C en el suelo, como es el caso de la labranza de conservación (*West y Post, 2002*).

El ciclo de los nutrientes es un proceso de vital importancia para garantizar la adecuada salud de nuestro recurso edáfico. Los nutrientes están en constante cambio, para ser asimilados, y posteriormente reducidos para volver de nuevo a empezar con el ciclo. De igual manera, el agua presenta una importancia análoga, al tratarse de un recurso crucial para el sustento de la vida, es de gran importancia para los vegetales y la microbiota del suelo.

Los efectos perniciosos de intensidades elevadas de lluvia sobre suelos desnudos o sobre degradados, se pueden minimizar empleando técnicas de ingeniería. Estas técnicas están diseñadas para desviar el curso de agua principal, y así evitar que surjan y/o se desarrollen las cárcavas. También se puede manipular los ciclos de los principales nutrientes, ya sea por medio de la incorporación de material inorgánico u orgánico (como es el empleo de fertilizantes). De esta forma, nos aseguramos de evitar déficit de determinados nutrientes en nuestro cultivo. Esta técnica se utiliza mucho en cultivos, dado que en la cosecha, se retira a su vez parte de los nutrientes, que posteriormente se deben reponer para evitar déficit.

2.8) La materia orgánica como estrategia para recuperar suelos degradados

La materia orgánica está formada por materia inerte y energía. Esa materia es muy variable, y va a caracterizar la naturaleza bioquímica de la materia orgánica, al igual que el tiempo de persistencia del mismo en el suelo, hasta que se produzca su transformación en otros compuestos, por parte de las bacterias y hongos presentes en la matriz del suelo (*Xing et al. 2006*). Para la transformación de la materia orgánica, se lleva a cabo por el proceso de humificación, que está influido por los compuestos recalcitrantes (resistencia a la descomposición), el proceso inverso a la humificación es la mineralización (*Lehmann and Kleber, 2015*). La materia orgánica está relacionada con la fertilidad del suelo, que influye en los sistemas agrícolas y en la productividad del cultivo. La cantidad de materia orgánica en el suelo, depende del rango de descomposición, del índice de materia orgánica mineralizada, la textura del suelo y el clima (*Poultou et al. 2009*). Partiendo de esta idea, nos da a conocer la importancia que supone la materia orgánica en el suelo, por ello que debemos ser conscientes de las necesidades que presenta un determinado tipo de suelo.

A la hora de introducir fuentes de materia en el sistema, debemos realizar un análisis previo del compuesto para conocer sus propiedades, y saber cómo influirá en el suelo, de esta forma, podemos aportar materia orgánica de naturaleza muy diversa, en

función de los requerimientos del suelo. Aquellas sustancias que tendrán un papel más relevante, serán aquellas sustancias con una mayor proporción de compuestos húmicos, como es el caso de los abonos compostados utilizados en este trabajo (bokashi y vermicompost). Las sustancias húmicas son la fracción más estable de la materia orgánica de los suelos, y puede persistir por miles de años. De esta forma, contribuye a la mejora de los atributos físicos, químicos y biológicos, mediante un aumento de la fertilidad del suelo, mejora en la actividad microbiana y vegetal, bioprotección al cultivo, así como influir en las propiedades físico-químicas del suelo. (Sánchez, 2002). También son influyentes las sustancias que presentan carbono orgánico muy estable (biochar), dadas las características del COS que se han explicado con anterioridad.

El presente trabajo va a estar enfocada en proporcionar diferentes fuentes orgánicas y el empleo de microorganismos para observar cómo influyen en la mejora de la recuperación del suelo.

3) Objetivos

Los principales objetivos de este trabajo de fin de grado fueron:

- Evaluar el grado de biorremediación de un suelo de olivar degradado, utilizando distintas fuentes de materia orgánica.
- Evaluar la posible sinergia mediante la adición de microorganismos comerciales, junto con las fuentes de materia orgánica en la recuperación del suelo.

En todos los casos se utilizó suelo comparable (mismas textura y tipo de suelo, y condiciones ambientales semejantes) no degradado para evaluar el grado de biorremediación.

Desafortunadamente, estos objetivos sólo se han podido cumplir parcialmente debido a las medidas de prevención y control del COVID-19. Debido al confinamiento forzado desde el 13 de marzo hasta el 18 de mayo, y controlado y con severas restricciones para los estudiantes de grado a partir del 19 de mayo, por lo que parte de las variables dependientes previstas, tales como:

- i) Análisis de actividades enzimáticas relacionadas con el reciclado de fósforo (fosfatasa), carbono (glucosidasa), nitrógeno (potencial de amonificación) y azufre (arilsulfatasa)
- ii) Análisis del perfil de utilización de formas diversas de carbono orgánico

No se han podido realizar.

4) Material y método

4.1) Diseño experimental

4.1.1) Fuentes de variación

1.- *Grado de degradación del suelo*: Se seleccionaron dos niveles de esta fuente de variación; un suelo degradado y un suelo no degradado. Ambos suelos fueron comparables en relación a su textura (suelo arcilloso) y han estado sometido a similares condiciones ambientales, ya que la distancia entre ellos fue de aproximadamente 7 m. La figura 8 muestra el aspecto del sitio de dónde se cogieron las muestras de suelo. Se tomaron muestras de los primeros 20 cm de ambos suelos durante el mes de febrero de 2020.

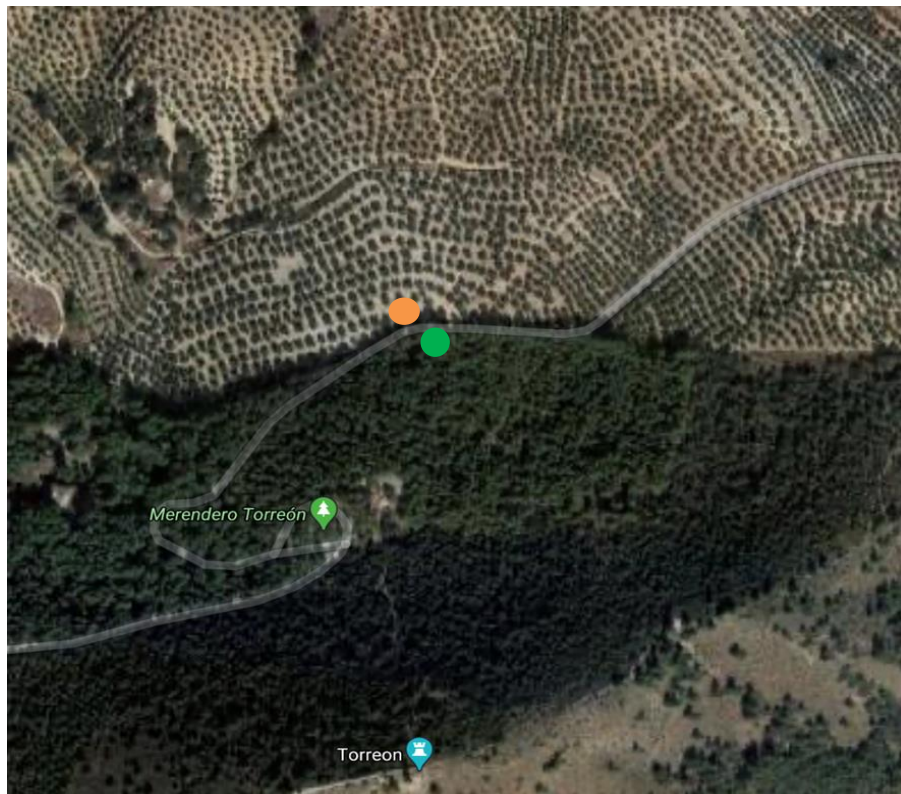


Figura 8: Visión aérea del entorno en el que se tomaron las muestras del suelo degradado (circulo naranja) y no degradado (circulo verde).

Una vez en el laboratorio, se procedió a realizar un secado de la muestra de suelo al aire libre (figura 9), para reducir de esta forma la humedad y facilitar los tratamientos posteriores tales como su tamizado.



Figura 9: Aspecto del suelo degradado (Arriba) y el suelo no degradado (abajo) durante su secado al aire en el laboratorio

La muestra estuvo durante 72 horas al aire libre antes de proceder a su tamizado. Una vez concluido el secado de la muestra de suelo, se realizó el tamizado empleándose un tamiz de 2 mm de luz de malla (figura 10).



Figura 10: Suelo degradado (izquierda) y no degradado (derecha) una vez tamizado y ya listo para proceder con su análisis

2.- *Fuentes de materia orgánica:* Esta fuente de variación consistió en 5 niveles, uno sin fuente de material orgánico y otros 4 con fuentes de materia orgánica, con propiedades que difieren unas de otras. Las fuentes de materia orgánica que se seleccionaron fueron:

- ❖ Biochar: Es carbón vegetal de origen natural que se obtiene a partir de restos de biomasa, generalmente de origen vegetal, pero también se puede usar de origen animal (por ejemplo el estiércol), residuos de agroindustrias o incluso de subproductos resultantes de tratamientos de aguas residuales o de sólidos urbanos, de esta forma, es posible obtener distintos tipos de biochar, mediante la alteración de la materia prima, y de las condiciones de la pirolisis (*Yuan et al. 2011*). El biochar se obtiene a través de la pirolisis, que consiste en someter a estas fuentes de carbono orgánico, a una combustión de baja temperatura (aproximadamente a 350 °C), en ausencia o con baja presión de oxígeno. El biochar puede influir directamente o indirectamente en la transformación de los nutrientes en el suelo (*DeLuca et al. 2015*), además de aportar niveles bajos-medios de nitrógeno, pero medio-altos de otros macro y micronutrientes, tales como fósforo y potasio. De esta forma, nos podemos llegar a encontrar un % en peso del 0,27% N y del 4,7% P, constituyendo en su gran mayoría carbono, con un 35,5%. (*Nakagawa et al. 2012*). Además, varios estudios han mostrado que el biochar puede incrementar de forma significativa la capacidad de intercambio catiónico, que regula la movilidad de nutrientes entre la solución del suelo y dicho complejo (*Ding et al. 2010; Iyobe et al. 2004*). Por otra parte, la aplicación continua de biochar puede afectar a algunas propiedades físicas del suelo, entre las que se puede destacar el aumento de la porosidad,

disminución de la densidad aparente y aumento de la capacidad de campo del suelo, que estará altamente relacionado con el tamaño de grano del biochar (*Downie et al. 2009*), lo que lo hace altamente efectivo para la retención de nutrientes y agua del medio. Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente, el biochar puede tener un efecto positivo a corto plazo en la remediación de suelos degradados, además de contribuir al secuestro de carbono.

- ❖ Vermicompost: Es un tipo de compostaje, en donde se transforma la materia orgánica mediante el empleo de lombrices de tierra, de esta forma obtenemos como residuo final, humus de lombriz, o vermicompost.

Las propiedades del producto final, dependerán en gran medida del material sometido a vermicompost, de las condiciones del vermicompostaje y del tipo de lombriz utilizado, debido a que no todos proporcionan las mismas propiedades del suelo. Es por ello que se recomienda realizar un análisis previo del suelo, para aportar uno u otro tipo de vermicompost.

En relación a la estructura física, el vermicompost ocasiona una mayor estabilidad de los agregados, contribuye a la creación y al mantenimiento de la estructura del suelo (mejora de la aireación), además de mejorar el desarrollo de raíces y la disponibilidad de nutrientes para las plantas (*Tomati and Gali, 1995*). A su vez, proporciona una mayor facilidad para el intercambio de cationes (*Balamurugan et al. 2009*).

La materia orgánica incrementa la actividad y biodiversidad microbiana del suelo (*Zink and Allen. 1998*). De forma paralela, se observó que el nivel de materia orgánica, las actividades y biomasa microbiana del suelo, se incrementaban con el uso de fertilizante orgánico (*Goyal et al. 1999*).

Algunos estudios observaron que la integración del vermicompost con la adición de materia inorgánica, (como puede ser fertilizantes), conlleva un incremento en el crecimiento de los cultivos (*Ranganathan, 2006; Kale et al. 1992*).

- ❖ Bokashi: Es un abono orgánico que se obtiene a partir de fuentes de materia orgánica, que proporcionan carbono orgánico lábil (por ejemplo melaza), proteínas, fibras y organismos, de esta forma, se puede obtener un 45,22 % C y un 4,59% N (*Nakagawa et al. 2012*). Para ello, un conjunto diverso de fuentes de materia orgánica se colocan en una pila, donde en la parte superior ocurre un proceso aeróbico, mientras que en la parte intermedia el proceso es anaeróbico. De forma paralela, ocurre un fenómeno de pasteurización, que consiste en un proceso de semi-descomposición aeróbica. Este hecho activa una serie de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal y de bio-protección.

Una vez que el bokashi se mezcla con el suelo, este proporciona una mejora en las propiedades físicas, químicas y biológicas (*Brady and Weil, 2002*). Por ejemplo, se ha descrito que la aplicación de bokashi inhibe el desarrollo de

agentes nocivos del suelo, y mejora aquellos microorganismos que sean beneficiosos para el suelo (*Mayer et al. 2010*). Por otra parte, algunos estudios realizados bajo condiciones de laboratorio, indican que existe un aumento del N en el suelo (*Pigozzo et al. 2008*). No obstante, se precisan de estudios que evalúen el efecto de este a escala de campo.

- ❖ Simbio soil: Esta es una fuente de materia orgánica obtenida a partir del alperujo, que es un subproducto obtenido en la almazara, que consiste en una mezcla de alpechín y agua de vegetación. El producto resultante es mezclado con la microbiota del suelo para suprimir las posibles carencias del producto, según la página web que lo comercializa (*SativaGrow.es*)

La incorporación al suelo de compost de alperujo proporciona a lo largo de los años, unas concentraciones aceptables de NPK, que contribuyen al buen estado nutricional del cultivo (*Fernández et al. 2014*). De manera adicional, conlleva una eliminación de metales pesados, por medio de procesos de condensación de los mismos. Por otra parte, se ha demostrado que presenta propiedades fitosanitarias de carácter supresivo para determinadas enfermedades de las plantas (*Álvarez de la puente. 2003*).

Por otra parte, este producto ocasiona una significativa degradación de la materia orgánica en el suelo, debido a la naturaleza lignocelulotica del producto (*Smidt et al. 2008*). A pesar de ello, este producto es idóneo como fertilizante o como enmienda.

	%N	%C	C/N
Bokashi	1,415	11,947	8,441
Vermicompost	1,571	17,134	10,905
Biochar	0,795	50,630	63,716
Simbiosoil	2,022	33,359	16,502

Tabla 4: Contenidos (% sobre peso seco) en C y N de las diferentes fuentes de materia orgánica

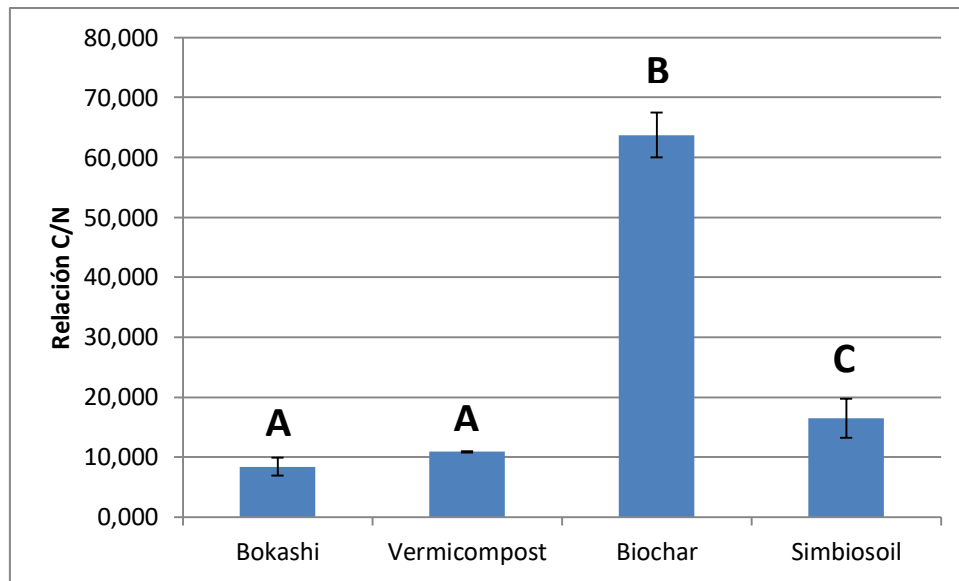


Figura 11: Relación C/N de las diferentes fuentes de materia orgánica. Distintas letras denotan diferencias significativas ($P < 0.05$; ANOVA de una vía)

En la tabla 4 y la figura 11 se muestran la proporción de C y N, y la relación entre ambos elementos en las diferentes fuentes de materia orgánica. De esta forma, podemos hallar la relación C/N, tal y como se muestra en la figura 11, donde el biochar presenta una relación C/N muy superior al resto de fuentes, mientras que el resto oscilan con valores cercanos unos de otros.

Conocer cuál es la relación C/N que existe en nuestro cultivo, en función del rango de valores donde oscile, nos va a informar sobre determinados impactos en el cultivo. Tener unos índices altos, va a provocar una mayor generación de C, y por tanto, se crea mucho crecimiento bacteriano, estos captan el N que haya en el medio y elimina el N a la planta, es lo que se conoce como bloqueo de N. Tener índices bajos, produce que haya lavado de N, impidiendo que la planta sea capaz de asimilarlo.

3- Presencia de microorganismos

Esta fuente de variación tiene dos niveles; con y sin organismos. Para ello se utilizó un preparado comercial que contenía:

Azospirillum Brasilense, que en unos niveles bajos de oxígeno, son unas importantes fijadoras de nitrógeno (Hubbell et al. 1979), y *Pantoea Dispersa*, que es un bioestimulador del crecimiento vegetal y es capaz de solubilizar el fósforo (Villaverde et al. 2008). Estos organismos son capaces de colonizar las raíces de las plantas a partir de una interacción simbiótica entre ambos, ocasionando efectos nutritivos y estimulando la actividad microbiana. Para que las rizobacterias realicen un completo funcionamiento, se debe mezclar con quelato de hierro y materia orgánica.

La solución empleada para la obtención de los microorganismos presentaba unas 10^8 ufc/g. Para calcular la dosis empleada en el experimento, se pesaron 10 g del producto y se vertieron en 500 ml de H_2O , lo que corresponde a 2×10^6 ufc por cada ml. Para los ensayos se utilizaron 10 ml de la solución, que correspondió a 20×10^6 ufc.

4.1.2) Nivel replicación y nº de unidades experimentales

En el experimento se realizaron tres replicas por cada combinación de niveles de fuente de variación. De esta forma el número de unidades experimentales fue de 60.

1 suelo x 2 niveles de degradación x 5 fuentes materia orgánica x 2 microorganismos x 3 réplicas= 60 muestras

4.1.3) Variables dependientes

En el presente experimento se llevó a cabo la siguiente medida:

Tasa de respiración y emisión acumulada de CO_2 : Las muestras de suelo se encuentran incubadas dentro de unos botes, y en ellas, el proceso de respiración produce CO_2 , por ello, a lo largo del transcurso del experimento iremos midiendo este factor a partir del método de la trampa de sosa.

Anteriormente a la ejecución de este análisis, es preciso depositar en el interior de cada bote un tubo de ensayo con 10 ml de NaOH 1N, debido a que el CO_2 que se produce, va a reaccionar con el NaOH, formando H_2CO_3 , que pasa a HCO_3^- y posteriormente a CO_3^{2-} .



Figura 12: Montaje experimental para calcular la respiración

El procedimiento que se llevara a cabo, consiste en la introducción de HCl 0,25 N en una bureta, a su vez, el tubo de ensayo que contenía el NaOH, se vierte en un matraz Erlenmeyer, vertiendo a su vez 2 ml de BaCl₂, que producirá el precipitado del carbono y 2 gotas de fenolftaleína, que le otorgara un color rosado a la muestra. Posteriormente se procede a valorizar la muestra hasta que cambie a un color blanquecino.

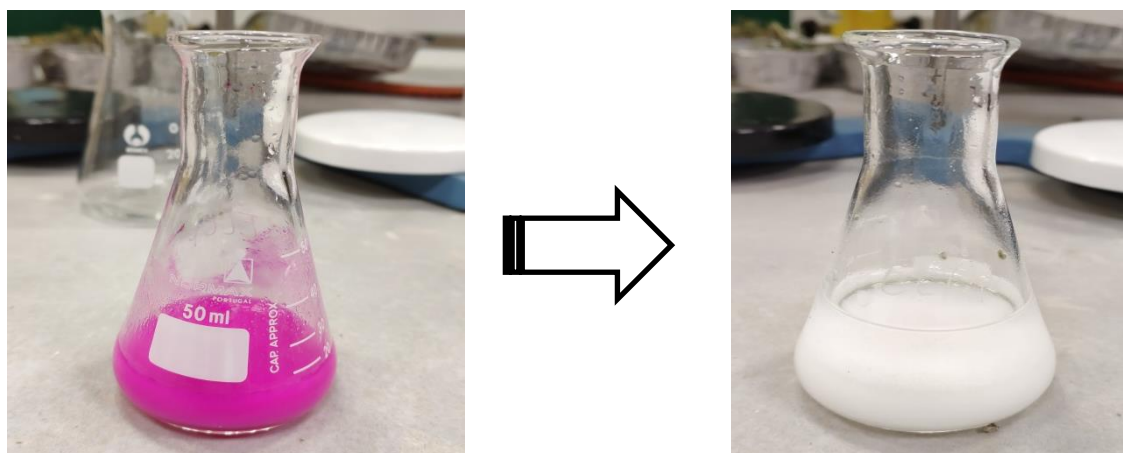


Figura 13: Cambio de color producido por la adición de HCl

4.2) Montaje experimental

Para ello, se precisaron de 30 unidades experimentales para cada tipo de suelo. En cada una de ellas se introdujeron 100 g de suelo. Posteriormente se introdujo suficiente agua destilada para llevar el contenido en agua de los suelos al 60% de la capacidad de campo. En aquellas unidades experimentales que recibieron microorganismos, estos viajaban en el agua destilada. Finalmente, se introdujo en los recipientes una cantidad de las distintas fuentes de materia orgánica para adicionar, los 10 mg C por cada gramo de suelo. En la tabla 5 se exponen las cantidades de cada una de las fuentes de materia orgánica que se introdujeron en el suelo. El contenido de cada recipiente (suelo + agua con o sin microorganismos + fuentes de materia orgánica) fue bien mezclado, los recipientes se cerraron herméticamente y se dejaron incubando a la temperatura del laboratorio (aproximadamente 23°C ± 2.0).

	Contenido en carbono	Cantidad de fuente de materia orgánica añadida (gr por unidad experimental)
Bokashi	11,94	8,37
Vermicompost	17,13	5,83
Biochar	50,63	1,97
Simbiosoil	33,35	2,99

Tabla 5: Gramos de cada fuente de materia orgánica introducidos en el suelo para añadir 10 mg C g⁻¹

Se midió la producción de CO₂ tras 7, 14 y 29 días del inicio del periodo de incubación.

4.3) Análisis estadístico

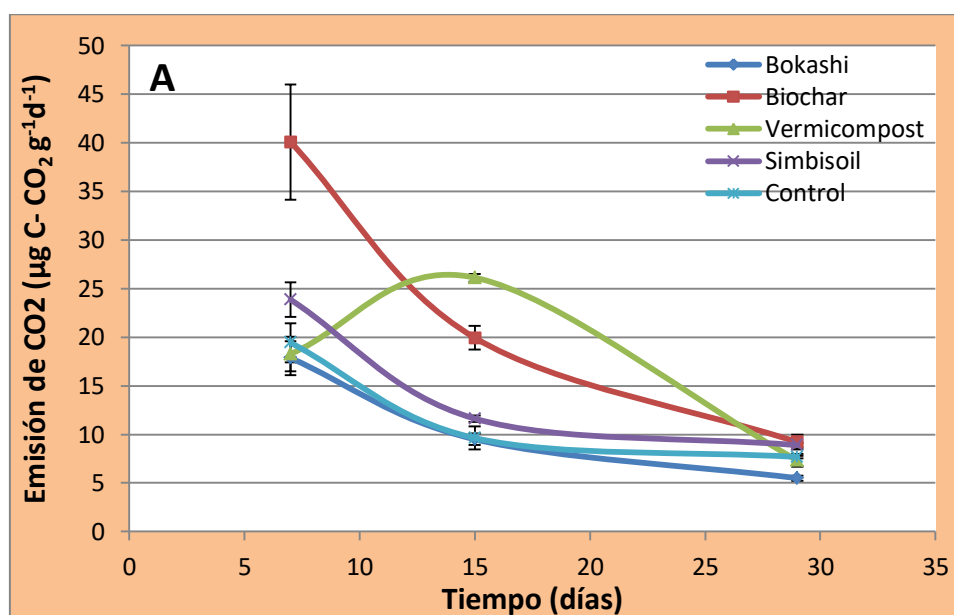
La significancia del efecto de las distintas fuentes de materia orgánica y la presencia de microorganismos en los suelos de distinto nivel de degradación sobre la producción de CO₂, se testó usando un ANOVA de una vía o de dos vías. Para testar si las diferencias entre niveles de una misma fuente de variación fueron significativas se empleó el test a posteriori de Tukey. En todos los casos, el nivel de significación α fue de 0,05.

5) Resultados

5.1) Emisión de CO₂ en suelos con nivel de degradación contrastados

A pesar de que en todos los tratamientos se añadió la misma cantidad de carbono orgánico (10 mg C g⁻¹), las características bioquímicas de las fuentes de materia orgánica son distintas (véase por ejemplo los valores de la relación C/N) y, por lo tanto, se esperan valores distintos de producción de CO₂, debido tanto a la diferencias bioquímicas de las fuentes de materia orgánica, como por el grado de degradación del suelo.

La dinámica temporal fue similar en todos los tratamientos ensayados; tasas diarias de producción de CO₂ más elevadas en los primeros días de incubación y descensos con clara tendencia exponencial conforme transcurrían los días de incubación (figura 14). No obstante, hubo algunas excepciones, este fue el caso del vermicompost en el suelo degradado, que presentaba una forma de Campana de gauss.



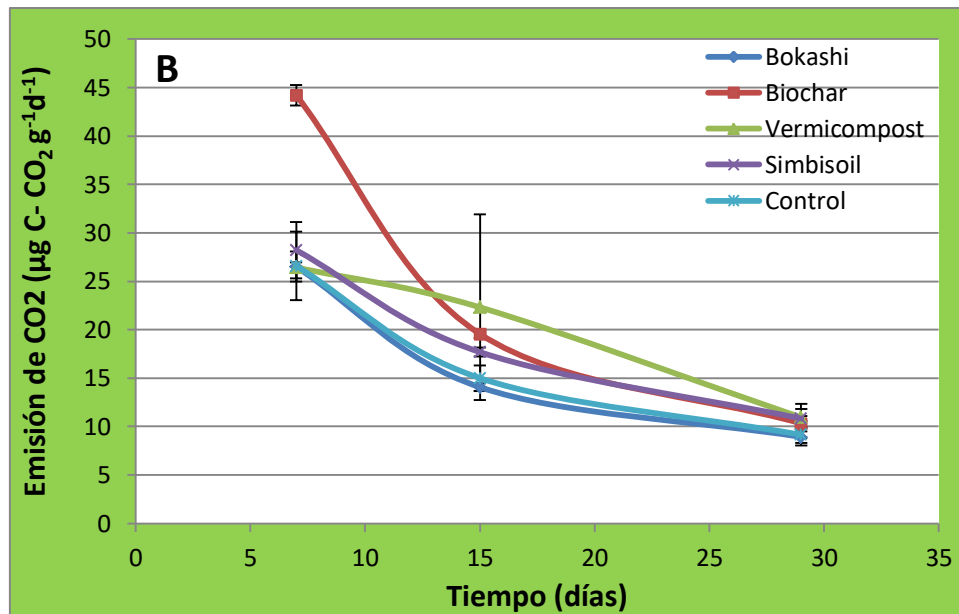


Figura 14: Tasa diaria de producción de CO_2 ($\mu\text{g C- CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{d}^{-1}$) en suelos degradados (a) y en suelos no degradados (b) para distintas fuentes de materia orgánica

Las tasas diarias tras al final del periodo de incubación fueron significativamente mayores que el control en el suelo degradado, para el caso del biochar y simbisoil. Sin embargo, esto no ocurrió en el suelo no degradado.

Como se puede apreciar en la figura 15, la aplicación de carbono orgánico procedente de distintas fuentes de materia orgánica, hizo aumentar la producción de CO_2 con respecto al suelo control sin fuente alguna de materia orgánica, a excepción del bokashi. Las fuentes de materia orgánica tuvieron un efecto significativo en la producción de CO_2 , y esto ocurrió tanto en el suelo degradado como en el suelo no degradado. En ambos suelos, el orden de producción de CO_2 fue el mismo: Biochar > Vermicompost > Simbisoil > control > Bokashi.

Para el caso del biochar tras 29 días se emitieron $569 \mu\text{g C- CO}_2 \text{ g}^{-1}$ y $610,5 \mu\text{g C- CO}_2 \text{ g}^{-1}$ en los suelos degradados y no degradados, respectivamente.

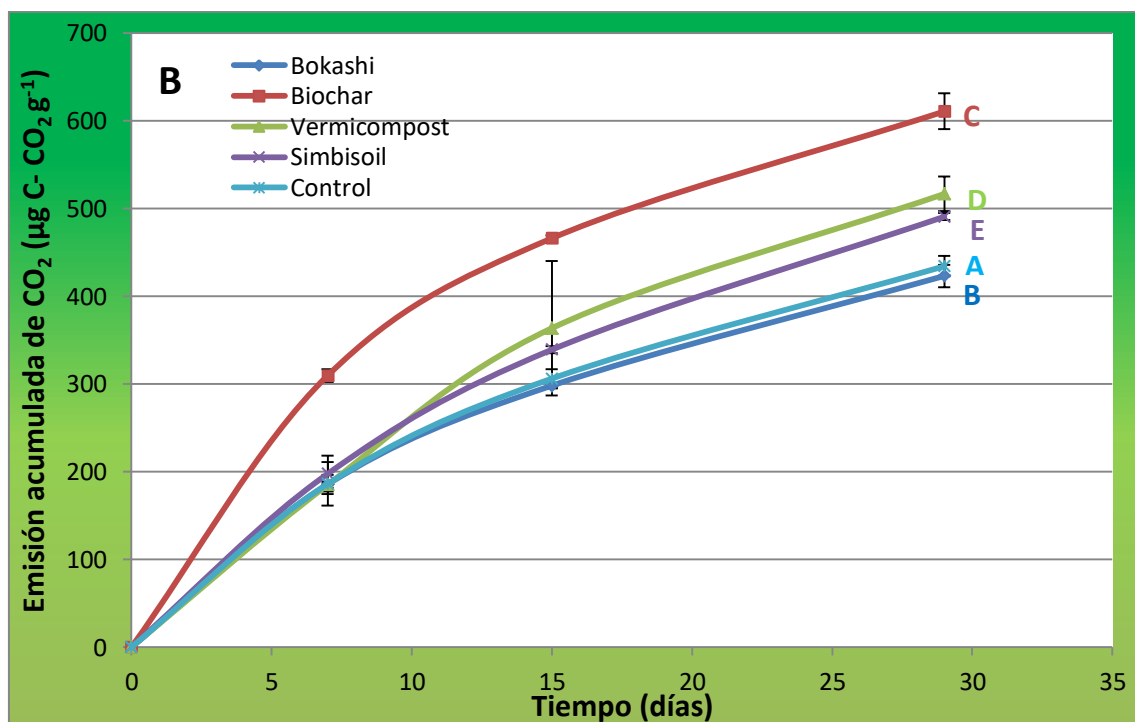
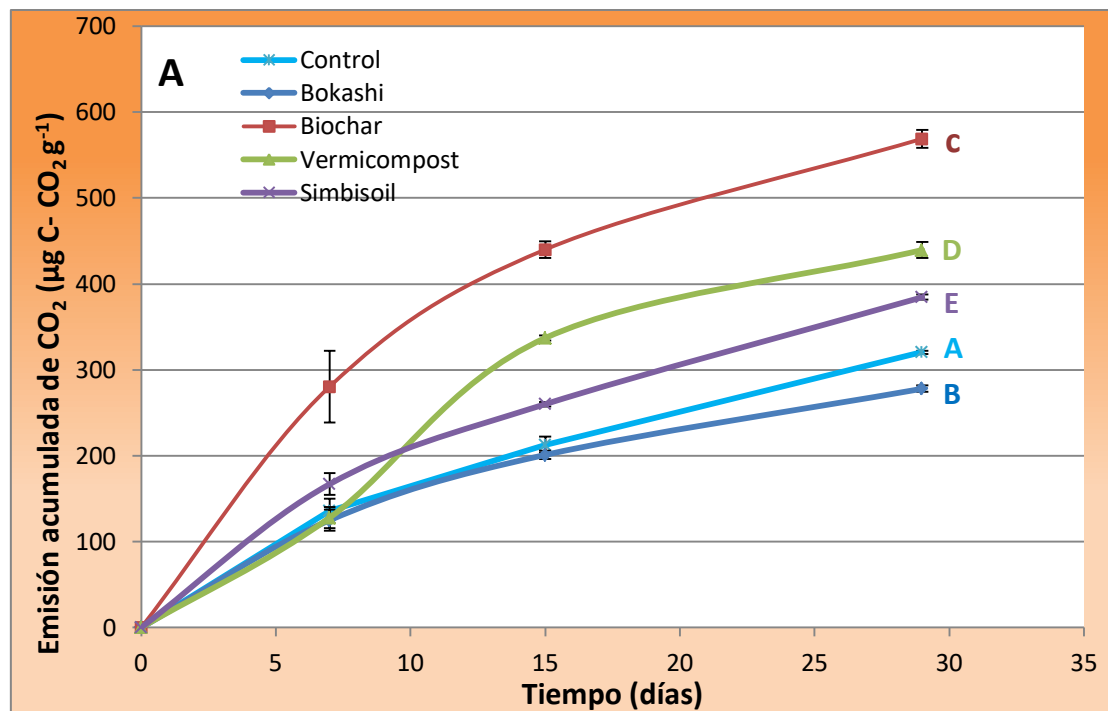


Figura 15: Producción acumulada de CO₂ (µg C- CO₂ g⁻¹) en suelos degradados (a) y en suelos no degradados (b). Distintas letras denotan diferencias significativas (P< 0.05; ANOVA de una vía)

La producción de CO₂ en el suelo no degradado fue significativamente superior a aquel no degradado, y esto ocurrió para todas las fuentes de materia orgánica ensayadas.

La figura 16 muestra una serie de columnas en donde se encuentran los diferentes tratamientos empelados, en comparación de un suelo con respecto al otro. Resulta

interesante mostrar que el incremento en la producción de CO_2 en el suelo no degradado con respecto al suelo control no degradado tras la aplicación de las fuentes de materia orgánica, fueron superiores que aquel registrado en el suelo degradado. Esto sugiere que, en el caso de que la producción de CO_2 fuera un indicador, aunque tangencial, de biorremediación:

- i) la aplicación de fuentes de materia orgánica, exceptuando el bokashi mejoran el grado de degradación del suelo degradado porque la producción de CO_2 fue superior al del suelo control
- ii) para la misma cantidad de carbono y tipo de carbono añadido, en el suelo no degradado la mejoría fue mayor que en el caso del suelo degradado; es decir, el incremento en la producción de CO_2 en el suelo no degradado fue superior que el del suelo degradado.

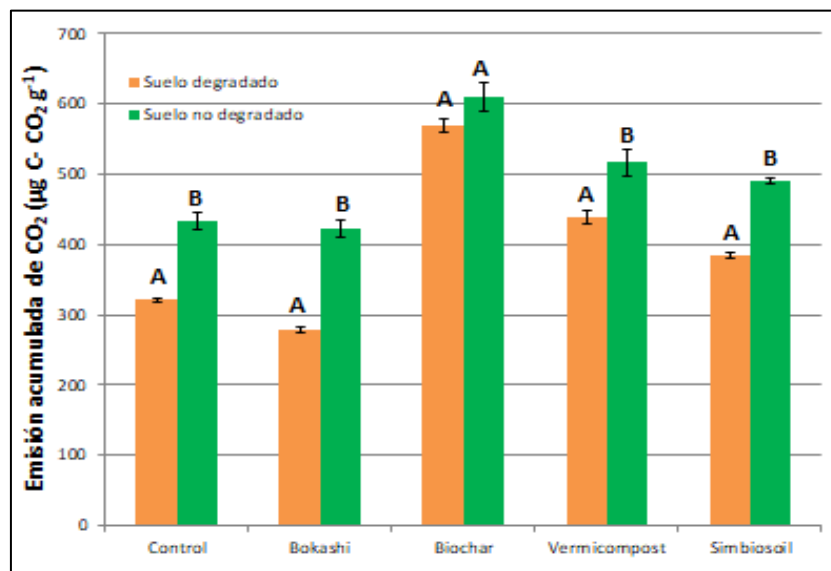


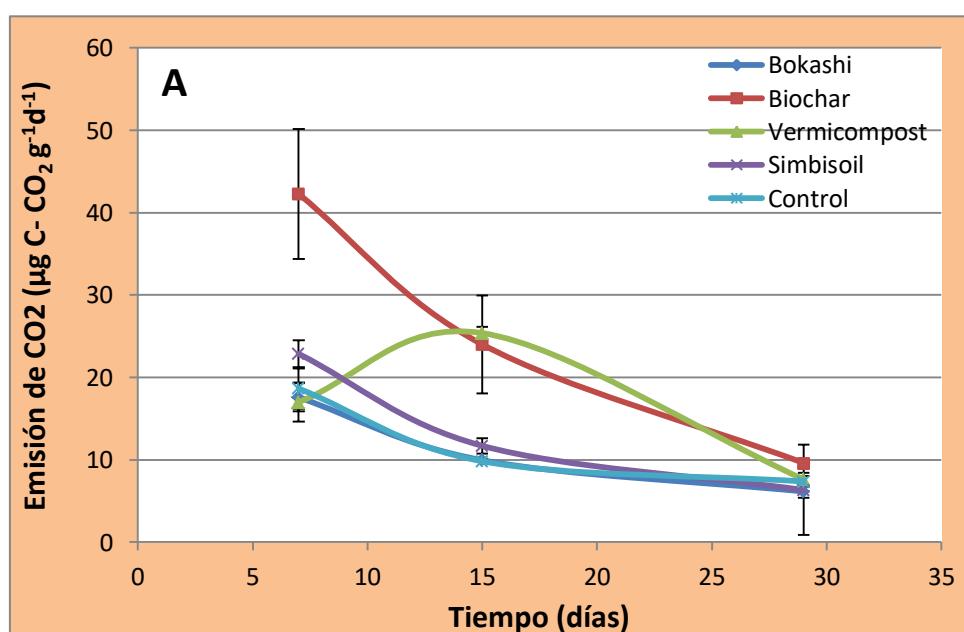
Figura 16: Producción acumulada de CO_2 ($\mu\text{g C-CO}_2 \text{g}^{-1}$) en ambos suelos sin microorganismos, pero con distintas fuentes de materia orgánica. Distintas letras denotan diferencias significativas (ANOVA de una vía, $P < 0.05$)

Los resultados obtenidos en esta primera toma de datos no corresponden con nuestra hipótesis de partida. En primer punto debo poner de manifiesto la obtención de unos resultados bastante similares en uno y otro tipo de suelo, cuando en teoría, el suelo no degradado debería tener unas mayores tasas de respiración debido a poseer una mayor cantidad de materia orgánica en su seno, que aporte mayor tasa de carbono orgánico al suelo. Por otra parte, los tratamientos que se han llevado a cabo, no satisfacen los resultados esperados, puesto que el aporte de carbono orgánico que se encuentra en el sustrato edáfico es insignificante en algunos casos, y en otros los resultados son inferiores al control, siendo por tanto unos tratamientos poco eficientes para la mejora del suelo.

5.2) Emisión de CO₂ en suelos con nivel de degradación contrastados, con la adición de microorganismos

De manera análoga al apartado anterior, se procede a suministrar a cada tratamiento la misma cantidad de carbono orgánico (10 mg C g⁻¹), que estarán relacionadas con la naturaleza bioquímica de las diferentes fuentes de materia orgánica. De manera adicional, se introducen microorganismos en los tratamientos, para evaluar la producción de CO₂ tanto en el suelo degradado, como no degradado.

La dinámica temporal fue similar en todos los tratamientos ensayados, a excepción del vermicompost, en donde muestra una tendencia de campana de gauss en el suelo degradado. Las tasas diarias de producción de CO₂ son más elevadas en los primeros días de incubación, mostrando descensos con tendencia exponencial conforme transcurren los días de incubación (figura 17).



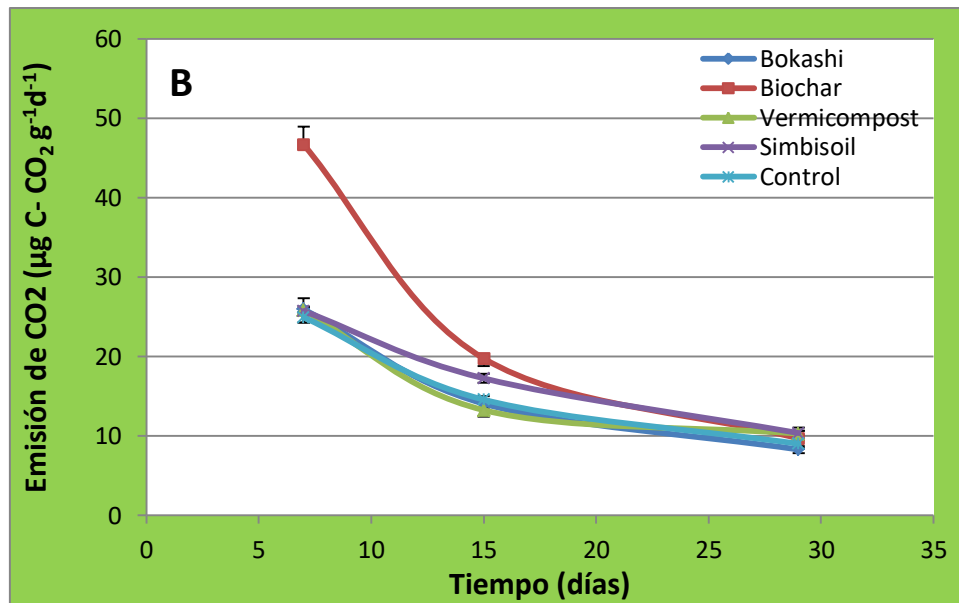


Figura 17: Tasa diaria de producción de CO_2 ($\mu\text{g C- CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ d}^{-1}$) en suelos degradados (a) y en suelos no degradados (b) para distintas fuentes de materia orgánica

Las tasas diarias tras al final del periodo de incubación fueron significativamente mayores que el control en el suelo degradado, para el caso del biochar y vermicompost. Sin embargo, esto no ocurrió en el suelo no degradado.

Como se puede apreciar en la figura 18, la aplicación de carbono orgánico procedente de distintas fuentes de materia orgánica, con la consecuente adición de microorganismos, ocasiono un aumento en la producción de CO_2 con respecto al suelo control, con la excepción del bokashi. Las fuentes de materia orgánica tuvieron un efecto significativo en la producción de CO_2 y esto ocurrió independientemente del grado de degradación del suelo. En ambos suelos, el orden de producción de CO_2 fue el mismo: biochar > vermicompost > Simbisoil > control > bokashi.

Para el caso del biochar tras 29 días se emitieron $622 \mu\text{g C- CO}_2 \text{ g}^{-1}$, y $620 \mu\text{g C- CO}_2 \text{ g}^{-1}$ en el suelo degradado y no degradado, respectivamente.

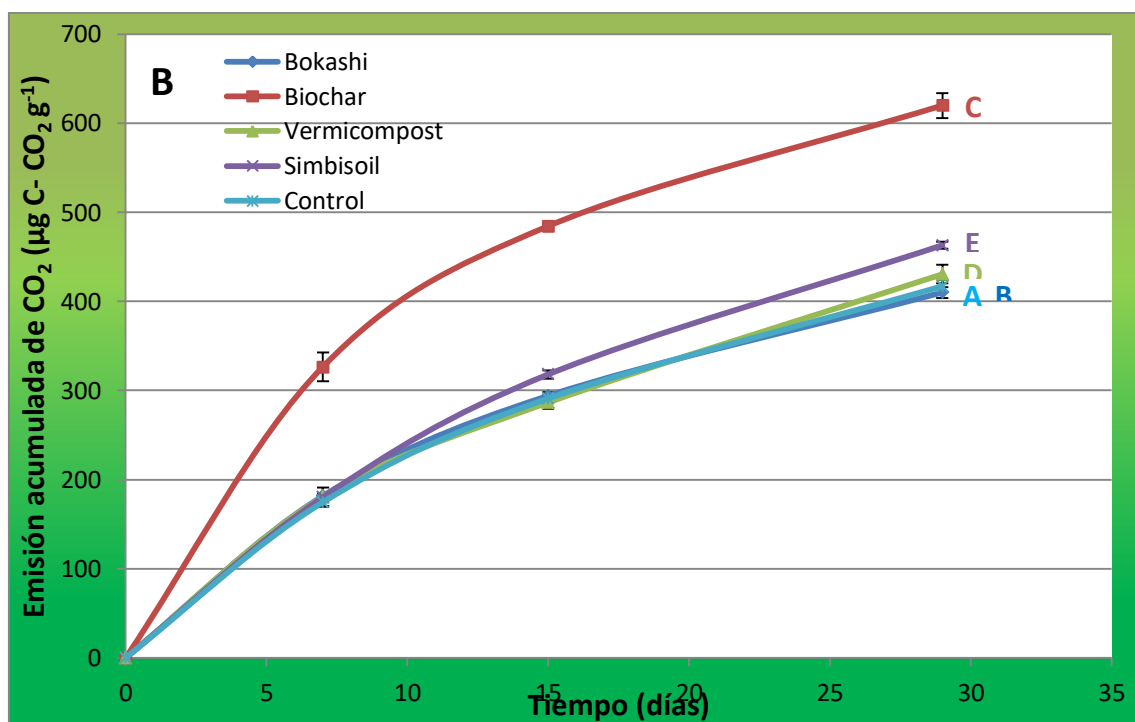
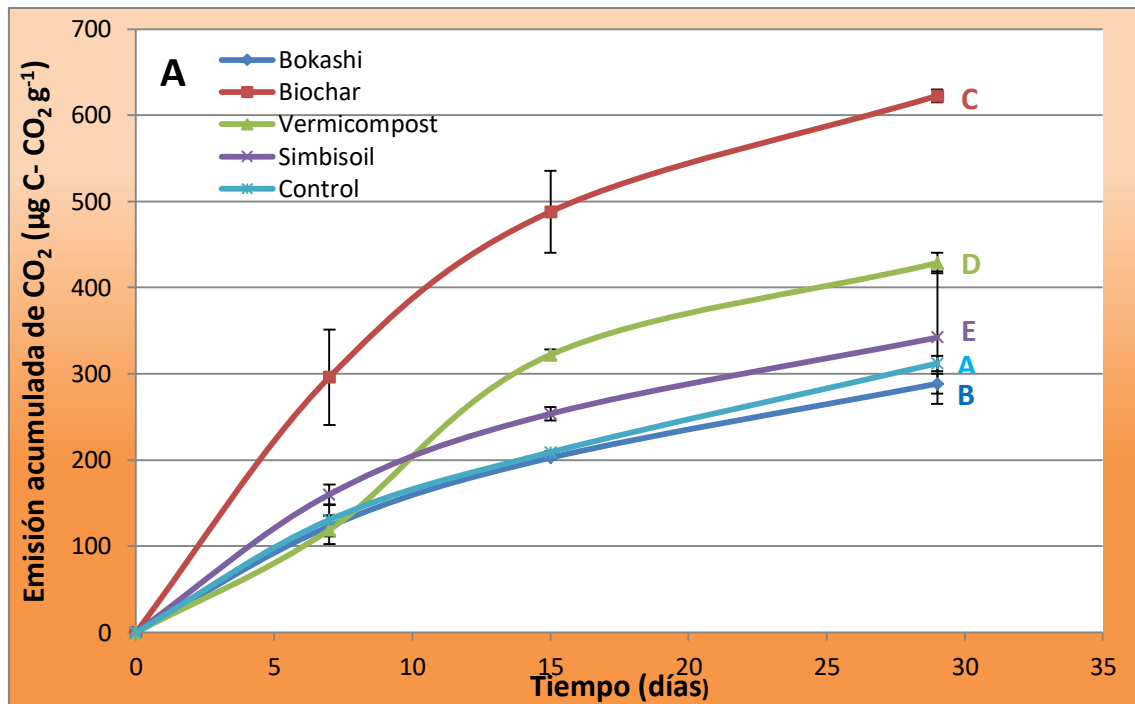


Figura 18: Producción acumulada de CO_2 ($\mu\text{g C-CO}_2 \text{g}^{-1}$) en suelos degradados (a) y en suelos no degradados (b). Distintas letras denotan diferencias significativas ($P < 0.05$; ANOVA de una vía)

La figura 19 muestra una serie de columnas en donde se encuentran los diferentes tratamientos empleados, con la adición de microorganismos, en comparación con un suelo con respecto al otro. El incremento en la producción de CO_2 en el suelo no degradado, mostro resultados superiores con respecto al suelo degradado, a excepción del biochar, donde en el suelo degradado muestra resultados más

favorecedores que en el suelo no degradado. En el caso de que la producción de CO₂ fuera un indicador, aunque tangencial, de biorremediación:

- i) la aplicación de fuentes de materia orgánica con la adición de microorganismos, exceptuando el bokashi mejoran el grado de degradación del suelo degradado porque la producción de CO₂ fue superior al del suelo control.
- ii) para la misma cantidad de carbono con el respectivo tipo de carbono añadido, y la consecuente adición de microorganismos, ha mostrado unos resultados más favorecedores en el suelo no degradado con respecto al suelo degradado, a excepción del biochar.

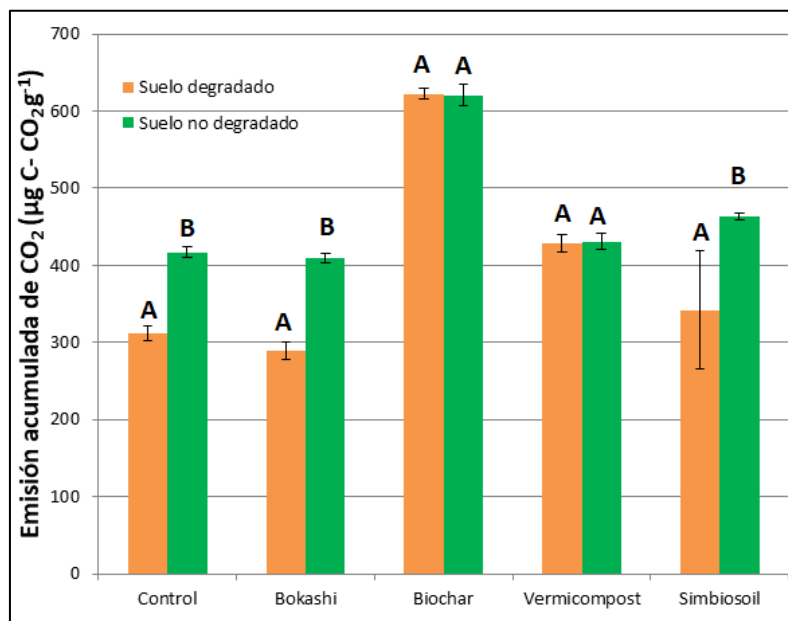


Figura 19: Producción acumulada de CO₂ (µg C- CO₂ g⁻¹) en ambos suelos con microorganismos, y con distintas fuentes de materia orgánica. Distintas letras denotan diferencias significativas (ANOVA de una vía, P< 0.05)

Siguiendo con el mismo patrón que con el apartado anterior, podemos dar constancia de unos resultados que no se amoldan a lo esperado. Esto es debido a que mediante el empleo de microorganismos, se pretendía que la tasa de respiración en el suelo se incrementase, a su vez, gracias al aporte de las diferentes fuentes de materia orgánica, el aporte de carbono orgánico en el sustrato edáfico, debería haber presentado unas mayores tasas de mejoría, sin embargo, no se han alcanzado los valores esperados. Por otra parte, el aporte de microorganismos no ha producido una diferencia significativa en relación al empleo ausente de los microorganismos, produciendo unos valores próximos entre sí.

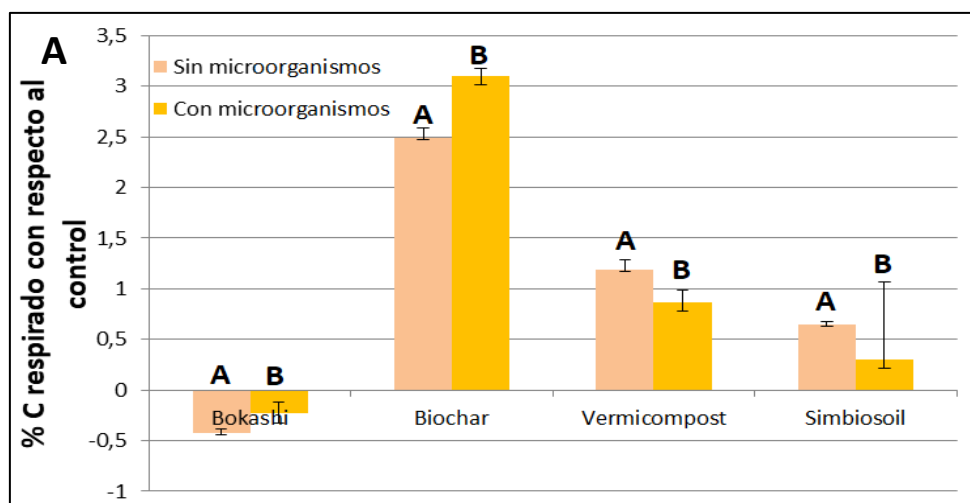
5.3) Porcentaje de carbono respirado con respecto al añadido

La figura 20 muestra que porcentaje del carbono añadido se ha emitido como CO₂ en las distintas fuentes de materia orgánica, con y sin presencia de los microorganismos.

El porcentaje de C emitido, con respecto al añadido, fue en general muy bajo, y nunca superior al 3,5%. Este porcentaje fue mayor en el suelo degradado que en el no degradado. Esto dato nos proporciona información sobre el grado de mejora, con respecto a nuestro sistema referente. Para analizar este dato, debemos ser conscientes de la naturaleza físico-química que se encuentran ambos tipos de suelo. En el caso del suelo no degradado, la tasa de mejora con respecto al control, serán inferiores frente al degradado, debido a que en el control del suelo no degradado, presenta una mayor proporción de materia orgánica en su seno, por lo tanto, el rango de mejora al introducir fuentes de materia orgánica, será significativamente inferior con respecto al suelo degradado.

Para el caso del bokashi, nada del carbono orgánico añadido se emitió en forma de CO₂. En realidad, el hecho de que tanto la tasa diaria como los valores acumulados de producción de CO₂ sean significativamente inferiores que el medido en los suelos control, sugiere que el bokashi empleado tuvo un efecto inhibitorio de la actividad de los microorganismos.

Tal y como se puede observar en la figura, el empleo de microorganismos solo aumento dicho porcentaje en el caso del biochar, llegando a mostrar tendencias negativas y significativas cuando se añadieron otras fuentes de carbono orgánico. Por otra parte, mediante estas gráficas, podemos apreciar el grado de mejora con respecto a los diferentes tratamientos empleados, siendo por tanto el biochar, como el mejor tratamiento empleado, ya que el porcentaje de carbono de este, que se emite como CO₂ fue de hasta el 3,1% en el suelo degradado, y un 2% en el suelo no degradado.



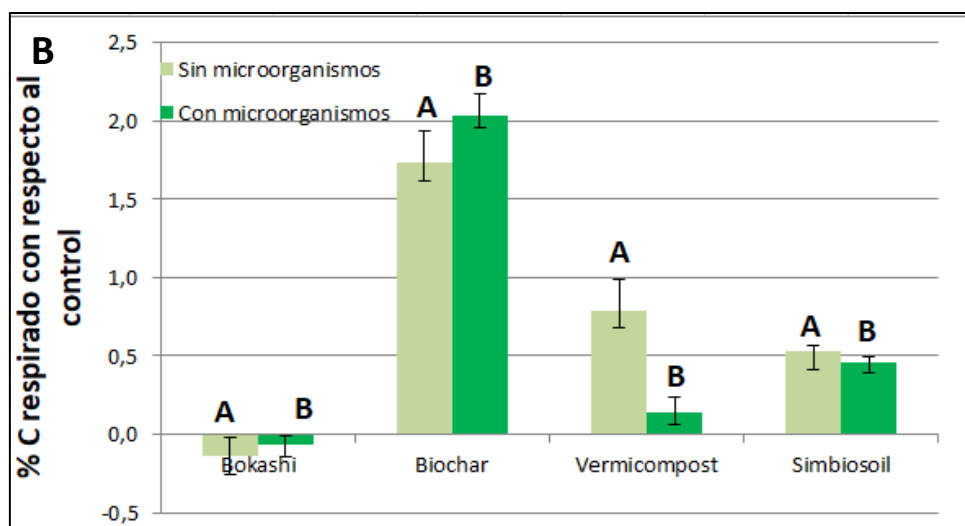


Figura 20: Porcentaje de C respirado con respecto al añadido para las distintas fuentes de materia orgánica con y sin presencia de microorganismos, en el suelo degradado (a) y en el suelo no degradado (b). Distintas letras denotan diferencias significativas ($P < 0.05$; ANOVA de una vía)

6) Discusión

6.1) Efectos de la adición de fuentes de materia orgánica en la producción de CO_2 en el suelo con niveles de degradación contrastada

Las tasas de respiración, tanto en los suelos control como en los tratamientos en los que se adiciono fuentes de materia orgánica, muestran, con excepción del bokashi, que los mayores valores se dieron al principio del periodo de incubación, hasta hacerse constantes y bajos. Es decir, la entrada de materia orgánica “nueva” en el suelo tiene como respuesta un incremento de la respiración que va disminuyendo con el tiempo hasta alcanzar valores constantes y llegar a un equilibrio. Esto indica que los mayores cambios en la estructura y biomasa microbiana, se dan al principio como consecuencia de la adición de una fuente de materia orgánica que sirve como fuente de energía y carbono, sin que ello conlleve otros cambios a largo plazo que no han sido identificados ni estudiados en este trabajo, debido a las medidas de confinamiento de la pandemia del COVID-19 que impidió el análisis de otros indicadores de fertilidad del suelo y de la estructura de la comunidad microbiana, empleando la metodología del perfil de utilización de fuentes de carbono orgánico. Esto ocurre, en principio, para cualquier tipo de materia orgánica con cierto contenido en carbono orgánico lábil que permita la creación de puntos calientes de actividad microbiana (hotspots). El periodo de vida de estos hotspots solo es de unos pocos días (*Pascual et al. 1998*) siendo después sustituidos por organismos especialistas, que se encontraban latentes o inactivos, y que empiezan a degradar la materia orgánica que queda (que es más refractaria y por lo tanto, más difícil de descomponer) pudiendo llegar a convertirse en los grupos dominantes del suelo, y manteniendo la respiración en niveles estables

durante los últimos días del periodo de incubación. Estos cambios en la dinámica de las comunidades microbianas explican el comportamiento de la tasa de respiración de los suelos, siendo esta la razón por la que la tasa de respiración sube tanto al principio y luego desciende bruscamente hasta hacerse más o menos suave, dando lugar a un modelo exponencial decreciente. No obstante, para el caso del vermicompost la dinámica temporal de la tasa diaria de producción de CO₂ siguió un modelo de campana de gauss, especialmente en el suelo degradado.

La cantidad de CO₂ producido durante el periodo de incubación fue superior en el suelo no degradado, tanto en el suelo control como aquellos que recibieron las fuentes de materia orgánica. El mayor contenido en carbono orgánico del suelo no degradado y, posiblemente, la mayor abundancia y diversidad de microorganismos en este suelo, explican este hecho. Por tanto, si la respiración basal del suelo (respiración en el suelo control) fuese un indicador de fertilidad del suelo, la adición de biochar, vermicompost y simbioil, hicieron aumentar ésta, no solo en el suelo no degradado, sino también en el suelo degradado.

El porcentaje de carbono orgánico añadido que se emitió en forma de CO₂ durante el periodo de incubación, fue en general, muy bajo (< 3.2 %). Esto sugiere que en estos suelos arcillosos, la capacidad de secuestrar carbono, es decir, que el carbono orgánico permanezca en el suelo a medio-largo plazo, es elevada.

Tanto en el suelo no degradado como en el degradado, el mayor incremento en la producción de CO₂ se dio con el biochar. Está demostrada la influencia que ejerce el biochar en la transformación de los nutrientes del suelo, así como el incremento en la capacidad de intercambio catiónico de los mismos (*Ding et al. 2010*). Además, modifica a su vez las características físicas del suelo, mejorando de esta forma la estructura del suelo, contribuyendo al aumento de hábitats para diferentes tipos de microorganismos (*Downie et al. 2009*).

6.2) Grado de remediación del suelo degradado

Usando como indicador de fertilidad del suelo la producción de CO₂, la adición de todas las fuentes de materia orgánica en el suelo degradado, incrementó la fertilidad del suelo, excepto con bokashi, ya que en la producción de CO₂ fue superior que el suelo control degradado. También es de destacar que con biochar y vermicompost, la producción de CO₂ registrada fue superior a la del suelo control no degradado, indicado que, tras la adición de estas fuentes de materia orgánica, la fertilidad del suelo fue superior al suelo control no degradado. Por tanto, esta experiencia, incompleta porque no se pudieron analizar otros indicadores físicos y biológicos de la fertilidad del suelo por las medidas de confinamiento, sugiere que la aplicación de biochar, por ejemplo aquel procedente de la pirolisis de restos de poda del olivar, y

vermicompost son adecuadas estrategias para remediar suelos degradados de olivar, así como para contribuir al secuestro de carbono.

6.3) Valoración de la adición de microorganismos en las fuentes de materia orgánica

La adición de microorganismos con papel relevante en la descomposición de materia orgánica y en algunos de los procesos implicados en el reciclado de nutrientes es una herramienta valiosa para promover, potenciar y preservar la salud del suelo, debido a que están implicados en una amplia gama de procesos del suelo relacionados con la fertilidad de este. La amplia variedad de especies diferentes de bacterias y hongos en el suelo, proporcionan un amplio abanico de procesos implicados en el reciclado de nutrientes y en la formación de microagregados del suelo.

Debemos tener presente la naturaleza de los microorganismos que se han empleado, y al tratarse de rihozabacterias, estas realizan simbiosis con las raíces de las plantas. Dado que no se existían cultivos vegetales en las unidades experimentales, no se ha podido concluir la veracidad de los resultados, con respecto a la eficacia de las fuentes de materia orgánica con la adición de los microorganismos.

Las tasas de respiración y la producción acumulada de CO₂ tras la adición de los microorganismos, mostraron resultados dispares. Con independencia del grado de degradación del suelo, para el caso del vermicompost y simbiosoil, la adición de microorganismos tuvo como efecto una disminución significativa en la producción de CO₂, mientras que para el caso del biochar y el bokashi con los suelos control, la presencia de estos hizo aumentar, de forma significativa, la emisión de CO₂ (figura 20). A partir de la única variable que se pudo medir, no es posible formular una hipótesis que explique estos hechos.

No obstante, está relativamente bien descrito el efecto positivo que tiene el biochar, material poroso, sobre los microorganismos. Están comprobadas las modificaciones que origina el biochar en las características físicas del suelo. De esta forma aumenta la porosidad, disminuye la densidad aparente, y aumenta la capacidad de campo (*Downie et al. 2009*). De este modo, el biochar es capaz de crear hábitats en el sustrato edáfico, que sean capaces de sustentar diferentes colonias de bacterias.

7) Conclusiones

-La degradación del suelo afecta negativamente a la respiración basal del suelo. La mayor cantidad de materia y carbono orgánico en el suelo no degradado, y posiblemente, diversidad de organismos, explican la mayor respiración basal en el suelo no degradado con respecto al suelo comparable pero degradado.

-El estudio ha demostrado que el empleo de las diferentes fuentes de materia orgánica, a excepción del bokashi, ocasionan un aumento en la producción de CO₂, y

por tanto, el biochar, vermicompost y simbiosoil, fueron adecuadas fuentes de materia orgánica para la reactividad del suelo.

-Con el biochar se obtuvieron los mayores valores de respiración del suelo, con independencia de si el suelo estaba degradado o no. De tal forma, que lo hace efectivo en la remediación de suelos degradados a corto plazo, además de contribuir al secuestro de carbono.

-Todas las fuentes de materia orgánica, con excepción del bokashi, hicieron aumentar la respiración de suelo hasta, o por encima de aquella del suelo control no degradado, y por tanto, fueron adecuadas para remediar el suelo degradado a corto plazo.

-Tras la adición de microorganismos del suelo, los resultados de respiración fueron contradictorios; para aquellas unidades experimentales que recibieron vermicompost y simbiosoil, la respiración disminuyó significativamente, mientras que aquellas con biochar y bokashi, aumentaron, sin que se pueda formular ninguna hipótesis al respecto.

8) Referencias bibliográficas

Antonia Fernández Hernández, María Vega Humanes, Concepción García-Ortiz Civantos, (2015). Diez Años de Aplicación de "Compost de Alperujo" en Olivar, Córdoba, Andalucía: junta de Andalucía. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (1-15)

Ariadna Escalante Rebolledo, Guadalupe Pérez López, Claudia Hidalgo Moreno, Jorge López Collado, Julio Campo Alves, Esteban Valtierra Pacheco y Jorge D. Etchevers Barra Biocarbon (biochar) I: Nature, history, manufacture and use in soil

Al Fernández, M Villaverde, JA Nicolás, A García-Gómez, J Malo Pantoea dispersa; rhizobacteria promotora del crecimiento vegetal

Cácio Luiz Boechat; Jorge Antonio Gonzaga Santos; Adriana Maria de Aguiar Accioly Net mineralization nitrogen and soil chemical changes with application of organic wastes with 'Fermented Bokashi Compost' Acta Sci., Agron. vol.35 no.2 Maringá Apr./June 2013

Combined effects of clay immobilized Azospirillum brasilense and Pantoea dispersa and organic olive residue on plant performance and soil properties in the revegetation of a semiarid area Mauricio Schoebitz, Carmen Mengual, Antonio Roldán (2014):67-73

Eduardo Martínez H, Juan Pablo Fuentes E, Edmundo Acevedo H Soil organic carbon and soil properties (68-96)

- Harris, J.A., Birch, P. & Palmer, J. (1996). Land restoration and reclamation; principles and practice. Longman Higher Education, Harlow, Essex (61-75)
- Johnston, A. E., Poulton, P. R. and Coleman, K. 2009. Soil organic matter: its importance in sustainable agriculture and carbon dioxide fluxes. *Advances in Agronomy*. 101, pp. 1-57
- Jose Antonio Alburquerque, Jose Gonzalez, German Tortosa, Ghita Ait Baddi, Juan Cegarra Evaluation of “alperujo” composting based on organicmatter degradation, humification and compost quality 20:257–270
- Luis Alberto Rubio, Carmen de Pablos, Julio Montañés, (2002). El olivar andaluz. Consejería de agricultura y pesca, (12-15)
- Lei Dou, Masakazu Komatsuzaki, Mitsuhiro Nakagawa Effects of Biochar, Mokusakueki and Bokashi application on soil nutrients, yields and qualities of sweet potato Vol. 2(8) pp. 318-327
- Lal, R. et al. (1997). Methods for assessment of soil degradation. Advances in soil science. CRC Press. Boca Raton, New York (33-49)
- Marc A. Rosen Restoring Soil Quality to Mitigate Soil Degradation 2015, 7, (5875-5895)
- M. Pastor, J. Castro, M. D. Humanes y J. Muñoz (2001) sistemas de manejo del suelo en olivar de Andalucía, alameda del obispo, córdoba: Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía (75-98)
- NPCS board of consultants and engineers, (2004). the complete technology book on vermiculture and vermicompost, Delhi, India: Asia pacific business press inc. PP (3-10)
- Nicola Senesi, Baoshan Xing, and P.M. Huang, Biophysico-Chemical Processes Involving Natural Nonliving Organic Matter in Environmental Systems, New York: IUPAC, 2006
- Pascual, J., Hernandez, T., Garcia, C., Garcia, A., 1998. Changes in the organic matter mineralization rates of an arid soil after amendment with organic wastes. *Arid Soil Research and Rehabilitation* (12, 63-72)
- S. Manivannan, M. Balamurugan, K. Parthasarathi, G. Gunasekaran and L.S. Ranganathan Effect of vermicompost on soil fertility and crop productivity - beans (*Phaseolus vulgaris*) 30(2), 275-281 (2009)
- Thomas H. DeLuca, Michael J. Gundale, M. Derek Mackenzie and Davey L. Jones. Biochar effects on soil nutrient transformations. *Biochar for environmental management: Science, Technology and implementation* (2): 421-454

Vanwalleghem, T., Amate J. Gonzalez de Molina, M., Soto Fernandez, D., Gomez, J.A., 2011. Modelling the effect of historical soil management on soil erosion in olive orchards over the last 250 years. *Agricultural Ecosystems and Environment* 142 (3-4): 341-351

Ying Ding&Yu-Xue Liu&Wei-Xiang Wu&De-Zhi Shi&Min Yang&Zhe-Ke Zhong. Evaluation of Biochar Effects on Nitrogen Retentionand Leaching in Multi-Layered Soil Columns 213:47–55