



*MASTER EN PRODUCCIÓN, PROTECCIÓN Y MEJORA VEGETAL  
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA*

**Efecto del biocarbón sobre el crecimiento y producción de un cultivo  
de trigo en condiciones de campo**

**por**

**Manuel Olmo Prieto**

Área de Ecología, Dpto Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal, Universidad de  
Córdoba

Directores del trabajo: Dr. José Antonio Alburquerque Méndez y Dr. Rafael Villar  
Montero

VºB º del Director/es:

José Antonio Alburquerque Méndez

Rafael Villar Montero

Firma del alumno:

Manuel Olmo Prieto

Tutor del trabajo: José Torrent Castellet

<b>Índice</b>	<b>Pág.</b>
Resumen .....	1
Abstract.....	3
1. Introducción.....	4
2. Materiales y métodos.....	9
2.1. Área de estudio y diseño experimental.....	9
2.2. Materiales: suelo y biocarbón.....	10
2.3. Muestreo de plantas .....	11
2.3.1. Primer muestreo .....	11
2.3.2. Segundo muestreo.....	12
2.3.3. Cosecha final.....	13
2.4. Variables y análisis estadístico de los datos .....	13
3. Resultados.....	14
3.1. Humedad gravimétrica y compactación del suelo .....	14
3.2. Primer y segundo muestreo .....	15
3.2.1. Parte aérea y crecimiento.....	15
3.2.2. Raíz .....	18
3.3. Cosecha final .....	19
4. Discusión .....	21
4.1. Efectos del biocarbón sobre la parte aérea y el crecimiento.....	21
4.2. Efectos del biocarbón sobre la raíz.....	23
5. Conclusiones.....	24
6. Agradecimientos.....	25
Bibliografía.....	26
Apéndice 1.....	32
Apéndice 2.....	33

## Resumen

Actualmente existe una enorme preocupación por el aumento de la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico, su efecto sobre el cambio climático y su consecuencia negativa sobre la salud humana, la producción de alimentos y la biodiversidad. Por otro lado, la pérdida de materia orgánica es uno de los problemas más importantes del suelo en zonas con clima mediterráneo. En la búsqueda de soluciones, el sector agrícola se presenta como un entorno crítico y la adición al suelo de biocarbón puede desempeñar un papel importante, favoreciendo la sostenibilidad de la agricultura a largo plazo.

El biocarbón es un material obtenido a partir de la descomposición térmica de biomasa residual a temperaturas relativamente bajas (<700 °C) y bajo condiciones limitantes de oxígeno (pirólisis). Cuando se aplica al suelo, su alta resistencia a la descomposición química y biológica favorece que el carbono permanezca más tiempo en el suelo, reduciendo las emisiones de CO<sub>2</sub>. Además, los beneficios de su aplicación incluyen el aumento de la producción de cultivos y la reducción de las pérdidas de nutrientes por lixiviación debido a su alta capacidad de retención. Sin embargo, sus efectos pueden ser variables y no está del todo claro si el entusiasmo que suscita actualmente puede estar justificado.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar en condiciones de campo los efectos de la adición de un biocarbón procedente de restos de poda de olivo sobre el crecimiento, producción y rasgos funcionales más importantes de un cultivo de trigo duro (*Triticum durum*).

La adición de biocarbón provocó un crecimiento más rápido de la planta y un mayor desarrollo de la espiga antes de la llegada de los meses secos, lo que pudo favorecer su rendimiento. Los resultados de la cosecha final corroboraron estos resultados, el rendimiento de las parcelas tratadas con biocarbón fue superior al de las parcelas control. Nuestros resultados sugieren que los efectos positivos del biocarbón sobre el crecimiento y la producción del cultivo estuvieron relacionados con su capacidad para reducir la compactación y aumentar la capacidad de retención hídrica del suelo. Sin embargo, los efectos del biocarbón sobre la raíz no fueron tan claros, encontrando sólo un ligero aumento de la longitud específica y una reducción de la densidad tisular de la raíz en la zona más superficial del suelo.

En resumen, los resultados obtenidos sugieren que la adición de biocarbón es una opción viable para mejorar las propiedades físicas del suelo y aumentar la producción del cultivo de trigo duro en condiciones de clima mediterráneo.

## Abstract

Nowadays, there is a huge concern about the increasing atmospheric CO<sub>2</sub> concentration, its effect on climate change and its negative impact on human health, food production and biodiversity. On the other hand, the loss of organic matter is one of the most important soil problems in areas with a Mediterranean climate. Seeking solutions to it, the agricultural sector is presented as a critical factor and biochar addition to soil can play an important role in promoting the sustainability of agriculture in the long term.

Biochar is a carbonaceous material obtained from the thermal decomposition of biomass at relatively low temperatures (<700 ° C) and under oxygen-limited conditions (pyrolysis). When biochar is applied to soil, its high resistance to chemical and biological decomposition favours that carbon remains longer in the soil, reducing CO<sub>2</sub> emissions. Moreover, the benefits of its application include an increase in crop production and a reduction in nutrient leaching due to its high retention capacity. However, its effects can be variable and is not entirely clear whether the enthusiasm aroused may be justified.

The main objective of this work is to evaluate under field conditions the effects of the addition to soil of a biochar produced from olive-tree pruning on the growth, production and functional traits of durum wheat (*Triticum durum*).

The biochar addition led to a faster plant growth and a better spike development before dry season, which could favour wheat yield. The results of final harvest were in this sense, we found that yield of plots treated with biochar was higher than control plots. Our results suggest that the positive effects of biochar on growth and crop production were related to the capacity of biochar to reduce soil compaction and increase soil water-retention capacity. However, biochar effects on root were not so clear since we found a reduction in root tissue density and a slight increase of specific root length in the upper soil layer.

In summary, the results obtained suggest that the addition of biochar is a viable option to enhance soil physical properties and increase production of durum wheat under Mediterranean climate conditions.

## 1. Introducción

En la actualidad la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico continua aumentando como resultado de actividades humanas, principalmente por la acción industrial, dando como resultado un calentamiento global del planeta con la preocupación por los efectos que este cambio global pueda tener sobre la salud humana, la producción de alimento y la biodiversidad (Lal, 2004; Solomon *et al.*, 2007; Auffhammer *et al.*, 2012). En la búsqueda de soluciones, el sector agrícola representa un entorno crítico para el balance (consumo/emisión) de los gases responsables del efecto invernadero (Solomon *et al.*, 2007) y opciones tales como el secuestro del CO<sub>2</sub> atmosférico en formas estables de materia orgánica en el suelo está ganando interés (Biederman y Harpole, 2013). Recientemente, la Comisión Europea ha adoptado una propuesta de decisión para establecer normas de contabilidad de las emisiones y la absorción de gases de efecto invernadero de los sectores agrícola y forestal, en el marco de la Política Agrícola Común.

La reducción de la fertilidad de suelos, es otro problema al que tiene que hacer frente la agricultura (OECC, 2013). Este hecho se relaciona fundamentalmente con la pérdida paulatina de materia orgánica del suelo, lo que se ve agravado por los efectos adversos del cambio climático, especialmente en las regiones de España con clima mediterráneo seco y semiárido. Por cada aumento de temperatura de 1 °C, se estima que la pérdida de carbono orgánico puede ser del 6-7 %, lo cual afectará de forma negativa a las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (OECC, 2013). En este sentido se están llevando a cabo muchos estudios cuyo objetivo principal es evaluar el potencial del biocarbón como sumidero de carbono y enmienda de suelos, para tratar de dar solución a estos problemas (Lal, 2004; Lehmann y Rondon, 2006; Sohi, 2012).

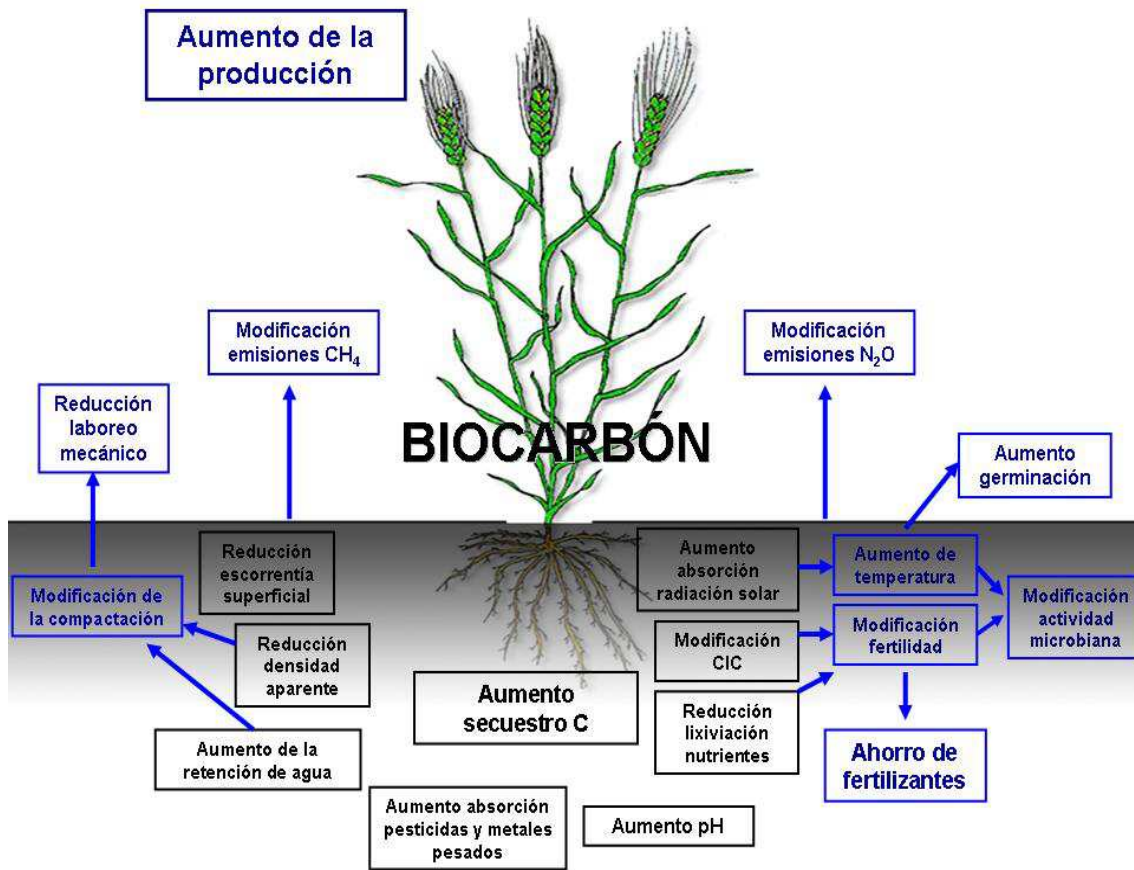
El biocarbón se obtiene mediante la descomposición térmica (300-750 °C) de la materia orgánica en una atmósfera a baja o nula concentración de oxígeno (pirólisis), es decir, una combustión incompleta de cualquier tipo de biomasa natural. La biomasa inicial utilizada, así como las condiciones de la pirólisis (velocidad de calentamiento, presión, temperatura de pirólisis y tiempo de proceso) determinarán las propiedades del biocarbón producido y su uso potencial como enmienda de suelos agrícolas y secuestro de carbono (Sohi *et al.*, 2009). El proceso de pirólisis estabiliza el carbón existente en la

materia orgánica en una forma más resistente a la descomposición química y biológica, por lo que al ser incorporado al suelo se mantiene estable durante más tiempo y no es emitido a la atmósfera (pudiendo considerarse como un sumidero de carbono). Combinando la pirólisis de biomasa con la aplicación de biocarbón al suelo podemos conseguir un balance positivo de carbono, a diferencia de otras técnicas bioenergéticas como la combustión completa de biomasa (Sohi *et al.*, 2009). Las fuentes principales para generar biocarbón son residuos agroindustriales y forestales, y las características más importantes del material de origen que afectan a las propiedades del biocarbón son la composición de constituyentes orgánicos (lignina, celulosa y hemicelulosa) e inorgánicos, así como el tamaño de partícula, la densidad, etc. (Lehmann y Joseph, 2009).

El biocarbón adicionado al suelo puede modificar sus propiedades físicas, disminuyendo la densidad aparente y aumentando la retención de agua, debido a su alta superficie específica (50 – 300 m<sup>2</sup>/g) y porosidad (Kuzyakov, 2009). Además el color oscuro que confiere al suelo puede favorecer la absorción de las radiaciones solares, elevando la temperatura del suelo y beneficiando la germinación de semillas y la actividad microbiana del mismo (Fig. 1) (Atkinson *et al.*, 2010; Busscher *et al.*, 2010). En cuanto a las propiedades químicas del suelo, se ha descrito que el biocarbón puede aumentar la capacidad de intercambio iónico del suelo, permitiendo retener elementos nutritivos beneficiosos para la planta (Liang *et al.*, 2006). Así mismo, el biocarbón puede aumentar la actividad biológica del suelo y favorecer la formación de humus, constituyendo un hábitat idóneo para microorganismos capaces de alterar los componentes minerales del suelo y provocar pequeñas alteraciones de pH que favorezcan la liberación y asimilación de elementos nutritivos por la planta (Thies, 2009) (Fig. 1).

Las respuestas del cultivo y el suelo a la aplicación de biocarbón varían considerablemente dependiendo del material de origen y de las condiciones de pirólisis (Novak *et al.*, 2009). La interacción con el clima, el tipo de suelo (textura, química, hidrología) y la fertilización pueden contribuir a aumentar la incertidumbre del modo en el que interactúa el biocarbón con el medio. El grado de conocimiento es muy reciente y a menudo los resultados son muy variables y dependientes del tipo de estudio (Sohi *et al.*, 2009). En un estudio previo (Albuquerque *et al.*, 2013), el biocarbón procedente de

poda de olivo ejerció efectos beneficiosos sobre un cultivo de trigo desarrollado en condiciones controladas (cámara de cultivo). Sin embargo, estos resultados deben ser corroborados en ensayos en condiciones de campo antes de adoptar la enmienda de suelos con biocarbón como una herramienta a gran escala.



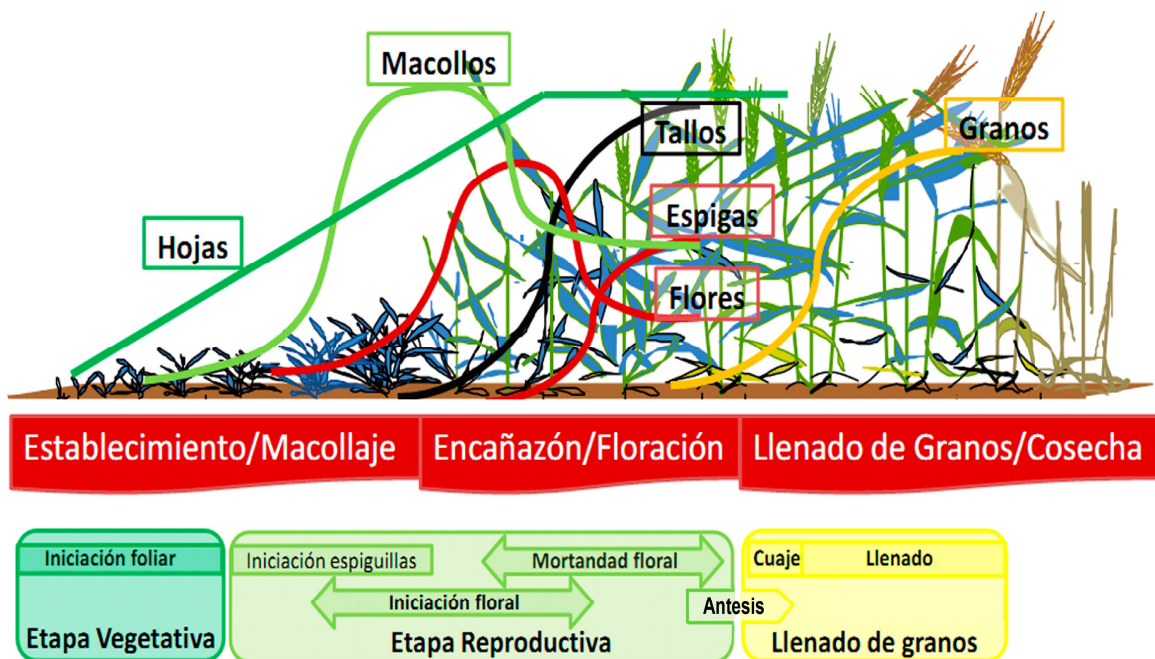
**Figura 1. Ilustración de los efectos más significativos del uso del biocarbón como enmienda orgánica de suelos.** Los efectos directos están representados en color negro, en color azul los efectos indirectos. Elaboración propia a partir de la bibliografía.

En Andalucía durante el año 2012 se alcanzó una superficie de 1.555.000 ha de olivar (MAGRAMA, 2013). Este cultivo y sus industrias derivadas generan una serie de subproductos que podrían ser usados para generar biocarbón. Entre estos, cabe destacar los restos de poda, ya que el olivar se somete a podas de manera periódicas (cada 1 o 2 años). Como media, puede considerarse que 1 ha de olivar puede generar 3 toneladas de poda al año, por lo que de media se generan más de 2.000.000 de toneladas de poda al año (AAE, 2013). Estos restos de poda podrían ser destinados a pirólisis industrial, con el fin de reducir las emisiones de CO<sub>2</sub> a la atmósfera, usando el biocarbón como



enmienda de suelos y evitando la quema de poda y las emisiones incontroladas de CO<sub>2</sub> a la atmósfera por parte de los agricultores. En Andalucía la superficie destinada al cultivo de trigo duro en 2012 fue 356.817 ha, con un valor de comercialización que representa el 66% de la producción nacional (MAGRAMA, 2013).

El ciclo del cultivo de trigo se puede resumir en tres etapas principales (Fig. 2). La primera etapa o desarrollo vegetativo comprende desde el establecimiento de las plantas hasta el momento que empiezan a crecer las espiguillas. En la segunda etapa (reproductiva o de crecimiento de la espiga) se va a definir el número de granos y por último está la etapa del cuaje y llenado del grano, que finalizará con la cosecha (Slafer y Rawson, 1994).



**Figura 2. Esquema del ciclo ontogénico del cultivo de trigo.** Modificado a partir de Slafer y Rawson (1994).

El llenado de los granos se produce como consecuencia de los hidratos de carbono producidos por los órganos fotosintéticos como son la espiga, aristas, limbos y vainas foliares de las hojas superiores y de los entrenudos superiores del tallo (Ziegler-Jöns, 1989), de tal forma que los rasgos que determinen la actividad fotosintética de las hojas van a ser muy importantes para este llenado (Canevara *et al.*, 1994) y para el crecimiento del cultivo (Pereira, 1994). El crecimiento del cultivo vendrá determinado por la tasa de crecimiento relativo (RGR) que se define como el incremento de biomasa

por unidad de biomasa y tiempo. RGR se puede dividir dos componentes: la razón de área foliar (LAR) y la tasa de asimilación neta (NAR) (Villar *et al.*, 2008). LAR es el componente morfológico del crecimiento y depende a su vez del área específica foliar (SLA) y de la proporción de hojas. SLA es considerado un rasgo foliar muy importante ya que expresa el área foliar por unidad de biomasa, de modo que una reducción del SLA llevará asociado un aumento del grosor de la hoja (Garnier, 1992; Lambers y Poorter, 1992). El SLA refleja un compromiso entre el potencial fotosintético e interceptación de la luz por unidad de área, de tal forma que para un mismo peso, una hoja gruesa (bajo SLA) tendrá mayor aparato fotosintético por unidad de área que una hoja fina. Sin embargo, una hoja fina (alto SLA) produce una mayor área para un determinado peso y por tanto, podrá interceptar más luz (Field y Mooney, 1986; Reich *et al.*, 1998). Por su parte, el componente fisiológico del crecimiento NAR es el resultado del balance neto entre las ganancias por la tasa de fotosíntesis y las pérdidas por las tasas de respiración de las hojas, tallos y raíces, y es considerado una variable que mide la eficiencia fotosintética de las hojas (Percy *et al.*, 1994). En muchos estudios comparando las tasas de crecimiento entre distintas especies se ha encontrado que la variable que mejor explica esas diferencias es el SLA, de forma que las especies con alto RGR presentan un alto SLA (Antúnez *et al.*, 2001, Ruíz-Robledo y Villar, 2005). Sin embargo, otros estudios (Shipley, 2006) indican que NAR puede ser más importante que SLA, en condiciones de alta radiación.

Por su parte, la raíz del trigo representa el medio de anclaje y absorción de agua y nutrientes, esencial para el crecimiento y el rendimiento del cultivo. Para tratar de entender como responde la raíz a la disponibilidad de agua y nutrientes es necesario conocer que papel desempeñan sus rasgos en la captación de estos recursos. La longitud de la raíz es una variable muy utilizada para describir los sistemas radiculares y predecir sus respuestas a cambios en el suelo (Caldwell y Eissenstat, 1987) y junto con el diámetro (RD) determinará el área superficial de la raíz (Noulas *et al.*, 2010) y por tanto su capacidad potencial para captar nutrientes y agua. La longitud específica de la raíz (SRL) describe la economía en la producción de longitud de la raíz (Ryser, 2006), ya que expresa la longitud de raíz producida por unidad de biomasa. En este sentido, Eissenstat (1992) observó que raíces con un SRL mayor producían mayor longitud de raíz en menos tiempo, lo que les confería mayor capacidad de adquisición de nutrientes. Generalmente, SRL está asociado al RD de la raíz, de manera que raíces con un SRL

más elevado suelen tener un RD más pequeño (Ryser, 1998; Ostonen *et al.*, 2007). Sin embargo, SRL es un rasgo complejo que no solo depende de (RD) sino también de la densidad tisular de la raíz (TMDr) (Ostonen *et al.*, 2007) (ecuación S1, ver Apéndice 1). TMDr expresa la materia seca contenida en la raíz y es un rasgo relacionado positivamente con su longevidad (Ryser, 1998).

Los objetivos de este trabajo fueron:

- 1) Determinar los efectos de la adición de biocarbón sobre el crecimiento y la producción de un cultivo de trigo duro en condiciones de campo.
- 2) Evaluar como afecta la adición de biocarbón a los rasgos funcionales más importantes del cultivo y la influencia de éstos sobre el rendimiento final.

La novedad de este trabajo reside en el estudio de los efectos del biocarbón sobre los principales rasgos funcionales del cultivo, lo que confiere una nueva perspectiva para explicar sus efectos sobre el crecimiento y la producción del trigo en condiciones de campo. Estos rasgos incluyen variables tales como el área específica foliar, el contenido de materia seca de la espiga y los rasgos de la raíz.

## **2. Materiales y métodos**

### ***2.1. Área de estudio y diseño experimental***

El experimento se desarrolló en una parcela experimental de la finca “Encineño” situada en la localidad de Santa Cruz (Córdoba) (37° 46' 54" N, 4° 35' 33" O; altitud 256 m). El experimento se inició el día 12 de diciembre de 2012 cuando se sembró trigo duro (*Triticum durum*) variedad el Carpio como cultivo de ensayo. La precipitación total acumulada durante el periodo del experimento (diciembre´12-junio´13) fue de 483 mm (aeropuerto de Córdoba, Córdoba). La temperatura media fue de  $13.3 \pm 8.5$  °C y la humedad relativa fue  $78.9 \pm 18.6$  % (data logger PCE-HT71, PCE-Instruments, Tobarra, Spain).

El diseño experimental consistió en bloques al azar, en parcelas de 15 m<sup>2</sup> (6 x 2,5 m), considerando dos tratamientos: control y biocarbón y cuatro repeticiones por tratamiento, dando como resultado una superficie total de ensayo de 60 m<sup>2</sup> para cada tratamiento. El biocarbón se añadió manualmente, sin moler, a una dosis de 4 kg m<sup>-2</sup> (40 t ha<sup>-1</sup>) y se homogeneizó manualmente con azada hasta una profundidad aproximada de

20 cm. A continuación se realizó la siembra de manera mecánica, con una densidad que osciló entre 550-600 semillas  $m^{-2}$ , con hileras orientadas paralelamente a la anchura mayor de las parcelas y con un espaciamiento de 14 cm. Se aplicó un abonado de cobertera con urea el 5 de Diciembre de 2012 y se trató con herbicida (mesosulfurón-metil + iodosulfurón-metil) el 20 de Marzo de 2013 y fungicida (Pyraclostrobin + hexaconazol) el 9 de Abril de 2013.

## **2.2. Materiales: suelo y biocarbón**

La finca Encineño presenta un suelo arcilloso que se clasifica como un Calcixererts (Vertisol; Soil Survey Staff, 2010), con unos contenidos medios de arcilla, limo y arena de 51, 27 y 22 % en la capa arable, respectivamente. El suelo presentó un pH (1:2.5) de 8,2; una conductividad eléctrica (CE) (1:5) de 0,15  $dS\ m^{-1}$ , un contenido de carbono orgánico de 0,82% y un contenido de fósforo disponible (P-Olsen) de 9,2  $mg\ kg^{-1}$ . La capacidad de intercambio catiónico (CIC) fue de 51,7  $cmol_+ kg^{-1}$ . Con respecto a las bases de cambio Na, K y Mg los valores fueron 1,5; 3,3 y 5,3  $meq\ 100\ g^{-1}$ , respectivamente. El contenido de carbonato fue de 32,7 %. Ver Apéndice 2 para más detalles de la metodología analítica.

Mensualmente (diciembre-12 a junio-13) se tomaron 2 muestras de suelo de cada repetición correspondientes a la capa arable (0-20 cm), se tomó el peso fresco y se secaron en una estufa a 105 °C durante 48 horas para obtener el peso seco, la humedad gravimétrica del suelo (%) se calculó como  $[(\text{peso fresco} - \text{peso seco}) / \text{peso seco}] * 100$ . También se midió la resistencia a la penetración usando un penetrómetro (Eijkelcamp, The Netherlands) con punta cónica de 30°, para una profundidad de 40 cm.

Los restos de poda de olivo fueron proporcionados por “Bioterm Agroforestal SL” (Córdoba) y el biocarbón producido en una planta de pirólisis a escala piloto perteneciente a la Universidad de León (Instituto de Recursos Naturales). La producción de biocarbón se realizó en las siguientes condiciones de operación: temperatura de trabajo de 450 °C y un tiempo de residencia del material en el interior del reactor de 15 minutos (pirólisis lenta, “slow pyrolysis”).

Las propiedades del biocarbón se muestran en la Tabla 1. El biocarbón producido cumplió los criterios de calidad definidos tanto por la Iniciativa Internacional para Biocarbón (IBI, 2013) como por la Fundación Europea para Biocarbón (EBC, 2013). Ver Apéndice 2 para más detalles de la metodología analítica.

**Tabla 1. Características principales del biocarbón aplicado** (datos expresados sobre materia seca).

<b>Variable</b>	<b>Valor</b>
pH (1:10 H <sub>2</sub> O)	9,45
Eq. CaCO <sub>3</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	112
CE (1:10 H <sub>2</sub> O, dS m <sup>-1</sup> )	1,36
CIC (cmol <sub>+</sub> kg <sup>-1</sup> )	29,6
Contenido en cenizas (g kg <sup>-1</sup> )	242,2
C total (g kg <sup>-1</sup> )	655,6
N total (g kg <sup>-1</sup> )	12,1
P (g kg <sup>-1</sup> )	1,62
K (g kg <sup>-1</sup> )	12,43
Ca (g kg <sup>-1</sup> )	87,74
Mg (g kg <sup>-1</sup> )	4,08
Fe (g kg <sup>-1</sup> )	1,98
Mn (g kg <sup>-1</sup> )	0,12
Zn (g kg <sup>-1</sup> )	0,05
Cu (g kg <sup>-1</sup> )	0,14
*PHA (mg kg <sup>-1</sup> )	9,1

Eq. CaCO<sub>3</sub>: equivalente en carbonato (alcalinidad).

CE: conductividad eléctrica.

CIC: capacidad de intercambio catiónico.

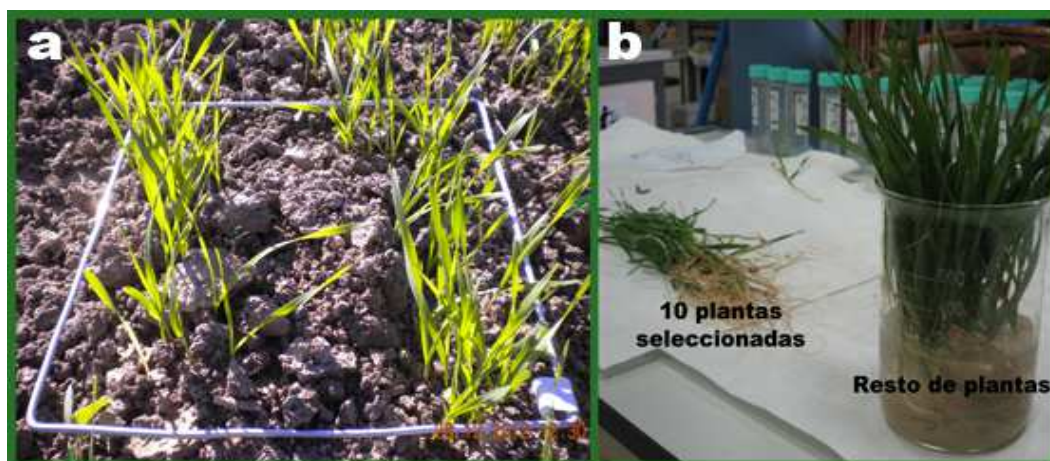
PHA: Hidrocarburos aromáticos policíclicos. \*Suma de los 16 prioritarios para la Agencia de Protección Ambiental de EEUU.

## **2.3. Muestreo de plantas**

### **2.3.1. Primer muestreo**

El primer muestreo se realizó el 17 de Enero de 2013 (36 días después de la siembra) con el fin de establecer las condiciones iniciales del cultivo. Para cada parcela se seleccionó al azar un área cuadrada de 0,25 m de lado (Fig. 3a), de la que se extrajo la parte aérea junto con el suelo y la raíz de una profundidad de 20 cm. En el laboratorio se procedió con el recuento del número de plantas. Para obtener datos referentes a rasgos funcionales, en cada muestra se seleccionaron al azar 10 individuos (Fig. 3b), separándolas en hojas, tallo y raíz, tomando el peso fresco. Las hojas se escaneron y se midió el área foliar total usando el software Image Pro v 4.5 (Media Cybernetics). Las raíces se limpiaron cuidadosamente con agua evitando roturas y pérdidas, se escaneron y se midió la longitud y diámetro de la raíz con el software WinRHIZO Pro 3.10

(Regent Instruments Inc.). Posteriormente, se pesaron en fresco las hojas, tallos y raíces, se secaron en una estufa a 70 °C durante 48 horas y se pesaron en seco. Con el resto de los individuos por muestra se procedió a la separación en hojas, tallo y raíz y al pesado en fresco y seco, siguiendo la misma metodología anterior.



**Figura 3. Metodología seguida en el primer muestreo:** (a) selección al azar de un área de muestreo de 0,25 m de lado; (b) selección al azar de 10 plantas de una muestra para el estudio de los rasgos funcionales.

### 2.3.2. Segundo muestreo

El 15 de abril de 2013 (124 días después de la siembra) se llevó a cabo el segundo muestreo. Al igual que para el primer muestreo, seleccionamos al azar en cada parcela un área cuadrada de 0,25 m de lado, cortando la parte aérea a ras de suelo. En el laboratorio se realizó un recuento de las plantas de cada muestra. Al igual que en la primera cosecha, se seleccionaron 10 individuos al azar tomando el peso fresco de las hojas, hoja bandera (HB), tallo y espiga. Las hojas se escanearon y se midió el área foliar. Las hojas, HB y tallo se secaron en una estufa a 70 °C durante 48 horas y se tomó el peso seco. El resto de individuos por muestra se dividió en hojas, HB, tallo y espiga, se pesó en fresco y en seco siguiendo la misma metodología anterior.

El muestreo de la raíz se realizó con una barrena cilíndrica de acero de 8,5 cm de diámetro con la que se perforaba sobre la misma zona de la cual se había cortado anteriormente la parte aérea. Se procedió según el método propuesto por Kumar *et al.* (1993), realizando dos perforaciones, la primera justo sobre la hilera de trigo y la segunda entre dos hileras, con el fin de que el muestreo de la raíz fuese lo más

representativo posible. La extracción de la raíz se realizó cada 10 cm hasta los 40 cm de profundidad, correspondientes a 4 perfiles de suelo (0-10, 10-20, 20-30 y 30-40 cm). En el laboratorio se limpió la raíz cuidadosamente con agua y se escaneó a una resolución de 240 dpi y en escala de grises. Se midió la longitud y diámetro de la raíz usando el software WinRHIZO Pro 3.10 (Regent Instruments Inc.). Posteriormente se tomó el peso seco de la raíz (secado en una estufa a 70 °C durante 48 horas).

### 2.3.3. Cosecha final

La cosecha se realizó el 11 de junio de 2013, coincidiendo con la madurez del grano. En cada repetición se seleccionaron dos áreas cuadradas de 0,5 m de lado. La parte aérea se extrajo cortándola a ras de suelo. En el laboratorio la parte aérea se separó en hojas, tallo y espiga y se secaron en una estufa a 70 °C, tomando el peso seco de cada fracción.

## 2.4. Variables y análisis estadístico de los datos

El área específica foliar (SLA, “specific leaf area”) se calculó como el área foliar dividida entre el peso seco de las hojas. El contenido de materia seca (DMC, “dry matter content”) de la espiga se calculó como el peso seco dividido entre el peso fresco. La tasa de crecimiento relativa (RGR, “relative growth rate”) se calculó como  $[\ln(\text{peso final planta}) - \ln(\text{peso inicial de la planta})] / \text{tiempo}$ . La razón de área foliar (LAR, “leaf area ratio”) se calculó como el área foliar de la planta dividida entre el peso de la planta. La tasa de asimilación neta (NAR, “net assimilation rate”) se calculó según Evans (1972). Las variables  $SLA_{\text{media}}$  y  $LAR_{\text{media}}$  se calcularon como el valor medio del primer y segundo muestreo. Para estimar el peso del grano se realizó una regresión lineal entre el peso seco de la espiga y del grano, para una muestra de 30 espigas ( $r = 0,99$ ;  $P < 0,001$ ; grano (g) =  $-0,0263 + 0,7853 \times \text{espiga (g)}$ ).

La longitud, volumen y diámetro medio de la raíz se obtuvieron directamente del software WinRHIZO Pro 3.10 (Regent Instruments Inc.). La longitud específica de la raíz (SRL, “specific root length”) se calculó como la longitud de raíz dividido entre el peso seco de la raíz. La densidad tisular de la raíz (TMDr, “tissue mass density”) se calculó como la biomasa de la raíz dividida entre el volumen de raíz.

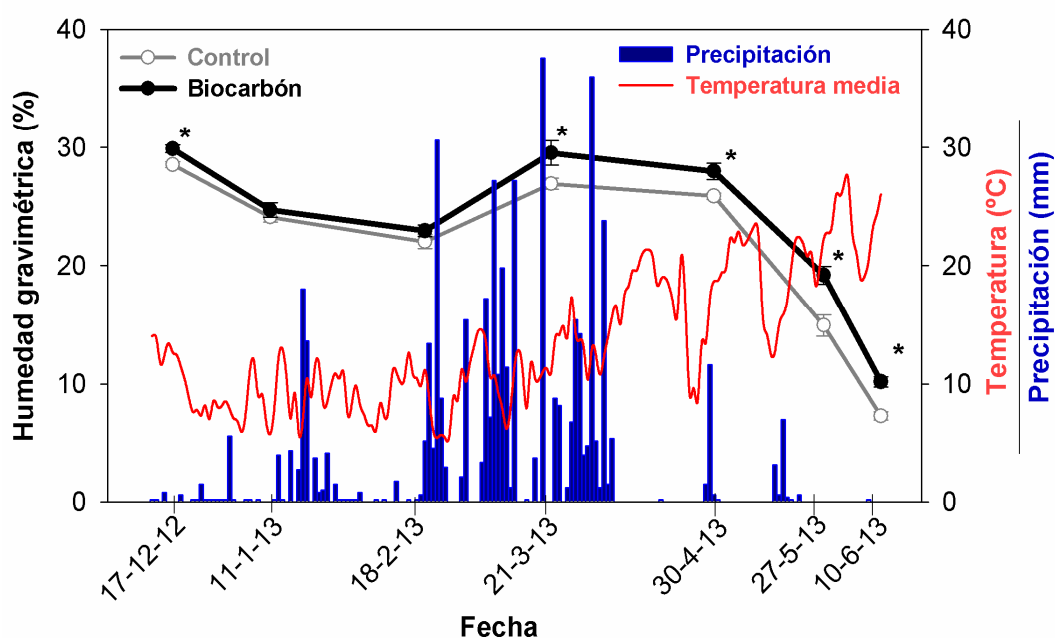
Para el análisis estadístico de los datos se realizaron modelos lineales de ANOVA en bloques al azar usando el software estadístico Statistix v.9 (Analytical

software) y los análisis de regresión lineal con el software estadístico STATGRAPHICS Plus 5.1 (Statistical Graphics Corp.). Los datos se transformaron para cumplir los supuestos del ANOVA cuando fue necesario.

### 3. Resultados

#### 3.1. Humedad gravimétrica y compactación del suelo

La adición de biocarbón al suelo dio como resultado un aumento del contenido de agua del mismo (Fig. 4). Las diferencias más significativas entre tratamientos coincidieron con el comienzo de la desecación de la capa arable, debido al descenso de las precipitaciones y el aumento de la temperatura (finales de abril).

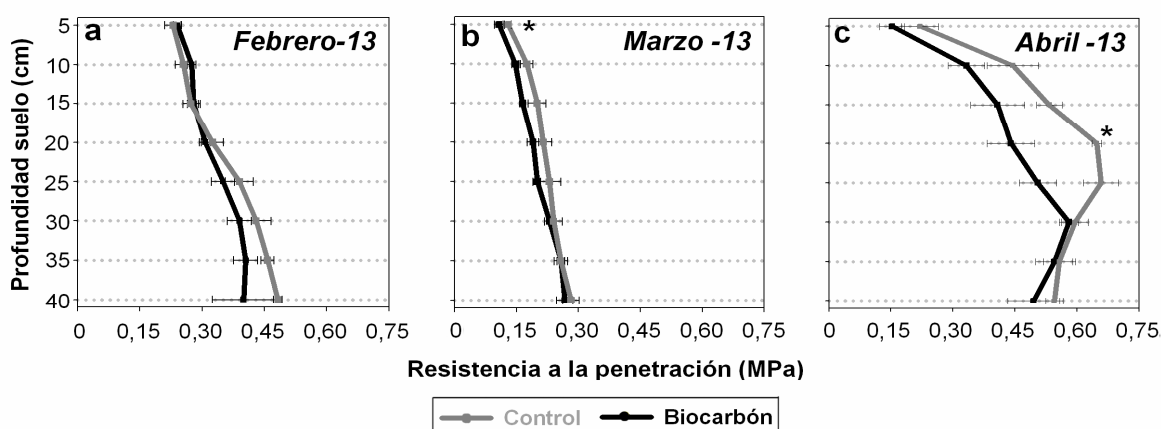


**Figura 4. Humedad gravimétrica (media  $\pm$  SE) de la capa arable (0-20 cm de suelo) para ambos tratamientos (biocarbón y control). Se muestran también la precipitación y temperatura media diaria a lo largo de la experiencia. \* indica diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0,05$ ).**

Como era de esperar, la compactación del suelo no fue la misma a lo largo de la experiencia, aumentando progresivamente con la desecación del suelo (Fig. 5). En general, la adición de biocarbón provocó una disminución de la compactación del suelo, las diferencias más significativas entre ambos tratamientos las encontramos en el mes de abril (Fig. 5 c). También observamos que la compactación para los dos tratamientos



tendía a igualarse a partir de los 30 cm de profundidad en los meses de marzo y abril (Fig 5 b,c).



**Figura 5. Resistencia del suelo a la penetración (media  $\pm$  SE) para los dos tratamientos y para distintas profundidades a lo largo de la experiencia. \* indica diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0,05$ ).**

### 3.2. Primer y segundo muestreo

#### 3.2.1. Parte aérea y crecimiento

La adición de biocarbón no tuvo ningún efecto estadísticamente significativo sobre las variables evaluadas en el primer muestreo (36 días tras la siembra), sin embargo, en el segundo muestreo (124 días tras la siembra) si obtuvimos algunas diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 2). La biomasa correspondiente a la planta, hojas, tallo y espiga aumentaron significativamente con la adición de biocarbón. En los dos muestreos, la densidad de plantas y de espigas no diferían estadísticamente entre tratamientos. En cuanto a los rasgos funcionales, encontramos que las plantas tratadas con biocarbón tenían un contenido de materia seca de la espiga ( $DMC_{\text{espiga}}$ ) mayor que las plantas control. También encontramos una reducción en el área específica foliar de la HB ( $SLA_{\text{HB}}$ ) y en el resto de las hojas ( $SLA_{\text{hojas}}$ ) con la adición de biocarbón (Tabla 2).

En cuanto a las variables relacionadas con el crecimiento obtuvimos que las plantas de las parcelas tratadas con biocarbón mostraron una tasa de crecimiento relativo (RGR) y una tasa de asimilación neta (NAR) significativamente mayor que las parcelas control, sin embargo, la razón de área foliar media ( $LAR_{\text{media}}$ ) y el  $SLA_{\text{media}}$  calculados para el periodo comprendido entre ambos muestreos no diferían entre tratamientos (Tabla 3).

**Tabla 2. Medias  $\pm$  SD de variables y rasgos del cultivo medidos en el 1<sup>er</sup> (36 días tras la siembra) y 2<sup>o</sup> muestreo (124 días tras la siembra) para ambos tratamientos (control y biocarbón). Véase que hay variables referidas a superficie: (densidad de plantas, densidad de espigas, planta, parte aérea, hojas, tallo y espiga) y variables evaluadas a nivel de individuo ( $SLA_{Hojas}$ ,  $SLA_{HB}$  y  $DMC_{espiga}$ ). Las unidades de peso se refieren a peso seco. El nivel de significación entre tratamientos y para el mismo muestreo viene indicado: ns (no significativo,  $P>0,1$ ); \*  $P<0,05$ ; \*\*  $P<0,01$  y \*\*\* $P<0,001$ .**

Variables	1er muestreo (36 días)			2º muestreo (124 días)		
	Control	Biocarbón	<i>P</i> -valor	Control	Biocarbón	<i>P</i> -valor
<b>Densidad de plantas</b> (plantas m <sup>-2</sup> )	596 $\pm$ 87	624 $\pm$ 129	ns	536 $\pm$ 50	544 $\pm$ 114	ns
<b>Densidad de espigas</b> (espigas m <sup>-2</sup> )	-	-	-	528 $\pm$ 43	516 $\pm$ 98	ns
<b>Planta</b> (g m <sup>-2</sup> )	54,8 $\pm$ 10,0	55,0 $\pm$ 12,3	ns	<b>1126,3 <math>\pm</math> 101,8</b>	<b>1558,3 <math>\pm</math> 136,6</b>	*
<b>Parte aérea</b> (g m <sup>-2</sup> )	43,2 $\pm$ 8,1	44,2 $\pm$ 7,6	ns	<b>1072,9 <math>\pm</math> 104,4</b>	<b>1498,1 <math>\pm</math> 140,1</b>	*
<b>Hojas</b> (g m <sup>-2</sup> )	29,9 $\pm$ 5,5	30,2 $\pm$ 5,1	ns	<b>312,8 <math>\pm</math> 35,0</b>	<b>394,0 <math>\pm</math> 29,9</b>	*
<b>Tallo</b> (g m <sup>-2</sup> )	13,4 $\pm$ 2,8	14,1 $\pm$ 2,9	ns	<b>628,1 <math>\pm</math> 71,0</b>	<b>895,5 <math>\pm</math> 73,7</b>	*
<b>Espiga</b> (g m <sup>-2</sup> )	-	-	-	<b>132,0 <math>\pm</math> 13,3</b>	<b>208,6 <math>\pm</math> 45,7</b>	*
<sup>1</sup> $SLA_{hojas}$ (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	33,8 $\pm$ 1,7	34,4 $\pm$ 1,4	ns	<b>26,7 <math>\pm</math> 3,9</b>	<b>24,8 <math>\pm</math> 3,1</b>	**
<sup>1</sup> $SLA_{HB}$ (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	-	-	-	<b>26,9 <math>\pm</math> 4,0</b>	<b>25,1 <math>\pm</math> 3,2</b>	*
<sup>2</sup> $DMC_{espiga}$ (g g <sup>-1</sup> )	-	-	-	<b>0,24 <math>\pm</math> 0,03</b>	<b>0,27 <math>\pm</math> 0,03</b>	***

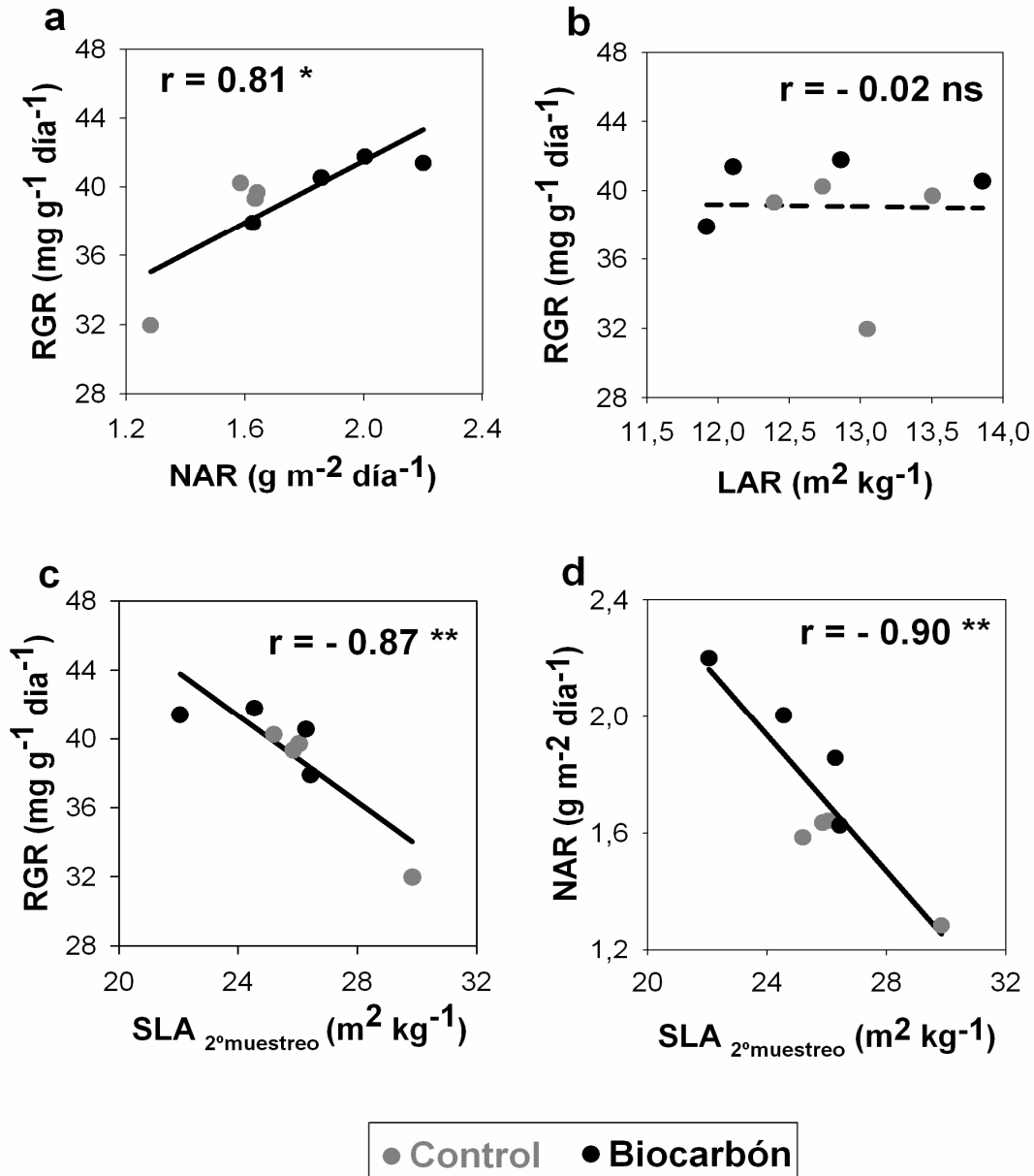
<sup>1</sup>SLA: Área específica foliar

<sup>2</sup>DMC: Contenido de materia seca

**Tabla 3. Medias  $\pm$  SD de la tasa de crecimiento relativo (RGR), tasa de asimilación neta (NAR), razón de área foliar media ( $LAR_{media}$ ) y área específica foliar media ( $SLA_{media}$ ) para el periodo comprendido entre el 1er y el 2º muestreo. El nivel de significación entre tratamientos viene indicado: ns (no significativo,  $P>0,1$ ); \*  $P<0,05$ .**

Variables	Control	Biocarbón	<i>P</i> -valor
<b>RGR</b> (mg g <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup> )	<b>37,8 <math>\pm</math> 5,9</b>	<b>40,40 <math>\pm</math> 3,8</b>	*
<b>NAR</b> (g m <sup>-2</sup> día <sup>-1</sup> )	<b>1,5 <math>\pm</math> 0,2</b>	<b>1,9 <math>\pm</math> 0,2</b>	*
<b><math>LAR_{media}</math></b> (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	12,9 $\pm$ 1,5	12,7 $\pm$ 0,9	ns
<b><math>SLA_{media}</math></b> (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	30,2 $\pm$ 0,6	29,6 $\pm$ 1,0	ns

El parámetro RGR correlacionó positivamente y de forma significativa con NAR para los dos tratamientos, pero no con LAR (Fig. 6a y b). RGR y NAR correlacionaron negativamente con el SLA del segundo muestreo, presentando las plantas tratadas con biocarbón valores de RGR y NAR más elevados y hojas más gruesas que las plantas control (Fig. 6c y d).



**Figura 6. Relaciones de la tasa de crecimiento relativo (RGR) y: (a) la tasa de asimilación neta (NAR), (b) la razón de área foliar (LAR) y (c) el área específica foliar para el segundo muestreo (SLA  $2^{\circ}$ muestreo); (d) Relación entre NAR y SLA  $2^{\circ}$ muestreo.** El tratamiento control se representa en color gris y el biocarbón en negro. Se indican los coeficientes de correlación de Pearson y el nivel de significación: *ns* (no significativo,  $P > 0,1$ ), \*  $P < 0,05$  y \*\*  $P < 0,01$ .

### 3.2.2. Raíz

La adición de biocarbón no tuvo ningún efecto estadísticamente significativo sobre la biomasa y los rasgos de la raíz en el primer muestreo (36 días tras la siembra) (Tabla 4).

**Tabla 4. Medias  $\pm$  SD de variables de la raíz medidas en el 1<sup>er</sup> muestreo (36 días tras la siembra) para ambos tratamientos.** Véase que hay variables referidas a superficie (raíz) y variables evaluadas a nivel de individuo (SRL, TMDr y RD).

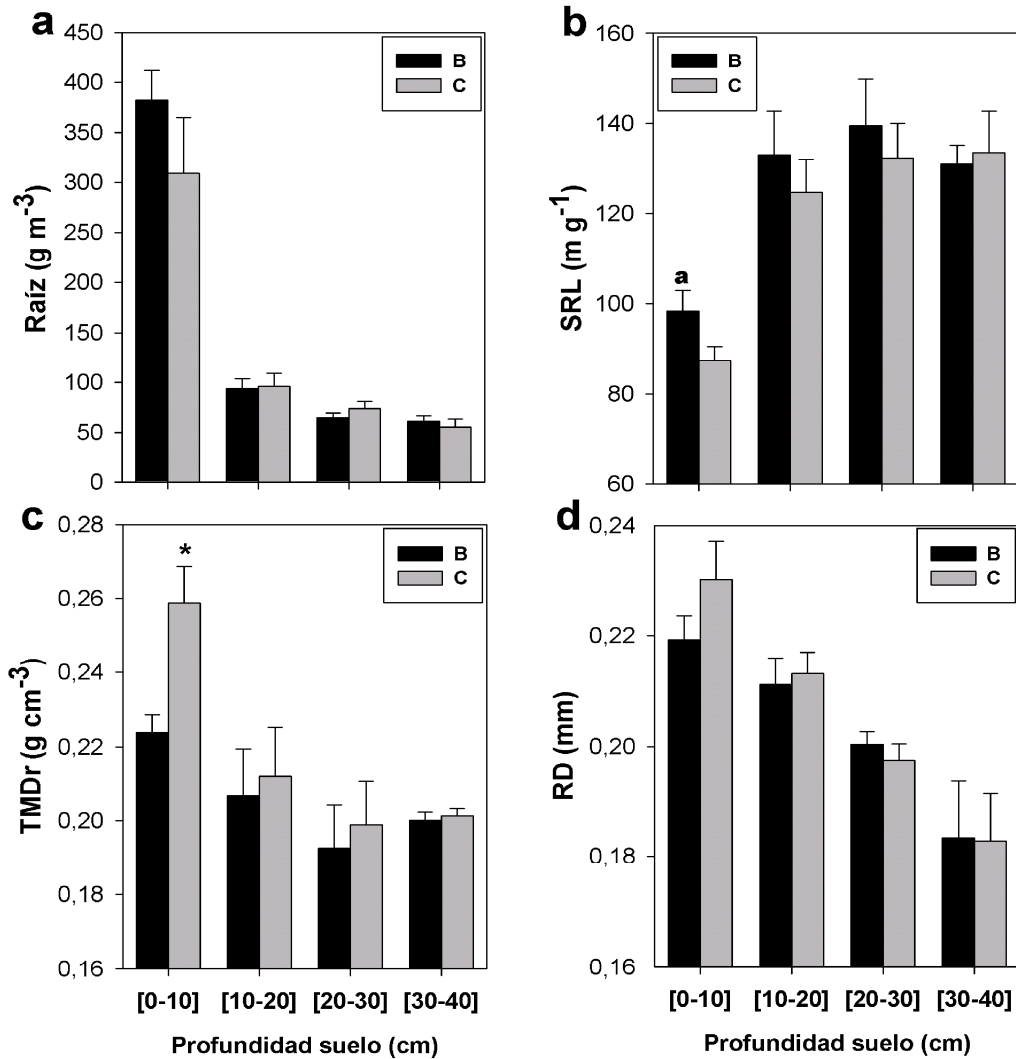
1er muestreo (36 días)			
Variables	Control	Biocarbón	<i>P</i> -valor
<b>Raíz</b> (g m <sup>-2</sup> )	11,6 $\pm$ 2,3	10,8 $\pm$ 5,5	<i>ns</i>
<sup>1</sup> <b>SRL</b> (m g <sup>-1</sup> )	86,1 $\pm$ 17,4	83,1 $\pm$ 14,2	<i>ns</i>
<sup>2</sup> <b>TMDr</b> (g cm <sup>-3</sup> )	0,16 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,02	<i>ns</i>
<sup>3</sup> <b>RD</b> (mm)	0,32 $\pm$ 0,03	0,32 $\pm$ 0,03	<i>ns</i>

<sup>1</sup>SRL: Longitud específica de la raíz

<sup>2</sup>TMDr: Densidad tisular de la raíz

<sup>3</sup>RD: Diámetro de la raíz

Los datos correspondientes al segundo muestreo de la raíz (124 días tras la siembra) se muestran en la Figura 7. En relación a la biomasa de raíz (Fig. 7a), no encontramos diferencias significativas entre tratamientos, aunque observamos una tendencia de ésta a aumentar con la adición de biocarbón en el primer perfil de suelo (0-10 cm). Para este mismo perfil, encontramos un aumento casi significativo ( $0,1 > P > 0,05$ ) de la longitud específica de la raíz (SRL) por efecto del biocarbón (Fig. 7b), acompañado por el descenso significativo de la densidad tisular de la raíz (TMDr) (Fig. 7c) y una tendencia a reducir el diámetro (Fig. 7d).



**Figura 7.** Media  $\pm$  SE de variables y rasgos funcionales de la raíz en el 2º muestreo, para los dos tratamientos (biocarbón (B) y control (C)) con la profundidad del suelo: (a) biomasa de la raíz por volumen de suelo; (b) longitud específica de la raíz (SRL); (c) densidad tisular de la raíz (TMDr) y (d) diámetro de la raíz (RD). El tratamiento de biocarbón se representa en color negro y el control en gris. El nivel de significación para una misma profundidad viene indicado: a  $0,1 > P > 0,05$ ; \*  $P < 0,05$ .

### 3.3. Cosecha final

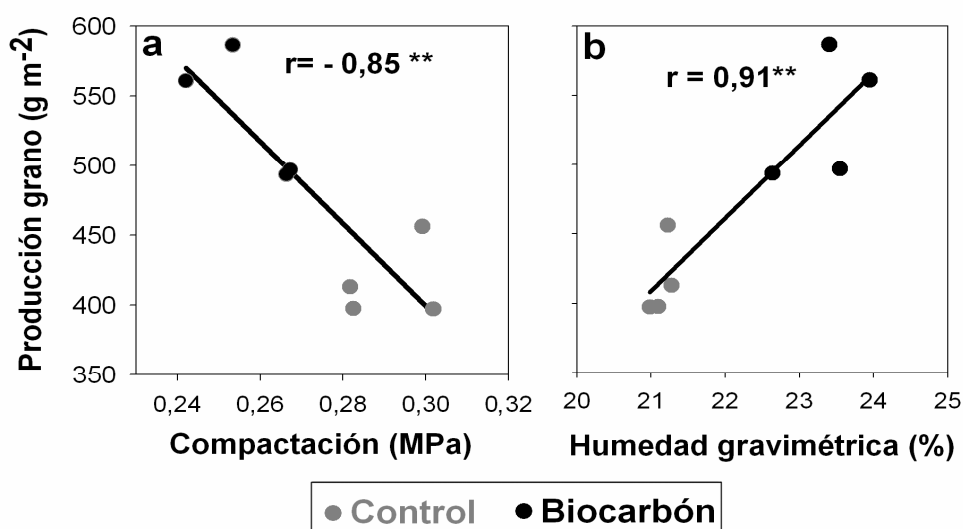
Los datos obtenidos en la cosecha final (187 días tras la siembra) están resumidos en la Tabla 5. Al igual que para las dos cosechas anteriores, no obtuvimos diferencias significativas para la densidad de plantas y de espigas. La biomasa del tallo aumentó significativamente con la adición de biocarbón. La biomasa de la parte aérea, de la espiga, así como la producción de grano aumentaron de manera casi significativa

( $0,1 > P > 0,05$ ) con la adición de biocarbón, sin embargo, este efecto no se observó en la biomasa foliar.

**Tabla 5. Media  $\pm$  SD de las variables del cultivo en la cosecha final (187 días tras la siembra).** El nivel de significación viene indicado: *ns* (no significativo,  $P > 0,1$ ); <sup>a</sup>  $0,1 > P > 0,05$ ; \*  $P < 0,05$ .

Cosecha final (187 días)			
Variable	Control	Biocarbón	P-valor
Densidad de plantas (plantas m <sup>-2</sup> )	468,5 $\pm$ 56,1	498,0 $\pm$ 87,6	<i>ns</i>
Densidad de espiga (espigas m <sup>-2</sup> )	455,0 $\pm$ 51,3	471,5 $\pm$ 92,9	<i>ns</i>
Espiga (g m <sup>-2</sup> )	<b>563,1 <math>\pm</math> 91,7</b>	<b>714,1 <math>\pm</math> 159,9</b>	<i>a</i>
Grano (g m <sup>-2</sup> )	<b>442,2 <math>\pm</math> 72,0</b>	<b>560,8 <math>\pm</math> 125,6</b>	<i>a</i>
Hoja (g m <sup>-2</sup> )	182,1 $\pm$ 30,7	199,4 $\pm$ 36,1	<i>ns</i>
Tallo (g m <sup>-2</sup> )	<b>369,7 <math>\pm</math> 44,4</b>	<b>440,9 <math>\pm</math> 74,2</b>	*
Parte aérea (g m <sup>-2</sup> )	<b>1114,9 <math>\pm</math> 64,0</b>	<b>1354,4 <math>\pm</math> 82,7</b>	<i>a</i>

Para conocer cuales son las causas que determinan la variación en la producción de grano entre las distintas parcelas y tratamientos, se han correlacionado la producción de grano con variables abióticas como la compactación y la humedad del suelo (Fig. 8).



**Figura 8. Relaciones entre el rendimiento y: (a) compactación media del suelo (dic'12-abr'13) para el intervalo 0-30 cm de profundidad; (b) humedad gravimétrica media de la capa arable (dic'12-jun'13).** El tratamiento control se representa en color gris el biocarbón en negro. Se indican los coeficientes de correlación de Pearson y el nivel de significación (\*\* $P < 0,01$ ).

La producción de grano correlacionó negativamente con la compactación del suelo para distintos intervalos de profundidad: 0-20cm ( $r = -0,71$ ;  $P < 0,05$ ), 0-25cm ( $r = -0,81$ ;  $P < 0,05$ ), siendo la más significativa para el intervalo de 0-30 cm ( $r = -0,85$ ;  $P < 0,01$ ) (Fig. 8a). Además, la producción de grano correlacionó positivamente con la humedad gravimétrica de la capa arable (Fig. 8b).

## 4. Discusión

### 4.1. Efectos del biocarbón sobre la parte aérea y el crecimiento

Transcurridos 36 días tras la siembra obtuvimos que la adición de biocarbón no ejerció ningún efecto estadísticamente significativo sobre las variables evaluadas (Tabla 2). Esta ausencia de diferencias probablemente se deba al corto periodo de tiempo que había transcurrido desde la siembra. El segundo muestreo se llevó a cabo 124 días después de la siembra, con el cultivo en la etapa post-antesis y con el grano en estado lechoso. Los resultados revelaron que el biocarbón aumentó de manera significativa la biomasa de casi todas las fracciones de la planta (parte aérea, hojas, tallo y espiga). Estos resultados son similares a los de Vaccari *et al.* (2011) pues encontraron evidencias del aumento de la biomasa de un cultivo de trigo en un clima y latitudes similares a las de nuestro estudio por la adición de biocarbón

Las plantas tratadas con biocarbón mostraron una tasa de crecimiento relativo (RGR) mayor que las plantas control (Tabla 3). Al descomponer RGR en sus componentes morfológicos ( $LAR_{media}$  y  $SLA_{media}$ ) y fisiológico (NAR), obtuvimos que las plantas tratadas con biocarbón presentaban un tasa de asimilación neta (NAR) más elevada, sin embargo, la razón de área foliar ( $LAR_{media}$ ) y el área foliar específica ( $SLA_{media}$ ) no diferían de las plantas control (Tabla 3), además encontramos una correlación positiva entre RGR y NAR (Fig. 6a), lo que nos sugiere que las plantas tratadas con biocarbón crecieron más rápidamente debido a que sus hojas eran fotosintéticamente más eficientes, probablemente porque eran más gruesas (menor SLA) y tenían mayor tejido fotosintético por unidad de área (Field y Mooney, 1986; Reich *et al.*, 1998).

Como consecuencia de esta mayor RGR, las plantas tratadas con biocarbón podrían estar sensiblemente más desarrolladas que las plantas control, en este sentido existen estudios que describen un aumento progresivo del grosor de las hojas (reducción del SLA) y un aumento del contenido de materia seca del grano (y de la espiga) en el

transcurso de la fase post-antesis hasta el comienzo de la senescencia (Araus y Tapia, 1987; Araus *et al.*, 1986), lo que concuerda con nuestros resultados para el  $SLA_{2^{\circ}\text{muestreo}}$  y el  $DMC_{\text{espiga}}$  (Fig. 6b y c, Tabla 2). Según algunos autores el crecimiento acumulado durante la fase post-antesis (o periodo de crecimiento de las espigas) también es beneficioso para el rendimiento del cultivo (Fischer, 1985; Abbate *et al.* 1994). Encontramos que antes de la llegada de los meses secos las plantas tratadas con biocarbón tenían una espiga más desarrollada y con un contenido de materia seca mayor que las plantas control. Gibson y Paulsen (1999) y Yang y Zhang (2006) sugieren que en condiciones de clima mediterráneo, tener una espiga más desarrollada antes de la llegada del estrés hídrico y térmico es una ventaja de cara a la producción. Los resultados obtenidos en la cosecha final iban en este sentido, obtuvimos un rendimiento mayor, casi significativo, en las parcelas tratadas con biocarbón (Tabla 5).

Una explicación a los efectos positivos del biocarbón sobre el crecimiento y la producción del cultivo podrían deberse a su capacidad para modificar las propiedades físicas del suelo. La adición de biocarbón dio como resultado un aumento del contenido de agua del suelo (Fig. 4) y una disminución de la compactación (Fig. 5), ambas correlacionadas significativamente con la producción de grano (Fig. 8). La alta capacidad de retención de agua del biocarbón debido a su elevada porosidad y alta superficie específica, ha sido descrita como uno de los principales efectos beneficiosos de su uso como enmienda de suelos agrícolas (Glaser *et al.*, 2002; Kuzyakov, 2009; Makoto y Yasuyuki, 2010; Brockhoff *et al.*, 2010). En este sentido, Atkinson *et al.* (2010) y Laird *et al.* (2010) señalan que el aumento de la capacidad de retención hídrica del suelo podría ser muy beneficioso para aumentar la producción de los cultivos localizados en zonas de sequía estival como la mediterránea. Así, el mayor volumen de huecos y la mejora en la permeabilidad del suelo provocada por la adición de biocarbón hacen que el agua aportada se retenga más fácilmente y durante periodos largos de tiempo, permitiendo una mayor disponibilidad de agua para las plantas.

Por su parte, la compactación se considera una propiedad negativa para el crecimiento de las plantas y el rendimiento de los cultivos (Wolkowsky, 1990; Alameda y Villar, 2012). En este sentido encontramos que la compactación media de los primeros 30 cm era la que mejor explicaba la producción ( $r = -0,85$ ;  $P < 0,01$ ) (Fig. 8a), además la adición de biocarbón redujo de manera generalizada la compactación para esta misma profundidad (0-30 cm) en la etapa final del cultivo (Fig. 5). La baja densidad del biocarbón explicaría la reducción observada en la compactación (Atkinson *et al.* 2010;



Makoto y Yasuyuki 2010), además, un mayor contenido de agua en el suelo tratado con biocarbón también favorecería una reducción en la resistencia del suelo a la penetración. Estas mejoras en las propiedades físicas del suelo provocadas por la adición del biocarbón resulta del máximo interés en nuestras condiciones de estudio, ya que el experimento se realizó en un suelo de tipo vertisol (muy extendido en la campiña cordobesa), presentando una alta fertilidad pero también propiedades físicas que limitaban su manejo en la práctica agrícola. Estos suelos se caracterizan por un alto contenido en arcilla, predominando las de tipo expandible, por lo tanto están sometidos a grandes cambios en función de la temperatura y la precipitación. Son suelos muy compactos en la estación seca y muy plásticos en la húmeda. Además, presentan una baja permeabilidad que le confiere un rango muy estrecho entre condiciones de exceso y deficiencia de agua (Deckers *et al.*, 2001). La mejora significativa por la adición de biocarbón sobre la compactación y la humedad para los meses comprendidos entre abril y junio pudo resultar beneficiosa para el llenado del grano y para el rendimiento, ya que según Yang y Zhang (2006) esta etapa es la más crítica para el rendimiento del cultivo.

#### **4.2. Efectos del biocarbón sobre la raíz**

La adición de biocarbón no afectó a las características de la raíz, al igual que ocurría para la parte aérea, transcurridos 36 días tras la siembra (Tabla 4). Lo cual pudo deberse igualmente al corto periodo de tiempo que había transcurrido desde la siembra. Sin embargo, en el segundo muestreo (124 días tras la siembra) obtuvimos diferencias significativas para la longitud específica de la raíz (SRL) y la densidad tisular (TMDr) en el primer perfil de suelo (0-10 cm) (Fig. 7).

La metodología seguida para la adición del biocarbón al suelo nos hace suponer que la mayor cantidad se localizó en los primeros centímetros del suelo. Las demás variables como la biomasa de raíz y el diámetro (RD) no diferían significativamente entre tratamientos, si bien se observa una tendencia de la biomasa a aumentar y del RD a disminuir al adicionar biocarbón (Fig. 7a y d). SRL es un rasgo importante que describe la economía en la producción de longitud de la raíz (Ryser, 2006). Ostonen *et al.* (2007) propuso una ecuación para la descomposición matemática de SRL (ecuación S1, Apéndice 1), en la que SRL dependía y era inversa a TMDr y RD. De acuerdo con esta ecuación observamos que TMDr y RD estaban negativamente correlacionados con SRL y que estas correlaciones eran más significativas para el tratamiento biocarbón

(Fig. S1, Apéndice 1), lo que nos sugiere que, si bien los efectos del biocarbón sobre estos rasgos no son del todo significativos, las relaciones entre ellos van en el sentido de un aumento del SRL y una reducción de TMDr y RD en la zona más superficial del suelo tratada con biocarbón. Este aumento del SRL podría deberse a una reducción de la compactación por efecto del biocarbón, en este sentido, Atwell (1990) observó en un experimento en campo que la longitud de la raíz del trigo disminuía con la compactación, otros autores también encontraron una disminución del SRL con el aumento de la compactación (Bengough y Mullins 1990; Watt *et al.*, 2005, Alameda y Villar, 2012). Este aumento de SRL también podría estar relacionado con el aumento de la humedad del primer perfil por efecto del biocarbón. Según Ryser (1998) aumentar SRL llevaría consigo un aumento de la superficie de la raíz en contacto con el suelo, lo cual está relacionado con un aumento en la capacidad de adquisición de recursos por la planta, dando lugar a RGR más elevados (Eissenstat, 1992), lo que concuerda con nuestros resultados.

Estos resultados nos sugieren que el aumento de SRL observado en el primer perfil podría tener como finalidad aumentar la adquisición de agua y nutrientes. No obstante, nuestros resultados no son altamente significativos y los efectos del biocarbón sobre la raíz no son concluyentes. En la actualidad no existen muchos trabajos que traten los efectos del biocarbón sobre los rasgos de la raíz, lo que confiere una perspectiva novedosa a nuestro estudio. Sería necesario realizar más experimentos para corroborar estos resultados.

## **5. Conclusiones**

Las plantas tratadas con biocarbón crecieron más rápido que las plantas control debido a que presentaron una tasa de asimilación neta más elevada, lo que nos sugiere que sus hojas eran fotosintéticamente más eficientes, debido probablemente a que eran más gruesas (menor área específica foliar y mayor tejido fotosintético por área foliar). Encontramos que antes de la llegada de los meses secos las plantas tratadas con biocarbón tenían la espiga más desarrollada y con mayor contenido de materia seca, lo que pudo favorecer sensiblemente su rendimiento. Los resultados de la cosecha final confirmaron estos resultados, obteniendo un mayor rendimiento en las parcelas tratadas con biocarbón. La adición de biocarbón disminuyó la compactación del suelo y aumentó su capacidad de retención hídrica, y ambas variables correlacionaron significativamente con el rendimiento del cultivo. Esto nos sugiere que el efecto positivo del biocarbón

sobre el crecimiento y la producción del cultivo se debió a que mejoró las propiedades físicas del suelo, sobre todo en los últimos meses del cultivo (abril-junio) que son lo más críticos para el llenado del grano y el rendimiento del cultivo. Los efectos del biocarbón sobre la raíz no fueron tan significativos, encontrando un ligero aumento de la longitud específica y una reducción de la densidad tisular de la raíz, indicativos de una mayor proliferación radicular en la zona más superficial del suelo. Los resultados obtenidos sugieren que la adición de biocarbón es una opción viable para mejorar las propiedades físicas del suelo y aumentar la producción del cultivo de trigo duro en condiciones de clima mediterráneo.

## **6. Agradecimientos**

Este estudio ha sido realizado en el marco del “Proyecto Biocar: Estudio del biocarbón como sumidero de carbono” (Ref.: IPT-440000-2010-8), financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Programa Nacional de Cooperación Público-Privada, Subprograma INNPACTO) y fondos FEDER “Fondo Europeo de Desarrollo Regional, una manera de hacer Europa”. Mi agradecimiento a los directores de este proyecto de Máster por su apoyo constante a lo largo de la realización de este trabajo y al SAT Córdoba (agrupación cordobesa de agricultores) por su apoyo logístico, también me gustaría agradecer a Francisco Lopera, Marta Cabello, Rebeca Avelino, Bárbara López-Iglesias y Enrique de la Riva su ayuda en la toma de datos durante los siete meses de experimentación.

## Bibliografía

- AAE (2013) La biomasa en Andalucía. Consejería de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo. Junta de Andalucía.
- Abbate, PE, Andrade F & Culot JP (1994) Determinación del rendimiento de trigo. Boletín Técnico N° 133, INTA EEA Balcarce; Bs. As., Argentina: 5–1.
- Alameda D & Villar R (2012) Linking root traits to plant physiology and growth in *Fraxinus angustifolia* Vahl. seedlings under soil compaction conditions. *Environmental and Experimental Botany* **79**: 49–57.
- Albuquerque JA, Salazar P, Barrón V, Torrent J, del Campillo MC, *et al.* (2013) Enhanced wheat yield by biochar addition under different mineral fertilization levels. *Agronomy for Sustainable Development* **33**: 475–484.
- Antunez I, Retamosa EC & Villar R (2001) Relative growth rate in phylogenetically related deciduous and evergreen woody species. *Oecologia* **128**: 172–180.
- Araus JL & Tapia L (1987) Photosynthetic gas exchange characteristics of wheat flag leaf blades and sheaths during grain filling. *Plant Physiology* **85**: 667–673.
- Araus JL, Tapia L & Calafell R (1986) Ontogenetic changes in photosynthetic capacity and dry matter production of flag wheat leaves during the grain filling period. *Photosynthesis Research* **8**: 209–218.
- Atkinson CJ, Fitzgerald JD & Hips NA (2010) Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. *Plant Soil* **337**: 1–18.
- Atwell BJ (1990) The effect of soil compaction on wheat during early tillering. Growth, development and root structure. *New Phytologist* **115**: 29–35.
- Auffhammer M, Ramanathan V & Vincent JR (2012) Climate change, the monsoon, and rice yield in India. *Climatic Change* **111**: 411–424.
- Biederman LA & Harpole WS (2013) Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis. *Glob Chang Biol Bioenergy* **5**: 202–214.
- Busscher WJ, Novak JM, Evans DE, Watts DW, Niandou MAS, *et al.* (2010) Influence of biochar on physical properties of a Norfolk loamy sand. *Soil Science* **175**: 10–14.
- Caldwell MM & Eissenstat DM (1987) Coping with variability: examples of tracer use in root function studies. En: *Plant Response to Stress- Funcional Analysis in*

- Mediterranean Ecosystems*. (Tenhunen JD, Catarino FM, Lange OK, Oechel WC, eds.) Nato Adv Sci Inst Ser. New York; Springer-Verlag, pp. 95–106.
- Canevara MG, Romani M, Corbellini M, Perenzin M & Borghi B (1994) Evolutionary trends in morphological, physiological, agronomical and qualitative traits of *Triticum aestivum* L. cultivars bred in Italy since 1900. *European Journal of Agronomy* **3**: 175–185.
- Deckers J, Spaargaren O & Nachtergaele F (2001) Vertisols: Genesis, Properties and Soilscape Management for Sustainable Development. The sustainable management of vertisols, En: *The Sustainable Management of Vertisols*. (Sykes J, Penning de Vries F & Nyamedeza P, eds.) CABI Publishing, UK, pp. 3–20.
- EBC (2013) Guidelines for a Sustainable Production of Biochar. European Biochar Foundation, 16p. En: <http://www.european-biochar.org/en>
- Eissenstat DM (1992) Costs and benefits of constructing roots of small diameter. *Journal of Plant Nutrition* **15**: 763–782.
- Evans G.C. (1972) The quantitative analysis of plant growth, pp. 255-284. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Field C & Mooney HA (1986) The photosynthesis–nitrogen relationship in wild plants. En: *On the Economy of Plant Form and Function* (Givnish J, eds.) Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 25–55.
- Fischer RA (1979) Growth and water limitations to dryland wheat yield in Australia: a physiological framework. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* **45**: 83–95.
- Garnier E (1992) Growth analysis of congeneric annual and perennial grass species. *Journal of Ecology* **80**: 665–675.
- Gaskin JW, Steiner C, Harris K, Das KC & Bibens B (2008) Effect of low-temperature pyrolysis conditions on biochar for agriculture use. *Trans ASABE* **51**: 2061–2069.
- Gibson LR & Paulsen GM (1999) Yield components of wheat grown under high temperature stress during reproductive growth. *Crop Sci.* **39**: 1841–1846.
- 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.
- IBI (2013). Standardized Product Definition and Product Testing Guidelines for Biochar. *The International Biochar Initiative*, 16p. En: <http://www.biochar-international.org/characterizationstandard>

- Kumar K, Prihar SS & Gajri PR (1993) Determination of root distribution of wheat by auger sampling. *Plant Soil* **149**: 245–53.
- Kuzyakov Y, Subbotina I, Chen H, Bogomolova I & Xu X (2009) Black carbon decomposition and incorporation into soil microbial biomass estimated by <sup>14</sup>C labeling. *Soil Biology & Biochemistry* **41**: 210–219.
- Laird D, Fleming P, Wang B, Horton R & Karien D (2010) Biochar impact on nutrient leaching from a Midwestern agricultural soil. *Geoderma* **185**: 436–442.
- Lal R (2004) Soil carbon sequestration to avoid Climate Change. *Geoderma* **123**: 1–22.
- Lambers H & Poorter H (1992) Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Advances in Ecological Research* **23**: 188–242.
- Lehmann J & Joseph S (2009) Biochar for environmental management: an introduction. En: *Biochar for Environmental Management* (Lehmann J & Joseph S, eds.) Science and Technology Earthscan, London, UK, pp. 1–12.
- Lehmann J & Rondon M (2006) Biochar soil management in highly weathered soils in the humid tropics. En: *Biological approaches to sustainable soil systems*. (Uphoff N, Ball AS, Fernandes E, Herren H, Husson O, et al., eds.) CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 517–530.
- Liang B, Lehmann J, Solomon D, Kinyangi J, Grossman J, et al. (2006) Black Carbon Increases Cation Exchange Capacity in Soils. *Soil Science Society of America Journal* **70**: 1719–1730.
- MAGRAMA (2013) Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Encuesta sobre Superficies y Rendimientos Cultivos (ESYRCE). <http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/esyrce/>
- Makoto O & Yasuyuki O (2010) Pioneering works in biochar research, Japan. *Australian Journal of Soil Research* **48**: 489-500.
- Murphy J & Riley JP (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal Chim Acta* **27**: 31–36.
- Noulas CM, Liedgens P, Stamp L, Alexiou I & Herrera JM (2010) Subsoil root growth of field grown spring wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) differing in nitrogen use efficiency parameters. *Journal of Plant Nutrition* **33**: 1887–1903.

- Novak JM, Lima I, Xing B, Gaskin JW, Steiner C, *et al.* (2009) Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects on a loamy sand. *Annals of Environmental Science* **3**: 195–206.
- OECC (2013) Oficina Española de Cambio Climático, 2013. Plan Nacional de Adaptación al Cambio Climático. Marco para la coordinación entre administraciones públicas para las actividades de evaluación de impactos, vulnerabilidad y adaptación al cambio climático. <http://www.magrama.gob.es/es/cambio-climatico/temas/impactos-vulnerabilidad-y-adaptacion/plan-nacional-adaptacion-cambio-climatico/plan-nacional-de-adaptacion-al-cambio-climatico/default.aspx>
- Olsen SR & Sommers LE (1982) Phosphorus. En: *Methods of soil analysis*. Part 2. Chemical and microbiological properties. (Page AL, Miller RH & Keeny RH, eds.) American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 403–430.
- Ostonen I, Püttsepp Ü, Biel C, Alberton O, Bakker MR, *et al.* (2007) Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosyst* **141**: 426–442.
- Pearcy RW, Chazdon RL, Gross LJ & Mott KA (1994) Photosynthetic utilization of sunfleets: a temporally patchy resource on a time scale of seconds to minutes. En: *Exploitation of environmental heterogeneity by plants: ecophysiological process above- and belowground*. (Caldwell MM & Pearcy RW, eds.) Academic Press, New York, pp. 175–236.
- Pereira JS (1994) Gas exchange and growth. En: *Ecophysiology of photosynthesis*. (Schulze MM & Caldwell, eds.) Springer-Verlag, Berlin, Alemania, pp. 147–181.
- Reich PB, Walters MB, Elsworth DS, Vose JM, Volin JC, *et al.* (1998) Relationships of leaf dark respiration to leaf nitrogen, specific leaf area and leaf life-span: a test across biomes and functional groups. *Oecologia* **114**: 471–482.
- Ruíz-Robledo J & Villar R (2005) Relative growth rate and biomass allocation in ten woody species with different leaf longevity using phylogenetic independent contrasts (PICs). *Plant and soil* **286**: 484–494.
- Ryser P (1998) Intra- and interspecific variation in root length, root turnover and the underlying parameters. En: *Variation in plant growth* (Lambers H, Poorter H & van Vuuren MMI, eds.) Backhuys Publishers, Leiden, NL, pp. 441–465.
- Ryser P (2006) The mysterious root length. *Plant and Soil* **286**: 1–6.

- Shiple B (2006) Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: which is most closely correlated with relative growth rate? A meta-analysis. *Functional Ecology* **20**: 565–574.
- Slafer GA & Rawson HM (1994) Sensitivity of wheat phasic development to major environmental factors: a re-examination of some assumptions made by physiologist and modellers. *Australian Journal of Plant Physiology* **21**: 393–426.
- Sohi S, Loez-Capel E, Krull E & Bol R (2009) Biochar's roles in soil and climate change: A review of research needs. *CSIRO Land and Water Science Report* **05/09**.
- Sohi, SP (2012) Carbon storage with benefits. *Science* **338**: 1034–1035.
- Soil Survey Staff (2010) *Keys to soil taxonomy*. (USDA-NRCS, eds.) Washington, DC.
- Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, *et al.* (2007) IPCC Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Cambridge University Press.
- TMECC (2002) Test methods for the examination of composting and compost. U.S. Composting Council, Bethesda, MD.
- Vaccari FP, Baronti S, Lugata E, Genesio L, Castaldi S, *et al.* (2011) Biochar as a strategy to sequester carbon and increase yield in durum wheat. *European Journal of Agronomy* **34**: 231–238.
- Villar R, Ruiz-Robledo J, Quero JL, Porter H, Valladares F, Marañón T. 2008. Tasas de crecimiento en especies leñosas: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. En: Valladares, F. 2008. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante (Segunda edición)*. Páginas 193-230. Ministerio de Medio Ambiente. EGRAF, S. A., Madrid. ISBN: 978-84-8014-738-5.
- Walkley A & Black IA (1934) An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science* **37**: 29–38.
- Watt M, Kirkegaard JA & Rebetzke GJ (2005) A wheat genotype developed for rapid leaf growth copes well with the physical and biological constraints of unploughed soil. *Functional Plant Biology* **32**: 695–706.
- Wolkowski RP (1990) Relationship between wheel-traffic-induced soil compaction, nutrient availability and crop growth – A review. *Journal of Production Agriculture* **3**: 460–469.



Yang J & Zhang J (2006) Grain filling of cereals under soil drying. *New Phytologist* **169**: 223–236.

Ziegler-Jöns, A (1989) Gas exchange of ears of cereals in response to carbon dioxide and light. Relative contributions of parts of the ears of wheat, oat, and barley to the gas exchange of the whole organ. *Planta* **178**: 84–91.

## Apéndice 1

$$\text{SRL} = (1/\text{TMDr}) \times (1/\text{RD}^2) \times 4/\pi$$

Ecuación S1. Ecuación para la descomposición matemática de la longitud específica de la raíz (SRL), en función de la densidad tisular de la raíz (TMDr) y el diámetro (RD). (Ostonen et al., 2007)

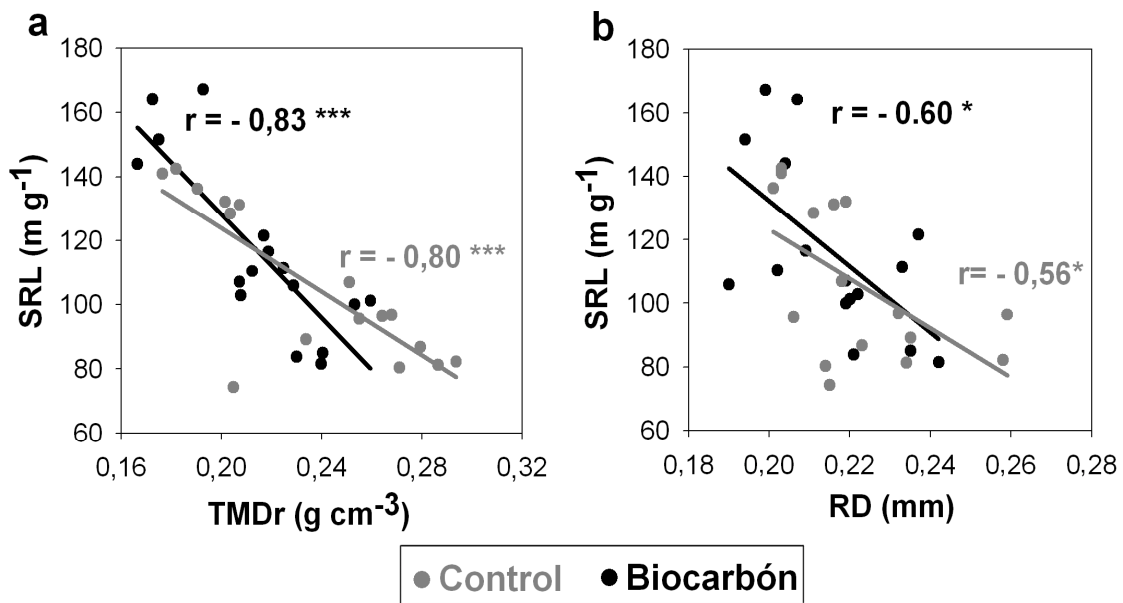


Figura S1. Relaciones entre la longitud específica de la raíz (SRL) y: (a) densidad tisular de la raíz (TMDr); (b) diámetro de la raíz (RD), para ambos tratamientos. Se indican los coeficientes de correlación de Pearson y el nivel de significación (\*  $P < 0.05$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ ).

## Apéndice 2

### *Métodos analíticos*

En el suelo, el pH y la conductividad eléctrica se determinaron en el extracto 1:2,5 en un pH-metro con electrodo de vidrio y 1:5 con un puente de conductividad, respectivamente. La textura se determinó mediante el método de la pipeta de Robinson, previa eliminación de los carbonatos. El contenido de carbonato cálcico se midió con un calcímetro, el contenido gravimétrico de agua (humedad del suelo) por desecación de las muestras de suelo en estufa, y el carbono orgánico por el método de Walkley y Black (1934). La capacidad de intercambio catiónico se determinó por el método de saturación con acetato de amonio y el contenido de fósforo disponible por el método propuesto por Olsen y Sommers (1982).

En el biocarbón, el pH y la conductividad eléctrica (CE) se determinaron en el extracto acuoso 1:10 (p/v), después de agitar mecánicamente durante 2 horas la mezcla. El pH se midió en el líquido sobrenadante en un pH-metro con electrodo de vidrio y la CE con un puente de conductividad, después de centrifugar y filtrar. La basicidad o alcalinidad (capacidad ácido neutralizante, expresada en equivalentes de carbonato cálcico) se determinó de acuerdo con la técnica descrita por el TMECC (2002). El contenido en cenizas se determinó por calcinación a 550 °C durante 24 horas de la muestra previamente secada (TMECC, 2002). El carbono orgánico total y el nitrógeno total se determinaron empleando un analizador elemental (Carlo Erba modelo EA-1108), previa destrucción de los carbonatos con HCl diluido. Las muestras de biocarbón fueron digeridas por vía seca (calcinación) y las cenizas obtenidas disueltas con HCl 1:1 (TMECC, 2002). Posteriormente, el potasio se determinó por fotometría de llama (JENWAY PFP7), mientras que el calcio, magnesio, hierro, manganeso, zinc y cobre mediante espectrofotometría de absorción atómica (Perkin Elmer AAnalyst 200 AAS) y el fósforo por colorimetría mediante la reducción del complejo fosfomolibdato de amonio con ácido ascórbico (Murphy y Riley, 1962). La capacidad de intercambio de cationes se determinó mediante una modificación del método de acetato de amonio (Gaskin *et al.*, 2008). El contenido de hidrocarburos aromáticos policíclicos (suma de los 16 prioritarios para la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos) se determinó de acuerdo a una metodología análoga a DIN EN 15527 (Laboratorio “Eurofins”, Alemania).