



universidad
de león



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**ANÁLISIS DE LA EFICACIA DE LA
APLICACIÓN DE BIOCHAR EN EL
CRECIMIENTO DE PLANTA FORESTAL**

**ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS
OF BIOCHAR APPLICATION IN
FOREST PLANTS GROWTH**

Autor: Tomás Peña Callejo

Tutor: Elena Marcos Porras

GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

Febrero, 2023

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIAL Y METODOS	3
2.1 Diseño experimental.....	3
2.2 Test de fitotoxicidad	5
2.3 Toma de datos.....	6
2.4 Tratamiento de datos	7
3. RESULTADOS	8
3.1 Germinación y crecimiento de las plántulas de <i>Pinus pinaster</i> durante los tres primeros meses..	8
3.2 Análisis de fitotoxicidad.....	9
3.3 Influencia de los tratamientos en el desarrollo de las plántulas de <i>Pinus pinaster</i>	11
3.4 Análisis descriptivo de la biomasa radicular	17
4. DISCUSIÓN	20
5. CONCLUSIONES	22
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

RESUMEN

En este trabajo se analiza la eficacia de la aplicación de biochar en el crecimiento de planta forestal, de *Pinus pinaster*. Para el experimento, se utilizó biochar procedente de vid el cual se mezcló homogéneamente con el suelo. Se prepararon cuatro tratamientos, combinando dosis altas y bajas de biochar con aplicación en tamaño de partícula fina y gruesa, más un control en el que solo se añadió suelo. En cada alveolo se sembraron dos semillas de pino, 60 en total. A los 3 meses, en cada plántula, se midieron las siguientes variables: número de semillas germinadas, longitud aérea y radicular, biomasa seca total, aérea y radicular y diámetro del tallo. También se calcularon los siguientes índices para conocer la calidad de la planta: índice de esbeltez, relación longitud aérea/longitud radicular, índice de proporcionalidad biométrica e índice de calidad de Dickson. Los resultados observados no son favorables para los tratamientos en los que se añadió biochar puesto que el control obtuvo mejores resultados, aunque no muestre diferencias significativas con los tratamientos. La combinación de dosis y tamaño de biochar que mejores resultados dio en este experimento fue 10Mg/ha y tamaño de partícula <2mm. La adición de biochar de vid en etapas de desarrollo tan tempranas no mejora el crecimiento de la planta.

Palabras clave: Biochar, crecimiento, índices de calidad de la planta, *Pinus pinaster*.

ABSTRACT

In this study, we analyzed the effectiveness of biochar application on forest plants growth, on *Pinus pinaster*. For the experiment, we used biochar originated from vine, which was homogeneously mixed with soil. Four treatments were prepared combining high and low doses added on thin and thick particle sizes, plus one control treatment with only soil added. Two seeds were sown on every socket, 60 in total. After 3 months, the following variables were measured on every plant: number of germinated seeds, aerial and root length, total aerial and root dry biomass and stem diameter. Furthermore, the following indexes were calculated to get to know the plants quality: Slenderness index, aerial to root length ratio, biometric proportionality index and Dickson's quality index. The observed results are not favorable for the treatments in which biochar was added since Control results were better, even though not every treatment show significant differences. The combination of biochar doses and sizes that worked the best for this study were 10Mg/ha dose and <2mm particle size. Biochar application on early development stages do not improve plant growth.

Keywords: Biochar, growth, plant quality indexes, *Pinus pinaster*.

1. INTRODUCCIÓN

El biochar es un producto rico en carbono originado por descomposición térmica de materia orgánica bajo un aporte limitado de oxígeno y a temperaturas relativamente bajas (<700°C). Este proceso se asemeja al de formación del carbón vegetal, sin embargo, se diferencian en que el biochar se produce con la intención de ser aplicado al suelo para mejorar su productividad, mejorar la capacidad de retención de agua o como almacén de carbono, mientras que el carbón vegetal tiene otros usos como puede ser el de combustible para generar calor. Por tanto, el proceso de producción y la intención con la que se usa es lo que lo define como biochar (Lehmann y Joseph, 2009).

El interés reciente acerca del biochar se debe a que es la explicación de por qué hay ciertas zonas en el Amazonas de suelos oscuros con un alto contenido en carbono y fértiles durante largos periodos de tiempo, llamados localmente como Terra Preta de Indio (Lehmann *et al.*, 2003). Además, en los últimos años se ha probado que el biochar es más estable que cualquier enmienda que se aplique al suelo y que aumenta la disponibilidad de nutrientes más allá del efecto que puede crear un fertilizante. (Lehmann, 2009).

En el ámbito agrícola se han llevado a cabo numerosos estudios a cerca de los efectos de la adición de biochar sobre cultivos, como es el caso de Iglesias Abad *et al.*, (2018) en su estudio acerca del rendimiento del maíz al usar biochar de eucalipto, en el que observaron incrementos en el peso de grano seco, índice de área foliar y contenidos del porcentaje de proteína en fruto. En otro estudio realizado por Gallo Saravia *et al.*, (2018) usaron el biochar como alternativa de sustrato comercial en cultivos de tomate, mostrando que sustituciones del 20% o 50% de sustrato por biochar proporcionaron resultados comparables a los obtenidos en ausencia de este, lo que supone menores costes en sustrato para el agricultor y el beneficio del aprovechamiento de residuos orgánicos desde un punto de vista ambiental. Gilces Reyna, (2014) en su estudio sobre los efectos de la aplicación de biochar y cenizas en las propiedades del suelo, llevó a cabo pruebas de germinación con lechuga sobre tres tipos de suelo distintos, observando en todos ellos, que la adición de biochar mejora la germinación y crecimiento de tallo.

En el ámbito forestal también se realizaron estudios sobre los efectos del uso de biochar. Perez González, (2015) elaboró biochar a partir de bagazo de caña de azúcar y de serrín de pino evaluando, a parte de las características físicas de los residuos usados, el desempeño sobre el biochar de caña de azúcar como sustrato de *Pinus greggii* ex Parl en vivero, para definir la

posibilidad de reemplazar el sustrato forestal. Se observó que la adición de biochar de caña de azúcar sobre sustrato forestal inhibe el desarrollo de *Pinus greggii* obteniendo valores de altura inferiores al control a no ser que también se añada fertilizante, en cuyo caso se obtuvieron los mayores valores de altura, diámetro de cuello, biomasa aérea, radical y total.

Según un estudio más reciente en el que se evalúa el efecto del biochar sobre el crecimiento y supervivencia de plántulas forestales, la adición de biochar provoca un incremento en la producción de biomasa tanto aérea como radicular (González Zamora *et al.*, 2020). Mientras que, según Olmo Prieto, (2016) al evaluar las respuestas de los rasgos funcionales de la planta a los cambios inducidos por el biochar, observó un incremento en la longitud específica de la raíz, así como una reducción en su diámetro y densidad tisular e incremento en la producción de biomasa aérea.

Actualmente se está experimentando con las condiciones del proceso de pirólisis, principalmente temperatura y tiempo de residencia, y de las materias primas utilizadas para conseguir distintos tipos de biochar, adaptados a la intencionalidad con la que quieran ser utilizados. De esta forma el tiempo de residencia determina la hidrofobicidad y la alcalinidad de biochar mientras que el tipo de materia prima y la temperatura determinan el contenido de cenizas y la capacidad de retención de agua (Campos *et al.*, 2020).

El objetivo de este trabajo es analizar la eficacia de la aplicación de distintas dosis y tamaños biochar sobre el suelo para mejorar el crecimiento de la planta forestal, en este caso pino negral (*Pinus pinaster* Ait.), así como dar con el tratamiento que mayor crecimiento produzca. La hipótesis de partida es que la adición de biochar conllevará un mayor crecimiento en biomasa, tanto aérea como radicular, un mayor crecimiento en diámetro del tallo y en longitud de la planta, tanto aérea como radicular.

2. MATERIAL Y METODOS

2.1 Diseño experimental

El experimento fue planteado en septiembre de 2021 y llevado a cabo en el laboratorio de Ecología del Campus de Ponferrada de la Universidad de León.

Para su realización, se decidió trabajar con semillas de pino negral (*Pinus pinaster* Ait.) debido a que se trata de una especie muy común en el ámbito forestal, ocupando más de un millón de hectáreas en España (González Molina, 2005), así como por su velocidad de crecimiento y disponibilidad a la hora de realizar el experimento. Las semillas fueron proporcionadas por el Centro Nacional de Mejora Forestal “El Serranillo” dependiente del Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. El suelo utilizado fue recogido en el pinar de Montearenas, localizado al nordeste del núcleo de Ponferrada en el entorno de la carretera N-6. Este pinar es una repoblación mixta de *Pinus sylvestris* L., *Pinus nigra* J.F. Arnold y *Pinus pinaster*. Finalmente, el biochar utilizado procede de vid y fue facilitado por el Grupo de Ingeniería Química, Ambiental y Bioprocesos del Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad de la Universidad de León. Sus características fisicoquímicas son las siguientes (tabla 1):

Tabla 1: Características fisicoquímicas del biochar de Vid. Fuente: IRENA

PARAMETROS	BIOCHAR VID
Humedad (%)	1,75
Materia volátil (%)	13,50
Carbono fijado (%)	56,80
Cenizas (%)	29,70
C (%)	58,59
H (%)	0,81
N (%)	0,51
S (%)	0,06
O (%)	40,02
pH	10,33

Para conocer el efecto del biochar en la germinación y crecimiento de plántulas de pino negral, se aplicaron los siguientes tratamientos:

- Control (C)
- Dosis baja de biochar de tamaño de partícula fina (BBF).
- Dosis baja de biochar de tamaño de partícula gruesa (BBG).
- Dosis alta de biochar de tamaño de partícula fina (BAF).

- Dosis alta de biochar de tamaño de partícula gruesa (BAG).

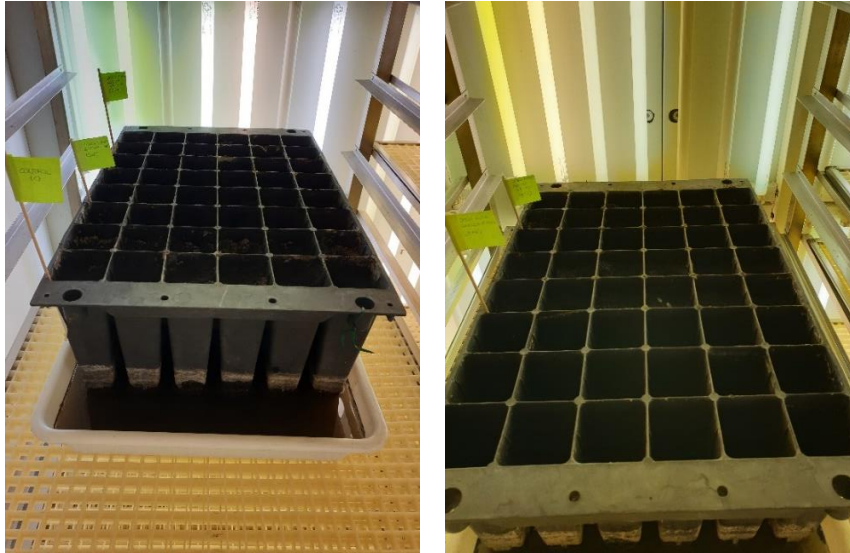
Para la realización del experimento, en primer lugar, se tamizó el biochar para obtener dos tamaños de partícula; fina (<2mm) y gruesa (2-4mm) (figura 1), ya que se planteó que el tamaño del mismo pudiera influir en la posterior descomposición y absorción de nutrientes por la planta. Posteriormente se calculó la cantidad de biochar necesaria, partiendo de 10Mg/ha para los tratamientos con dosis baja y 40Mg/ha para los tratamientos de dosis alta, dosis seleccionadas en base a valores intermedios de bibliografía consultada (Gale y Thomas, 2018; Sarauer *et al.*, 2018; Ge *et al.*, 2019). Teniendo en cuenta la superficie y número de alveolos, se aplicaron 36g de biochar para cada tratamiento de dosis baja y 145g para el tratamiento de dosis alta. A continuación, se mezcló homogéneamente la dosis de biochar del tratamiento con el suelo, previamente tamizado a 2mm, a excepción del tratamiento C en el que solo se añadió el suelo, para seguidamente rellenar los alveolos hasta un centímetro antes de la altura de enrase del alveolo. Se prepararon 60 alveolos de bandejas forestales para realizar 12 réplicas para cada uno de los 5 tratamientos.



Figura 1: Biochar separado por tamaño de partícula. Fuente: Elaboración propia.

Una vez preparados los alveolos, se sembraron 2 semillas por cada uno, es decir, 24 semillas por tratamiento.

Las bandejas se colocaron en una cámara de germinación con condiciones controladas de temperatura (22°C) y fotoperiodo de 12 horas, el difusor que controla la humedad se encontraba estropeado por lo que fue necesario regar manualmente (figuras 2 y 3).



Figuras 2 y 3 (De izquierda a derecha): Bandejas en la cámara de germinación. Fuente: Elaboración propia.

En lo referido al riego, se estableció un calendario consistente en el aporte de agua a cada uno de los alveolos 2 veces a la semana, a lo largo de todo el periodo de desarrollo del trabajo, sin llegar a encharcar el sustrato para evitar ahogar a las plantas, además de tener un aporte constante en la base de la bandeja para humedecer la parte más baja de los alveolos.

El periodo de crecimiento de las plántulas dentro de la cámara de germinación fue de aproximadamente 3 meses (febrero, marzo y abril), durante los cuales se fueron haciendo conteos del número de semillas germinadas semanalmente, así como mediciones de la longitud de las plántulas una vez alcanzaban los 3 cm de longitud. Cabe mencionar que las semanas 10 y 11 están separadas por tres semanas en lugar de 1 semana puesto que por varios motivos externos no fue posible acudir al laboratorio para la toma de mediciones y conteos. La extracción de las plántulas al cabo de los 3 meses fue debida a la progresiva pérdida por muerte de plántulas.

2.2 Test de fitotoxicidad

Cabe destacar que, a excepción del tratamiento C, aunque germinara gran parte de las semillas, muchas de ellas no consiguieron sobrevivir y otras muchas ni siquiera consiguieron germinar. Por ello, debido a que esto solo sucedió en los tratamientos en los que se añadió biochar, se realizó un análisis de fitotoxicidad consistente en la siembra de semillas de trébol blanco (*Trifolium repens* L.) en placas petri, 3 réplicas por tratamiento con 20 semillas por placa. En cada placa se añadieron 10ml de extracto consistente en la mezcla de 100g de suelo de cada tratamiento con 100ml de agua destilada, obteniendo un extracto para cada tratamiento.

También se hizo otro tratamiento control solo con agua destilada. Posteriormente se sellaron las placas y se dejaron durante 5 días en el laboratorio para que germinaran las semillas. Tras el paso de este tiempo se hizo un conteo del número de semillas germinadas por placa y la medición de la longitud radicular de cada semilla germinada.

2.3 Toma de datos

Una vez extraídas las plántulas de los alveolos, se procedió a la realización de las medidas correspondientes. En primer lugar, se tomaron las medidas de longitud tanto aérea (desde la base de la raíz hasta el penacho superior) como radicular (desde la inserción de los cotiledones hasta el ápice de la raíz más larga), utilizando un metro convencional; de diámetro, las cuales se tomaron 1cm por debajo del comienzo de las acículas utilizando un calibre. Por último, se introdujeron las plántulas en una estufa de circulación de aire a 60°C durante 24h para determinar la biomasa en seco, tanto de la parte aérea como radicular, así como de la biomasa total, usando una balanza de precisión.

Una vez obtenidos los datos de las variables mencionadas se procedió al cálculo de varios índices, útiles para conocer la calidad de la plántula. los cuales son:

- **índice de esbeltez:** Consistente en la relación entre la altura en centímetros dividida entre el diámetro en milímetros (Villalón-Mendoza *et al.*, 2016). Este índice permite conocer el comportamiento de la planta frente a la desecación por el viento, crecimiento potencial en sitios secos y a su supervivencia (Sáenz *et al.*, 2010). Además, el valor ha de ser menor a 6 ya que indica que se trata de árboles más bajos y gruesos, aptos para sitios con limitación de humedad, mientras que valores superiores a 6 los dispone a daños por el viento, sequía y helada (Rodríguez, 2008). Los valores bajos se asocian a una mejor calidad de planta mientras que valores altos indican una desproporción entre el crecimiento en altura y diámetro (Prieto *et al.*, 2003; Prieto *et al.*, 2009).
- **Índice de proporcionalidad biométrica:** Es la relación entre la biomasa seca aérea dividido entre la biomasa seca radicular. Esta proporción se caracteriza por reflejar el desarrollo de la planta en vivero. Una buena relación debe variar entre 1,5 y 2,5, ya que valores superiores indican desproporción ya que el sistema radicular no es suficiente para proveer de energía a la parte aérea de la planta. (Sáenz *et al.*, 2010).
- **Relación longitud aérea/longitud radicular:** Es la relación entre la longitud aérea dividida entre la longitud radicular. Esta predice el éxito de la plantación. Ha de haber

equilibrio y proporción entre ambas partes, siendo la relación 1:1 la que favorece altas tasas de supervivencia en los sitios sin limitantes ambientales, mientras que las relaciones entre 0,5:1 a 1:1 son más sugeridas para sitios de plantación con limitantes de humedad. Para sitios sin limitantes de humedad la relación puede llegar a ser de 1,5:1 a 2,5:1. (Sáenz *et al.*, 2010). Se considera, por tanto, una buena relación los valores que se encuentren entre 0,5:1 a 2,5:1.

- **Índice de calidad de Dickson (ICD):** Se trata del mejor parámetro morfológico para indicar la calidad de las plántulas, ya que expresa el equilibrio de la distribución de la masa y la robustez (García, 2007). Según Hunt (1990), valores por debajo de 0,15 podrían significar problemas en el establecimiento en campo y recomienda valores de 0,2 como mínimo para contenedores de hasta 60ml. Según otro estudio realizado por Sáenz *et al.*, (2010), clasificó los valores por debajo de 0,2 como calidad baja, los valores entre 0,2 y 0,5 como calidad media y los mayores a 0,5 como calidad alta. Se utilizará esta última clasificación para evaluar las plántulas de este experimento.

Por último, se hizo un análisis descriptivo del desarrollo de la biomasa radicular de las plántulas de *Pinus pinaster* mediante la comparación visual, entre tratamientos, de las raíces de las plántulas que crecieron en tres alveolos distintos, seleccionados al azar en cada tratamiento.

2.4 Tratamiento de datos

En primer lugar, se comprobó la normalidad de los datos mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de las varianzas mediante el test de Levene. Cuando se cumplían ambos supuestos se aplicó un ANOVA de una vía tomando como factores los distintos tratamientos ensayados, con el objetivo de determinar la influencia de los tratamientos en la germinación y crecimiento de plántulas de *Pinus pinaster*. Cuando se detectaban diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) se aplicaba el test de Tukey como estadígrafo de contraste. En el caso de no cumplirse ambas condiciones, se aplicó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis y la prueba de Mann-Whitney como estadígrafo de contraste.

3. RESULTADOS

3.1 Germinación y crecimiento de las plántulas de *Pinus pinaster* durante los tres primeros meses

La germinación de las semillas de pino no comenzó hasta la tercera semana después de la siembra (figura 4). Se puede observar como el mayor número de semillas germinadas pertenecen al tratamiento Control, alcanzando el máximo de germinaciones en la semana 7, a partir de la cual algunas plántulas comienzan a morir y la pendiente de la gráfica comienza a ser negativa. Seguido de este tratamiento está el tratamiento BBF, el cual alcanza el máximo número de semillas germinadas en la semana 4 a partir de la cual comienza a decaer, al igual que el tratamiento BAF. El resto de tratamientos (BBG y BAG) muestran un comportamiento muy similar, ambos alcanzan su máximo de semillas germinadas en la semana 5 a partir de la cual las plántulas comienzan a morir, alcanzando la estabilidad a partir de la semana 9. Cabe mencionar que, aunque muchas de las semillas consiguieron germinar, gran parte de ellas no consiguió sobrevivir y otras ni siquiera consiguieron germinar, a diferencia del tratamiento C en el que la mayoría comenzaron a desarrollarse con éxito.

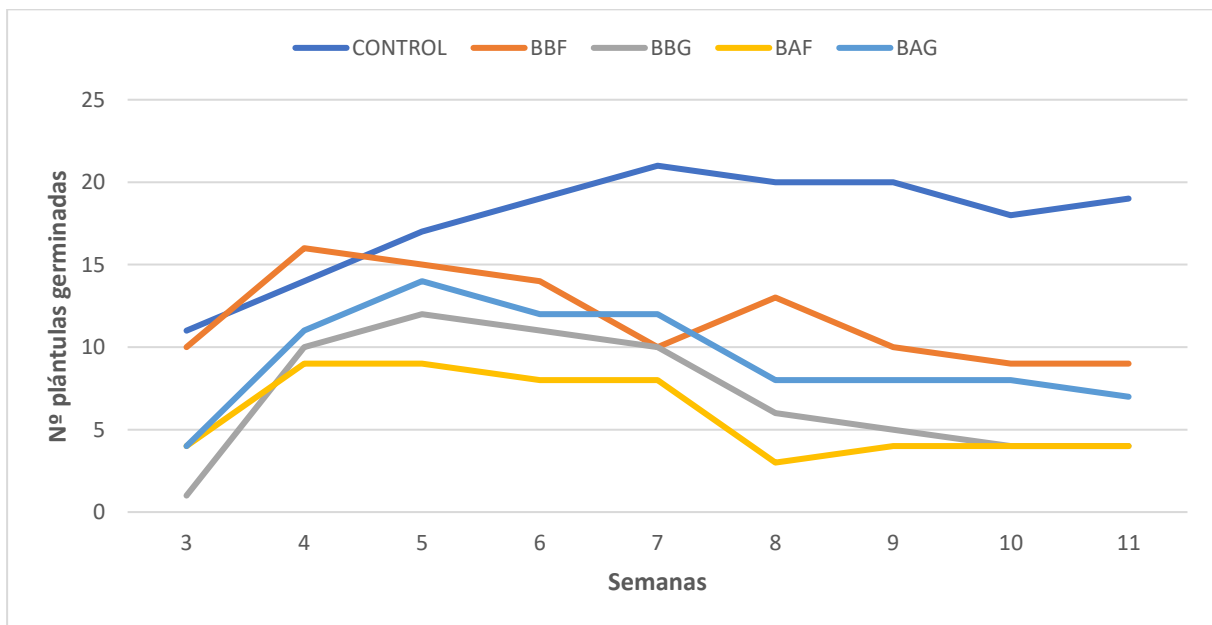


Figura 4: N° semillas germinadas a lo largo del periodo que dura el experimento. Fuente: Elaboración propia.

El crecimiento de las plántulas de *P. pinaster* (figura 5) sigue el mismo patrón que el número de semillas germinadas. Las plántulas del tratamiento Control son las que mayor longitud alcanzaron, teniendo una pendiente positiva a lo largo de todo el gráfico. Esto se explica porque

el crecimiento en longitud promedio fue superior a la disminución, por muerte, consiguiendo un balance positivo. Por el contrario, en el resto de tratamientos (BBF, BBG, BAF y BAG), debido a la muerte de varias plántulas, el valor de longitud promedio disminuyó aun cuando las plántulas seguían creciendo, generando una pendiente negativa en la gráfica. Durante el periodo de crecimiento de las plántulas antes de su extracción, el tratamiento BBF alcanzó el máximo de longitud en la semana 6, mientras que los tratamientos BBG, BAG y BAF alcanzaron su máximo en la semana 7.

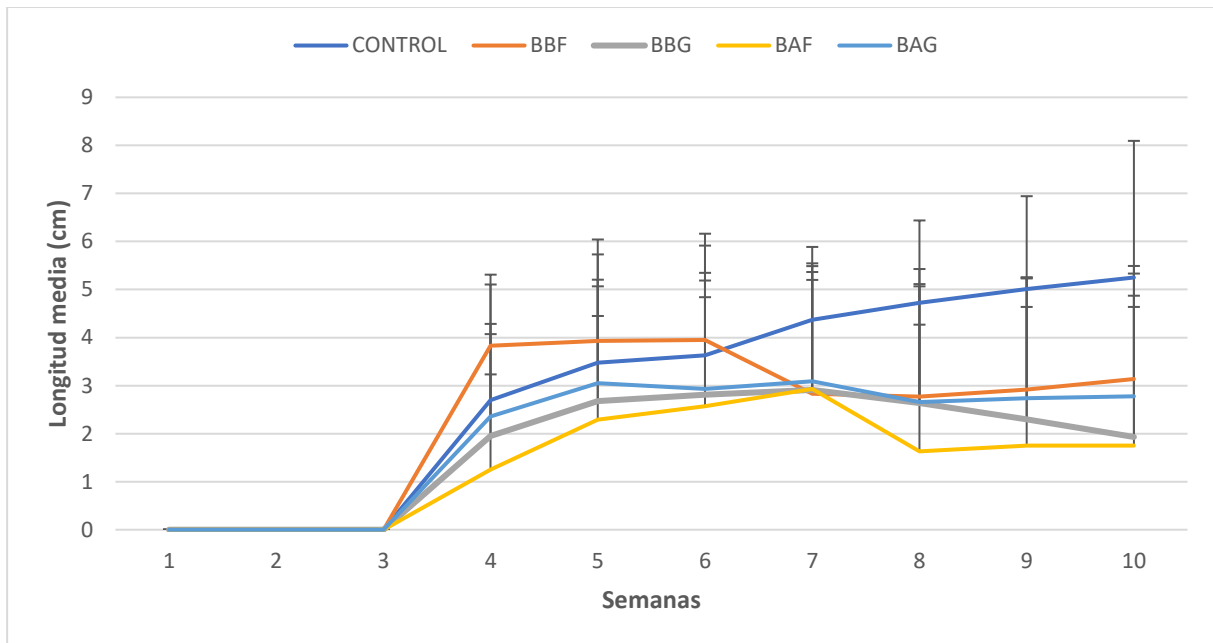


Figura 5: Longitud aérea promedio de las plántulas de *P. pinaster* a lo largo del periodo que dura el experimento. Fuente: Elaboración propia.

3.2 Análisis de fitotoxicidad

Debido a la baja germinación y crecimiento observado en los tratamientos, se llevó a cabo un análisis de fitotoxicidad para comprobar si el biochar contiene alguna sustancia que impida la germinación de las semillas. En la figura 6 podemos observar cómo no se repite el mismo comportamiento que con las semillas de pino, ya que en este caso el mayor número de semillas germinadas se da con el tratamiento BAG y el tratamiento Control con agua destilada sin suelo añadido, siendo el tratamiento BBG el de menor número de semillas germinadas con menos de la mitad.

Existen diferencias significativas ($F= 4,166$; $p= 0,01992$) entre los tratamientos BAG y BBG.

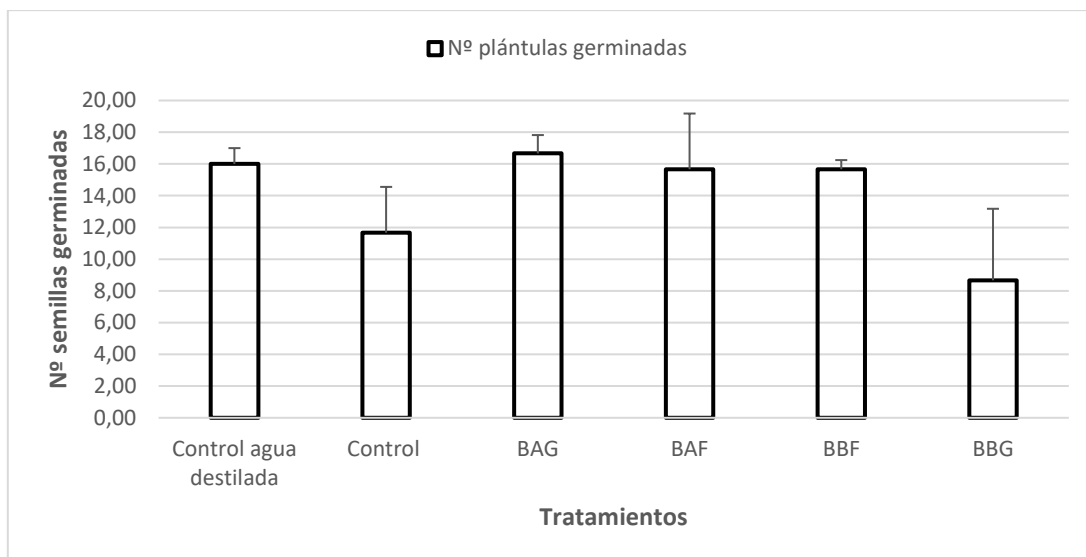


Figura 6: N° semillas germinadas de *Trifolium repens* durante análisis de fitotoxicidad. Fuente: Elaboración propia.

Por otro lado, la longitud radicular promedio de *T. repens* durante el análisis de fitotoxicidad (figura 7) no tiende a variar mucho entre los distintos tratamientos, alcanzando la mayor longitud radicular el tratamiento Control con agua destilada sin suelo añadido y la menor longitud radicular en el tratamiento BBG, existiendo diferencias significativas ($F=5,305$; $p=0,0001204$) únicamente entre el tratamiento Control y BBG.

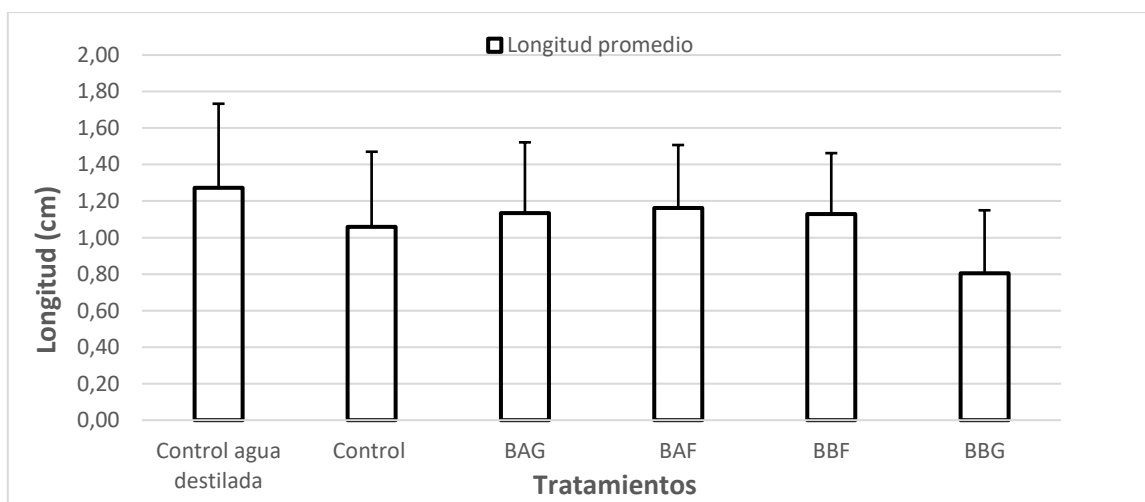


Figura 7: Longitud radicular promedio de *Trifolium repens* durante el análisis de fitotoxicidad. Fuente: Elaboración propia.

3.3 Influencia de los tratamientos en el desarrollo de las plántulas de *Pinus pinaster*

A los 3 meses de iniciar el experimento, los resultados de la longitud radicular promedio de las plántulas de *P. pinaster* no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ($F=1,145$; $p= 0,3574$). El tratamiento con una mayor longitud radicular fue el Control, seguido de BBF, BAF y BAG, siendo el tratamiento con menor longitud radicular el BBG (figura 8).

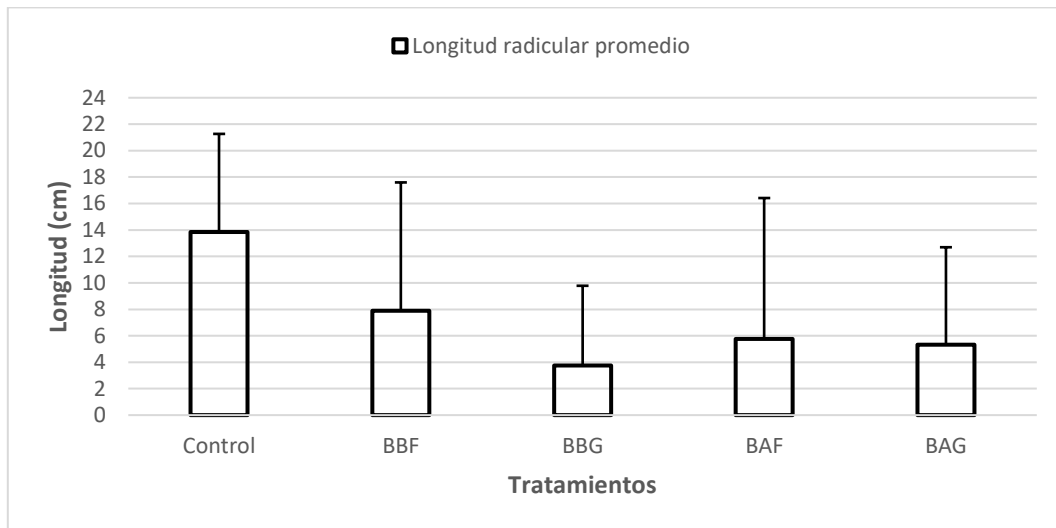


Figura 8. Longitud radicular promedio de las plántulas de *P. pinaster* en el momento de extracción de las plántulas. Fuente: Elaboración propia.

Los valores de longitud aérea promedio en el momento de extracción de las plántulas muestran nuevos máximos para los tratamientos Control (10,18 cm), BBF (5,2 cm) y BAG (3,27 cm), mientras que para los tratamientos BAF y BBG fueron inferiores a su máximo alcanzado en la semana 7 de crecimiento, con 2,83 cm y 2,79 cm respectivamente.

Existen diferencias significativas entre los tratamientos ($F= 3,908$; $p= 0,01292$). Más concretamente entre el tratamiento Control con el tratamiento BBG y con el tratamiento BAG.

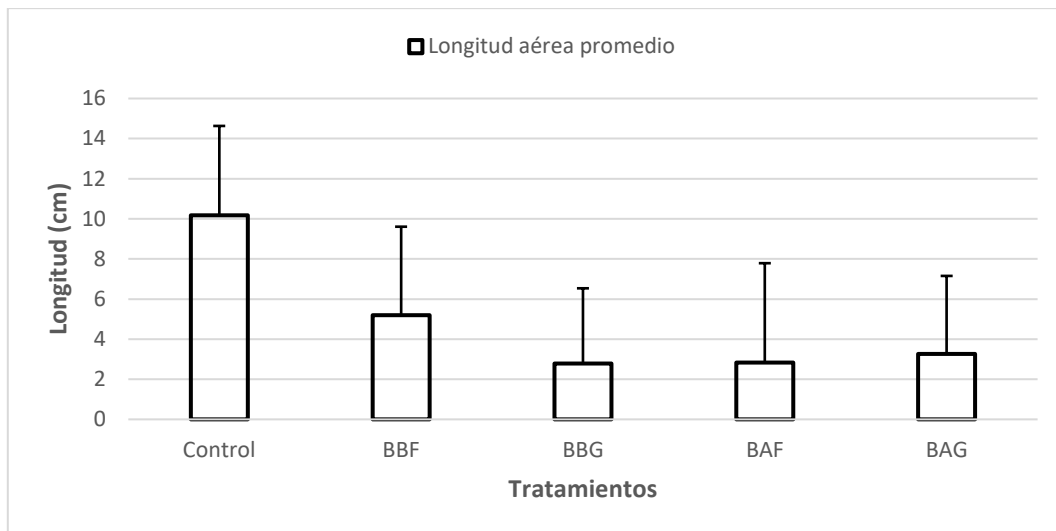


Figura 9. Longitud aérea promedio de las plántulas de *P.pinaster* en el momento de extracción de las plántulas.
Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a los resultados de las mediciones de biomasa (figura 10), el tratamiento Control fue el que obtuvo mayores valores en biomasa total (0,241g), seguido por el tratamiento BBF (0,129g). Posteriormente se encuentran los tratamientos BAG y BAF con valores similares, siendo los del tratamiento BAG superiores, y con los valores más bajos el tratamiento BBG (0,057g). Existen diferencias significativas en los resultados de la variable biomasa total ($H=12,57$; $p=0,01354$) entre el Control y el resto de tratamientos.

Los valores de biomasa aérea siguen el mismo patrón que los de biomasa total, los mayores pesos se corresponden con el tratamiento Control (0,204g), seguido del tratamiento BBF y los menores al tratamiento BBG (0,05g). En cuanto a los resultados de la variable biomasa aérea también existen diferencias significativas ($F=5,503$; $p=0,002555$) entre el Control y BBG, BAF y BAG. Es decir, existen diferencias significativas entre el tratamiento Control y el resto de tratamientos menos con BBF.

No ocurre lo mismo con los valores de biomasa radicular, donde los mayores valores los sigue teniendo el tratamiento Control (0,037g), sin embargo, a este le sigue el tratamiento BAG (0,027g). Con valores muy similares está el tratamiento BAF seguido del tratamiento BBF, siendo el tratamiento BBG el de menor peso (0,006g).

Por último, los resultados de la variable biomasa radicular no muestran diferencias significativas entre tratamientos ($F=2,045$; $p=0,1187$).

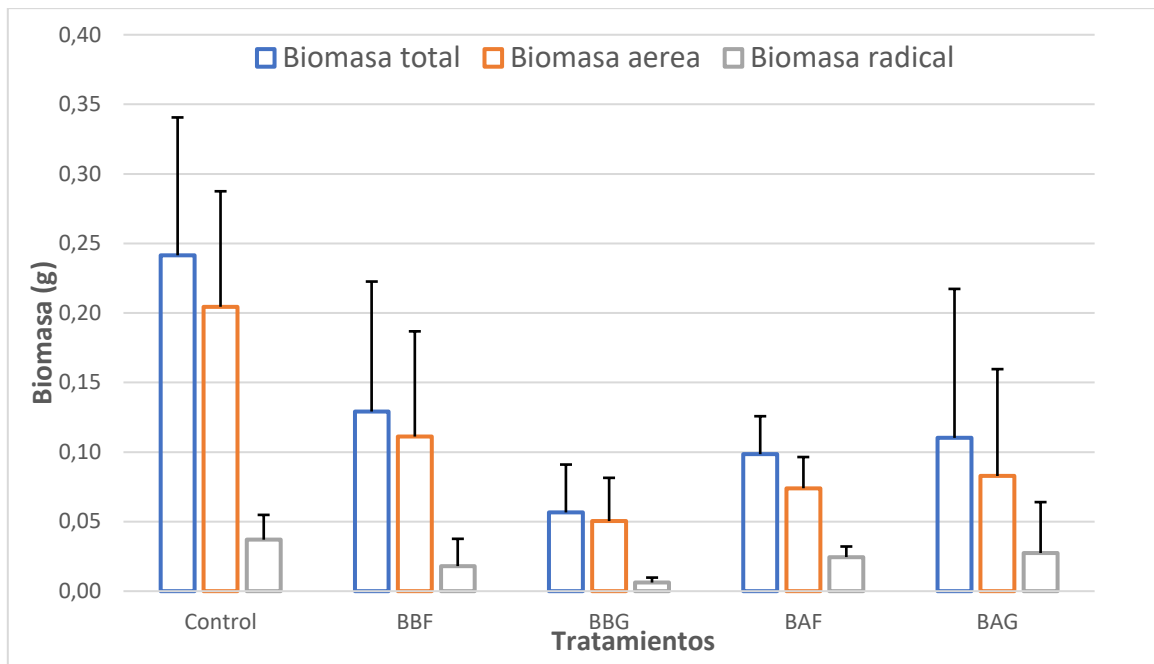


Figura 10: Biomasa de las plántulas de *P.pinaster* en función del tratamiento. Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos en las mediciones del diámetro de tallo (figura 11) fueron bastante similares entre tratamientos. Por ello, no se encontraron diferencias significativas entre ellos ($F=1,654$; $p=0,1896$). Aun así, las plántulas del tratamiento Control fueron las que alcanzaron un mayor diámetro (0,852 mm), posteriormente el tratamiento BBF (0,717 mm), con unos resultados ligeramente superiores al tratamiento BAF (0,7 mm), seguido por el tratamiento BAG (0,650 mm) y, por último, con los diámetros más pequeños, el tratamiento BBG (0,596 mm).

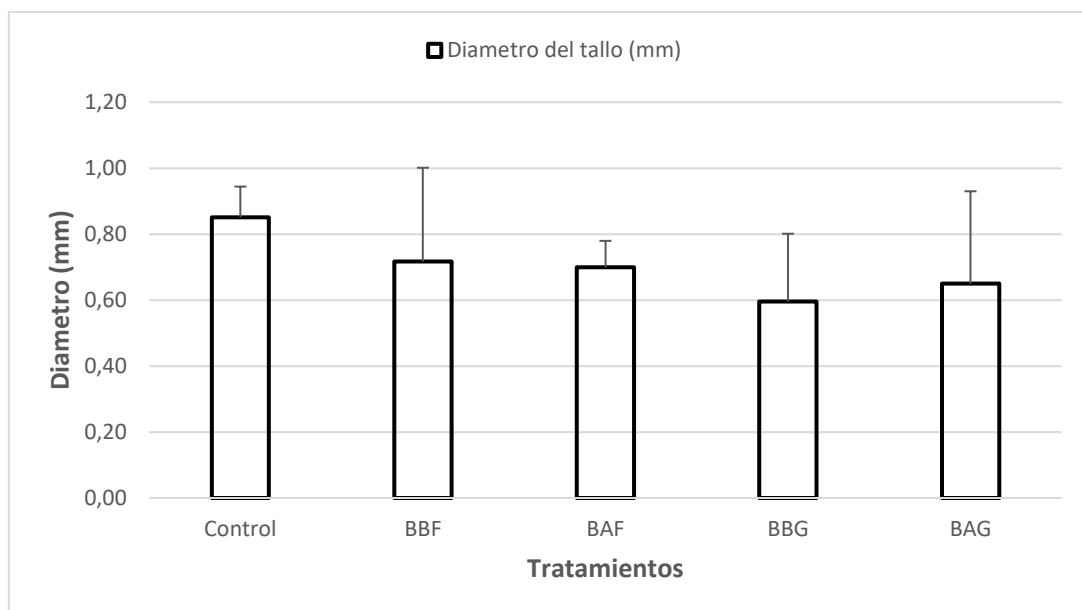


Figura 11: Diámetro de tallo en función del tratamiento. Fuente: Elaboración propia.

A partir de los valores obtenidos para las variables mencionadas anteriormente, se procedió al cálculo de los índices.

Los resultados acerca del Índice de esbeltez (figura 12) muestran que los mayores valores se encuentran en el tratamiento Control y van disminuyendo en el siguiente orden de tratamientos: BBF, BAF, BBG y BAG. Aunque existen diferencias entre tratamientos, estas son variaciones muy pequeñas. Por ello, tras el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($F=1,467$; $p=0,2407$).

La clasificación de estos resultados (tabla 2) muestra que ninguno de los tratamientos presenta una correcta proporción entre el crecimiento en altura y el diámetro puesto que todos son superiores a 6.

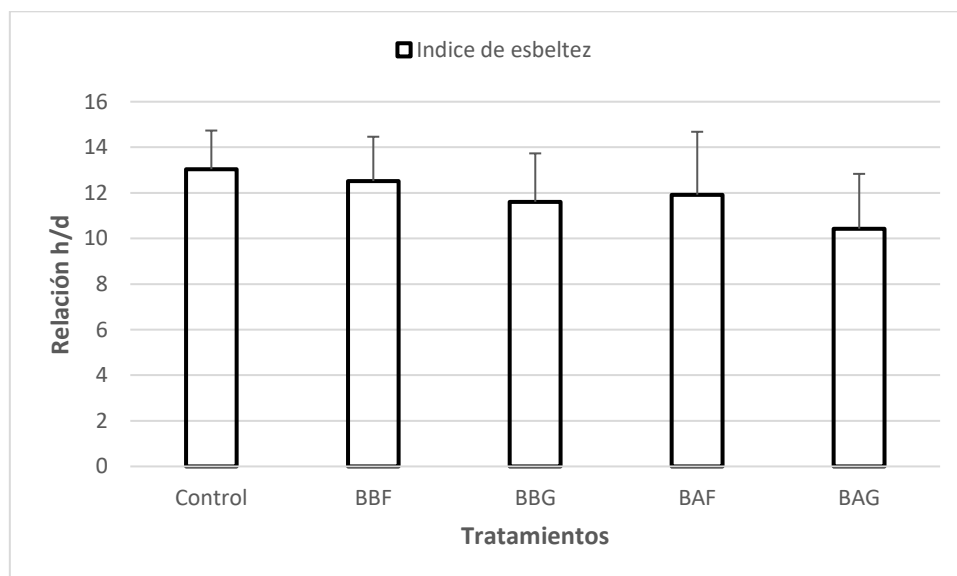


Figura 12: Índice de esbeltez en función de cada tratamiento. Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a los resultados acerca del Índice de proporcionalidad biométrica (figura 13), los mayores resultados son los pertenecientes al tratamiento BBF, los cuales son muy superiores al resto, seguidos por los del tratamiento BBG, BAG, Control y por último BAF con los menores resultados. Su clasificación (tabla 2) muestra que todos los tratamientos presentan plántulas que están desproporcionadas, puesto que todos los valores son superiores a 2,5.

Existen diferencias significativas ($H=10,82$; $p=0,02861$) entre los tratamientos Control y BBG y BAF; BBF y BAF; y BBG y BAF.

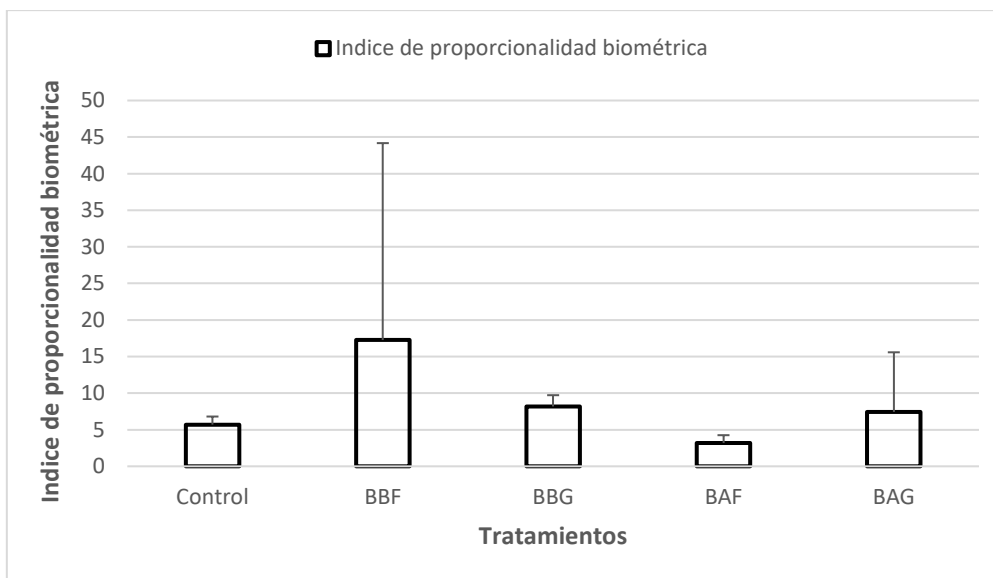


Figura 13: Índice de proporcionalidad biométrica en función del tratamiento. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2: Clasificación de los resultados obtenidos de los índices de esbeltez y proporcionalidad biométrica. Fuente: Elaboración propia.

Tratamientos	Índice de Esbeltez	Calidad	Índice de proporcionalidad biométrica	Calidad
Control	13,04	Baja	5,70	Baja
BBF	12,52	Baja	17,26	Baja
BBG	11,61	Baja	8,19	Baja
BAF	11,92	Baja	3,18	Baja
BAG	10,43	Baja	7,44	Baja

La relación longitud aérea/longitud radicular (figura 14) muestra que el tratamiento más cercano a la ratio 1:1 es BBG, seguido de los tratamientos Control y BAF con unos resultados casi iguales. Por último, con ratios más cercanos a 0,5:1, están los tratamientos BBF y BAG con resultados muy similares, siendo el tratamiento BAG el de menor ratio. No existen diferencias significativas entre tratamientos ($F=1,055$; $p=0,3982$).

Estos resultados fueron clasificados (tabla 3) como con buena relación ya que los valores de todos los tratamientos se encuentran entre 0,5:1 y 2,5:1.

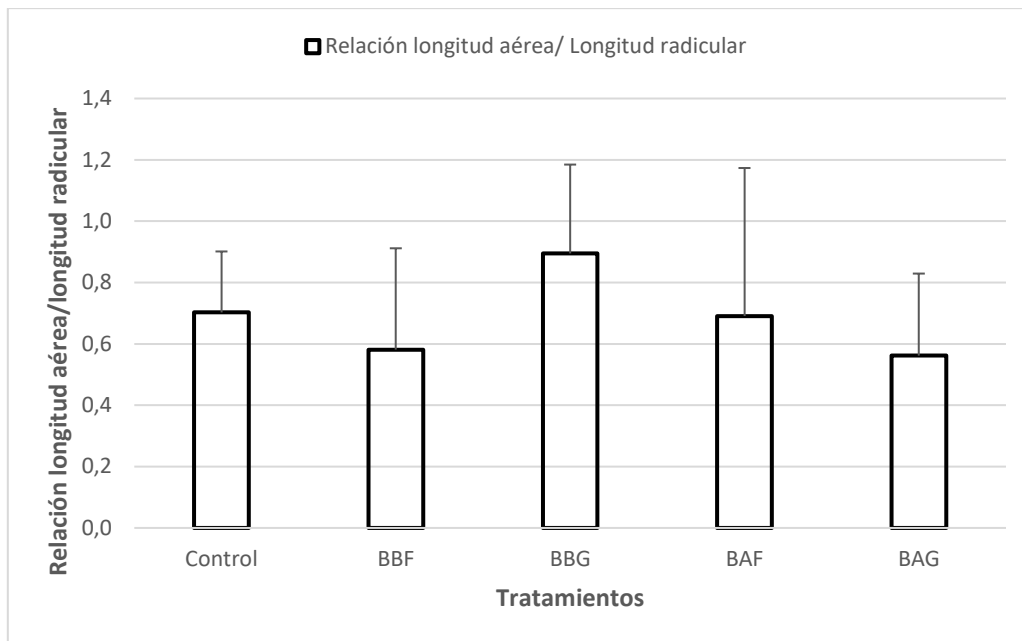


Figura 14: Relación Longitud aérea/ Longitud radicular en función del tratamiento. Fuente: Elaboración propia.

El último índice calculado fue el Índice de Calidad de Dickson (Figura 15) el cual, como se mencionó anteriormente, es el mejor parámetro morfológico para indicar la calidad de las plántulas. Los valores obtenidos son muy bajos para todos los tratamientos, de los cuales, los más altos son los pertenecientes al tratamiento Control, seguido del tratamiento BBF. Los tratamientos BAF y BAG muestran los mismos valores, siendo estos ligeramente inferiores a los del tratamiento BBF. Por último, el tratamiento BBG fue el que obtuvo los valores más bajos. Existen diferencias significativas ($F=3,176$; $p=0,03149$) entre los tratamientos Control y BBG.

La clasificación de estos resultados (tabla 3) resultó en calidad baja para todos los tratamientos, puesto que sus valores no llegan a ser superiores a 0,2 como para considerarlos de buena calidad.

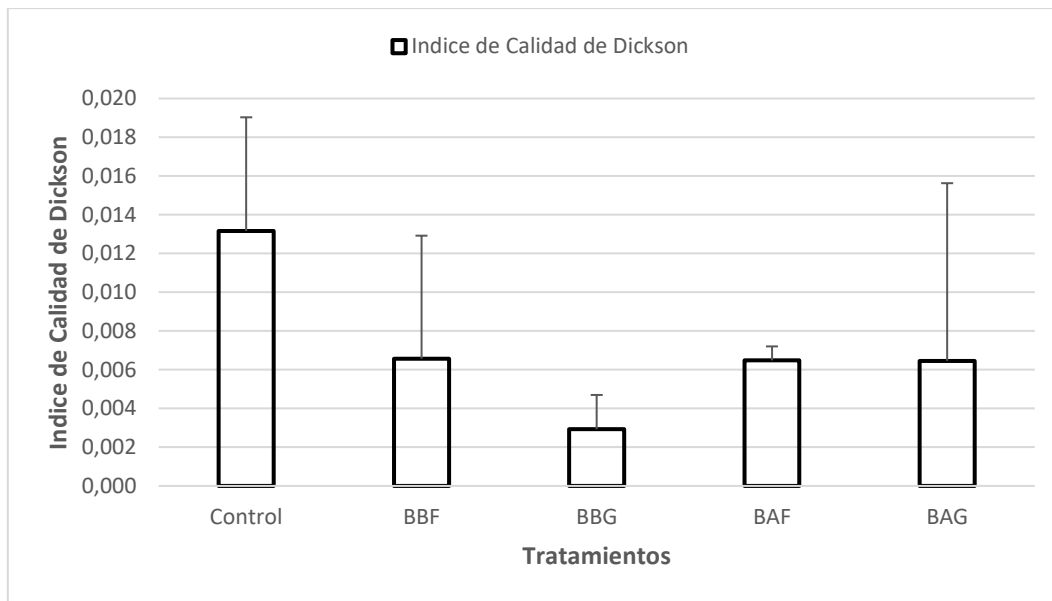


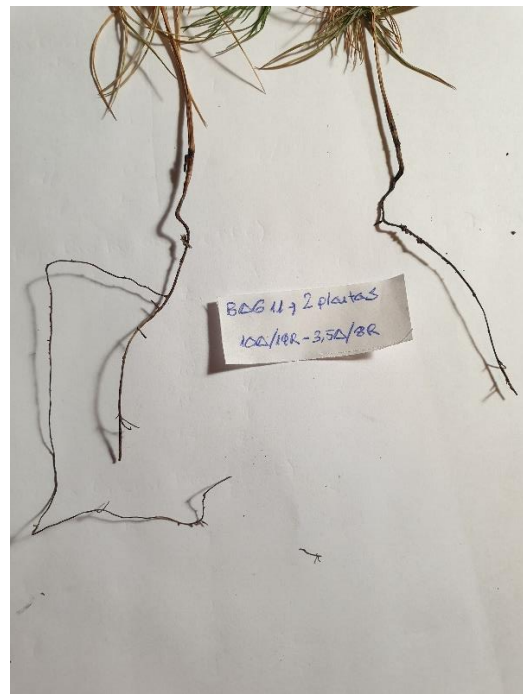
Figura 15: Índice de Calidad de Dickson en función del tratamiento. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 3: Clasificación de los resultados obtenidos de la relación longitud aérea/longitud radicular e ICD. Fuente: Elaboración propia.

Tratamientos	longitud aérea/longitud radicular	Calidad	ICD	Calidad
Control	0,70:1	Buena	0,013	Baja
BBF	0,58:1	Buena	0,007	Baja
BBG	0,9:1	Buena	0,003	Baja
BAF	0,69:1	Buena	0,006	Baja
BAG	0,56:1	Buena	0,006	Baja

3.4 Análisis descriptivo de la biomasa radicular

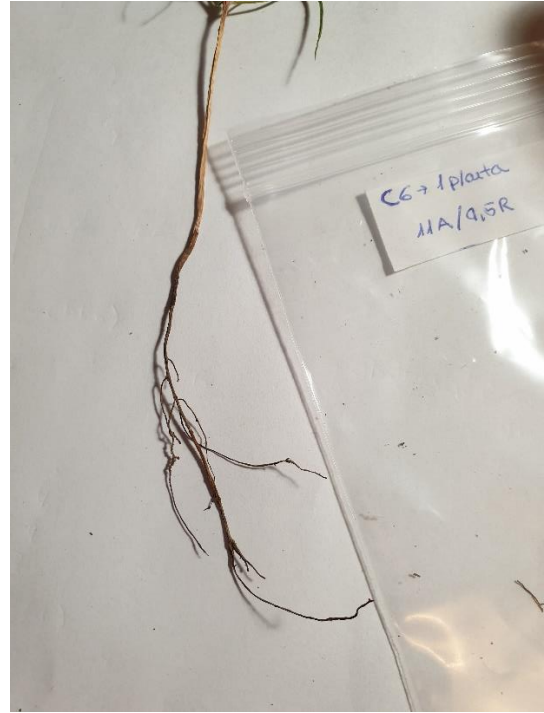
En cuanto al análisis descriptivo del desarrollo de la biomasa radicular mediante comparación visual entre tratamientos, no se observaron grandes diferencias entre los sistemas radiculares de los tratamientos BAF, BAG, BBF y BBG. La mayoría consta de una raíz principal desarrollada únicamente de manera longitudinal, delgada y con muy pocas ramificaciones muy poco desarrolladas (figuras 16, 17, 18 y 19). Sin embargo, los sistemas radiculares de las plántulas pertenecientes al tratamiento Control destacan entre el resto debido a su mayor ramificación y longitud de esta, así como por un mayor grosor (figuras 20 y 21).



Figuras 16 y 17 (Izquierda a derecha): Sistemas radiculares pertenecientes a los tratamientos BAF y BAG respectivamente. Fuente: Elaboración propia.



Figuras 18 y 19 (Izquierda a derecha): Sistemas radiculares pertenecientes a los tratamientos BBF y BBG respectivamente. Fuente: Elaboración propia.



Figuras 20 y 21 (Izquierda a derecha): Sistemas radiculares pertenecientes al tratamiento Control. Fuente: Elaboración propia.

4. DISCUSIÓN

En este trabajo se analizó la efectividad de la aplicación de biochar de vid en el crecimiento de planta forestal de pino (*P.pinaster*). Resaltar en primer lugar que el número de semillas germinadas difiere de lo esperado en un primer momento, ya que los tratamientos en los que se añadió biochar (BAF, BAG, BBF y BBG) obtuvieron un número de semillas germinadas muy inferior al tratamiento Control. Sin embargo, los resultados obtenidos por Sean, (2020) en su estudio acerca de los efectos de biochar en la germinación y extensión radicular en plántulas tanto de coníferas como angiospermas difieren de los encontrados en este experimento, mostrando efectos positivos en la germinación de las semillas al añadir biochar en dosis de 5Mg/ha. Mientras que en otro estudio en el que se comprobó el efecto de biochar obtenido de árboles de hoja caduca en la germinación de semillas de *Fagus sylvatica* L. y *Quercus cerris* L. no se detectó ninguna diferencia significativa (Forte *et al.*, 2022).

Forte *et al.*, (2022) también menciona que debido a la estructura altamente concentrada de carbono del biochar y a las altas temperaturas a las que se genera, este puede contener compuestos o elementos potencialmente tóxicos (PTEs), metales pesados (HMs) y hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), los cuales se conoce que pueden ser la causa de la reducción en la germinación en plantas de distintas especies. Tras la realización del análisis de fitotoxicidad, se descartó que existiera alguna sustancia en el biochar que impidiera la germinación de las semillas, puesto que en los resultados de este análisis los tratamientos BAG, BAF y BBF obtuvieron un número de semillas germinadas superior al tratamiento Control, a excepción del tratamiento BBG que obtuvo resultados inferiores. También se descartó que fuera debido a problemas de enraizamiento puesto que únicamente existieron diferencias significativas entre la longitud radicular de los tratamientos Control y BBG. Sin embargo, Gascó *et al.*, (2016) en su estudio sobre la relación entre las propiedades y efectos del biochar en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas se encontró con que la aplicación de biochar procedente de madera inhibió la germinación de varias especies de ámbito agrario, como berro, lenteja, pepino, tomate y lechuga. Por otro lado, el crecimiento de la raíz no se vio afectado por la adición del biochar.

En general, los resultados obtenidos de las variables seleccionadas para la realización del experimento (longitud aérea y radicular, biomasa y diámetro) fueron inferiores en los tratamientos en los que se añadió biochar. En contraste, Heiskanen *et al.*, (2013), llevó a cabo un bioensayo en el que se analizó el crecimiento de abeto rojo (*Picea abies* [L.] Karst.) sobre

suelo limoso mezclado con biochar procedente de madera, en proporciones de hasta 60% en volumen. Tras analizar el crecimiento en altura, longitud y volumen radicular, no observó ninguna mejora respecto al tratamiento control, obteniendo resultados muy similares entre todos los tratamientos.

En cuanto a biomasa y diámetro de tallo ocurre lo mismo, la bibliografía consultada muestra resultados positivos o neutros para estos parámetros, sin encontrar ningún estudio que muestre resultados negativos al usar biochar sobre planta forestal (Palviainen *et al.*, 2020; Grau-Andrés *et al.*, 2021)

Los valores obtenidos del cálculo de los distintos índices clasificados en base a la bibliografía consultada muestran buena calidad únicamente en la relación longitud aérea/longitud radicular. Sáenz *et al.*, (2010) comparó la calidad de varias plántulas del género *Pinus* de varios viveros de México, obteniendo calidades medias a altas de promedio. Todas ellas se encontraban en etapas de desarrollo superior a las de este experimento, por lo que el motivo por el cual se obtuvieron valores tan desfavorables para todos los tratamientos podría deberse a que los criterios de clasificación utilizados estén pensados para plántulas en un estadio de crecimiento más maduro.

Tras el análisis descriptivo del desarrollo de la biomasa radicular se observó que la adición de biochar tuvo un mayor impacto en la capacidad de la raíz para ramificarse que en su capacidad para crecer en longitud, puesto que, los tratamientos en los que se aplicó el biochar la ramificación de las raíces fue si no nula, muy escasa. Al contrario del tratamiento Control, cuya ramificación fue mayor, al igual que su grosor. Por el contrario, Razaq *et al.*, (2017) llevó a cabo un estudio en el que observó la influencia del biochar en la morfología de las raíces finas de *Acer mono*, observando efectos positivos en el crecimiento de raíces de segundo y tercer orden con dosis de 10, 15 y 20g de biochar, obteniendo los mayores beneficios con la mayor dosis.

El motivo por que se obtuvieron valores tan bajos en las variables estudiadas podría ser debido a una mala selección de la dosis aplicada, puesto que se desconoce cuál sería la dosis idónea, habiendo sido esta seleccionada en base a la bibliografía consultada. También puede ser debido a que las características físico-químicas del biochar no sean las idóneas para proporcionar un crecimiento correcto de las plántulas de *P.pinaster* o que se requiere de un periodo de crecimiento más prolongado en el tiempo y contenedores de mayor volumen para poder observar resultados más favorables para los tratamientos en los que se añadió el biochar.

5. CONCLUSIONES

- 1.- La adición de biochar de vid no favorece la germinación ni el crecimiento en longitud de las plántulas de pino en los primeros meses de su desarrollo.
- 2.- El análisis de fitotoxicidad muestra que el biochar de vid no presenta ninguna sustancia que pueda inhibir ni la germinación ni el crecimiento.
- 3.- Las plantas de pino mostraron valores más bajos de longitud aérea y radicular, biomasa y diámetro de tallo, con la adición de biochar. Según los índices de esbeltez, de proporcionalidad biométrica y de calidad de Dickson la calidad de la planta forestal fue baja. La aplicación de biochar no influye en la calidad de la planta en ningún sentido.
- 4.- La adición de biochar de vid inhibe tanto el engrosamiento como el desarrollo de ramificaciones del sistema radicular.
- 5.- A pesar de obtener resultados poco favorables, el tratamiento con biochar añadido que mejores resultados ofreció fue el tratamiento BBF. Se concluye por tanto que la mejor combinación de dosis y tamaño de biochar en este experimento fue 10 Mg/ha y tamaño de partícula <2mm.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Campos, P., Z. Miller, Knicker, H., F. Costa-Pereira, M., De la rosa *et al.*, (2020) “Chemical, physical and morphological properties of biochars produced from agricultural residues: Implications for their use as soil amendment”, *El Sevier*, volumen (105), 256-267.
- Forte, T. G. W., Vannini, A., Carbognani, M., Chiari, G., *et al.*, (2022) “Effects of Wood-Derived biochar on germination, physiology, and growth of european beech (*Fagus sylvatica* L.) and turkey oak (*Quercus cerris* L.)”, *Plants*, volumen (11), pp 1-13.
- García, M (2007) *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*. Disponible en: <https://inta.gov.ar/documentos/importancia-de-la-calidad-del-plantin-forestal> (Accedido: 17 de noviembre de 2022)
- Gale, N. V. y Thomas, S. C. (2018) “Dose-dependence of growth and ecophysiological responses of plants to biochar”, *Elsevier*, volumen (658), 1344-1354.
- Gallo Saravia, M., Lugo Sierra, L., Barrera Zapata, R. (2018) “Evaluación de biochar como alternativa de sustrato en cultivos de tomate”, *Scientia et Technica*, volumen (23), pp. 300-306.
- Gascó, G., Cely, P., Paz Ferreiro, J., Plaza, C. *et al.*, (2016) “Relation between biochar properties and effects on seed germination and plant development”, *Biological Agriculture & Horticulture*, volumen (32), pp. 237-247.
- Ge, X., Yang, Z., Zhou, B., Cao, Y. *et al.*, (2019) “Biochar fertilization significantly increases nutrient levels in plants and soil but has no effect on biomass of *Pinus massoniana* (Lamb.) and *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) hook saplings during the first growing season” *Forests*, volumen (10) pp. 0-17.
- Gilces Reyna, M. A. (2014) *Efectos de la aplicación de biochar y cenizas en las propiedades del suelo*. Trabajo fin de máster. Universidad de Valladolid.
- González Molina, J (2005) *Introducción a la selvicultura general*. 2ª edición. Universidad de León: Secretariado de Publicaciones.
- González Zamora, J (2020) “*Efectos del biochar sobre el crecimiento y sobrevivencia de seis especies forestales con potencial uso para la restauración de suelos degradados*”. Trabajo monográfico para optar al grado de Ingeniero Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.
- Grau Andrés, R., Pingree, M. R. A., Öquist, M. G., Wardle, D. A. *et al.*, (2021) “Biochar increases tree biomass in a managed boreal forest, but does not alter N₂O, CH₄, and CO₂ emissions”, *Wiley*, volumen (13), pp. 1329-1342.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. (2001) *Paleontological statistics software package for education and data analysis (Versión 3.24) [Programa de ordenador]*. Disponible en: <https://www.nhm.uio.no/english/research/resources/past/>. (Accedido: 2 de 09 de 2022).
- Heiskanen, J., Tammeorg, P. y Dumroese, R. K. (2013) “Growth of Norway spruce seedlings after transplanting into silty soil amended with biochar: a bioassay in a growth chamber”, *Journal of forest science*, volumen (59), pp. 125-129.
- Hunt, G (1990) “Effect of Styroblock Design and Copper Treatment on Morphology of Conifer Seedlings” U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station, 218-222.
- Iglesias Abad, S., Alegre Orihuela, J., Salas Macías, C., Egúez Moreno, J. (2018) “El rendimiento del maíz (*Zea mays* L.) mejora con el uso del biochar de eucalipto”, *Scientia Agropecuaria*, volumen (9), pp. 25-32.
- Lehman, J., Pereira da Silva Jr, J., Steiner ,C., Nehls, T. (2003) “Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments”, *Plant and Soil*, volumen (249), 343-357.

- Lehmann, J. (2009) "Terra Preta Nova-Where to from Here?", en Woods, W., Teixeira, W., Steiner, C., WinklerPrins, A., Rebellato, L. (eds.) *Amazonian Dark Earths: Wim Sombroek's Vision*". Springer Science+Business Media B.V, 473-486.
- Lehman, J. y Joseph, S. (2009) *Biochar for Environmental Management*. Reino Unido: Earthscan.
- Olmo Prieto, M. (2016) *Efectos del biochar sobre el suelo, las características de la raíz y la producción vegetal*. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba.
- Perez González, G. (2015) *Biocarbón (biochar) de residuos forestales y agrícolas como alternativa para capturar carbono*. Tesis doctoral. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas, Campus Montecillo.
- Palviainen, M., Aaltonen, H., Laurén, A., Köster, K., *et al.*, (2020) "Biochar amendment increases tree growth in nutrient-poor, young Scots pine stands in Finland", *Forest Ecology and Management*, volumen (474), pp. 118-362.
- Prieto, R. J. A., Vera, C. G., Merlín, B. E. (2003). *Factores que influyen en la calidad de brinzales y criterios para su evaluación en vivero*. Folleto técnico Número 12.
- Prieto, R. J. A., García, R. J. L., Mejía, B. J. M., Huchín, A. S. *et al.*, (2009). *Producción de planta del género Pinus en vivero en clima templado frío*. Publicación especial Número 28, Campo Experimental Valle del Guadiana INIFAP-SAGARPA, pg 48.
- Razaq, M., Salahuddin, Shen, H., Sher, H., *et al* (2017), "Influence of biochar and nitrogen on fine root morphology, physiology and chemistry of *Acer mono*", *Scientific reports*, volumen (7), pp. 53-63.
- Rodríguez, T. y Dante, A. (2008) "Indicadores de calidad de planta forestal", *Mundi Prensa México*, pg 156.
- Sean, C. T. (2020) "Biochar effects on germination and radicle extension in temperate tree seedlings under field conditions", *Canadian Journal of Forest Research*, pp. 1-43.
- Sáenz Reyes, J. T., Villaseñor Ramírez, F. J., Muñoz Flores, H. J., Rueda Sánchez, A., *et al.*, (2010). *Calidad de planta en viveros forestales de clima templado en Michoacán*. Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrarias y Pecuarias, Folleto técnico Número 17.
- Sarauer, J. L., Page Dumroese, D. S, Coleman, M. D. (2018) "Soil greenhouse gas, carbon content, and tree growth response to biochar amendment in western United States forests", *Wiley*, volumen (11), pp. 660-671.
- Villalón Mendoza, H., Ramos Reyes, J. C., Vega López, J. A., Marino, B. *et al.*, (2016). "Indicadores de calidad de la planta de *Quercus canby* Trel. (encino) en vivero forestal", *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, volumen (12), 46-52.