

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.
FACULTAD DE AGRONOMIA.
COMISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO.
MAESTRÍA EN CIENCIA DEL SUELO.**

**Efecto del biochar obtenido de Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*)
sobre propiedades microbiológicas y químicas de un suelo de la Mesa de
Guanipa, estado Anzoátegui.**

Ing. Agro. Zuleyka Palma.

Maracay, Diciembre de 2016.

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.
FACULTAD DE AGRONOMIA.
COMISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO.
MAESTRÍA EN CIENCIA DEL SUELO.

**Efecto del biochar obtenido de Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*)
sobre propiedades microbiológicas y químicas de un suelo de la Mesa de
Guanipa, estado Anzoátegui.**

Autor: Ing. Agro. Zuleyka Palma.
Tutor: Dr. Juan Carlos Aciego.
Asesores: Dra. Carmen Rivero.
Dr. Jorge Paolini.

Maracay, Diciembre de 2016.

Imaginemos una agrupación musical de tamaño prodigioso que llevara tocando sin parar 20.000 millones de años. E imaginemos que la primera impresión que nos produjese fuera de armonía, pero al prestar más atención, percibiésemos que el violín, los platillos y el contrabajo interpretaban una partitura diferente. Eso mismo sucede cuando vivimos en una época en la que la degradación ambiental y la sobreexplotación de los recursos naturales están deteriorando a gran velocidad nuestro planeta.

RESUMEN

El rápido crecimiento de la población, unidos al consumo, degradan el entorno con enorme celeridad, convirtiendo al hombre en el administrador de su propio veneno, al implementar prácticas agrícolas inadecuadas en los suelos, labranza y fertilización excesiva y menor retorno de residuos de cosecha, disminuyendo con el tiempo las concentraciones de carbono del suelo y al mismo tiempo acelerando las emisiones de CO₂ que favorecen el calentamiento global. Es por ello que se planteo evaluar una técnica, aun no evaluada en Venezuela, que permita contribuir al secuestro del carbono del suelo y mantener una estabilización de las emisiones de CO₂. Una técnica que se fundamenta en la producción del biochar ó material carbonizado, obtenido por pirólisis de materiales vegetales subproducto de la silvicultura. Para tal fin se propuso evaluar el efecto a corto plazo de la mineralización del biochar de pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) en un suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. Consistiendo en la producción y caracterización del biochar bajo proceso de pirólisis lenta a 450°C, y su posterior incorporación en el suelo en un experimento de incubación de 180 días bajo un diseño totalmente aleatorizado para un factor, con 3 niveles cada uno con tres replicas en laboratorio bajo condiciones controladas (25°C). El factor tratamiento está formado por tres niveles, estos niveles son: 1.- Suelo Control ó Testigo, 2.- Suelo+Biochar y 3.- Suelo+Pino (material de partida) en un suelo de pH fuertemente ácido (4,80). Los resultados muestran que el material obtenido por pirólisis o biochar tuvo un incremento de su concentración de CO, constituido principalmente por enlaces de carbono aromáticos, debidos al reordenamiento de enlaces químicos en los compuestos de celulosa, hemicelulosa y lignina, originando un material recalcitrante, de estructura física porosa, con aumentos del pH, de las concentraciones de Ca, Mg y K intercambiables y de la CIC. La incorporación del biochar produjo incrementos del pH del suelo en los primeros 28 días de incubación, así como de la CIC durante los días 87 y 180 del experimento, posiblemente debido a los contenidos de bases intercambiables del biochar. Por otro parte, el suelo con biochar presento la CE más baja. En tal sentido, las propiedades químicas evaluadas durante los 180 días de incubación indican que el biochar de pino caribe muestra un potencial de uso como enmienda y mejorador de la fertilidad del suelo. Adicionalmente el biochar estimulo la respiración y la biomasa microbiana del suelo promovidos por la incorporación de carbono lábil en el material y consecuente aumento del carbono hidrosoluble del suelo. Al comparar la intensidad de mineralización del CO del suelo entre tratamientos, el biochar genera un efecto positivo sobre esta actividad en el periodo entre los días 3 y 56 del experimento, con un posible efecto negativo sobre la mineralización del CO del suelo durante las primeras 24 horas en comparación al control, indicando un efecto inhibitor que se traduce en un posible secuestro de carbono en el suelo. El efecto positivo en la mineralización del CO del suelo, se consideraría que no compromete la posibilidad de un secuestro de carbono del suelo, ya que el biochar puede aportar CO al suelo.

Palabras claves: Biochar, pirólisis, mineralización del CO, secuestro del carbono.

ABSTRACT

The rapid population growth, linked to consumption, degrades the environment with great speed. In this, humans are manager of their own poison, implementing inadequate soil management, like excessive tillage and fertilization with low return of crop residues to soil, decreasing over time the soil carbon concentrations while accelerating CO₂ emissions that promote global warming. That is why we evaluate a technique almost not investigated in Venezuela, allowing contribute to soil carbon sequestration and maintain stabilization of CO₂ emissions. A technique based on the production of biochar or carbonized material that is obtained by pyrolysis of plant materials byproduct of forestry. In this research we evaluated the short-term mineralization of biochar obtained from Caribbean pine (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) in an acidic soil from the Mesa de Guanipa, Anzoátegui state. Characterization of biochar obtained under process of slow pyrolysis at 450 °C was done previous to its incorporation into the soil. A laboratory incubation experiment of 180 days was established under a completely randomized design, with 3 levels each and three replicates in controlled conditions (25 °C). Treatment factor consists of three levels: 1. Soil Control, 2. Soil+Biochar and 3. Soil+Pino (fresh biomass) applied in a strongly acidic soil of pH 4.80. The results show that the material obtained by pyrolysis or biochar had an increase in CO concentration, consisting mainly in linked aromatic carbon, due to rearrangement of chemical bonds in the compounds of cellulose, hemicellulose and lignin, resulting in a recalcitrant material, of porous physical structure, which had an increase in its own pH value and exchangeable concentrations of the bases Ca, Mg and K and also in CIC. The incorporation of biochar increased soil pH during the first 28 days of incubation, as well as the CIC during days 87 and 180, possibly due to the content of exchangeable bases in biochar. The soil with biochar has the lowest CE. These results indicate that biochar obtained from Caribbean pine at 450 °C has a potential use as an amendment to increase soil pH and enhancing soil fertility. Additionally, biochar stimulated soil respiration and soil microbial biomass probably due to labile carbon incorporation of the material and consequent increase of the water soluble soil carbon. By comparing the intensity of soil organic carbon mineralization between treatments, perhaps biochar created a positive effect on this activity in the period between days 3 and 56 of the experiment, with a possible negative effect on the soil organic carbon mineralization during the first 24 hours compared to the control, indicating an inhibitory effect which results in a possible carbon sequestration in soil. However, the positive effect on the soil organic carbon mineralization could not compromise the possibility of soil carbon sequestration, as the biochar can incorporate CO to soil.

Key words: Biochar, pyrolysis, mineralization CO, sequestration carbon.

DEDICATORIA

Dedicado a:

Nelson "NENO" (mi padre),

Por brindarme su apoyo incondicional,

fuerza impulsora y motivacional.

AGRADECIMIENTOS

En el mundo de la investigación se requiere la contribución de grupos multidisciplinarios con una perspectiva holística, que sin ellos es complejo completar cada una de las diferentes fases de la investigación planteada y dar respuesta a los enigmas. Considero importante expresar mi gratitud:

A Dios por darme la fortaleza para culminar este trabajo, “*Puede que el justo caiga hasta siete veces, y ciertamente se levantara*” (Proverbios 24:16).

A Zuleika González y Nelson Palma (mis padres) por ser la gasolina que impulsa el gran motor que mi vida debe transitar y al retroceder en el tiempo actualmente me percató que el enigma de esta investigación está enmarcado en las acciones de ver a mi padre, incorporar restos de carbón vegetal a las plantas de la casa, días después de compartir una parrillada familiar. Reafirmando que el tiempo de Dios es totalmente perfecto, al grado de lograr la materialización del título de esta investigación, hoy por hoy el llamado carbón vegetal, conocido científicamente en el mundo de la Ciencia del Suelo como BIOCHAR, tema que está generando mucha investigación en el presente.

Al Dr. Juan Carlos Aciego (Tutor) por toda su ayuda en el desarrollo de esta investigación y acceder ser el maquinista de una interrogante que se me generó durante mis estudios de cuarto nivel.

Gracias a los Doctores Philip Brookes y Saran Sohi (UK) y Thomas Greve (Alemania) especialistas en el área, por suministrarnos referencias bibliográficas y recomendaciones en los inicios de la búsqueda de materiales (biomasa vegetal) y técnicas que pudiera ser empleadas.

A la Dra. Carmen Rivero y Dr. Jorge Paolini (Asesores académicos de este trabajo), por sus recomendaciones en las distintas etapas de su desarrollo.

Al Ing. Agro. Carlos Marín del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícola (INIA), por su asesoría en la parte estadística.

Al profesor Jesús Batista de la Fundación para el Desarrollo y Asesoría en Tecnología, por su colaboración en la producción del biochar.

A las profesoras de la Universidad Central de Venezuela, Liliana López, Patricia Lugo, Karla Quintero (Facultad de Ciencia de la Tierra, UCV), María Antonieta Ranaudo y Lola de Lima (Facultad de Química, UCV), por su cooperación en la utilización de los equipos de análisis elemental, espectroscopia infrarroja y el asesoramientos en la identificación de los grupos funcionales. Genlis Mejias (Facultad de Ingeniería, UCV), por su asistencia en el uso del microscopio electrónico de barrido en el Laboratorio Nacional de Microscopia y Microanálisis, y a la profesora Damelis Jauregui (Departamento de Botánica, UCV), por el asesoramiento en las imágenes de microscopia obtenidas del material de partida y biochar.

Al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), especialmente a los Doctores. Jorge Paolini y José Vicente Montoya por su apoyo incondicional en el Laboratorio de Ecología de Suelo, para la determinación del carbono hidrosoluble del suelo, mediante la utilización de un analizador de carbono.

Al personal técnico del Instituto de Edafología, UCV (Maracay), específicamente a Julio Parra, Marilyn Aular, Yessenia Torres y Rosalba Mora, por el apoyo prestado en los diferentes análisis de laboratorio.

También me complace agradecer la acogida y los apoyos recibidos del personal docente y administrativo del Postgrado en Ciencia del Suelo.

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo.

A todos mil gracias!!!

“Olvidando las cosas que quedan atrás, y extendiéndome hasta adelante a las cosas más allá, prosigo hacia la meta” (Filipenses 3:13,14) y esto es una muestra...

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
TABLA DE CONTENIDOS	vi
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
CAPITULO I.....	4
La producción del biochar partiendo de virutas de la especie pino caribe (<i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>) por técnica de pirólisis.	4
INTRODUCCIÓN	4
El Biochar	4
Los procesos de pirólisis de biomasa vegetal.	5
Relación entre la composición química de la biomasa vegetal y las diferencias de las temperaturas de pirólisis.....	6
Equipos utilizados en la producción del biochar.	8
OBJETIVO ESPECÍFICOS	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
Materia prima (biomasa vegetal) para la producción del biochar.....	9
Determinaciones de los contenidos de celulosa, hemicelulosa y lignina de las virutas de <i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i> (materia prima).	10
Proceso de producción del biochar de <i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
Contenidos de celulosa, hemicelulosa y lignina de las virutas de <i>Pinus caribaea</i>	11
Producción del biochar de <i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>	12
CONCLUSIONES.....	15
CAPITULO II.....	16

Composición química, estructura física y caracterización de las propiedades químicas de la biomasa vegetal y biochar de la especie pino caribe (<i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>).....	16
INTRODUCCIÓN	16
Composición química (grupos funcionales presentes en la estructura química) del biochar.....	16
La estructura física del biochar.....	17
La caracterización de las propiedades químicas del biochar.....	18
OBJETIVO ESPECÍFICOS	19
MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
Espectroscopia infrarroja-transformada de Fourier (FT-IR).	20
Microscopia electrónica de barrido (SEM).	20
Caracterización de las propiedades químicas.....	20
pH y CE.....	20
Concentración de carbono orgánico total (% COT) y nitrógeno total (% N Total).	20
C/N.	21
Concentración de Carbono orgánico disuelto (COD).	21
Capacidad de Intercambio catiónico (CIC) y concentración de bases intercambiables.	21
Análisis estadístico.....	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
Composición química (grupos funcionales presentes en la estructura química) de la biomasa vegetal y biochar de <i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>	22
Caracterización de la estructura física de la biomasa vegetal y del biochar de <i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>	27
Caracterización de las propiedades químicas de la biomasa vegetal y del biochar de <i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>	29
pH y CE.....	29
Concentraciones de COT.	31
Carbono Orgánico Disuelto (COD).....	32
Concentraciones de N Total.....	33
Relación C/N.	34
Capacidad de Intercambio Cationico (CIC).	34
Bases (Ca, Mg y K) intercambiables.....	35
CONCLUSIONES.....	35
CAPITULO III.....	37

El efecto de la incorporación del biochar de la especie pino caribe (<i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>) sobre las propiedades químicas de un suelo.....	37
INTRODUCCIÓN	37
Efectos del biochar en las propiedades químicas del suelo.	37
OBJETIVO ESPECÍFICOS	39
MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
Características Generales de la zona.....	39
Características del sitio de estudio.	39
Muestreo del suelo.	41
Tamizado y pre-tratamiento del suelo.....	41
Diseño experimental.	41
Métodos Analíticos	42
pH y CE.....	42
Bases intercambiables y Capacidad de Intercambio Cationico (CIC).....	42
Análisis estadístico.	43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
Cambios del pH en los tratamientos.	45
Cambios de la CE en los tratamientos.....	47
Cambios en las bases intercambiables y Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) en los tratamientos.	49
Efecto de la incorporación del biochar en las propiedades químicas del suelo visto mediante el análisis de componentes principales (gráfica de doble representación: biplot).....	52
CONCLUSIONES.....	55
CAPITULO IV	56
El efecto de la incorporación del biochar de la especie pino caribe (<i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>) sobre las propiedades microbiológicas del suelo.	56
INTRODUCCIÓN	56
Efecto del biochar en las propiedades microbiológicas del suelo.	56
OBJETIVO ESPECÍFICOS	57
MATERIALES Y MÉTODOS.....	57
Diseño experimental.	57
Métodos Analíticos.	58

Carbono Hidrosoluble del suelo (CHS)	58
Biomasa microbiana: Fumigación-Extracción.....	58
Respiración microbiana (C-CO ₂ liberado).....	59
Respiración específica (<i>q</i> CO ₂).....	60
Análisis estadístico.....	60
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	60
Carbono hidrosoluble en los tratamientos.....	60
Carbono de la biomasa microbiana (C-BM) en los tratamientos.....	62
Actividad microbiana en los tratamientos.....	64
La respiración específica (<i>q</i> CO ₂).....	67
Efecto de la incorporación del biochar en las propiedades microbiológicas del suelo visto mediante el análisis de componentes principal (gráfica de doble representación: biplot).	69
Posible estímulo de la mineralización del carbono orgánico nativo del suelo, producto de la incorporación del biochar.....	72
CONCLUSIÓN.....	74
CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN GENERAL.....	75
LITERATURA CITADA	76

LISTA DE CUADROS

CAPITULO I

CUADRO I. 1. Análisis bromatológico de las virutas de *Pinus caribaea*..... 11

CAPITULO II

CUADRO II.1.- Caracterización de bandas de espectros de infrarrojo de la biomasa vegetal de *Pinus caribaea var. hondurensis*..... 24

CUADRO II.2.- Caracterización de bandas de espectros de infrarrojo del biochar de *Pinus caribaea var. hondurensis* producido con técnicas de pirólisis a 450°C..... 24

CUADRO II 3.- Características de las propiedades químicas de la biomasa vegetal y biochar de *Pinus caribaea var. hondurensis*. 30

CAPITULO III

CUADRO III 1. Propiedades físico-químicas del suelo de la estación experimental Anzoátegui (INIA-El Tigre). 40

CUADRO III 2. Cambios del ph del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, durante la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe (*Pinus caribaea var. hondurensis*)..... 46

CUADRO III 3. Cambios del ce del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, durante la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe (*Pinus caribaea var. hondurensis*)..... 48

CUADRO III 4. Cambios de concentración de ca^{+2} y mg^{+2} intercambiables del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, durante la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe (*Pinus caribaea var. hondurensis*). 50

CUADRO III 5. Cambios de concentración de k^{+} y na^{+} intercambiables del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, durante la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe (*Pinus caribaea var. hondurensis*). 51

CUADRO III 6. Cambios en la capacidad de intercambio cationico (cic) del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, durante la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe (*Pinus caribaea var. hondurensis*). 52

CUADRO III 7. Valores propios y proporción de la varianza total de los componentes principales generados a partir de los datos estandarizados..... 53

CUADRO III 8. Coeficientes de correlación de las variables químicas del suelo y los tratamientos (control, suelo+biochar y suelo+pino), para los 3 componentes principales.....	53
---	----

CAPITULO IV

CUADRO IV 1. Valores propios y proporción de la varianza total de los componentes principales generados a partir de los datos estandarizados.....	70
CUADRO IV 2. Coeficientes de correlación de las variables químicas del suelo y los tratamientos (control, suelo+biochar y suelo+pino), para los 3 componentes principales.....	70

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

- FIGURA I. 1. Ciclo térmico de calcinación de biomasa de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. 13
- FIGURA I. 2. Biomasa vegetal y biochar de pino caribe producido a 450°C 14

CAPITULO II

- FIGURA II. 1. Espectroscopia infrarroja-transformada de fourier (FT-IR) de la biomasa vegetal de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. 23
- FIGURA II. 2. Espectroscopia infrarroja-transformada de fourier (FT-IR) del biochar de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* producido con técnica de pirólisis a 450°C. 23
- FIGURA II. 3. Micrografía electrónica de barrido (sem) de la epidermis de la viruta de pino caribe y biochar producido a 450°C 28

CAPITULO III

- FIGURA III 1. Representación de los componentes principales del efecto de la incorporación del biochar de pino caribe en las propiedades químicas del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. 54

CAPITULO IV

- FIGURA IV. 1. Efecto de la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe sobre el chs en suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui.... 61
- FIGURA IV. 2. Efecto de la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe sobre el C-BM en suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. . 63
- FIGURA IV. 3. Efecto de la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe sobre el C-CO₂ acumulado en suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui..... 65
- FIGURA IV. 4. Efecto de la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe sobre la liberación de C-CO₂ instantánea del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui..... 66
- FIGURA IV. 5. Efecto de la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe sobre la respiración específica (q_{CO_2}) de un suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui..... 69

FIGURA IV. 6. Representación de los componentes principales del efecto de la incorporación del biochar de pino caribe en las propiedades microbiológicas del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui.....	72
FIGURA IV. 7. Posible efecto priming del carbono orgánico nativo del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, después de la incorporación del biochar de pino caribe	74

INTRODUCCIÓN GENERAL

A finales del siglo 19, exploradores europeos encontraron en la Amazonia brasilera manchas oscuras en los suelos. Estos suelos fueron denominados *terra-preta do indio* (tierra negra en portugués) que se cree que fueron creados por las comunidades indígenas como producto de una técnica denominada tala y quema, la cual consiste en someter biomasa vegetal a una quema a baja temperatura, un proceso que técnicamente se conoce como pirólisis. Se estima que estos suelos se formaron en periodos de aproximadamente 40 - 50 años (Lehmann y Rondon, 2006; Winsley, 2007). Dichos suelos son muy fértiles y permiten obtener grandes rendimientos de cultivos, en comparación a los suelos circundantes que son menos fértiles (Renner, 2007).

La concentración de la materia orgánica en dichos suelos fue estimulada por el hecho de que contienen gran cantidad de carbono pirogénico, el cual se conoce actualmente con el término de biochar (Lehmann *et al.*, 2002; 2006). Fabiano *et al.* (2012) señalan que en *terra-preta do indio*, existen fracciones que contienen carbono pirogénico en grandes cantidades. El carbono pirogénico es la fracción de materia orgánica del suelo con la más alta vida media en la tierra (Pessenda *et al.*, 2004). La misma se forma por la incineración de la biomasa, mediante una combustión incompleta de la materia orgánica (Renner, 2007; Woods y Denevan, 2009; Ferreira *et al.*, 2009).

En los suelos antrópicos de la Amazonia, la materia orgánica se compone aproximadamente del 35% de carbono pirogénico (Neves *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2009), existiendo en la fracción ligera y pesada de la materia orgánica las más altas concentraciones de carbono pirogénico, incrustado dentro de las capas de óxidos de hierro y aluminio y sobre la superficie del mineral arcilloso tipo caolinita (Ferreira *et al.*, 2009).

Los suelos de *terra-preta do indio* no solo muestran una concentración de carbono orgánico dos veces mayor si se comprara con suelos de la Amazonia que no son

del tipo *terra- preta do indio*, sino también una más alta capacidad de intercambio catiónico (CIC), a la esperada a partir de la suma de la actividad coloidal de la materia orgánica y los minerales de arcillosos tipo caolinita (Sombroek *et al.*, 1993).

Según Glaser *et al.* (2001), la oxidación en los bordes del núcleo aromático del carbono pirogénico (biochar) produce grupos carboxílicos, que están implicados en la formación de complejos órgano-minerales, y contribuyen con sitios de intercambio por cationes.

Es por esto que los suelos de *terra-preta do indio*, han sido de gran interés para los investigadores por representar un importante reservorio de carbono estable, que puede extenderse a profundidades de 0,5 a 2 metros y de esta manera mitigar el aumento de las concentraciones atmosféricas de CO₂, y jugar un papel importante en la fertilidad del suelo, especialmente cuando existen alteraciones químicas y biológicas. Esto significa que, el carbono pirogénico (biochar) es una opción eficaz, viable y sostenible en el secuestro del carbono en los suelos agrícolas (Vaccari *et al.*, 2011) y es una opción de mitigar los efectos del cambio climático.

En tal sentido, en el presente trabajo de investigación se espera que a partir de biomasa de pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) se pueda obtener un biochar a 450°C, que tenga características y composición química que, luego de un corto periodo después de su incorporación al suelo, pudieran elevar el pH e incrementar la CIC del suelo; así como también la biomasa y actividad microbiana, debido a que las concentraciones del carbono orgánico disuelto (COD) en el biochar pudieran ser un estímulo para los microorganismos; sin embargo, se espera que este efecto sea en los primeros días de su incorporación.

Para comprobar esta hipótesis, se realizó un experimento de incubación durante 180 días en condiciones controladas de laboratorio, enmarcado en los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

- ✓ Evaluar el efecto a corto plazo de la mineralización del biochar de pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) en un suelo con pH extremadamente bajo de la Mesa de Guanipa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Producir biochar utilizando virutas de pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) por técnica de pirólisis a temperatura de 450 °C.
- ✓ Caracterizar las propiedades químicas (pH, concentraciones de carbono orgánico y nitrógeno total, relación C/N, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, bases intercambiables, carbono orgánico disuelto), estructura física y composición química (grupos funcionales presentes en la estructura química) del biochar.
- ✓ Determinar el efecto de la incorporación del biochar sobre las propiedades químicas del suelo medidas a través del pH, conductividad eléctrica, concentración de bases intercambiables y capacidad de intercambio catiónico.
- ✓ Determinar el efecto de la incorporación del biochar sobre las propiedades microbiológicas del suelo, medidas a través de la liberación de CO₂ del suelo y de la concentración del carbono de la biomasa microbiana.

CAPITULO I

La producción del biochar partiendo de virutas de la especie pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) por técnica de pirólisis.

INTRODUCCIÓN

El Biochar

El biochar (término inglés, ahora también usado en español) es el producto de la degradación térmica de los materiales orgánicos (es decir, la biomasa originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizando fuente renovable de energía, la cual tiene carbono fijado de la atmósfera en su composición, debido a las transformaciones químicas de la energía solar, por medio de la fotosíntesis) en ausencia de aire (pirólisis) y a temperaturas relativamente bajas (≤ 700 °C) (Lehmann y Joseph, 2009; Lehmann *et al.*, 2011). A temperaturas mayores a 700°C, se produce gasificación, por lo que estas temperaturas son menos apropiadas, ya que producen cantidades mucho menores de biochar, o ninguno en absoluto (Lehmann, 2007). Además, el biochar se distingue del carbón vegetal por presentar un gran potencial para mejorar la producción agronómica, cuando se aplica como una enmienda del suelo (Laird *et al.*, 2009).

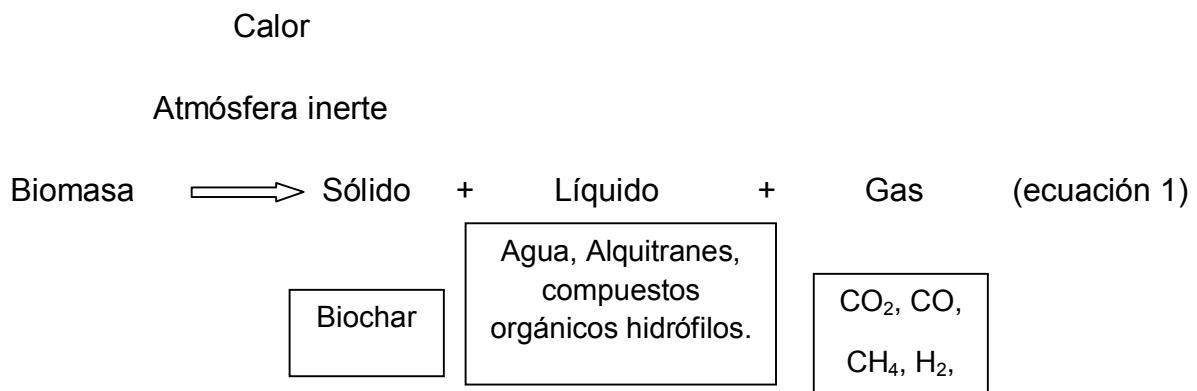
Se ha propuesto el uso del biochar como una posible práctica o enmienda para mejorar la fertilidad integral del suelo (Lehmann *et al.*, 2006), por cuanto mejora su estructura, la retención de humedad, aumenta la disponibilidad de nutrientes, aumenta el pH y reduce la toxicidad del aluminio en las raíces de las plantas; además, puede ayudar a reducir la biodisponibilidad de metales pesados (Winsley, 2007). Sin embargo, no todos los materiales de desechos agrícolas son adecuados para la producción de biochar como enmienda del suelo, por ser ineficaz en generar diferencias en las respuestas de los suelos y cultivos (Lehmann *et al.*, 2006; McHenry, 2009).

Por otra parte, la efectividad del uso de biochar como una herramienta para mitigar los efectos del cambio climático se basa en su recalcitrancia en relación a su descomposición microbiana y por lo tanto en su transformación lenta de carbono orgánico a dióxido de carbono (CO₂) de la atmósfera (Lehmann, 2007). Este tipo de carbono puede mantenerse por largo tiempo secuestrado en el suelo, debido a que el biochar tiene una concentración aproximada de carbono de alrededor de 70 - 80% (Winsley, 2007), por lo que contribuiría a disminuir o retardar el incremento del calentamiento global (Luo *et al.*, 2011).

Los procesos de pirólisis de biomasa vegetal.

Tradicionalmente, los hornos hechos de tierra, de ladrillo o de acero se han utilizado para producir carbón vegetal. Sin embargo, estos hornos representan una condición medioambiental negativa debido a que se relacionan con la deforestación y la contaminación del aire (Kammen y Lew, 2005; Laird *et al.*, 2009). En un esfuerzo de combatir la emisión de gases de efecto invernadero, hoy en día se han diseñado equipos pirolizadores, que se fundamentan en un proceso termoquímico de transformación de la biomasa, mediante la aplicación de la energía (calor) y en ausencia de oxígeno.

En el proceso de pirólisis (ecuación 1), se diferencian tres productos: sólido, líquido y gas. El sólido, denominada como biochar, es generalmente de alta concentración de carbono y representa alrededor de la mitad del total del carbono de la materia orgánica original. Las sustancias volátiles, pueden ser parcialmente condensadas y generar una fracción líquida (Bio-aceite), permaneciendo una mezcla de los llamados gases no condensables (Demirbas y Arin, 2002).



Demirbas y Arin (2002) y Yaman (2004), consideraron que cada uno de los tres productos de la pirólisis (vista en la ecuación anterior) tendría propiedades y usos que proporcionan un valor del proceso, considerando que para obtener biochar, se utilizan una baja temperatura y un proceso de baja velocidad de calentamiento. En el caso de maximizar el rendimiento de líquidos como producto del proceso de la pirólisis de biomasa, se necesita baja temperatura, pero la velocidad de calentamiento debe ser alta, por lo que el tiempo de residencia del gas es muy corto. Finalmente, si el objetivo es maximizar el rendimiento de gas resultante de la pirólisis, sería preferible utilizar altas temperaturas, baja velocidad de calentamiento y residencia del gas por largo tiempo.

Resumiendo, los rendimientos de los productos finales de la pirólisis están determinados por la composición química del material de partida (biomasa vegetal), tamaño de partículas, temperatura, velocidad de calentamiento y el equipo para realizar la pirólisis.

Relación entre la composición química de la biomasa vegetal y las diferencias de las temperaturas de pirólisis.

La materia prima utilizada actualmente en centros de investigación especializados en la producción de biochar incluyen virutas de maderas, corteza de árboles, residuos de cultivos (incluidas las cáscaras de frutos secos, cáscara de arroz), pastos, bagazo de caña de azúcar, residuos de la industrias de aceitunas, entre otros, diferenciándose en las cantidades relativas de celulosa, hemicelulosa y lignina (Yaman, 2004; Titirici *et al.*, 2007; Steinbeiss *et al.*, 2009; Luo *et al.*, 2011; Zimmerman *et al.*, 2011; Cross y Sohi, 2011; Jones *et al.*, 2011).

En tal sentido, las proporciones químicas de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina) en la biomasa vegetal y las condiciones de producción, específicamente la temperatura de pirólisis determinan las proporciones del biochar (Sohi *et al.*, 2009; Brown, 2009). Debido a las diferencias estructurales, cada componente químico de la pared celular en las biomásas se descompone a diferentes velocidades cuando se expone a diferentes temperaturas.

Por ejemplo, la celulosa es más resistente a la descomposición térmica que la hemicelulosa, mientras que la lignina es más difícil de descomponer que la celulosa y la hemicelulosa, debido a sus composiciones químicas (Demirbas, 2004). La celulosa es un polímero, formado por muchos restos de β – glucosa, enlazados entre sí por puentes de oxígeno que unen los átomos de carbono 1 y 4, de cada dos consecutivos, formando una larga cadena. La unidad de repetición de polímero de celulosa es celobiosa, que consta de dos unidades de glucosa anhidra, que a su vez se unen para componer la larga cadena lineal del polímero de celulosa (Sandemann, 1968; López, 2000; García *et al.*, 2003, Brown, 2009), donde el número de unidades de glucosa en una cadena de celulosa se conoce como el grado de polimerización (DP). El DP promedio para celulosa es del orden de 80.000 – 10.000 (Brown, 2009)

Por otra parte, el acoplamiento de moléculas de celulosa adyacentes por hidrógeno y enlaces fuertes de Van der Waals resulta en una alineación paralela de celulosa dando una estructura cristalina. En la celulosa existen como hojas de anillos de glucopiranososa en un plano con hojas sucesivas apiladas en la parte superior de uno al otro para formar partículas tridimensionales que se agregan en fibrillas elementales con una anchura cristalina de 4 a 5 η m. Por lo que esta disposición de micro fibrillas de celulosa cristalina hace más resistente a la descomposición térmica que la hemicelulosa (Brown, 2009; Saccarello, 2010).

En el caso de la hemicelulosa, está constituida por un gran número de heteropolisacaridososa a partir de hexosas (glucosa, manosa y galactosa) y pentosas (xilosa y arabinosa) y desoxihexosas, las cuales se encuentran estrechamente asociados con la celulosa. (López, 2000; Mogollon *et al.* 2008; Brown, 2009). Por lo que en la estabilidad térmica, la hemicelulosa es inferior a la celulosa debido a su falta de cristalinidad y menor DP, que es solo de 100 a 200 (Sandermann, 1968; Brown, 2009; Saccarello, 2010).

Además de la holocelulosa (celulosa + hemicelulosa) la pared celular contiene una sustancia amorfa, altamente polimerizada, llamada lignina, la cual es un polímero fenólico de unidades fenil-propano (C_6-C_3) unidas entre sí por enlaces de carbono-

carbono (C-C) y éter (C-O-C); de estructuras amorfas regularmente tridimensionales, lo que conduce a un gran número de posibles interconexiones entre las unidades individuales (Mogollón *et al.*, 2008; Brown, 2009). El número de monómeros que contiene la molécula de lignina han arrojado datos muy dispares, entre 800 y 4.500, debido a la formación de los enlaces C-C, lo cual significa que existen ligninas con distintos DP (García *et al.*, 2003).

Entonces, los haces de fibrillas de celulosa están incrustadas en una matriz de hemicelulosa y la lignina se encuentra principalmente en el exterior de microfibrillas donde se une de manera covalente a la hemicelulosa (Brown, 2009). Estos componentes son modificados durante el proceso de pirólisis, ya que a temperaturas superiores a 120 ° C, los materiales orgánicos comienzan a sufrir alguna descomposición térmica, perdiendo el agua químicamente unida. La celulosa sufre descomposiciones térmicas a temperaturas entre 240 a 350 ° C, la hemicelulosa desde 200 a 260 ° C, y lignina desde 280 a 500 ° C (Downie *et al.*, 2009). Por lo tanto, si el objetivo es maximizar los rendimientos del biochar, los materiales vegetales más adecuados serían los de alto contenido de lignina. Esto se atribuye al comportamiento de la celulosa durante la degradación térmica, como se ha descrito anteriormente, que apenas deja residuo carbonoso. Por el contrario, a mayores contenidos de lignina en la biomasa inicial mayor será el rendimiento en peso del biochar debido a la gran estabilidad térmica que presenta (Brown, 2009).

Equipos utilizados en la producción del biochar.

Diferentes equipos de pirólisis actualmente se han venido diseñando para la producción del biochar a nivel de centros de investigaciones. Por ejemplo, Luo *et al.* (2011) utilizaron un horno CARBOLITE CWF 1200, para producir biochar de *Miscanthus* (*Miscanthus giganteus*) con temperaturas de 350 y 700°C y una velocidad de calentamiento de 1°C min⁻¹.

Zimmerman *et al.* (2011) mediante un reactor obtuvieron biochar de madera de roble (*Quercus laurifolia* Michx), pino (*Pinus taeda* (L)) y bubinga (*Guibourtia demeusei*), además de pasto (*Tripsacum dactyloides*) y bagazo de caña de azúcar

(*Saccharum officinarum*) usando como medio de activación de la muestra un sistema de flujo continuo de N₂ (para provocar la formación de poros) y diseñando dos procedimientos: uno para obtener biochar de baja temperatura (250 °C temperatura atmosférica y 400°C para el sistema de flujo continuo) y otro para biochar de alta temperatura (525 °C temperatura atmosférica y 650°C para el sistema de flujo continuo).

Cross y Sohi (2011) obtuvieron biochar de bagazo de caña de azúcar en un horno por pirólisis lenta manteniendo en promedio una velocidad de calentamiento de 5-10 °C min⁻¹, a diferentes temperaturas finales de 350, 450 y 550°C con un tiempo de residencia en promedio de 20, 40 y 80 minutos, respectivamente, especificaciones que variaron dependiendo del material de partida.

En general, es importante realizar una caracterización del material final, ya que sus propiedades varían en función de la biomasa (material de partida), velocidad de calentamiento, temperatura en el proceso y tiempo de residencia.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

Producir biochar utilizando virutas de pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) por técnica de pirólisis a temperatura de 450 °C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima (biomasa vegetal) para la producción del biochar.

La materia prima fue obtenida de desechos (virutas) de la especie pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*), de plantas provenientes de una plantación de aproximadamente 20 años (Gámez, entrevista personal, 2012). Esta especie de madera corresponde al grupo de las coníferas y es considerada como madera blanda, ligera, de crecimiento rápido, color claro, fácil de trabajar, procedentes de los árboles que pertenecen al grupo biológico de las gimnospermas (Zanni, 2004; Carpuz, 2005).

La selección de esta biomasa vegetal como materia prima para la obtención de biochar, se justificó por ser la principal conífera que se produce al sur de los estados Monagas y Anzoátegui. En ese sentido, el anuario de estadística forestal del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (2010), indica que la producción nacional de madera en rola para el año 2008, fue de 1.501.732,800 m³ Of (Metros Cúbicos Oficiales), y se destaca que el mayor aporte a la producción nacional de madera proviene de las plantaciones forestales de *Pinus caribaea*, ubicadas en estas entidades con 1.251.971,000 m³ Of, representando el 83,86% para ese año.

Además, otro criterio considerado para la selección del pino caribe es el de ser una planta C3, es decir, que la fijación fotosintética del carbono es catalizada por la RuBisCo (Ribulosa 1,5 bisfosfato carboxilasa/oxigenasa) y el primer producto estable es un compuesto de 3 carbonos. Por consiguiente, plantas de este tipo presentan un punto de compensación de dióxido de carbono (CO₂) entre 20 y 100 μL/L, es decir, mayor en comparación a las plantas C4 (0 a 5 μL/L), debido a que está asociado con la presencia de fotorespiración, virtualmente ausente en las plantas C4 (Pérez, 2010).

A pesar de que las plantas C3 no son tan eficientes fotosintéticamente como las plantas C4, por presentar dos vías de fijación del CO₂ (PEP carboxilasa y la RuBisCo), las concentraciones de carbono del fuste (madera de árbol sin considerar la corteza) de pino caribe son aproximadamente del 50% (Palma, 2013).

Determinaciones de los contenidos de celulosa, hemicelulosa y lignina de las virutas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* (materia prima).

Las concentraciones de celulosa, hemicelulosa y lignina del material de partida o biomasa vegetal fueron determinados en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Central de Venezuela, de acuerdo al método de Van Soest *et al.* (1991).

Proceso de producción del biochar de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

La producción del biochar se realizó mediante el uso de biomasa vegetal de pino caribe, mediante técnica de pirólisis lenta (velocidad de calentamiento $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ a temperatura de 450°C) en un horno marca Mercurio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenidos de celulosa, hemicelulosa y lignina de las virutas de *Pinus caribaea*.

El análisis bromatológico (Cuadro I.1) de las virutas de *Pinus caribaea* indica que el núcleo de la pared celular está compuesta principalmente de tres clases de moléculas orgánicas que representan el 90,28 %, donde la celulosa y lignina son los componentes mayoritarios, con valores que se encuentran en el rango de 49,23 y 26,83%, respectivamente. El 14,22% restante le corresponde a los contenidos de hemicelulosa.

Cuadro I. 1. Análisis bromatológico de las virutas de *Pinus caribaea*.

Materia Prima	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	Σ
<i>Pinus caribaea</i> var.		%		
<i>hondurensis</i>	49,23	14,22	26,83	90,28

La concentración de celulosa obtenida en esta investigación se encuentra dentro del rango de 40-50% señalado por Saccarrello (2010) y López (2010) para las especies de maderas correspondiente al grupo de las coníferas y por debajo del valor del 42% para maderas blandas según su dureza según Ganduglia *et al.* (2009). La concentración de hemicelulosa obtenida está por debajo del rango entre 18,95% y 21% indicado por Mogollón (2003) y por Ganduglia *et al.* (2009) respectivamente, para maderas de especie de *Pinus caribaea*. Finalmente, la concentración de lignina se encontró dentro del rango de 25-30% indicado por Ganduglia *et al.* (2009) y Saccarrello, (2010), pero por debajo del 29,51% señalado por Mogollón (2003) para maderas de esta especie. Las diferencias en

las concentraciones en alguno de los componentes de la biomasa vegetal (materia prima) con los señalados por otros investigadores dentro de una misma especie, se deben al tipo de suelo, condiciones climáticas y el tiempo de cosecha (Brown, 2009). En general, se puede inferir a partir del análisis bromatológico de este trabajo y de otras investigaciones que la madera correspondiente al grupo de las coníferas y en especial de la especie de *Pinus caribaea* se compone principalmente de celulosa, lignina y en menor proporción de hemicelulosa.

Así mismo, la concentración calculada de holocelulosa (celulosa + hemicelulosa) sería de 63,45% con un 26,83% de lignina (Cuadro I.1). Resultado que se asemejan a los valores promedio de holocelulosa y lignina (69,48% y 29,56%, respectivamente) de la pulpa de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* de maderas de 15 a 18 años de edad encontrados por Fuenmayor *et al.* (2010). Datos que permiten confiar que la edad de cosecha de la madera utilizada en la presente investigación es de aproximadamente 20 años.

Producción del biochar de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

En la Figura I.1 se observa el ciclo térmico de la calcinación de la biomasa de pino caribe que se utilizó para esta investigación, esta gráfica fue obtenida ya que el horno, tiene acoplado un sistema automatizado para el registro de la temperatura y velocidad de calentamiento durante el proceso de pirólisis. Corroborando que el ciclo térmico establecido para la producción de biochar de pino caribe se incrementó automáticamente la temperatura a razón de 1°C por minuto, hasta llegar a 450°C, es decir, que el proceso de pirólisis se inició y finalizó a temperatura bajas, al igual que la velocidad de calentamiento. Condiciones que concuerdan con las utilizadas por Demirbas y Arin (2002), Yaman (2004), Lehmann y Joseph, (2009); Lehmann *et al.* (2011), que para obtener biochar, se deben utilizar rangos de baja temperatura (<700°C) con bajos aumentos de la velocidad de calentamiento, en una atmósfera inerte (en ausencia de aire).

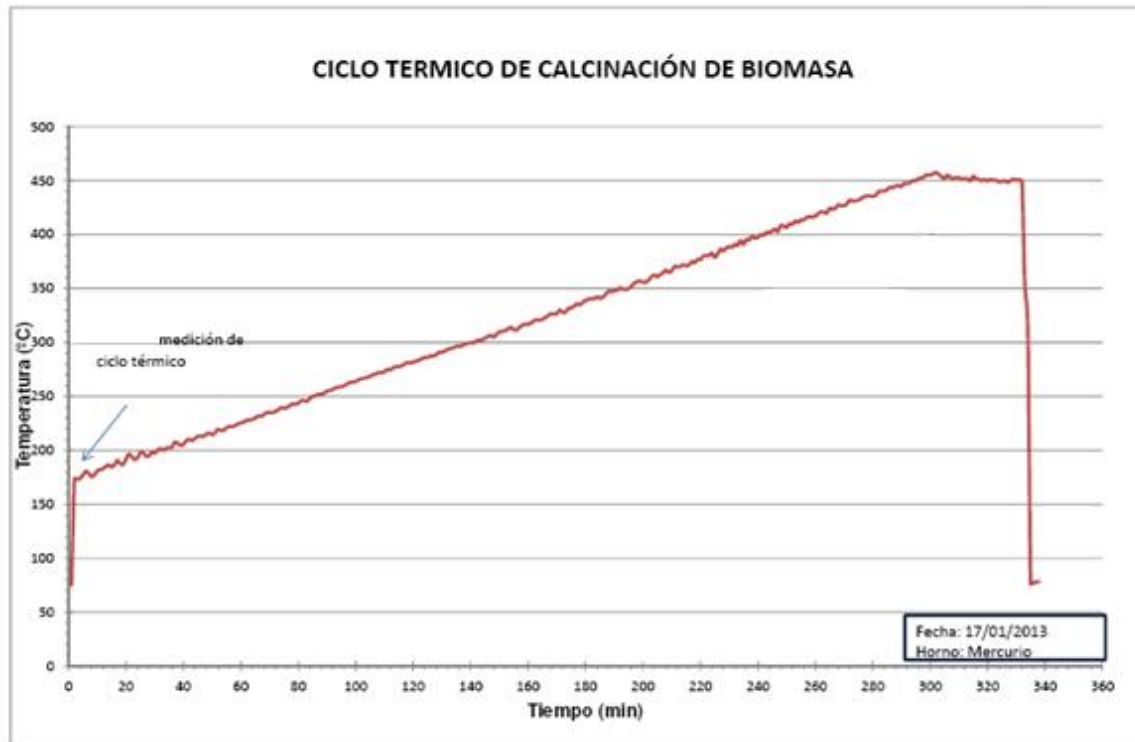


Figura I. 1. **Ciclo térmico de calcinación de biomasa de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.**

Es importante acotar que el acoplamiento del sistema automatizado de registro de la temperatura y velocidad de calentamiento, permite inferir que es un horno que trabaja parecido a los equipos de pirólisis como son el horno CARBOLITE CWF 1200, un reactor con sistema de flujo de N₂, etc., utilizados por Luo *et al.* (2011), Zimmerman *et al.* (2011) y Cross y Sohi (2011) que permitieron realizar un aumento gradual de la temperatura como en este caso.

Además, considerando que durante el proceso de pirólisis, se obtienen tres productos (biochar, líquido y gas), con el horno Mercurio y manteniendo el ciclo térmico anteriormente señalado en esta investigación (Figura I.1), se garantiza que del proceso de pirólisis se generó el biochar de pino caribe (Figura I.2),

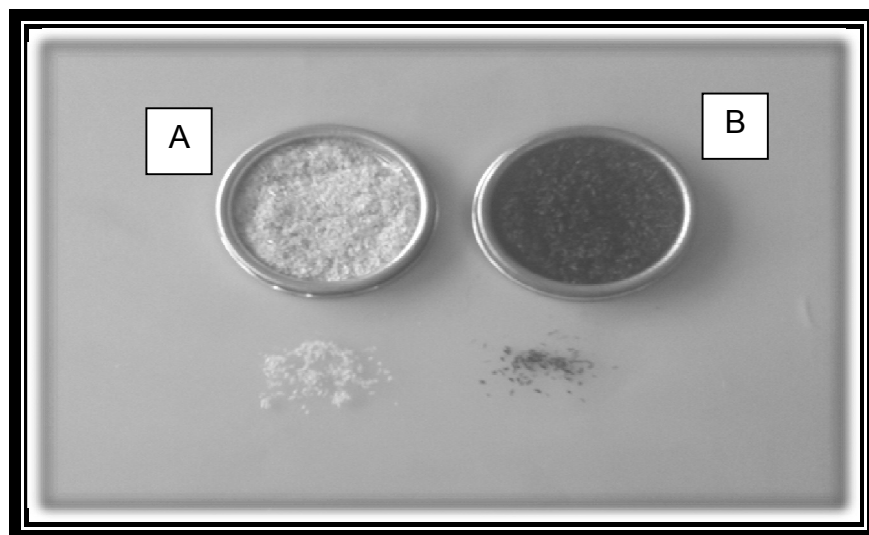


Figura I. 2. Biomasa vegetal (A) y Biochar de Pino Caribe producido a 450°C (B).

En cuanto a los líquidos y gases producidos en el proceso de pirólisis, el horno no contaba con un equipo acoplado que pudiera haber condensado los gases volátiles generados durante el proceso de pirólisis, para obtener los líquidos (Bio-aceite) y quedarán los gases no condensables. Sin embargo, se pudo constatar que durante el ciclo térmico ejecutado la permanencia de los gases volátiles fue al finalizar el proceso de pirólisis.

La liberación de estos gases es producto del reordenamiento de los átomos de carbono en una nueva estructura sólida (biochar), que se producen en un intervalo de temperatura de 200-500°C (McLaughlin *et al.* 2009), impactando directamente sobre la naturaleza química y física del biochar, ya que los componentes de la pared celular de la biomasa vegetal de la especie de pino caribe (Cuadro I.1) tienen patrones de descomposición térmica distintos en el proceso de pirólisis que dependen de la temperatura y velocidad de calentamiento (Downie *et al.*, 2009), principalmente debido al grado de polimerización de las diferentes estructuras químicas e incrustaciones de fibrillas y micro-fibrillas que existen entre la celulosa, hemicelulosa y lignina que componen la biomasa vegetal, como lo señalan Demirbas, (2004) y Brown, (2009). Por lo tanto, se supone que estas

degradaciones térmicas de la celulosa, hemicelulosa y lignina ocurrieron durante el proceso de producción del biochar.

CONCLUSIONES

Se logró producir el biochar de material vegetal de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, mediante técnica de pirólisis lenta (velocidad de calentamiento $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ a temperatura de 450°C), por lo que se cree que durante el proceso de pirólisis ocurrieron las degradaciones térmicas de celulosa, hemicelulosa y lignina, influenciando en las características químicas y físicas del biochar.

CAPITULO II

Composición química, estructura física y caracterización de las propiedades químicas de la biomasa vegetal y biochar de la especie pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*).

INTRODUCCIÓN

Composición química (grupos funcionales presentes en la estructura química) del biochar.

El biochar tiene un alto contenido de C, constituido principalmente por compuestos aromáticos. A consecuencia de la degradación térmica de la celulosa (entre 240 y 350 °C), existe una pérdida significativa de masa por la volatilización y la creación de una matriz de C esencialmente amorfa. Aproximadamente a los 330 °C, aparecen las primeras formas de C aromáticos y por encima de 350 °C, hojas de grafeno (sustancia formada por carbono puro, con átomos dispuestos en un patrón regular hexagonal, similar al grafito, pero en una hoja de un átomo de espesor) poliaromáticos comienzan a crecer a expensas de la matriz amorfa de C. Por encima de 600 °C, la carbonización se convierte en el proceso dominante, y se caracteriza por la eliminación de la mayoría de los restantes átomos distintos del C y las láminas de grafeno continúan creciendo lateralmente, y se unen finalmente, aumentando la concentración de C en la fase sólida (biochar) alrededor de 40 a 50% del peso inicial de materia prima, donde después del proceso de pirólisis (entre 240 y 600°C) la concentración de C puede alcanzar hasta un 70-80 % en peso, y 90% en peso después de los 600°C (Baldock y Smernik, 2002; Antal y Gronli, 2003 y Demirbas, 2004).

Paralelamente, en la superficie externa de las láminas de grafeno y en las superficies de los poros, se originan numerosos grupos funcionales (hidroxilos-OH, fenólicos y alcohólicos, aminas -NH₂, aldehídos -(C=O)H, carboxilos –(C=O)OH, ésteres -(C=O)OR, nitros -NO₂), producto del rompimiento y

reordenamiento de los enlaces químicos en la biomasa vegetal (Harris, 1997; Harris y Tsang, 1997; Van Zwieten *et al.*, 2010).

Adicionalmente, durante el proceso de pirólisis los componentes principales de la biomasa (C, H y O) se volatilizan, donde el H y O se pierden en cantidades proporcionalmente mayores que el C, inicialmente como agua, y más tarde como hidrocarburos, vapores alquitranados, H₂, CO y CO₂ (Antal y Gronli, 2003). Es decir que la presencia de heteroátomos (H, O, N, P y S) se encuentran predominantemente en el anillo aromático y también se suma a la heterogeneidad en la superficie del biochar. Esto se atribuye a la variación de la electronegatividad de los heteroátomos en relación con los átomos de C (Amonette y Joseph, 2009) principalmente a causa de la materia prima y las condiciones del proceso de pirólisis bajo las cuales se produce (Schmidt y Noack, 2000; Lehmann *et al.*, 2011).

La estructura física del biochar.

La estructura física del biochar se basa en la porosidad y el área superficial del mismo, producido bajo diferentes temperaturas de pirólisis, por lo que son particularmente importantes y tienen un papel preponderante en los efectos significativos sobre la capacidad de retención de agua, capacidad de adsorción y la capacidad de retención de nutrientes (Downie *et al.*, 2009; Sohi *et al.*, 2010). La macroestructura del biochar resultante es similar a la inicial de la biomasa vegetal utilizada en el proceso de pirólisis, pero con poros más pequeños y abertura del material, sobre todo cuando los materiales vegetales tienen alto contenido de celulosa, porque durante el proceso de pirólisis se eliminan los compuestos volátiles que se encuentran en la macroestructura de la biomasa vegetal (Sohi *et al.*, 2010), sumado a la tensión estructural causada por las grietas en esta macroestructura (Downie *et al.*, 2009). Luego sigue una tendencia general de crecimiento superficial y de la porosidad del biochar con el aumento de la temperatura de pirólisis (Bagreev *et al.*, 2001; Keilueit *et al.*, 2010), es decir, en rangos comprendidos entre 400-600°C (Lehmann y Joseph, 2009).

La caracterización de las propiedades químicas del biochar.

Durante el proceso de pirólisis en la producción del biochar se crean cambios en sus propiedades químicas como: (pH), conductividad eléctrica (CE), carbono y nitrógeno total (C y N Total), capacidad de intercambio catiónico (CIC) y en las bases intercambiables (Ca, Mg, K y Na), a consecuencia de las degradaciones térmicas de la celulosa, hemicelulosa y lignina. Es así que durante las degradaciones térmicas de la celulosa y hemicelulosa (entre 250 y 300°C) se producen ácidos orgánicos y sustancias fenólicas que disminuyen el pH del biochar, pero luego de los 300°C las sales alcalinas comienzan a separarse de la matriz orgánica y aumenta el pH del biochar hasta que se vuelve constante a una temperatura alrededor de 600°C cuando todas las sales se han separado de la estructura pirolizada (Abe *et al.*, 1998; Shinogi y Kanri, 2003). Paralelamente la CE puede aumentar lentamente con temperaturas de hasta 500°C pero a temperaturas más altas disminuye casi a la mitad la CE, incidiendo en la disminución de la concentración de sodio del biochar en comparación al material de partida (Hoossain *et al.*, 2011).

El contenido de carbono orgánico total (COT) aumenta con la temperatura durante el proceso de pirólisis, esto indica que la temperatura ha aumentado la estructura carbonada incurriendo en un mayor ordenamiento de los átomos de carbono, porque el oxígeno se ha eliminado a través de la deshidratación y volatilización, en consecuencia la disposición de estructuras de carbono se transforma de compuestos alifáticos a aromáticos (Novak *et al.*, 2009).

En cambio el contenido de nitrógeno total (N Total) del biochar dependerá no sólo de la temperatura sino del tipo de material de partida, del proceso de pirólisis, y de la velocidad de calentamiento. Es así como, la concentración de nitrógeno puede disminuir producto de la volatilización [los gases están compuestos en parte por óxido nítrico (NO) y dióxido de nitrógeno (NO₂)] y su eliminación causaría una disminución en el porcentaje del elemento, o en su defecto puede aumentar debido a que se pueden generar otros compuestos nitrogenados de mayor

resistencia a los procesos térmicos, tendencia que se debe al nitrógeno móvil y residente, respectivamente (Shinogi y Kanri, 2003; Mukherjee *et al.*, 2011).

Finalmente, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) del biochar (como medida de la cargas negativas del material que pueden ser neutralizadas por cationes intercambiables), es afectada por el proceso de pirólisis, la misma disminuye con el aumento de la temperatura, debido a la disminución de material orgánico volátil responsable de la mayor parte de la CIC en las superficies del biochar (Chen *et al.*, 2008; Mukherjee *et al.*, 2011). No obstante, puede ocurrir un incremento de las concentraciones de las bases Ca, Mg, K del biochar en comparación al material de partida, a consecuencia que las mismas no son susceptibles a la volatilización a temperaturas inferiores a los 700°C, por lo que no hay consideración de la pérdidas de peso y la consecuente concentración relativa durante la producción del biochar (Neary *et al.*, 1999; Knoepp *et al.*, 2005).

OBJETIVO ESPECÍFICOS

Caracterizar las propiedades químicas (pH, concentraciones de carbono y nitrógeno totales, relación C/N, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, bases intercambiables, carbono orgánico disuelto), estructura física y composición química (grupos funcionales presentes en la estructura químicas) del biochar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para las evaluaciones de la composición química (grupos funcionales presentes en la estructura química), estructura física y caracterización de las propiedades químicas de la biomasa vegetal de virutas de la especie pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) y del biochar producido por técnica de pirólisis a temperatura de 450°C, se recolectaron aproximadamente 500 g de dichos materiales, para realizar las siguientes determinaciones:

Espectroscopia infrarroja-transformada de Fourier (FT-IR).

Para determinar la presencia de grupos funcionales dentro de la estructura química de la biomasa vegetal y del biochar, las muestras (0,2 g) se mezclaron con bromuro de potasio. El grado espectroscópico de los espectros de absorción en el infrarrojo fueron realizados usando un equipo *Varian* modelo 640 operado en modo de transformadas de Fourier (Luo *et al.*, 2011), con uso del accesorio de reflexión difusa. Todos los espectros fueron obtenidos por triplicado y en porcentaje de transmitancia, con un intervalo espectral máximo de 4000 a 400 cm^{-1} a través de 32 barridos en 4084 puntos con resolución espectral de 4 cm^{-1} .

Microscopia electrónica de barrido (SEM).

Para observar la estructura física (tejidos y porosidad) tanto del material de partida como del biochar resultante, se usó un microscopio electrónico de barrido (SEM) Hitachi, modelo S-2400. Para el análisis se prepararon las muestras mediante recubrimiento con oro-paladio de aproximadamente 10 Å (Angstrom) a $< 150^{\circ}\text{C}$ (Luo *et al.*, 2011).

Caracterización de las propiedades químicas.

pH y CE.

El pH de la biomasa vegetal y del biochar se determinó en agua mediante una relación 1:15 (peso/peso), se agitó durante 1 minuto y se dejó reposar durante 30 minutos, este procedimiento se repitió para posteriormente realizar las mediciones del pH con un potenciómetro Orion 2 Star pH Benchtop (Thermo Electron Corporation), (Luo *et al.*, 2011). La conductividad eléctrica (CE), se determinó en las mismas suspensiones preparadas para medir pH y fue medido con un conductímetro YSI (Yellow Springs Instrument), modelo 35.

Concentración de carbono orgánico total (% COT) y nitrógeno total (% N Total).

La determinación del COT y N total se realizó con un equipo de análisis elemental Thermo Scientific, modelo Flasha serie 2000. En general, este análisis consistió en la oxidación completa e instantánea de las muestras de la biomasa vegetal y biochar por combustión con oxígeno ultra puro a temperatura entre 900 a 1100°C. La calibración se realizó con estándares certificados por el proveedor del equipo.

La cantidad del patrón estándar que se empleó para la calibración se encontró entre 2,3 a 2,8 mg. El patrón que se empleo es BBOT Standard CHNS que es el compuesto orgánico 2,5 – {Bis (5-tert-butyl-2-benzo-oxazol-2-yl) triophene}, cuyo contenido elemental es: C (72,52%), H (6,09%), N (6,51%), S (7,44%) y O (7,43%). En el caso de las muestras de biomasa vegetal y del biochar se utilizaron entre 3 a 4 mg y se realizaron las determinaciones por triplicado. Como la lectura está directamente relacionada al peso de la muestra, la concentración de COT se expresa en %p/p.

C/N.

La relación C/N se calculó de la división del contenido de COT entre el contenido de N total.

Concentración de Carbono orgánico disuelto (COD).

Muestras de biomasa vegetal y del biochar producido se mezclaron y agitaron suavemente con agua desionizada en una proporción de biomasa vegetal o biochar: agua de 1:10, durante 30 minutos. Luego, los extractos acuosos se filtraron a través de una membrana de filtro de nitrato celulosa con una apertura de poros de 0,45 μm : este procedimiento de extracción fue repetido 5 veces para obtener 50 ml del filtrado (Luo *et al.*, 2011). En el extracto obtenido se determinó el contenido de carbono orgánico mediante un analizador de carbono (Equipo Teledyne Tekmar, modelo Apolo 9000).

Capacidad de Intercambio catiónico (CIC) y concentración de bases intercambiables.

La CIC se determinó mediante la saturación de los sitios de intercambio de las muestras de biomasa vegetal y el biochar (1g) dos veces con una solución de acetato de amonio (40 ml, 1 M a pH 7). Tanto la biomasa vegetal, el biochar y la solución de acetato de amonio se agitaron durante toda la noche anterior al análisis. Posteriormente se transfirieron la solución y el material sólido respectivo en una jeringa con un filtro de lana de vidrio para eliminar la solución durante un periodo de día y medio. Luego las muestras de biomasa vegetal y biochar retenidas en la lana de vidrio se enjuagaron con alcohol isopropílico, descartándose del sistema. Luego se adicionó a la jeringa solución de KCl (40 ml, 2 M) dos veces para sustituir los iones de amonio (Hale *et al.*, 2011). Las bases

intercambiables se determinaron mediante espectrofotometría de absorción atómica (Equipo Perkin Elmer, modelo 3110) y el N-NH₄⁺ mediante el método Kjeldahl (USDA, 1972).

Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos de las determinación de las características de las propiedades químicas de la biomasa vegetal de virutas de la especie pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) y del biochar producido a 450°C, fueron sometidos a un análisis exploratorio para la comprobación de los supuestos estadísticos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk, modificado), pruebas T para muestras independientes, mediante el programa estadístico INFOSTAT Versión/E (Di Rienzo *et al.*, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química (grupos funcionales presentes en la estructura química) de la biomasa vegetal y biochar de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

La espectrometría IR de compuestos orgánicos de Silverstein *et al.* (2005), permitió la identificación de los diferentes picos de asignación correspondientes a los grupos funcionales en la biomasa vegetal (Figura II.1 y Cuadro II.1) y biochar (Figura II.2 y Cuadro II.2) de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, resultados que indican cambios en los grupos funcionales presentes en la estructura química del biochar en comparación a la de la biomasa vegetal producto del proceso de pirólisis, que se visualizan principalmente entre los números de onda de 600 a 1800 cm⁻¹, es decir, que el proceso de pirólisis generó cambios en los grupos funcionales encontrados cercanos a los números de ondas a los 1700 cm⁻¹ que corresponden a compuestos que provienen de la hemicelulosa, aproximadamente a los 1400-1500 cm⁻¹ a la celulosa y lignina, y a los 1300 cm⁻¹ a la celulosa; hemicelulosa, intervalos de números de ondas propios de biomazas vegetales de maderas como son de pino (*Pinus* sp y *Pinus sylvestris* L), pino ponderosa (*Pinus ponderosa*), Boj común (*Buxus sempervirens*), y lamparilla (*Populus tremula*), (Pandey y Pitman, 2003, Colom *et al.*, 2003; Morre y Owen, 2001).

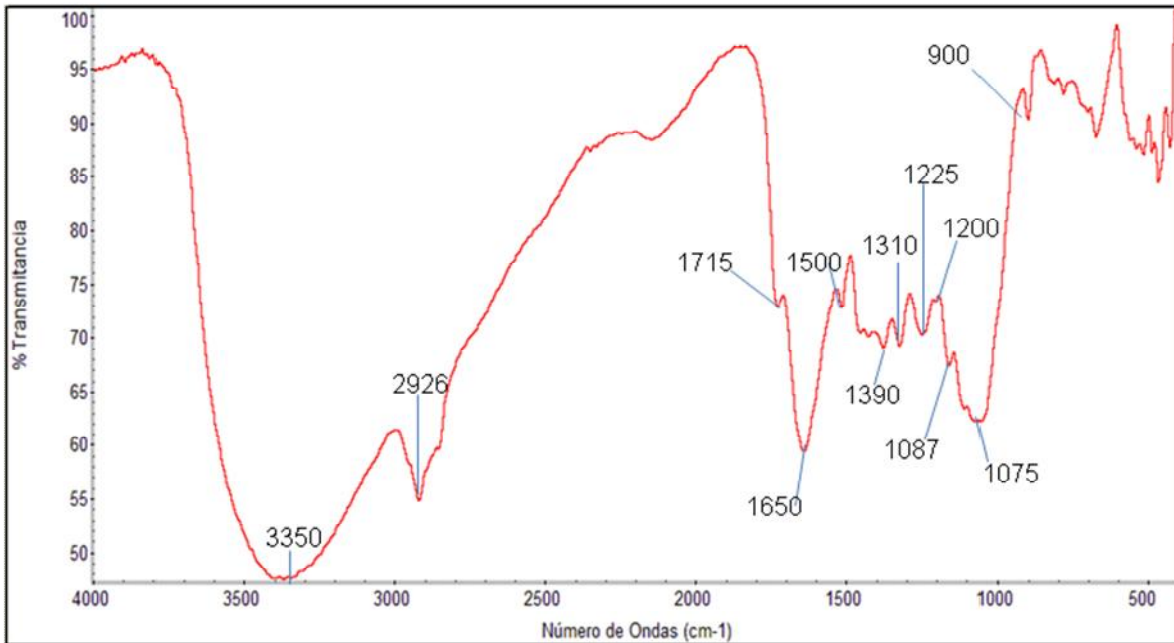


Figura II. 1. Espectroscopia infrarroja-transformada de Fourier (FT-IR) de la biomasa vegetal de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

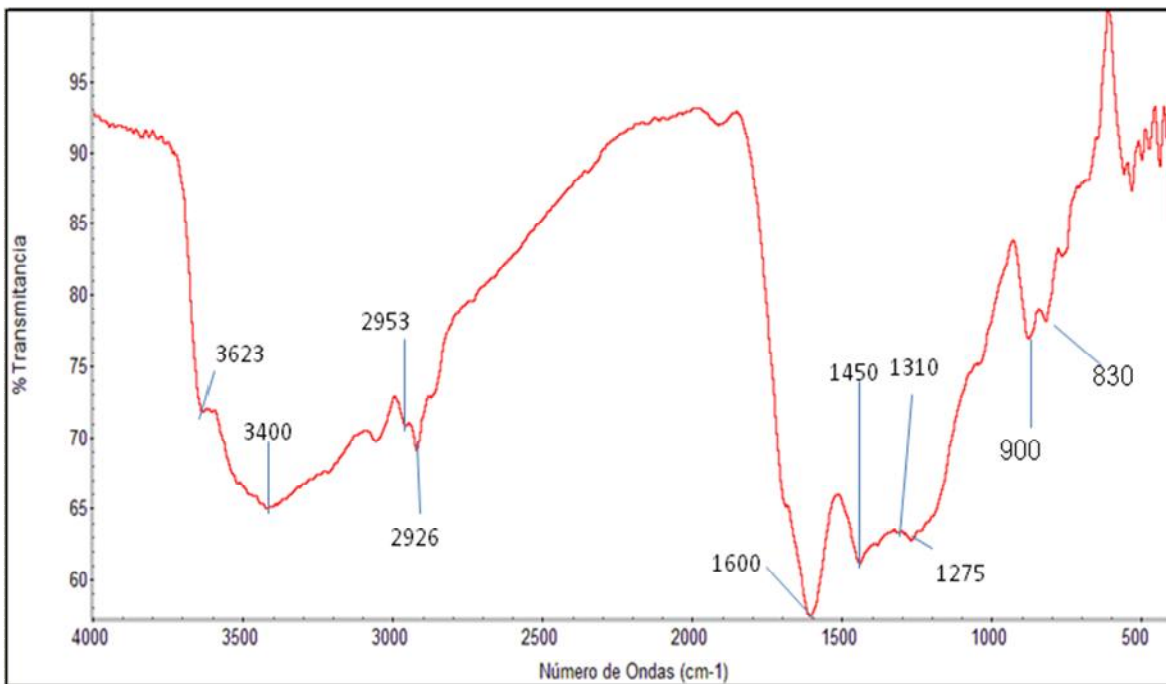


Figura II. 2. Espectroscopia infrarroja-transformada de Fourier (FT-IR) del biochar de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* producido con técnica de pirólisis a 450°C.

Cuadro II.1.- Caracterización de bandas de espectros de infrarrojo de la biomasa vegetal de *Pinus caribaea var. hondurensis*.

Número de Ondas (cm^{-1})	Asignación de grupo funcional
3350	O-H estiramiento de alcohol o agua (producto del KBr)
2926	C-H estiramiento asimétrico de alcano (CH_2).
1715	C=O estiramiento cetona alifática saturada del grupo carbonilo.
1650	C=C estiramiento no conjugado alqueno lineal.
1500	C=C estiramiento de hidrocarburo aromático mononucleares
1390	C-O estiramiento de fenoles.
1310	C-C estiramiento de esteres de ácido aromático.
1225 y 1200	C-O-C estiramiento simétrico y asimétrico de éteres.
1087 y 1075	C-O estiramiento de alcohol.
900	C-H aromático fuera del plano de flexión.

Cuadro II.2.- Caracterización de bandas de espectros de infrarrojo del biochar de *Pinus caribaea var. hondurensis* producido con técnicas de pirólisis a 450°C.

Numero de Ondas (cm^{-1})	Asignación de grupo funcional
3623	O-H estiramiento de alcohol o agua (producto del KBr).
3400	O-H estiramiento de alcohol.
2953 y 2926	C-H estiramiento simétrico y asimétrico de alcano.
1600	C=C estiramiento asimétrico de anillos aromáticos.
1450	C-H estiramiento asimétrico de CH_2 .
1310	C-C estiramiento esteres de ácido aromático conjugado.
1275	C-O-C estiramiento de éteres.
900 y 832	C-H aromáticos fuera del plano de flexión.

De la misma manera, se infiere que durante el proceso de pirólisis lenta (velocidad de calentamiento $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ a temperatura de 450°C) existieron transformaciones básicamente iniciado por la inestabilidad de los enlaces químicos individuales dentro de la biomasa vegetal y continuado gracias a las elevadas temperaturas implicadas en la carbonización, es decir que los componentes principales de la biomasa vegetal se transformaron térmicamente, según cada componente: celulosa (240 a 350°C), hemicelulosa (200 a 260°C) y la lignina (280 a 500°C), siendo las principales reacciones de descomposición en la biomasa vegetal de pino caribe la desvolatilización (liberación de sustancias volátiles) y carbonización, es decir una desgasificación y despolimerización (Downie *et al.*, 2009; Herbert *et al.*, 2012) generando la disminución de la concentración de los grupos funcionales (% de transmitancia) y en los picos de los respectivos números de ondas: 3400 cm^{-1} para enlaces O-H de estiramiento de alcohol; 2926 cm^{-1} para C-H de estiramiento asimétrico de alcano; 1275 cm^{-1} para C-O-C de estiramiento de éteres, y la desapariciones de los picos de los grupos funcionales en sus respectivas longitudes de ondas: 1715 cm^{-1} para C=O de estiramiento cetona alifática saturada del grupo carbonilo, 1390 cm^{-1} para C-O de estiramiento de fenoles, 1087 y 1075 cm^{-1} para C-O de estiramiento de alcohol.

Al mismo tiempo, el proceso de pirólisis genero el incremento de la concentración (% de transmitancia) de los siguientes grupos funcionales en sus números de ondas correspondientes: 1600 cm^{-1} para enlaces C=C de estiramiento asimétrico de anillo aromático, 1310 cm^{-1} para C-C de éteres de acido aromático conjugado y los 900 cm^{-1} para C-H aromáticos fuera del plano de flexión, y adicionalmente se generaron las bandas 2953 cm^{-1} para enlaces C-H de estiramiento simétrico de alcano, 1450 cm^{-1} para C-H de estiramiento asimétrico CH_2 , y los 832 cm^{-1} para C-H aromáticos fuera del plano de flexión, del mismo modo se genero a los 3623 cm^{-1} un estiramiento de alcohol o agua, producto del KBr ya que la muestra del biochar se encontraba seca al momento del análisis.

Estos resultados indican coincidencia con los señalados por Lui *et al.* (2015) y Jindo *et al.* (2014), quienes señalaron que durante el proceso de pirólisis de

biomasa vegetal para la producción del biochar, se generan cambios en las vibraciones O-H (aproximadamente a 3400-3500 cm^{-1}); C-H (2920-2848 cm^{-1}); C=O (1600 cm^{-1}); C=C (1600 cm^{-1}); C=C y C-H (1400 cm^{-1}) y C-H (750-900 cm^{-1}), como resultado de la temperatura de carbonización que modifica los grupos funcionales, y por lo tanto los grupos de C alifáticos tienden a disminuir pero el C aromático aumenta, como consecuencia de las degradaciones térmicas de la celulosa, hemicelulosa y lignina en este orden, ya que la lignina es la más difícil de descomponer (Demirbas, 2004). Suponemos entonces que en el proceso llevado en nuestra investigación para obtener biochar a 450 °C ocurrió algo similar que al final generó un carbón recalcitrante proveniente de la lignina como componente principal del biochar, por resistir parcialmente la descomposición pirolítica a 450°C.

En el mismo orden de ideas y sobre la base de las mediciones de FI-IR del biochar de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, estos resultados son semejantes a los obtenidos en investigaciones de Zhao *et al.* (2015) en la producción de biochar de *Pinus massoniana* y *Cunninghamia lanceolata* a 450°C; Zhang *et al.* (2013), al producir biochar de aserrín de pino a temperaturas de 550; 700 y 850°C ; Jindo *et al.* (2014) al utilizar biomasa vegetal de residuos del cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.), astillas de madera de manzano (*Malus pumila*) y roble (*Quercus serrata*) para la producción de biochar a diferentes temperaturas (400, 500, 600, 700, y 800°C) y Luo *et al.* (2011, 2013), evaluando biochar de *Miscanthus giganteus* producidos a 500 y 750 °C; todos ellos encontraron que con el incremento de la temperatura de pirólisis, en el biochar ocurre un incremento del grado de aromaticidad (grupos aromáticos C=C) debido a la mayor carbonización durante el proceso de pirólisis en comparación con la muestra de biomasa vegetal.

Finalmente, también se observó en los resultados de FI-IR del biochar en los números de onda entre 2700 a 3500 cm^{-1} que la generación y disminución de enlaces C-H (estiramiento simétrico y asimétrico de alcano) en esta zona, así como cualquier heteroátomo, permite la heterogeneidad química (variación de la electronegatividad de los heteroátomos en relación con los átomos de C) del

biochar, cuyo origen es fundamentalmente por la materia prima y las condiciones del proceso de pirólisis bajo las cuales se producen (Amonette y Joseph, 2009, Schmidt y Noack, 2000 y Lehmann *et al.*, 2011).

Caracterización de la estructura física de la biomasa vegetal y del biochar de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

Al comparar las imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de la biomasa vegetal y biochar producido a 450°C (Figura II.3), se observan los grandes cambios morfológicos de la biomasa vegetal como consecuencia del proceso de pirólisis para llegar a la estructura física del biochar, notándose la desaparición de la epidermis de la virutas del material de partida y la aparición de las paredes de lo que eran las traqueidas y las células parenquimáticas del radio (Figura II.3), en comparación con la estructura de la biomasa vegetal en la que se observa solamente la epidermis de la virutas del material de partida (Figura II.3). Del mismo modo, este estudio demuestra que el biochar conserva una estructura porosa significativa de tejido biológico, como consecuencia de la liberación de sustancias volátiles y carbonización durante el proceso de pirólisis de los principales componentes del pino caribe.

Resultados que se asemejan con los encontrados por Zhang *et al.* (2013), quienes afirmaron que la condición de pirólisis de calentamiento lento para obtener biochar de aserrín de pino manteniendo una velocidad de calentamiento entre 273; 272; 271°C.seg⁻¹ a temperaturas de 550; 700 y 850°C permitió que la estructura fibrosa del aserrín de pino se mantuviera en el biochar, esto asociado a la porosidad natural del material de partida que permite la volatilización de sustancias que son liberadas a través de las traqueidas durante la descomposición térmica y paralelamente ocurriendo la aparición de espacio poroso y en mayor abundancia a medida que las temperaturas aumentan, debido al grado de carbonización, lo que conduce a un mayor ablandamiento de la lignina, de fusión (cambio de estado, producto de un proceso físico como consecuencia de la temperatura de pirólisis) y de ese modo los poros son parcialmente obstruidos en el biochar (Luo *et al.*, 2011; Shaaban *et al.*, 2013; Angin y Sensoz, 2014).

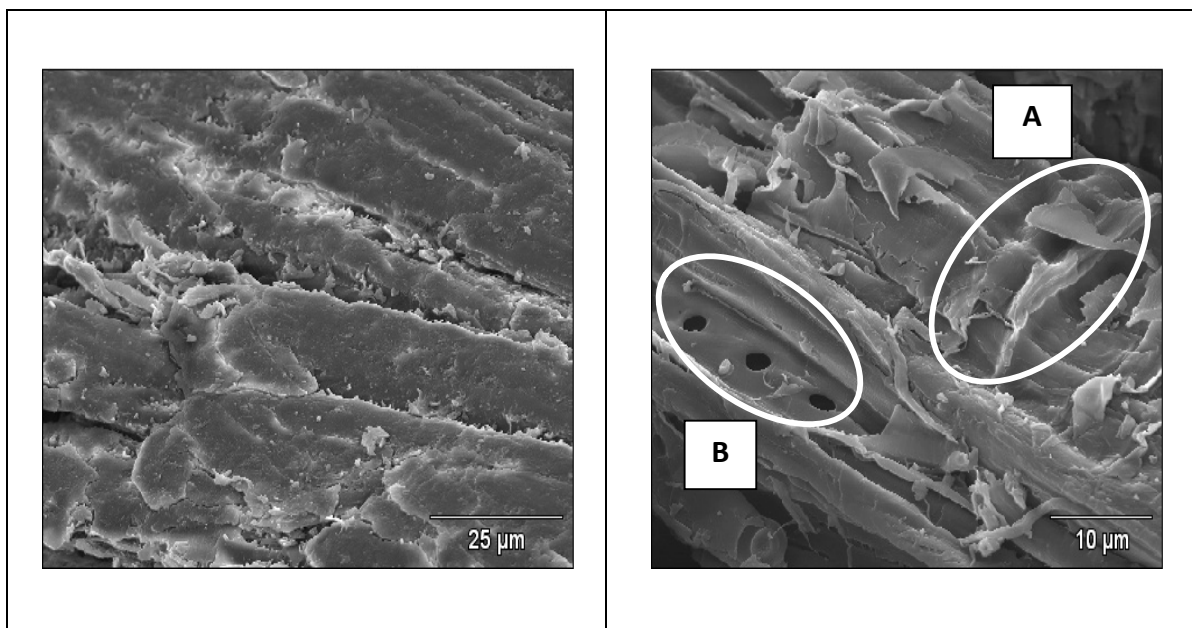


Figura II. 3. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de la epidermis de la viruta de pino caribe (imagen de la izquierda) y biochar (imagen de derecha) mostrando: A) los tabiques de radio parenquimático y B) las puntaduras de los conductos de la traqueida del biochar producido a 450°C

Igualmente investigadores como Zheng *et al.* (2013) al observar imágenes de SEM de biochars obtenido de caña brava (*Arundo donax* L) producidos a 300, 350, 400, 500 y 600°C, respectivamente, encontraron que todos los biochars tenían una estructura celular típica de la planta, y las diferencias entre ellos en el SEM eran insignificantes. Sin embargo, la cantidad total de poros aumentó con el incremento de la temperatura.

En resumen, Las imágenes de SEM de los materiales antes y después de la pirólisis (Figura II. 3) indican que los compuestos volátiles liberados durante el proceso crearon poros en el biochar aunque se mantienen las características de la estructura física fibrosa del material de partida debido a la baja velocidad de calentamiento, lo que conduce a una carbonización parcial.

Caracterización de las propiedades químicas de la biomasa vegetal y del biochar de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

La degradación térmica de la celulosa, hemicelulosa y lignina de la biomasa vegetal durante el proceso de pirólisis, determina las características químicas del biochar, las cuales están influenciada por los grupos funcionales presentes en la estructura química y física del biochar. En tal sentido, las características químicas del biochar obtenido se presentan en el Cuadro II.3, observándose los siguientes cambios:

pH y CE.

La diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) en los resultados de la medición del pH en el biochar, indicaron un aumento con una diferencia de 1,95 unidades de pH entre el material de partida y el biochar de pino caribe (4,90 y 6,85, respectivamente).

Sobre la base de dichos resultado, el pH del biochar obtenido se encuentra cercano al rango de 6,6-6,7 para biochar de pino producido a 450°C. (Ronsse *et al.*, 2013 y Zhao *et al.*, 2015, respectivamente). En cambio usando temperatura contiguas de 450°C con biomasa vegetales diferentes a la utilizada en esta investigación el pH del biochar de *Miscatus giganteus* a 350 y 700°C alcanzó 7,81 y 10,80, respectivamente (Luo *et al.*, 2011, 2013) y para biochar de lodos de aguas residuales sometidos a temperaturas de 300, 400, 500 y 700°C, los pH se encontraron entre 5,32 a 12 (Hossain *et al.*, 2011). Aun cuando existen diferencias entre los materiales de partida utilizados en las investigaciones citadas para la producción de biochar aunque manteniendo temperatura de pirólisis próximas a la de nuestra investigación, en general el pH aumenta con la temperatura de pirólisis y se asume que esto es consecuencia de la degradación térmica de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina) de la biomasa vegetal, y en este caso de las virutas de pino caribe (Capítulo I) y concuerda con la composición química (grupos funcionales) de ambos materiales (Cuadro II.1 y II.2), ya que el proceso de pirólisis permite la separación de los compuestos orgánicos (carbono) e inorgánicos (sales de metales alcalinos), efecto que se genera en temperaturas de

pirólisis mayores de 300 °C (Abe *et al.*, 1998; Shinogi y Kanri, 2003) con el concomitante aumento del pH del biochar, dándole un potencial de enmienda agrícola.

Cuadro II 3.- Características de las propiedades químicas de la biomasa vegetal y biochar de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

Propiedades Químicas	<i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>	Biochar a 450°C
pH en agua (1:15)	4,90 (±0,00) b	6,85 (± 0,07) a
CE en agua (1:15) dS m⁻¹	0,11 (±0,01) a	0,06 (± 0,01) b
C Total (%)	46,84 (±0,01) b	73,41 (±0,01) a
H/C	1,49 (±0,01) a	0,57 (±0,01) b
COD (µg C. g⁻¹)	698,97 (±0,01) a	232,79 (±0,01) b
N Total (%)	0,13 (±0,01) a	0,16 (±0,01) a
C/N	351,30 (±0,01) b	458,75 (±0,01) a
CIC (cmol+kg⁻¹)	44,17 (±1,44) a	16,67 (±1,44) b
Bases intercambiables (cmol+ kg⁻¹)		
Ca	0,88 (±0,16) b	4,37 (±0,45) a
K	0,09 (±0,02) b	0,43 (±0,14) a
Mg	0,39 (±0,13) b	1,88 (±0,33) a
Na	0,21 (±0,00) a	0,12 (±0,04) b

CE: conductividad eléctrica; **C Total:** carbono total; **H/C:** relación hidrógeno-carbono **N Total:** nitrógeno total; **C/N:** relación carbono-nitrógeno; **COD:** carbón orgánico disuelto; **CIC:** capacidad de intercambio catiónico; **Ca, K, Mg y Na:** calcio, potasio, magnesio y sodio intercambiables, respectivamente. Números en paréntesis representa la desviación estándar y letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los materiales (Prueba T, 95%)

No obstante, la diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) en las mediciones de CE, mostraron que las CE fueron más bajas en el biochar de pino caribe (0,06 dS.m⁻¹) en comparación al material de partida (0,11 dS.m⁻¹). Este valor de CE está en los rangos obtenidos por Gundules y DeLucas, (2006), para biochar de pino ponderosa producido a 350 y 800°C (0,001 a 0,15 dS m⁻¹). Hossain *et al.* (2011),

aunque trabajando con lodo de agua residual pirolizado a temperaturas de 300, 400, 500 y 700°C, también encontraron que la CE disminuyó (4,12; 4,15; 4,7 y 2,5 dS m⁻¹, respectivamente) a medida que aumentó la temperatura de pirólisis en comparación al material de partida (11,95 dS.m⁻¹); señalan que además, ocurrió una disminución en la concentración de sodio.

Por lo tanto existe una correlación inversa entre el pH y CE, es decir que la separación de compuestos orgánicos e inorgánicos en el proceso de pirólisis, genera un incremento del pH y una disminución de la CE. En esta investigación también se encontraron diferencias estadísticas significativas (P<0,05) para las concentraciones de sodio intercambiable siendo más baja en el biochar (0,12 cmol+.Kg⁻¹) en comparación al material de partida (0,21 cmol+.Kg⁻¹).

Concentraciones de COT.

Con base a las diferencias estadísticas significativas (P<0,05) en las concentración de COT entre la biomasa vegetal y el biochar (Cuadro II.3), se observo una tendencia a presentar mayor concentraciones de C total en el biochar (73,41 %) seguido de la biomasa vegetal (46,84%). Este resultado se encuentra cercano al rango (73,9 y 81,7% COT) obtenido por Gaskin *et al.* (2008) para biochar de madera de pino (*Pinus taeda*) producido a 400 y 500°C respectivamente. Aunque se encuentran a 9,1 y 12, 89 unidades por debajo (82,5 y 86,3 % de COT) para biochar de madera de pino producido a 300 y 400°C, respectivamente (Ronss *et al.*, 2013) e igualmente por debajo de los 95% del COT para biochar de madera *Prosopis* utilizando pirólisis lenta por Mahimairaja y Shenbagavalli (2012). Sin embargo, las diferencias en las concentraciones de COT del biochar se deben a las variaciones de las concentraciones de celulosa, hemicelulosa y lignina en las especies de pino usadas, así como a la degradación térmica en el proceso de pirólisis (Capítulo I), incidiendo en el incremento del COT, es decir en un material más aromático.

Como se aprecia estadísticamente con la determinación de la relación H/C, el biochar presenta una relación más baja (0,57) en comparación a la biomasa

vegetal de pino caribe (1,49). La relación H/C del biochar es semejante al obtenido en 0,56 y 0,49 para biochar de madera de pino producido a 300 y 450 °C, respectivamente (Ronss *et al.*, 2013). No obstante, se encuentra por encima de 0,03 encontrado para biochar de *Pinus massoniana* producido a 450°C (Zhao *et al.*, 2015). Estas diferencias en las relación atómica, son producto de la incidencia de la temperatura de pirólisis sobre los principales componentes del material de partida, que resulta en una pérdida desproporcionada de hidrógeno mientras que el carbono forma compuestos más estables de naturaleza aromática (Van Zwieteren *et al.*, 2010). En tal sentido, la disminución en las relaciones atómicas refleja el creciente grado de modificaciones estructurales del biochar, debido a las reacciones de carbonización en el mismo al aumentar la temperatura (Zheng *et al.*, 2013), por lo que exhiben un alto grado de carbonización en estructuras aromáticas (Novak *et al.*, 2009). Esto es confirmado con el análisis de FI-IR (Cuadro II.1 y II.2) con la presencia de un pico de estructura más aromáticas (es decir, una disminución de la transmitancia en el grupo funcional carbono de doble enlace en el FI-IR del biochar), resultados que corroboran que durante el proceso de pirólisis a 450°C ocurrió el reordenamiento y formación de una estructura más aromática de carbono (Luo *et al.*, 2011, 2013).

Carbono Orgánico Disuelto (COD).

El proceso de pirólisis produjo una disminución estadísticamente significativa de la concentración de carbono orgánico disuelto (COD) del biochar (232,79 $\mu\text{g C g}^{-1}$) en comparación a la del material de partida (698,97 $\mu\text{g C. g}^{-1}$), y se encontró muy por encima del valor de 2,54 $\mu\text{g C. g}^{-1}$ para biochar de *Pinus massoniana* producido a 450°C (Zhao *et al.*, 2015) e igualmente para biochar de *Pinus taeda* producido a 400 y 500°C (0,12 y 0,09 $\mu\text{g C. g}^{-1}$) según investigación de Gaskin *et al.* (2008).

La más baja concentración de COD del biochar es a consecuencia de la desaparición de grupos funcionales como cetonas, ésteres y alcoholes, como se aprecia en el análisis de FI-IR (Cuadro II.1 y II.2), resultado que concuerda con lo encontrado por Mimmo *et al.* (2014) quienes al producir biochar de *Miscanthus*

(*Miscanthus giganteus*), con el uso de temperaturas de pirólisis de 350, 360, 370, 400 y 450°C, respectivamente, concluyeron que a temperaturas mayores a los 350°C existe la desaparición de grupos funcionales como los grupos carboxílico (ácidos carboxílicos, ésteres, aminas), carbonilo (cetonas, aldehídos) e hidroxilo (alcoholes), originando la disminución de la fracción de carbono lábil (COD) del biochar.

Concentraciones de N Total

Las concentraciones de N Total en el biochar de pino caribe (0,16%) producto del proceso de pirólisis (Cuadro II 3), genero un ligero incremento del 0,03% al compararlo con el material de partida (0,13%). La concentración de N total del biochar se encuentra por debajo del rango 0,25 y 0,23% para biochar de *Pinus taeda* producido a 400 y 500°C, respectivamente, por Gaskin *et al.* (2008). Estos mismos investigadores también encontraron que el nitrógeno se mantiene en el biochar, en vista que la concentración inicial de nitrógeno de la virutas de *Pinus taeda* era de 0,09 %, es decir que una proporción relativamente alta del nitrógeno del material de partida se conserva a bajas temperaturas (más a 400°C que a 500°C). Almendros *et al.* (2003) asociaron esta tendencia a la incorporación del nitrógeno en estructuras resistentes al calentamiento térmico, debido a que existe una moderada oxidación térmica que permite la aromatización y la formación de nitrógeno heterocíclico, resultados que fueron obtenidos por los mismos autores al obtener un incremento del nitrógeno de residuos carbonizados durante transformaciones térmicas de la materia orgánica de turba a 350°C. Por su parte, Chan y Xu (2009), señalan que debido al proceso de pirólisis de materiales orgánicos, ocurren pérdidas de N total a temperaturas superiores a 400 °C lo que simultáneamente produce un cambio en la estructura química de los restantes grupos con átomos de N en el biochar, incrementando su concentración al compararlos con el material de origen, en vista de que a temperaturas de aproximadamente 330°C comienzan aparecer las primeras formas de C aromático en el biochar, lo cual genera una resistencia a la volatilización durante el proceso de pirólisis, reseña que concuerda con los resultados de esta investigación.

Relación C/N.

Si se consideran los efectos que tiene el proceso de pirólisis sobre la biomasa vegetal para la obtención de biochar en las concentraciones de CO y N Total, se entiende el porqué la relación C/N de ambos materiales son diferentes estadísticamente, existiendo una diferencia de 107 unidades entre el biochar (458,75) y el material de partida (351,30), como consecuencia del proceso de pirólisis. Según Chan y Xu (2009) las relaciones de C/N de biochar pueden diferir bastante, entre 7 y 500 para una amplia variedad de materiales. Sigua *et al.* (2014) en su investigación señalan que ciertamente el material de partida y el proceso de pirólisis determina la relación C/N, e indican que los biochars derivados de materiales lignocelulósicos presentan más alta relación C/N que los derivados de materia prima a bases de estiércol. Al comparar la relación obtenida en esta investigación con las relaciones para sustratos orgánicos (C/N > 20) señaladas por Navarro y Navarro (2003), se inferiría que el biochar e incluso el material de partida pueden inmovilizar el nitrógeno que estaría disponible para las plantas cuando se incorpora a los suelos agrícolas, por acción de los microorganismos. Schomberg *et al.* (2012) consideran que los biochars derivados de madera tienden a tener mayor retención del N en el suelo, que aquellos derivados de biomasa herbáceas, principalmente por su alta relación C/N. Además, es importante considerar el aporte de COD (una forma de carbono lábil) que se derivaría de ambos materiales, al momento de ser incorporados en los suelos agrícolas.

Capacidad de Intercambio Cationico (CIC).

Los resultados de CIC del material de partida y el biochar de pino caribe obtenido a 450°C en esta investigación presentaron diferencias estadísticas, y el proceso de pirólisis originó un descenso en la CIC del material de partida al producir el biochar (de 44,17 a 16,67 cmol₊ Kg⁻¹). Este valor se asemeja al encontrado por Mahimairaja y Shenbagavalli (2012) quienes produjeron un biochar de madera de *Prosopis* a pirólisis lenta, con CIC de 16 cmol₊.Kg⁻¹ a un pH de 7,57. Asimismo, Gundale y Delucas (2006) reportaron CIC próximos a 20 cmol₊.Kg⁻¹ para biochar de pino ponderosa (*Pinus ponderosa*) producido a 350°C. Sin embargo, Huff *et al.* (2014) produjeron biochar de pino a 300, 400 y 500°C con una CIC más baja de

10 $\text{cmol} \cdot \text{Kg}^{-1}$ a pH igual a 7. Igualmente, Gaskin *et al.* (2008) reportaron que la CIC de biochar de *Pinus Taeda* producido a 500 °C fue significativamente menor (5,03 $\text{cmol} \cdot \text{Kg}^{-1}$) que el producido a 400°C (7,27 $\text{cmol} \cdot \text{Kg}^{-1}$). En resumen el proceso de pirólisis ocasiona disminución de la CIC del biochar debido a la pérdida de grupos funcionales oxigenados, como se muestra en el análisis de FI-IR (Cuadro II.1 y II.2). Para Mukherjee *et al.* (2011) sería la causa del descenso en la CIC del biochar.

Bases (Ca, Mg y K) intercambiables.

El biochar de pino caribe producido a 450°C presentó concentraciones más altas de Ca, K y Mg (4,37, 0,43 y 1,88 $\text{cmol} \cdot \text{Kg}^{-1}$, respectivamente) y estadísticamente diferentes que las del material de partida (0,88, 0,09 y 0,39 $\text{cmol} \cdot \text{Kg}^{-1}$, respectivamente). El incremento de las bases en el biochar obtenido se debe en parte por las degradaciones térmica de la pared celular de la viruta de pino caribe, que, no obstante la temperatura de 450°C usada en el proceso de pirólisis, esta no es suficientemente alta como para llegar a las temperaturas umbrales de volatilización, por lo que las bases intercambiables se incorporan a la estructura carbonada del biochar, permitiendo el incremento de las mismas. En este sentido, Van Zwieten *et al.* (2010) al realizar los análisis químicos de dos tipos de biochar derivados de la pirólisis lenta (velocidad de calentamiento 5-10°C min^{-1} y temperatura de 550 °C) de lodos de plantas de pulpas de madera, encontraron concentraciones de Ca, K y Mg de 6,2, 0,22 y 1,2 $\text{cmol} \cdot \text{Kg}^{-1}$ respectivamente, infieren que los cambios en las concentraciones de las bases intercambiables de los biochars se debe a las temperaturas en el proceso de pirólisis, dado que el potasio (K) es susceptible a la volatilización a temperaturas entre 700-800°C, mientras que el magnesio (Mg) y el calcio (Ca) se volatilizan a temperaturas superiores a 1000°C en materiales madereros (Neary *et al.*, 1999; Knoepp *et al.*, 2005).

CONCLUSIONES

El biochar de pino caribe presentó un incremento del grado de aromaticidad e incidiendo en la concentración del COT. Paralelamente conserva una estructura porosa significativa del tejido biológico y con aumento en los valores de las

siguientes características y propiedades químicas (pH, N total, relación C/N, CIC y bases de Ca, Mg y K intercambiable). Por otra parte, el biochar presentó los valores más bajos de CE, Na intercambiable y COD en comparación con el material de partida. Debido a esto, se cree que el biochar producido en esta investigación presenta características como un material con potencial de uso como enmienda orgánica y mejorador de las propiedades químicas y biológicas en suelos ácidos.

CAPITULO III

El efecto de la incorporación del biochar de la especie pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) sobre las propiedades químicas de un suelo.

INTRODUCCIÓN

Efectos del biochar en las propiedades químicas del suelo.

El biochar influye en las propiedades químicas del suelo, produciendo cambios en el pH, conductividad eléctrica (CE), bases intercambiables y capacidad de intercambio catiónico (CIC) (Gundale y Deluca, 2007; Warnock *et al.*, 2007).

Dependiendo de la biomasa utilizada para obtener biochar, y sus contenidos de cationes básicos, tales como Ca, K y Mg, así como de Si, pueden formar óxidos o carbonatos durante el proceso de pirólisis. Tras la liberación de estos óxidos en el suelo, reaccionarían con el H^+ y el Al^{+3} , reduciendo la acidez intercambiable y por consiguiente elevando el pH del suelo (Novak *et al.*, 2009). Así mismo, cuando el biochar presenta altas concentraciones de carbonatos puede tener propiedades de encalado para superar la acidez del suelo (Chan y Xu, 2009).

Se ha informado que el biochar obtenido de residuos de las fabricas de papel que usan eucalipto (*Eucalyptus*) resultó eficiente para elevar el pH de un suelo Ferrosol ácido de Australia, de 4,20 a 5,93 en el suelo sin incorporación de fertilizantes y de 4,13 a 5,73 en el suelo con fertilizantes, en consecuencia el biochar disminuyó significativamente el Al^{+3} intercambiable (Van Zwieten *et al.* 2010). De igual forma, Luo *et al.* (2011) encontraron que la incorporación de biochar obtenido de *Miscanthus giganteus* a 350 y 700°C, en un experimento de incubación con suelos de diferentes pHs provenientes de un Aquic paleudalf del Reino Unido, aumentó el pH del suelo después de 90 días de incorporado,

para los suelos de pH bajo desde 3,7 a 4,4 (biochar 350°C) y 5,1 (biochar 700°C), mientras que para los suelos de pH altos los valores aumentaron desde 7,4 a 7,7 y 8,0. (350 y 700°C, respectivamente).

No obstante, la CE es un parámetro químico que debe ser analizado con cautela, ya que su determinación en el biochar es una medición indirecta de sales solubles totales y contenidos de N y S (Lehmann y Joseph, 2009). En base a lo citado anteriormente, Gundale y DeLuca (2006) reportaron sales solubles acumuladas en los espacios porosos de biochars obtenidos de pino ponderosa y abeto de Douglas (*Pinus ponderosa* y *Pseudotsuga menziesii*, respectivamente), probablemente debido a las diferencias en la composición del tejido de la biomasa vegetal de las especies, producto de los procesos de pirólisis, que fueron más altos en el biochar producido a altas temperaturas que los de biochar obtenidos a temperaturas más bajas (desde 350 hasta 800°C). Aunque estos autores no evaluaron el efecto en la CE del suelo, señalan que si se debe tener en cuenta al pensar incorporar el biochar en cualquier orden de suelos, para evitar posibles problemas de salinidad. Como Nigussie *et al.* (2012), lo propusieron en su investigación al incorporar biochar obtenido de tallo de maíz (*Zea mays*) después de su aplicación en un suelo Nitisol de Jimma (Etiopia), el mismo género un incremento en la CE del suelo (0,21 a 0,27 dS.m⁻¹), atribuido a los carbonatos de metales alcalinos, cantidades variables de Si, y pequeñas cantidades de N orgánico e inorgánico.

Otro efecto que tiene la incorporación del biochar en las propiedades químicas del suelo, es el aumento de la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Lehmann *et al.*, 2002) por presentar mayor capacidad para adsorber y retener cationes en formas intercambiables, debido a su área superficial y cargas negativas superficiales (Liang *et al.*, 2006). Los estudios han demostrado un aumento significativo en la disponibilidad de Ca, Mg y K, cuando se adiciona biochar al suelo (Glaser *et al.*, 2002; Lehmann *et al.*, 2002; Topoliantz *et al.*, 2005). Sin embargo, aunque el biochar recién producido presenta bajas capacidades de intercambio aniónico y catiónico (Cheng *et al.*, 2006; 2008; Lehmann, 2007),

estas aumentan progresivamente al transcurrir el tiempo después de su incorporación al suelo, debido a la oxidación abiótica y biótica de la superficie del biochar, dando como resultados un incremento muy particular de los grupos carboxílicos en la superficie, originándose una mayor carga negativa y posteriormente una capacidad cada vez mayor para retener los cationes (Cheng *et al.*, 2006).

OBJETIVO ESPECÍFICOS

Determinar el efecto de la incorporación del biochar sobre las propiedades químicas del suelo medidas a través del pH, conductividad eléctrica, concentración de bases intercambiables y capacidad de intercambio catiónico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características Generales de la zona.

El área de estudio forma parte de la región fisiográfica Llanos Orientales de Venezuela, específicamente en la ciudad de El Tigre, capital del municipio Simón Rodríguez del estado Anzoátegui, el elemento geomorfológico del lugar seleccionado lo constituyen las Mesas, y su basamento geológico es la Formación Mesa de edad cuaternaria (Comerma y Chirinos, 1977).

El clima de la zona corresponde con las condiciones de la zona bioclimática de Bosque Seco Tropical, con vegetación típica de sabana; caracterizada por la existencia de dos periodos bien definidos: uno de sequía (noviembre-abril) y otro lluvioso (mayo-octubre) con una precipitación y evaporación anual de 1162,5 mm y 2335,6 mm, respectivamente, y una temperatura mínima y máxima media anual de 22 °C y 32,6 °C, respectivamente (INIA, 2013).

Características del sitio de estudio.

El suelo que se utilizó en esta investigación, fue obtenido de la Estación Experimental Anzoátegui (INIA - El Tigre), perteneciente a la Serie Guanipa, taxonómicamente identificado a nivel de gran grupo como Haplustox (Comerma y Chirino, 1977). Las características generales se muestran en el Cuadro III.1, como

texturas arenosa franco (aF) a los 25 cm de profundidad, pH fuertemente ácido y fertilidad muy baja (bajos valores de COT, CIC y bases intercambiables). Los valores obtenidos en esta investigación se encuentran dentro del ámbito señalado por otros autores para los llanos orientales, como Gómez y Paolini (2006) al encontrar predominancia de texturas gruesas y pHs de 4,8 a 5,3 en suelos de sabana nativa del estado Anzoátegui. También se corresponden con los bajos niveles encontrados por Sánchez *et al.* (2011) y Romero *et al.* (2011) para COT (< 0,23 %), y bajas proporciones de bases intercambiables que variaron entre Ca>Mg>Na>K. respectivamente.

Cuadro III 1. Propiedades Físico-Químicas del suelo de la estación Experimental Anzoátegui (INIA-El Tigre).

Propiedades Físico-Químicas	Suelo de la estación Experimental Anzoátegui (INIA-El Tigre)
Profundidad (cm)	0-25
Clase Textural	aF
pH en agua (1:1)	4,8
CE en agua (1:1) dS m ⁻¹	0,04
COT (%)	0,28
N Total (%)	0,03
Relación C:N	9,33
CIC (cmol _c kg ⁻¹)	0,05
Bases intercambiables (cmol _c kg ⁻¹)	
Ca ⁺²	0,01
Mg ⁺²	0,004
K ⁺	0,003
Na ⁺	0,001

Fuente: Datos propios.

En cuanto al uso y manejo, el suelo seleccionado para esta investigación permanece bajo vegetación natural de chaparro (*Byrsonia crassifolia*) y Paja Saeta

(*Trachypogon* sp), durante periodos prolongados de más de 20 años (Bastardo, entrevista personal, 2011).

Muestreo del suelo.

Se tomaron muestras compuestas al azar (20 submuestras) de 0-25 cm de profundidad con barreno para un total de 150 kg. Las muestras se trasladaron refrigeradas al Laboratorio de Fertilidad y Biología de Suelos de la Universidad Central de Venezuela para su refrigeración a 4 °C.

Tamizado y pre-tratamiento del suelo.

Se realizó un pre-tratamiento a las muestras de suelos, el cual consistió en tamizar el suelo húmedo a < 2mm para su uniformidad, posteriormente se eliminó todo tipo de restos de raíces u otro material. Se determinó la humedad gravimétrica del suelo (en estufa a 105 °C, 24h) para realizar el ajuste del contenido de humedad del suelo a 40% de su máxima capacidad de retención de humedad (Grace *et al.*, 2003, Aciego y Brookes, 2009). Finalmente las muestras de suelo fueron pre-incubadas durante 7 días a 25°C antes de comenzar los experimentos, para permitir estabilizar cualquier efecto estimulador del muestreo y tamizado sobre la actividad microbiana (Aciego, 2005). Una vez cumplidas estas condiciones los suelos estuvieron listos para los tratamientos de incubación con el biochar producido y la biomasa vegetal de pino fresca.

Diseño experimental.

Consistió en un experimento de incubación de 180 días bajo un diseño totalmente aleatorizado en el cuarto de incubación del Laboratorio de Fertilidad y Biología de Suelos (UCV-Agronomía) a 25 °C. Se establecieron tres tratamientos: 1.- Suelo Control o Testigo; 2.- Suelo + Biochar y 3.- Suelo + pino (material de partida). La cantidad del biochar y biomasa vegetal fresca de pino que se agregó al suelo aportó 50 y 5 mg C g⁻¹ de suelo (en base a peso seco), respectivamente (Luo *et al.* 2011). El tratamiento Control fue mezclado de la misma manera que los suelos mezclados con el biochar o pino, para tomar en cuenta el efecto de disturbancia mecánica (si lo hubiese). Se adicionó a los suelos de todos los tratamientos NH₄NO₃ (170 ug N g⁻¹ suelo, en base a peso seco) para evitar cualquier

insuficiencia microbiana del elemento (Luo *et al.*, 2011; Aciego y Brookes, 2009). Posteriormente se prepararon 10 bolsas plásticas por tratamiento, para un total de 30 bolsas plásticas. Las bolsas plásticas fueron incubadas en un pipote de metal de capacidad de 220 litros con su respectiva tapa, el cual internamente tenía dos rejillas circulares del diámetro del pipote, con la finalidad de permitir tres niveles en el mismo y poder distribuir las bolsas aleatoriamente; en el pipote se colocaron envases con NaOH para absorber el CO₂ del aire y otros con agua para mantener la humedad en el interior (Aciego, 2005). En los días 1, 3, 7, 14, 28, 56, 87, 120, 150 y 180, se sacaron del pipote 3 bolsas (una por tratamiento) para determinar pH, CE y los análisis de bases intercambiables y CIC se realizaron exclusivamente en los días 1, 28, 87 y 180. Todos los análisis se hicieron por triplicado, con base a peso de suelo seco en estufa (105°C, 24h). Es importante señalar que todas las muestras de suelo se consideraron destructivas una vez realizado cada uno de los análisis planteados en el experimento.

Métodos Analíticos

Los métodos utilizados para el análisis de las muestras de suelo en los días señalados, se describen a continuación:

pH y CE.

Se determinaron en la misma suspensión, mediante una relación suelo: agua en una proporción de 1:1. El suelo seco al aire (10 g) se agitó con agua desionizada (10 mL) durante 1 minuto, se dejó reposar durante 30 minutos repitiendo el procedimiento una vez más para posteriormente realizar las mediciones del pH con un potenciómetro (Orion 2 Star pH Benchtop (Thermo Electron Corporation) y CE con un conductrimetro YSI (Yellow Springs Instrument), modelo 35 (Aciego y Brookes, 2008).

Bases intercambiables y Capacidad de Intercambio Cationico (CIC).

Se colocó el suelo (5 g) en una fiola de 125 mL, con 20 ml de la solución de acetato de amonio 1M a pH 7. Se tapó y se agitó durante 10 minutos y se dejó reposar hasta el día siguiente. Luego se transfirió el contenido de la fiola a un embudo de CIC (previamente humedecido el papel de filtro con 5 ml de acetato de amonio 1M a pH 7). Se dejó percolar con 75 mL de acetato de

amonio 1M a pH 7, en un balón aforado de 100 ml. Se enrasó y se conservó para el análisis de bases intercambiables mediante el uso de absorción atómica. Una vez extraídos los cationes se lavó el suelo saturado de amonio que quedó en el embudo anteriormente utilizado, con alcohol isopropílico (95%) en cuatro porciones de 10 mL cada vez, descartando los respectivos lavados. Posteriormente se continuó lavando el material contenido en el embudo, utilizando 100 mL de NaCl 10% (p/v) con alícuotas de 25 ml cada vez, se dejó drenar completamente y se recogió el producto lixiviado en un beaker de 100 ml y se enrasó con agua destilada para determinar el $N-NH_4^+$ mediante el método Kjeldahl (USDA, 1972).

Análisis estadístico.

Se conformó una base de datos para desarrollar un análisis univariado a cada uno de los resultados obtenidos en el laboratorio, determinando análisis de estadística descriptiva. Posteriormente, se procedió a realizar la prueba de normalidad Shapiro-Wilks modificado por Mahibbur y Govindarajulu (1997), con el fin de determinar la distribución de los datos. Una vez cumplidos los supuestos de normalidad, se aplicó un análisis de varianza y pruebas de medias de LSD Fisher mejorado con un nivel de significancia de 0,05; basado en dos factores (tratamiento y tiempo) con interacción, el factor tratamiento con tres (3) niveles cada uno con tres (3) replicas y el muestreo con 10 niveles, utilizando el siguiente modelo (Di Rienzo *et al.*, 2013):

1.- Dentro de cada muestreo.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}.$$

Donde:

Y_{ij} : Observaciones de las variables respuestas.

μ : Media general.

T_i : Efecto de i-ésimo tratamiento.

E_{ij} : Término de error aleatorio asociado a la observación Y_{ij} .

2.- Entre muestreo (dos factores – combinados).

$$Y_{ijk} = \mu + M_j + R_k(M_j) + T_i + M_jT_i + E_{ijk}.$$

Donde:

Y_{ijk} : Observaciones de las variables respuestas.

μ : Media general.

M_j : Efecto asociado de j-ésimo día de muestreo.

$R_k(M_j)$: Término de error debido al efecto asociado de j-ésimo día del muestreo en las k-ésimas observaciones.

T_i : Efecto de i-ésimo tratamiento.

M_jT_i : Interacción entre j-ésimo día de muestreo y el i-ésimo tratamiento.

E_{ijk} : Término de error aleatorio asociado a la observación Y_{ij} en las observaciones k.

Además, se realizó un análisis exploratorio a partir de la matriz básica de datos, por medio de la aplicación del análisis de componente principal (ACP) según por Pla (1986), generando el polinomio característico de la correlación y se tomo los componentes que genero la interacción tratamiento-tiempo, basándose en el criterio de máxima variabilidad.

De los componentes principales (CP) generados, se seleccionaron aquellos cuyo:

- 1.- Valores propios fueran superior a uno (1),
- 2.- La sumatoria de todos los componentes dieran igual a la varianza total, y
- 3.- La suma acumulada de los componentes explicara al menos el 75% de la variabilidad total.

Una vez seleccionados los componentes se realizó un análisis de los coeficientes en el ACP que permitió determinar cuáles variables estaban asociadas a cada CP específico. En este sentido se seleccionaron los coeficientes de mayor valor (absoluto) representado por las variables con mayor peso dentro de cada

componente. Adicionalmente se considero que la correlación cofenética fuera mayor a 0,60.

Para completar el ACP, se construyó la gráfica de doble representación (biplot) entre los CP de mayor capacidad explicativa de los datos, con el fin de realizar interpretaciones respecto al componente entre las variables y la distribución de las observaciones, pudiendo determinar grupos de individuos con características diferentes en los diferentes tratamientos, mediante la interpretación angular entre los vectores (variables) en términos de correlación entre variables (Di Rienzo *et al.*, 2013). Todos los análisis se realizaron mediante el programa estadístico INFOSTAT Versión/E.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cambios del pH en los tratamientos.

Los cambios en el pH del suelo de la Mesa de Guanipa durante el experimento de incubación producidos con la incorporación de biochar y viruta de pino caribe (Cuadro III.2) se caracterizan por presentar fluctuaciones estadísticamente significativas entre los tratamientos para cada momento del muestreo ($p < 0,05$) durante los 180 días de incubación. La adición de biochar aumentó el pH del suelo de 5,15 a 5,42 durante los primeros 28 días, y continuó con un descenso sostenido hasta el final del experimento para dar 4,10. Los demás tratamientos (Control y Suelo+Pino) tuvieron los valores de pH más bajo (4 a 4,4) durante los primeros 28 días del experimento, posiblemente producto de la nitrificación, causada por la adición del N mineral (Espinosa y Molina, 1999; Navarro y Navarro, 2003), pero siempre manteniéndose la tendencia del pH fuertemente ácido durante los 180 días del experimento.

Aun cuando el pH aumenta en los primeros días en el tratamiento con biochar, se nota el efecto buffer que tiene el suelo, asociado a su bajo contenido coloidal (COT: 0,28%, arcilla 11%) al incorporarle enmiendas orgánicas (biochar o virutas de pino caribe) aunado al posible efecto ocasionado por la adición de N inorgánico

como fertilización basal, traduciéndose en la resistencia del suelo a modificar su pH sostenidamente.

Cuadro III 2. Cambios del pH del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, durante la incorporación de biochar de virutas de la especie Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*).

Días de incubación	pH (1:1)		
	Tratamiento Control	Tratamiento Suelo+Biochar	Tratamiento Suelo+Pino
1	4,03 c	5,15 a	4,22 b
3	4,00 c	5,03 a	4,23 b
7	4,12 c	5,25 a	4,27 b
14	4,20 b	5,20 a	4,15 b
28	4,07 c	5,42 a	4,40 b
56	4,52 b	4,65 a	4,45 b
87	4,63 a	4,45 b	4,40 b
120	4,62 a	4,27 b	4,30 b
150	4,15 a	3,77 c	4,00 b
180	4,40 a	4,10 c	4,30 b

La mínima diferencia significativa (MDS) por el método de comparación de LSD Fisher mejorado con un nivel de significancia de 0,05, se denota con letras diferentes entre tratamiento para cada día de incubación.

Estos resultados son comparables con los señalados por Clough *et al.* (2010) y Zhao *et al.* (2015), quienes también encontraron incrementos en el pH de los suelos en momentos tempranos de la incubación. Por ejemplo, Clough *et al.* (2010) al incubar un suelo Pallic de Nueva Zelanda con biochar de pino (*Pinus radiata*) más una fuente externa de nitrógeno asociado a la adición de orina de bovino logrando un incremento del pH inicialmente hasta 8,0 durante los 3 primeros días para luego disminuir a pH 6,1 después de más de 50 días de incubación. Zhao *et al.* (2015) en un suelo Ultisol de China con biochar de *Pinus massoniana* más NH_4NO_3 , encontraron menores incrementos del pH desde 4,2

hasta 4,33 después de 24 días de incubación. Si bien, los autores anteriormente citados utilizaron suelos diferentes al utilizado en esta investigación, se puede ver que el biochar presenta característica de enmienda al incrementar el pH del suelo poco tiempo después de su incorporación.

Aunque el biochar contiene algunas sustancias alcalinas, producto del proceso de pirólisis, que permiten aumentar el pH del suelo (Wan *et al.*, 2014), también se ha señalado que presentan grupos funcionales asociados a enlaces de oxígeno, que pueden absorber y proporcionar protones a través de reacciones de asociación a pH bajos y reacciones de disociación a pH altos, y así amortiguar el cambio de pH del suelo, incidiendo en el aumento de la capacidad amortiguadora de los suelos ácidos (Xu *et al.*, 2012). Quizás por esto, el aumento de pH en el suelo de la Mesa de Guanipa incubado con biochar fue de corta duración en este experimento.

Cambios de la CE en los tratamientos.

La CE en los tratamientos estuvo significativamente determinada por la incorporación de enmiendas orgánicas (biochar y virutas de pino) más una fuente externa de N mineral ($p < 0,05$) (Cuadro III.3). El tratamiento Suelo+Biochar presentó los valores más bajos de la CE (0,35 a 0,54 dS m^{-1}) significativamente durante los 180 días, en comparación con el tratamiento Control (0,55 a 0,75 dS m^{-1}) y tratamiento Suelo+Pino (entre 0,51 a 0,67 dS m^{-1}), sin riesgo de salinización a las dosis aplicadas (USDA, 1999).

Para los fines comparativos, los valores obtenidos en esta investigación se encuentran por encima de 0,057 y 0,12 dS m^{-1} , señalados por Albuquerque *et al.* (2014) para suelos Haplic Luvisol con la adición de biochar de madera de pino y por Kloss *et al.* (2014) para suelos Planasol con la incorporación de biochar de madera mixta, respectivamente, probablemente debido a las diferencias físico-químicas de los suelos.

Cuadro III 3. Cambios del CE del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, durante la incorporación de biochar de virutas de la especie Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*).

Días de incubación	CE dS m ⁻¹ (1:1)		
	Tratamiento Control	Tratamiento Suelo+Biochar	Tratamiento Suelo+Pino
1	0,56 a	0,38 b	0,51 a
3	0,55 a	0,37 b	0,53 a
7	0,59 a	0,41 c	0,53 b
14	0,56 a	0,36 b	0,61 a
28	0,66 a	0,35 c	0,54 b
56	0,75 a	0,54 c	0,64 b
87	0,63 a	0,49 b	0,65 a
120	0,60 a	0,44 b	0,62 a
150	0,59 a	0,54 a	0,57 a
180	0,68 a	0,49 b	0,67 a

La mínima diferencia significativa (MDS) por el método de comparación de LSD Fisher mejorado con un nivel de significancia de 0,05, se denota con letras diferentes entre tratamiento para cada día de incubación.

La magnitud de estos valores sugiere que en el suelo bajo estudio, se puede incrementar la CE del suelo al incorporar materiales orgánicos e inorgánicos por presentar sales solubles (Gundale y DeLuca, 2006; Nigussie *et al.*, 2012; Albuquerque *et al.*, 2014; Kloss *et al.*, 2014), y por la adición de N mineral (Contreras *et al.*, 2013). Evidentemente, el incremento de la CE del suelo por la incorporación de biochar dependerá de la cantidad de sales que se encuentran en los tejidos vegetales de la materia prima, y del proceso de pirólisis para producir el biochar, además de las cantidades de biochar que son incorporadas en el suelo (Kloss *et al.*, 2014). Sin embargo, la utilización de biochar de pino no genera problemas de salinidad por el bajo contenido de ceniza que presentan los materiales leñosos del pino (Albuquerque *et al.*, 2014).

Cambios en las bases intercambiables y Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) en los tratamientos.

Al comparar los tres tratamientos planteados en esta investigación, se observaron que los contenidos de bases intercambiables (Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ y Na^+) (Cuadros III.4 y III.5) y la capacidad de intercambio catiónico (CIC) (Cuadro III.6) en el suelo de la Mesa de Guanipa, fue significativamente influenciada por la adición de biochar y virutas de pino caribe en los diferentes tiempos de medición de las mismas ($p < 0,05$), aunque es importante señalar que los valores encontrados en los análisis son muy bajos, como es de esperarse para un suelo de este tipo taxonómico y características texturales.

Bases intercambiables Calcio (Ca^{+2}), Magnesio (Mg^{+2}), Potasio (K^+) y Sodio (Na^+):

Las concentraciones de Ca^{+2} y K^+ en los suelos incubados resultaron afectadas en forma significativa por la adición de biochar ($p < 0,05$), desde el día 28 hasta el final del experimento, aumentando ligeramente de 0,01 a 0,02 $\text{cmol}_+ \text{Ca}^{+2} \cdot \text{kg}^{-1}$, y de 0,003 a 0,010 $\text{cmol}_+ \text{K}^+ \text{kg}^{-1}$. Mientras que la concentración de Mg^{+2} presentó un pequeño incremento de 0,004 a 0,030 $\text{cmol}_+ \text{kg}^{-1}$ ($p < 0,05$) a partir del día 87 hasta el final del experimento. Por el contrario, la incorporación de biochar y virutas de pino caribe no ejerció un efecto significativo sobre el Na^+ intercambiable en los suelos de estos tratamientos. De acuerdo a estos resultados, el ligero incremento de bases intercambiables en el suelo se debe al contenido inicial en el biochar, el cual pudiera aportar hasta 4,37 $\text{cmol}_+ \text{Ca}^{+2} \cdot \text{kg}^{-1}$, 1,88 $\text{cmol}_+ \text{Mg}^{+2} \cdot \text{kg}^{-1}$ y 0,43 $\text{cmol}_+ \text{K}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$ (Capítulo II).

Los valores de bases intercambiables en el suelo obtenidos en esta investigación se encuentran por debajo de los señalados en un estudio realizado en un suelo Ultisol de China por Yuan y Xu, (2011) después de 60 días de incubación con biochar de canola, trigo, cáscara de arroz, maíz, maní, soya y frijol (*Brassica campestris*, *Triticum spp*, *Oryza sativa*, *Zea mays*, *Arachis hypogaea*, *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris*, respectivamente) con valores entre 0,29 y 7,61 $\text{cmol}_+ \text{kg}^{-1}$ de Ca^{+2} , Mg^{+2} , Mg^+ y Na^+ intercambiables, dependiendo del tipo de biochar incorporado.

Evidentemente, existe un patrón definido del efecto del contenido de las bases intercambiables (Ca^{+2} , Mg^{+2} , Mg^{+}) al incorporar biochar en el suelo, al extremo que Tryon (1948) encontró un incremento de las bases intercambiables en suelos forestales, después de aplicarle carbón y Wan *et al.* (2014) informaron que las concentraciones de los cationes básicos del suelo Ultisol en China se correlacionaron positivamente los contenidos de las bases solubles de Ca^{+2} ($r = 0,757$), Mg^{+2} ($r = 0,896$), K^{+} ($r = 0,986$), bases intercambiables de Ca^{+2} ($r = 0,885$), Mg^{+2} ($r = 0,917$), K^{+} ($r = 0,635$) y cationes total en el biochar ($r = 0,819$). Por lo tanto, un mayor contenido de cationes básicos de biochar condujo a un mayor aumento de cationes básicos intercambiables de suelo.

De igual forma, Unger y Fernández (1990), Ohno y Erich (1990), Ohno (1992), Meiwes (1995), Kahl *et al.* (1996) y Williams *et al.* (1996), señalan que la ceniza de biomasa vegetal de maderas es esencialmente una fuente directa de elementos, sobre todo Ca, Mg y K, P, especialmente en los suelos y Primavesi (1998), asevera que el acto de la quema hace que incrementen los cationes Ca^{+2} , Mg^{+2} y K^{+} , por la ceniza agregada al suelo.

Cuadro III 4. Cambios de concentración de Ca^{+2} y Mg^{+2} intercambiables del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, durante la incorporación de biochar de virutas de la especie Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*).

Días de incubación	Ca^{+2} (cmol+ kg ⁻¹)			Mg^{+2} (cmol+ kg ⁻¹)		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
1	0,01 a	0,01 a	0,01 a	0,004 a	0,004 a	0,004 a
28	0,01 b	0,02 a	0,01 b	0,004 a	0,004 a	0,004 a
87	0,01 b	0,02 a	0,01 b	0,003 b	0,004 ab	0,004 ab
180	0,01 b	0,03 a	0,01 b	0,003 b	0,030 a	0,003 b

La mínima diferencia significativa (MDS) por el método de comparación de LSD Fisher mejorado con un nivel de significancia de 0,05, se denota con letras diferentes entre tratamiento para cada día de incubación. T1: Tratamiento Control, T2: Tratamiento Suelo+Biochar, T3: Tratamiento Suelo+Pino.

Cuadro III 5. Cambios de concentración de K⁺ y Na⁺ intercambiables del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, durante la incorporación de biochar de virutas de la especie Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*).

Días de incubación	K ⁺ (cmol+ kg ⁻¹)			Na ⁺ (cmol+ kg ⁻¹)		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
1	0,003 a	0,003 a	0,003 a	0,001 a	0,001 a	0,002 a
28	0,002 b	0,010 a	0,003 b	0,001 a	0,002 a	0,002 a
87	0,003 b	0,010 a	0,005 b	0,002 a	0,002 a	0,002 a
180	0,004 b	0,010 a	0,005 b	0,002 a	0,002 a	0,002 a

La mínima diferencia significativa (MDS) por el método de comparación de LSD Fisher mejorado con un nivel de significancia de 0,05, se denota con letras diferentes entre tratamiento para cada día de incubación. T1: Tratamiento Control, T2: Tratamiento Suelo+Biochar, T3: Tratamiento Suelo+Pino.

Capacidad de Intercambio Cationico (CIC) en los tratamientos:

Aun cuando los valores de CIC de este tipo de suelos son bajos, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la CIC del suelo (Cuadro III.6), en los días 87 y 180 de incubación, siendo el tratamiento Suelo+Biochar el que presentó más alta CIC.

Estos resultados confirman lo publicado por Wan *et al.* (2014) quienes indicaron un incremento de la CIC (entre 9,8 a 10,5 cmol+ kg⁻¹) después de 90 días de incubación de un suelo Ultisol con biochar de canola, maíz, paja de soya y maní (*Brassica campestris*, *Zea mays*, *Glycine max* y *Arachis hypogaea*, respectivamente). No obstante, los valores obtenidos en esta investigación resultaron más bajos que los señalados por estos autores.

Se ha señalado, que la adición de biochar provoca incremento de la CIC del suelo, cuando el biochar se expone al O₂ y agua, y reacciones de oxidación espontáneas ocurren, las cuales son reforzadas por la actividad microbiana y el resultado es un aumento de la CIC (Cheng *et al.*, 2006, 2008; Liang *et al.*, 2006).

Cuadro III 6. Cambios en la Capacidad de intercambio cationico (CIC) del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, durante la incorporación de biochar de virutas de la especie Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*).

Días de incubación	Tratamientos (cmol.kg ⁻¹)		
	Suelo (Control)	Suelo+Biochar	Suelo+Pino
1	1,20 a	1,42 a	1,17 a
28	0,67 a	1,00 a	0,50 a
87	0,40 b	1,40 a	0,80 b
180	0,92 b	1,65 a	0,92 b

La mínima diferencia significativa (MDS) por el método de comparación de LSD Fisher mejorado con un nivel de significancia de 0,05, se denota con letras diferentes entre tratamiento para cada día de incubación.

Efecto de la incorporación del biochar en las propiedades químicas del suelo visto mediante el análisis de componentes principales (gráfica de doble representación: biplot).

El Cuadro III.7, muestra los valores propios asociados a cada variable y la proporción de las variables entre los individuos explicados por cada componente. Observándose, que con los primeros dos componentes se explica una variación del 75 % de la variabilidad total significativo para los 3 tratamientos (Control, Suelo+Biochar y Suelo+Pino) y las 7 variables (pH, CE, base intercambiables de Ca⁺², Mg⁺², K⁺ y Na⁺, y CIC) a un nivel de p<0,05.

Las correlaciones de las variables originales se muestran en el Cuadro III.8. En este se observa una correlación cofenética del 0,993, siendo alta la correlación entre los elementos de la matriz original y la representación gráfica (Biplot). En tal sentido, las variables que hicieron un aporte mayor al CP1 fueron las bases intercambiables (Ca⁺², Mg⁺², Mg⁺ y Na⁺) y la capacidad de intercambio cationico (CIC); mientras que, para el CP2 las variables que tuvieron el mayor efecto fueron el pH y la conductividad eléctrica (CE) indicando el cumplimiento de los supuestos requeridos para el ACP.

Cuadro III 7. Valores propios y proporción de la varianza total de los componentes principales generados a partir de los datos estandarizados.

Componente	Valor propio	Total de la varianza	Acumulada
1	3,63	0,52	0,52
2	1,7	0,24	0,75
3	0,72	0,1	0,87
4	0,49	0,07	0,94
5	0,31	0,04	0,98
6	0,13	0,02	1

Cuadro III 8. Coeficientes de correlación de las variables químicas del suelo y los tratamientos (Control, Suelo+Biochar y Suelo+Pino), para los 3 componentes principales.

Variables	CP 1	CP 2	CP 3
pH	0,17	0,92	0,27
CE	-0,62	-0,68	0,15
BC-Na	0,58	-0,4	0,57
BC-Ca	0,95	-0,11	0,04
BC-K	0,87	0,12	0,19
BC-Mg	0,78	-0,46	-0,15
CIC	0,77	0,01	-0,49

Correlación cofenética= 0,983

Mediante el análisis multivariado, se logro la representación gráfica de los resultados del análisis (Figura III.1) de los dos componentes principales y la ubicación de las 7 variables (pH, CE, base intercambiables de Ca^{+2} , Mg^{+2} , Mg^{+} y Na^{+} , y CIC) y los tratamientos Control (T1), Suelo+Biochar (T2) y Suelo+Pino (T3) utilizando los 2 primeros CP como ejes de abscisas y ordenadas. En el eje X se localiza el componente de mayor varianza CP1 y en el eje Y el CP2 permiten

graficar las diferentes variables en un plano y establecer las correlaciones entre ellas. Permitiendo observar, en el primer cuadrante agrupado las variables pH y K^+ intercambiable por ser muy próximas entre sí debido a la alta correlación entre ellas. En el segundo cuadrante no se encontraron correlación de variables. En cambio en el tercer cuadrante se encontró solamente la conductividad eléctrica y en el cuarto cuadrante se encontraron las bases intercambiables de Ca^{+2} , Mg^{+2} y Na^+ y la capacidad de intercambio cationico por ubicarse muy próximos entre sí. Adicionalmente, se observó correlación inversa entre las variables: el pH y la conductividad eléctrica en el primer y tercer cuadrante, respectivamente.

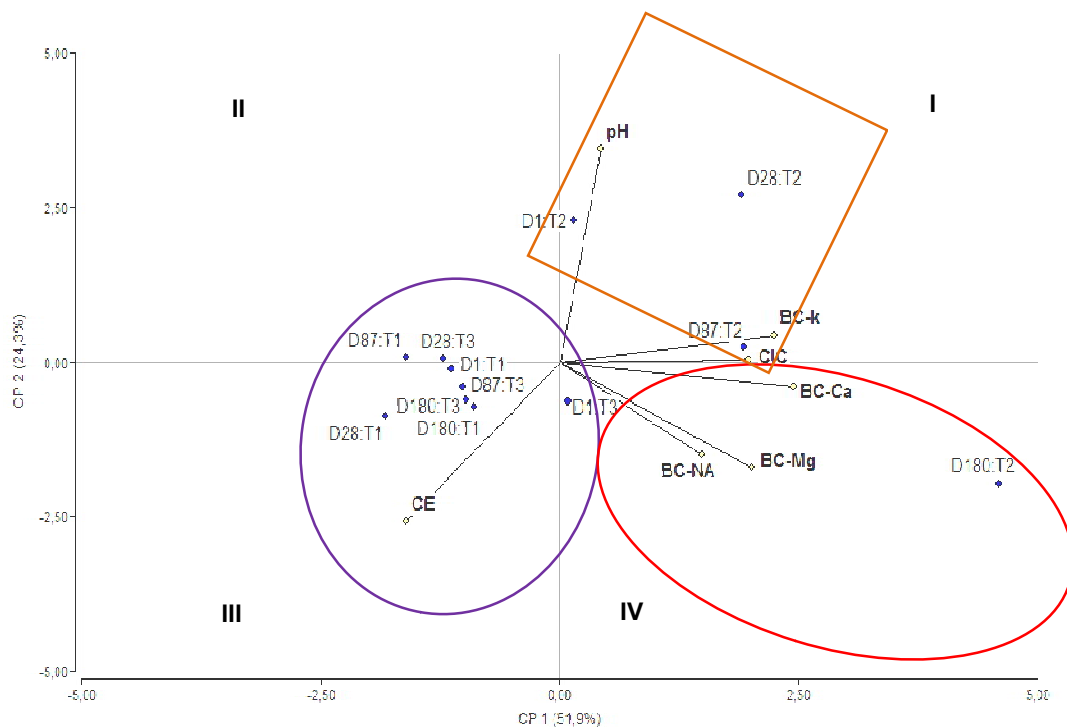


Figura III 1. Representación de los componentes principales del efecto de la incorporación del biochar de pino caribe en las propiedades químicas del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. pH, conductividad eléctrica (CE), capacidad de intercambio cationico (CIC), bases intercambiable (BC), calcio (Ca), Magnesio (Mg), Potasio (K), sodio (Na), D: día, T1: Suelo Control, T2: Suelo+Biochar y T3: Suelo+Pino.

De acuerdo a lo mostrado, se pueden separar los diferentes tratamientos en tres grupos (en los cuales D = día y T = tratamiento) de acuerdo a su similitud en sus

características químicas (Figura III.1). Así tenemos que el grupo I está conformado por D1:T2 y D28:T2, los cuales poseen un pH relativamente más alto (moderadamente ácido) que se observa reflejado en las bajas concentraciones de sales solubles (CE) durante los primeros 28 días, el incremento del pH durante estos días es producto del K^+ intercambiable, según Ulery *et al.* (1993), es debido al hecho de que los óxidos, hidróxidos y carbonatos de K^+ y Na^{+2} , son los principales responsables de la capacidad de neutralización, son muy soluble y no persisten durante mucho tiempo en el suelo. Asimismo, la ceniza de madera es una excelente enmienda para aumentar el pH de los suelos ácidos (Demeyer *et al.*, 2001). El grupo II, por D87:T2 y D180:T2, presentaron un aumento de la capacidad de intercambio cationico como respuesta a un estímulo generado por las bases intercambiables (Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ y Na^+) del biochar, resultados que pueden ser sustentados por la investigación de Tryon (1948). En cambio el grupo III, constituidos por D1:T1, D28:T1, D87:T1, D180:T1, D1:T3, D28:T3, D87:T3 y D180:T3, se caracterizan por presentar un incremento de la CE que se correlaciona con los pH más bajos (fuertemente ácido), por lo que la incorporación de virutas de pino no generó ninguna respuesta.

CONCLUSIONES

Con la incorporación del biochar de pino caribe en un suelo de baja fertilidad natural de la Mesa de Guanipa, se incrementó el pH del suelo de fuertemente ácido a moderadamente ácido, en los primeros 28 días del experimento de incubación, probablemente por fracciones asociadas al K^+ intercambiable, y por las características de enmienda que se logró obtener con el biochar producido a 450°C. El biochar obtenido también mejoró el intercambio de bases y la CIC en el suelo.

CAPITULO IV

El efecto de la incorporación del biochar de la especie pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) sobre las propiedades microbiológicas del suelo.

INTRODUCCIÓN

Efecto del biochar en las propiedades microbiológicas del suelo.

Dado que el biochar puede tener valores de pH por debajo de 4 o por encima de 12, dependiendo del tipo de materia prima, temperatura de pirólisis (Lehmann, 2007; Chan y Xu, 2009) y el grado de oxidación (Cheng *et al.*, 2006), además de ser una fuente de C para los microorganismos del suelo (Pietikarnen *et al.*, 2000) y su alta porosidad, éste puede proporcionar condiciones de vida muy diferentes para los microorganismos (Steinbeiss *et al.*, 2009). Las propiedades físico-químicas del biochar en conjunto pueden ser responsables de los cambios en las comunidades microbianas del suelo donde es incorporado (Kolton *et al.*, 2011). Sin embargo, la aplicación de biochar fresco al suelo estimula la actividad y biomasa microbiana del suelo, debido a la disponibilidad de una fracción de carbono del biochar fácilmente degradable o de fácil descomposición por los microorganismos. Kolb *et al.* (2009) encontraron que la incorporación creciente de cantidades de biochar (producido a 500°C, a partir de estiércol de vacuno y virutas de pino), en diferentes suelos de Wisconsin (Alfisol, Spodosol, Entisol y Mollisol), aumentaba la concentración del carbono hidrosoluble del suelo, e igualmente incrementaba la actividad y biomasa microbiana de estos suelos.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

Determinar el efecto de la incorporación del biochar sobre las propiedades microbiológicas del suelo, medidas a través de la liberación de CO₂ del suelo y de la concentración del carbono de la biomasa microbiana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la evaluación de las propiedades microbiológicas del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, se realizó el muestreo, tamizado y pre-tratamiento de suelo tal como se describe en el Capítulo III.

Diseño experimental.

El diseño del presente experimento de incubación para evaluar las propiedades microbiológicas fue un diseño totalmente aleatorizado como fue descrito en el Capítulo III, manteniendo los tres tratamientos: 1.- Control ó Testigo, 2.- Suelo+Biochar y 3.- Suelo+Pino. En cada tratamiento se realizaron determinaciones de respiración microbiana por el método de trampa de álcali (Tinsley *et al.*, 1951), donde se prepararon 30 unidades de incubación por tratamiento, cada unidad de incubación correspondió a un frasco de vidrio tapado de 4L de capacidad, constituido en su interior por un frasco de vidrio con 50 g de suelo, ajustado con agua destilada al 40% de su máxima capacidad de retención de humedad (Capítulo III), un vial de NaOH (25 mL, 1M) y 10 ml de agua destilada en el fondo del frasco para mantener la humedad . Adicionalmente se prepararon 30 unidades más de incubación que corresponden a los blancos preparados de la misma manera pero sin suelo, incubándose un total de 120 unidades de incubación por un periodo de 150 días a temperatura del cuarto de incubación de 25°C y en oscuridad. El CO₂ liberado durante los días 1,3, 7, 14, 28, 56, 87, 120 y 150 fue capturado en los viales que contenían los 25 mL de NaOH 1M, analizando 12 unidades de incubación por cada día señalado, es decir 3 por cada tratamiento más 3 blancos. Simultáneamente, en estos días se sacaron del contenedor de metal utilizado para incubar los suelos para determinar las propiedades químicas (Capítulo III) una bolsa por cada tratamiento para determinar carbono de la

biomasa microbiana (C-BM) y carbono hidrosoluble del suelo (CHS). Los análisis de C-BM y CHS se realizaron exclusivamente en los días 1, 3, 7, 14, 28, 56 y 87. Todos los análisis se realizaron por triplicado, con base a peso de suelo seco en estufa (105°C, 24h).

Métodos Analíticos.

Los métodos utilizados para el análisis de las muestras de suelo en los días señalados, se describen a continuación:

Carbono Hidrosoluble del suelo (CHS).

Se colocaron 20 g de suelo incubado en frascos de vidrio de capacidad aproximada de 125 mL con tapa, se le agregaron 40 mL de agua destilada, posteriormente todos los frascos se agitaron en baño de maría por 30 minutos a temperatura de 30 °C, para luego dejarlos reposar por una hora. El sobrenadante se colocó en un tubo de centrifuga y se centrifugó por 20 minutos a 2500 rpm, luego fueron filtrados a través de membranas de nitrato de celulosa de 45 micras mediante el uso de embudo kitazato y bomba de vacío. Por último, la medición del carbono hidrosoluble en el filtrado se determinó con un analizador de carbono (Marca Teledyne Tekmar, modelo Apolo 9000), (McGill *et al.*, 1986; Shu y Bin, 2000; Xuyang *et al.*, 2011).

Biomasa microbiana: Fumigación-Extracción.

El carbono de la biomasa microbiana (C-BM) se determinó mediante el método de fumigación-extracción (Vance *et al.*, 1987), que consiste en pesar 25 g de suelo y colocarlo en un beaker dentro de un desecador con CHCl₃ (50 mL y perlas de ebullición), aplicando vacío hasta que el CHCl₃ hierve durante 2 minutos. Se deja en el desecador, en el cuarto de incubación, a temperatura constante (25°C) por 24 horas. Posteriormente, se abre la válvula y se extrae el remanente de cloroformo en los suelos mediante succión por vacío bajo campana de extracción.

Los suelos fumigados (25g de suelo) fueron colocados en un frasco plástico (250 mL), con 100 mL de K₂SO₄ 0,5 M, tapados y posteriormente agitados durante 30 minutos, trascurrido el tiempo se procedió a filtrar el sobrenadante con un papel de filtro (Whatman N° 42). Este último procedimiento se realizó igualmente a los

mismos suelos sin fumigar. El contenido de carbono orgánico de los extractos se determinó con un analizador de carbono (Marca Shimadzu, modelo TOC-VCSN,). En este procedimiento, 1 mL de extracto de suelo se mezcló con 1 mL de agua y 45 μ L de HCl (20 % v/v). El C orgánico en los extractos es luego oxidado (química y térmicamente) para producir CO₂. El C-CO₂ fue medido por análisis de infrarrojo automatizado. El carbono de la biomasa microbiana (C-BM) fue luego calculado así:

$$C-BM = 2,64 E_c$$

Donde:

$$E_c = (A) - (B).$$

Donde:

A: C orgánico extraído del suelo fumigado. B: C orgánico extraído del suelo no fumigado. Los resultados fueron expresados en μ g C g⁻¹ suelo

Respiración microbiana (C-CO₂ liberado).

Los viales con NaOH retirados de las unidades de incubación correspondientes a los días de incubación fueron tapados y almacenados en un desecador. Al momento de la cuantificación del C-CO₂ liberado, se añadió a los viales 2 mL de BaCl₂ 0,5 M, para precipitar el CO₂ y el exceso de hidróxido se tituló con HCl 1M patrón usando fenolftaleína como indicador. La cantidad de CO₂ liberado se calculo mediante la fórmula:

$$\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} = (V_B - V_M) \times M_{\text{HCl}} \times 6 \times 1000 / W_s.$$

Donde:

V_B: cantidad de ácido clorhídrico gastado para valorar los blancos (frascos sin suelo), V_M: cantidad de ácido clorhídrico gastado para valorar las muestras de suelos, 6: peso equivalente del carbono, M_{HCl}: molaridad del ácido clorhídrico, 1000 es para convertir mg a μ g de C-CO₂, W_s es el peso seco a estufa (g) del suelo húmedo en cada tratamiento.

Todos los resultados se expresaron en $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ suelo d}^{-1}$ y se graficaron de forma instantánea (dividiendo la cantidad de CO_2 atrapado entre los días de incubación) y acumulativa.

Respiración específica ($q\text{CO}_2$).

También se calculó la respiración específica ($\text{mg C-CO}_2 \text{ g C-BM}^{-1} \text{ d}^{-1}$) que es la cantidad de C-CO_2 producido por unidad de carbono de biomasa microbiana por unidad de tiempo (Dilly y Munch, 1998):

$$q\text{CO}_2 = (\text{C-CO}_2 \text{ respirado tiempo}^{-1}) / \text{C-BM.}$$

Análisis estadístico.

A los datos obtenidos para las propiedades microbiológicas del suelo se les realizaron los análisis estadísticos descritos en el Capítulo III.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Carbono hidrosoluble en los tratamientos.

Recordemos que el carbono hidrosoluble del suelo (CHS) es la fracción de la materia orgánica de más fácil asimilación y la que actúa como fuente inmediata de energía para los microorganismos del suelo (Cook y Allan, 1992). En este sentido se observa que los 87 días del experimento de incubación la adición de las enmiendas orgánicas de biochar y virutas de pino caribe favorecen o estimulan la mineralización del carbono orgánico y con ello la liberación de formas de carbono lábil como es el hidrosoluble, las cuales son utilizadas por los microorganismos (Figura IV.1). No debemos olvidar que esta mineralización del carbono (sea de las enmiendas y/o del suelo) pudo ser estimulada por la adición del N mineral al inicio del experimento.

La concentración de CHS tienden a disminuir al final del periodo de incubación, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos únicamente para el día 56, particularmente por la más alta liberación de CHS en el tratamiento con biochar. Este tratamiento es el que tiende a mantener valores más altos de CHS y esto probablemente se debe a la mayor incorporación de

carbono orgánico disuelto con el biochar que con el pino fresco (11, 59 y 6,5 $\mu\text{g COD g}^{-1}$ suelo seco, respectivamente).

Los valores promedio de CHS obtenidos (53,7; 51,76 y 59,2 $\mu\text{g C g}^{-1}$ suelo, para Suelo control, Suelo+Biochar y Suelo+Pino, respectivamente) se encuentran del rango de 50 a 80 $\mu\text{g C g}^{-1}$ suelo encontrados por Gómez y Paolini (2008) para suelos de las sabanas nativas de la estación experimental INIA-El Tigre (estado Anzoátegui).

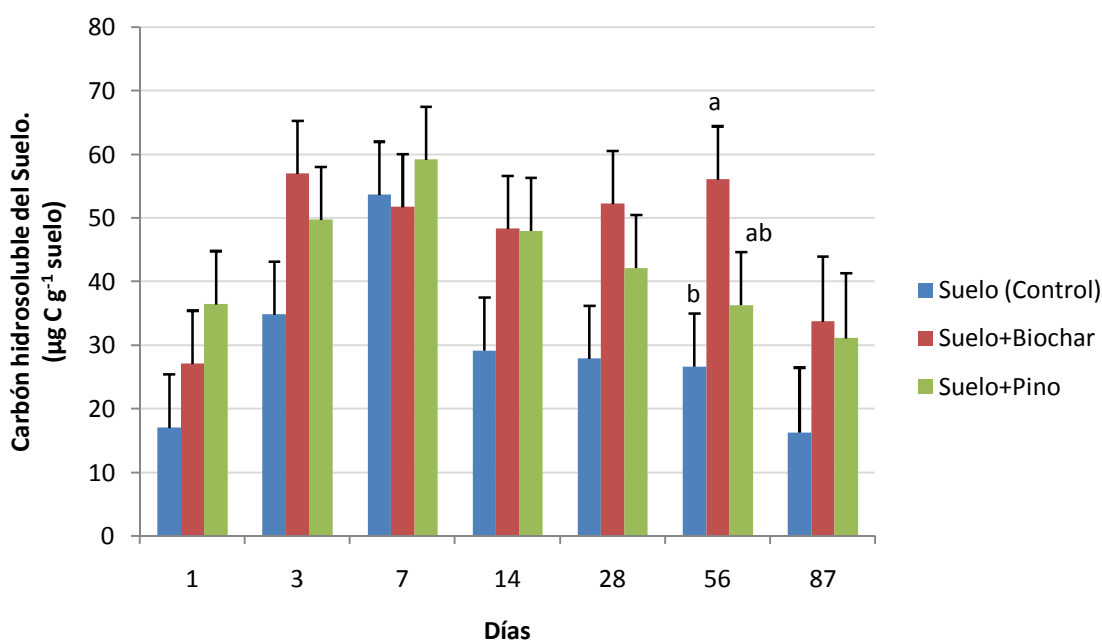


Figura IV. 1. Efecto de la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe sobre el CHS en suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. Las barras representan el error estándar de la media (n=3), las que no presentan letras indica que no hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos.

El efecto estimulante de la aplicación de N mineral particularmente en la mineralización de la materia orgánica del suelo se aprecia en el tratamiento Control, por cuanto ocurrió un incremento del CHS principalmente durante los primeros 7 días de la incubación, y que también pudo haber ocurrido en los

tratamientos Suelo+Biochar y Suelo+Pino, aunque en esta investigación no se pudo separar este efecto con el producido por la enmienda en si (efecto priming). Sin embargo, si quedaría claro que no existió limitación de N para los microorganismos, tal como se previno al planificar el experimento pensando en la alta relación C/N que podían presentar los materiales incorporados. Una vez más es importante dejar claro que si no es posible cuantificar, bajo las condiciones del presente experimento, cuál parte del CHS provino de los materiales incorporados y cual de la materia orgánica nativa del suelo. En este sentido, Luo *et al.* (2011) señalaron que la mineralización del carbono del suelo puede ser promovida por las adiciones del biochar, la cual es entonces disponible para su uso por los microorganismos (Zimmerman, 2010) y que también la fracción de carbono lábil en materiales orgánicos está estrechamente relacionada con la población y la actividad microbiana del suelo (Sakamoto y Oba, 1991).

Carbono de la biomasa microbiana (C-BM) en los tratamientos.

En esta investigación, el C-BM fue significativamente influenciado por la adición de biochar y virutas de pino caribe (Figura IV.2). La biomasa microbiana incrementó en todos los tratamientos especialmente al día 14, para luego tender al descenso hasta el final del experimento. En el tratamiento Control desde el día 1 al 14 paso de 20,64 a 58,10 $\mu\text{g C-BM g}^{-1}$ suelo, en el tratamiento Suelo+Biochar de 24,83 a 83,96 $\mu\text{g C-BM g}^{-1}$ suelo y en el tratamiento Suelo+Pino de 39,7 a 96,53 $\mu\text{g C-BM g}^{-1}$ suelo, lo cual representa un incremento de 3,4, 2,8 y 2,4 veces respectivamente. Después de los 14 días de incubación el tratamiento Suelo+Pino mantiene los valores de C-BM significativamente más altos, mientras que el tratamiento Suelo+Biochar tuvo más C-BM que el Control en los días 3, 7, 14 y 28.

Los valores de C-BM determinados en todos los tratamientos se encuentran dentro del rango para suelos de sabana nativas de la Mesa de Guanipa señalado por Gómez *et al.* (2008, 2010) con concentraciones de aproximadamente 100 $\mu\text{g C-BM g}^{-1}$ suelo en la estación experimental del INIA-EI Tigre (estado Anzoátegui) y en Uverito (estado Monagas) y por debajo de los encontrados por Hernández y

López (2002) para suelos de sabanas nativas de los llanos centrales de Venezuela ($223 \mu\text{g C-BM g}^{-1}$ suelo). Asimismo, las concentraciones de C-BM en la presente investigación se encuentran en el rango reportado por Zhao *et al.* (2015) para un suelo Ultisol de China (Provincia de Zhejiang), el cual después de 42 días de incubación con biochar de *Pinus massoniana* más nitrógeno basal presento $38,62 \mu\text{g C-BM g}^{-1}$ suelo, muy parecida a los $38,82 \mu\text{g C-BM g}^{-1}$ suelo encontrados en nuestro experimento a los 56 días de incubación.

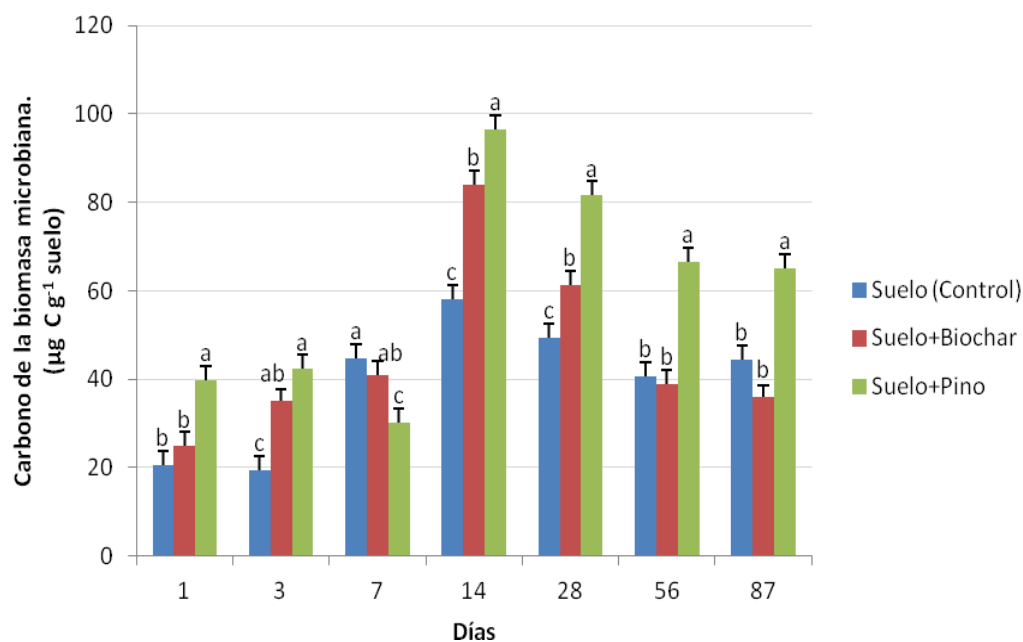


Figura IV. 2. Efecto de la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe sobre el C-BM en suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. Las barras representan el error estándar de la media (n=3), las que no presentan letras indica que no hubo diferencias estadísticas significativas.

Se ha señalado que el C-BM del suelo se puede modificar con la incorporación de biochar (Kolb *et al.*, 2009) y una fuente de nitrógeno externo como fertilización basal (Zhao *et al.*, 2015; Omay *et al.*, 1997) estimulando el crecimiento de los microorganismos del suelo (Gundale y DeLuca, 2007), particularmente promovido por una fracción de carbono lábil del biochar (Pereira *et al.*, 2011), y por la capacidad que tiene el mismo de aumentar el pH del suelo (Luo *et al.*, 2011), lo

que puede promover la degradación de C orgánico en el suelo (Gundale y DeLuca, 2007).

Las diferencias observadas en el C-BM entre los tratamientos con biochar y virutas de pino en comparación con el control pueden ser causadas por las concentraciones del COD de estos materiales incorporados al suelo, lo que a su vez pudo incidir en el aumento del CHS. Después del día 14 el C-BM y el CHS tienden a disminuir hasta el final de la incubación, por lo que se pudiera decir que existe una correlación entre ambos parámetros, tal como lo señalaron Birge *et al.* (2014).

Por otra parte, el pH del suelo en los tratamientos Suelo Control y Suelo+Pino fue fuertemente ácido (Figura III.1) durante los 87 días de las mediciones de C-BM. Esta condición de bajo pH no pareció ser una limitante para la multiplicación de las poblaciones microbiana en el suelo, a pesar de las concentraciones de aluminio intercambiable (Aciego y Brookes, 2008), que pudieron existir pero no medidas en este experimento. Por consiguiente, en el caso del tratamiento Suelo+Biochar se cree que el aumento del C-BM del suelo, también pudo ser favorecido por un aumento del pH (moderadamente ácido), producto del efecto de enmienda que generó el biochar de pino caribe en el suelo durante los primeros 28 días de incubación (Capítulo III).

En general, las fluctuaciones del C-BM no son solo una consecuencia de las variaciones de la incorporación de carbono orgánico al suelo, sino que esta depende de las condiciones físico-químicas del suelo y de la disponibilidad de sustrato.

Actividad microbiana en los tratamientos.

Durante los 150 días de incubación, la liberación del CO₂ acumulado mostró un incremento similar entre los tratamientos (Figura IV.3), resultando el tratamiento Suelo+Pino, significativamente con mayor C mineralizado (229,55 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo), seguido del tratamiento Control (112,51 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo), y del tratamiento Suelo+Biochar (105,42 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo) con la menor liberación del CO₂ (p<0,05).

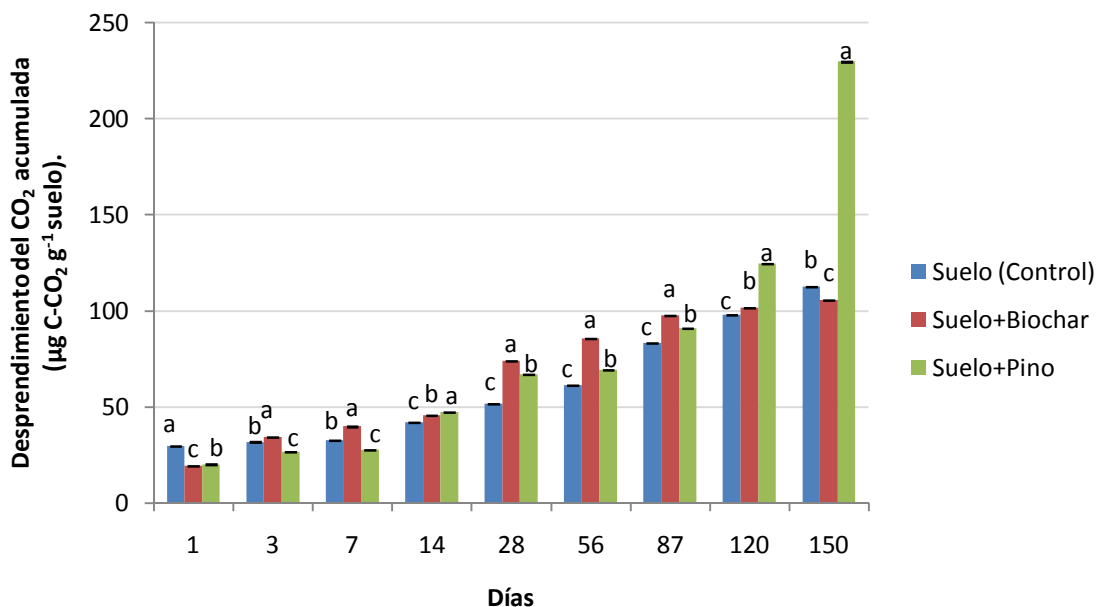


Figura IV. 3. Efecto de la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe sobre el C-CO₂ acumulado en suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. Las barras representan el error estándar de la media (n=3), las que no presentan letras indica que no hubo diferencias estadísticas significativas.

En relación a la respiración instantánea, los valores más altos de C-CO₂ se producen para todos los tratamientos durante los primeros 3 días de la incubación, para luego descender hasta el final del experimento (Figura IV.4), apreciándose diferencias estadísticas significativas durante todo el experimento, situándose el tratamiento Control (29,64 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo d⁻¹) con la mayor actividad microbiana, seguido del tratamiento Suelo+Pino (20,13 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo d⁻¹) y Suelo+Biochar (19,32 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo d⁻¹) durante las primeras 24 horas de incubación, tendencia que cambio al transcurrir 72 horas de incubación obteniéndose la mayor actividad microbiana en el tratamiento Suelo+Biochar (11,44 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo d⁻¹) > Control (10,59 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo d⁻¹) > Suelo+Pino (8,92 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo d⁻¹).

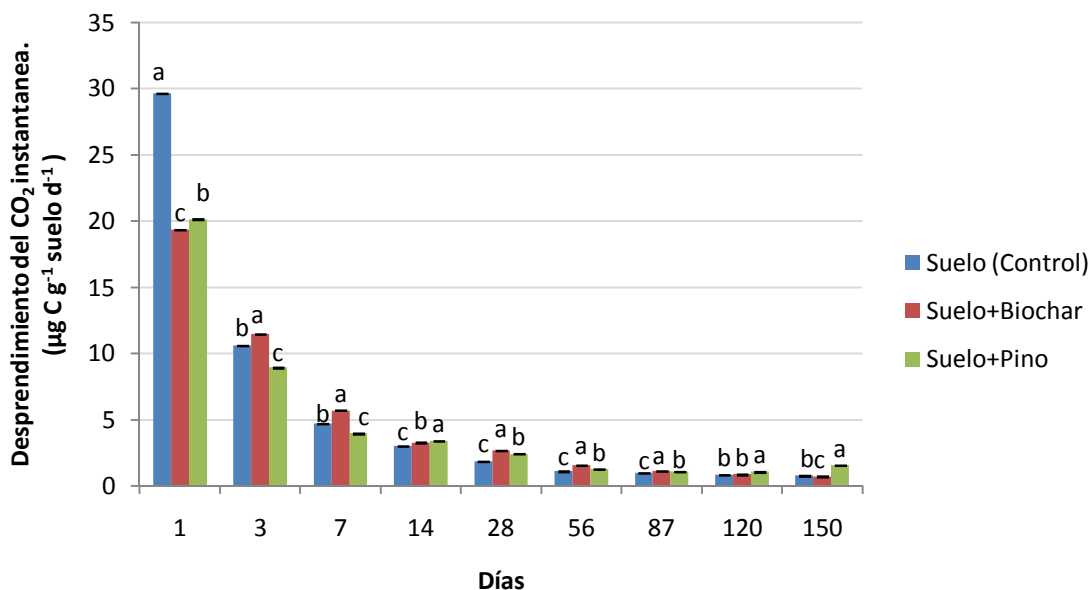


Figura IV. 4. Efecto de la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe sobre la liberación de C-CO₂ instantánea del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. Las barras representan el error estándar de la media (n=3), las que no presentan letras indica que no hubo diferencias estadísticas significativas

Los valores de respiración acumulada obtenidos en esta investigación para el tratamiento Suelo+Biochar entra en el rango encontrado por Zhao *et al.* (2015) para un suelo Ultisol utilizando biochar de *Pinus massoniana* más nitrógeno (100 a 200 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo) en 42 días de incubación. No obstante, nuestros resultados se encontró por debajo de 620 µg C-CO₂ g⁻¹ suelo acumulados durante 136 días de un experimento de incubación de un suelo del orden ultisol utilizando biochar de *Pinus taeda* (Harris *et al.*, 2013).

Los valores máximos de la respiración instantáneas obtenidos a los 3 días de incubación son más altos que los reportados por Gómez y Paolini (2006, 2008) para suelos de sabanas nativas del estado Anzoátegui y Monagas (8 a 13 y 5 a 9 µg C-CO₂ g⁻¹ 24 h⁻¹, respectivamente), así como los reportados por Gómez *et al.* (2008) en plantaciones de pino de 3 y 29 años (7 a 13 µg g⁻¹ 24 h⁻¹). Y son considerados inferiores a los valores obtenidos por Harris *et al.* (2013) para suelos

Ultisol incubados con biochar y biomasa fresca de *Pinus taeda* (171 y 692 $\mu\text{g g}^{-1}$ 24 h^{-1} , respectivamente).

En el presente estudio, la adición de biochar, virutas de pino caribe y la fuente nitrogenada ejerció un efecto altamente significativo ($p < 0,05$) sobre la actividad microbiana del suelo Oxisol de la Mesa de Guanipa (Figura IV. 2 y IV.3) gracias a la pequeña fracción de C lábil que tienen los materiales incorporados en esta investigación, pudiendo ser mineralizada dentro de un corto período de tiempo (Kuzyakov *et al.*, 2009) estimulando el crecimiento de microorganismos del suelo (Quilliam *et al.* 2013) y aumentando así la actividad microbiana del suelo (Gómez *et al.*, 2014), lo que a su vez pudo promover la mineralización o degradación del carbono en el suelo (Bruun *et al.*, 2008; Smith *et al.*, 2010; Luo *et al.*, 2011). En ese sentido, tal como lo señala Kuzyakov (2000), algunos aumentos en la respiración del suelo pudieron ser una respuesta a la adición de los materiales, es decir, esta cantidad adicional de respiración es el resultado de un efecto priming, mediante el cual un sustrato modificado lábil estimula un aumento en la actividad microbiana, produciendo un aumento inmediato de la mineralización de la materia orgánica menos lábil del suelo. Entonces, bajo el efecto priming, las interacciones entre la microbiota, el sustrato y el carbono nativo determinan las tasas de respiración del suelo (Neff *et al.*, 2002; Kuzyakov, 2006; Kuzyakov *et al.*, 2009; Kuzyakov, 2010; Blagodatskaya *et al.*, 2011).

En resumen, los resultados obtenidos parecen indicar que el tratamiento Suelo+Biochar pudiera permitir un secuestro de carbono en el tiempo, ya que su degradación no parece ser más acelerada que la de virutas de pino, existiendo además una compensación del aumento del C del suelo causado por la incorporación del biochar.

La respiración específica ($q\text{CO}_2$).

La respiración específica ($q\text{CO}_2$) resulto afectado en forma significativa durante los días 1 y 3 del experimento de incubación ($p < 0,05$) (Figura IV. 5) por la incorporación del N mineral, así como del biochar y viruta de pino caribe, siendo el tratamiento Control (1461,83 a 559,33 $\text{mg C-CO}_2 \text{g Bc}^{-1}\text{d}^{-1}$) con mayor respiración

específica seguido de los tratamientos Suelo+Biochar (788,7 a 311,55 mg C-CO₂ g Bc⁻¹d⁻¹) y Suelo+Pino (507,66 a 211,33 mg C-CO₂ g Bc⁻¹d⁻¹). Para los fines comparativos, los valores obtenidos en esta investigación son mayores que para los suelos de las sabanas nativas de Uverito (120 a 200 mg C-CO₂ g Bc⁻¹d⁻¹), reportados por Gómez *et al.* (2008).

Se pudiera pensar que durante los primeros 3 días de la incubación ocurrió una utilización menos eficiente del carbono orgánico del suelo o añadido (Insam *et al.*, 1991) y que posiblemente existe una comunidad microbiana más estresada, probablemente determinadas por las condiciones adversas reinantes por cambios en el ecosistema producto del manejo (Breland y Eltun, 1999; Wardle y Ghani, 1995) y en esta investigación pudiera ser la incorporación de biochar, virutas de pino caribe y la fuente nitrogenada, o puede ser un indicativo en un cambio en la proporción de bacterias-hongos como consecuencia del cambio en el pH del suelo (Anderson y Domsch, 1993). Aparte de los factores señalados anteriormente, debemos considerar que son estos primeros días los que presentan los valores de respiración instantánea más altos, mientras que la biomasa microbiana también tiende a aumentar pero gradualmente y en menor intensidad. Por lo tanto, la adición de carbono fácilmente asimilable incorporado con los materiales más el N mineral, en este suelo de baja fertilidad natural, pudo causar los altos valores de cociente metabólico. Razones que explicarían el incremento inmediato de la actividad microbiana, pero además, en el tratamiento Control con respecto a los otros tratamientos, durante las primeras 24 horas de incubación, posiblemente por la incorporación del N mineral que pudo causar una disminución del pH (Capítulo III). Sin embargo, la disminución en el tiempo del qCO₂ permite inferir que la biomasa microbiana se hace más eficiente en la utilización del carbono para su síntesis celular, como se puede apreciar con el incremento del C-BM (Figura IV.2), en los tratamientos Suelo+Biochar y Suelo+Pino.

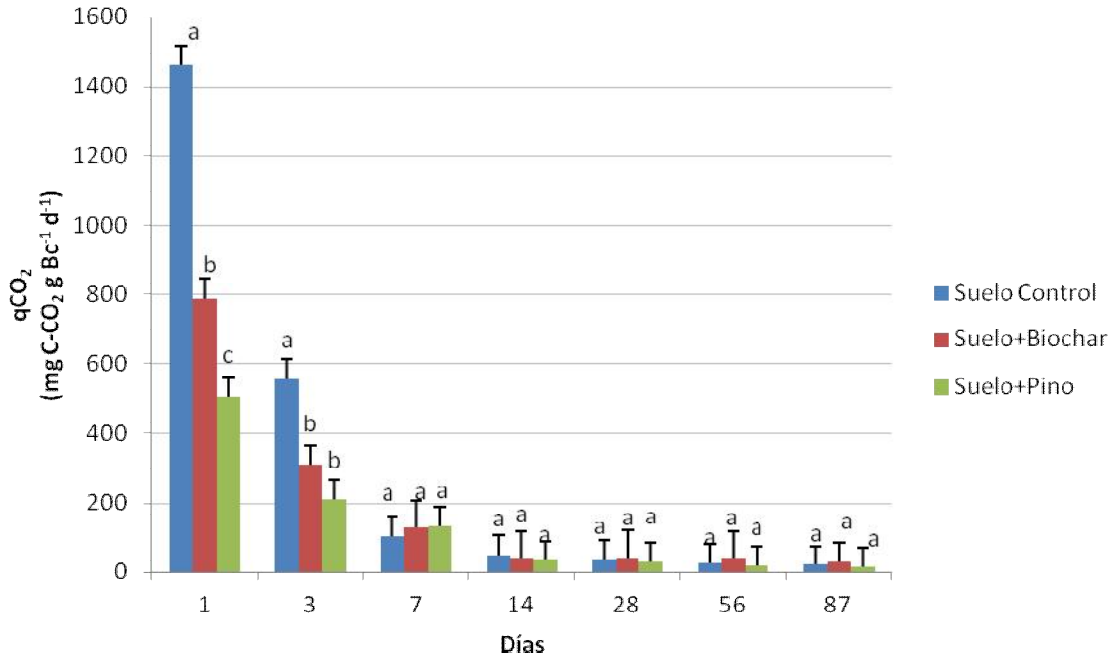


Figura IV. 5. Efecto de la incorporación de biochar de virutas de la especie pino caribe sobre la respiración específica (qCO_2) de un suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. Las barras representan el error estándar de la media ($n=3$), las que no presentan letras indica que no hubo diferencias estadísticas significativas.

Efecto de la incorporación del biochar en las propiedades microbiológicas del suelo visto mediante el análisis de componentes principal (gráfica de doble representación: biplot).

El Cuadro IV.1, muestra los valores propios asociados a cada variable y la proporción de las variables entre los individuos explicados por cada componente. Con los primeros dos componentes se explica una variación del 81 % de la variabilidad total significativo para los 3 tratamientos y las 5 variables (CHS, C.BM, C-O₂ acumulada, C-CO₂ instantáneo, qCO_2) a un nivel de $p<0,05$.

Las variables (Cuadro IV.2) que hicieron un aporte mayor al CP1 fueron carbono de la biomasa microbiana (C-BM), liberación de C-CO₂ acumulado y C-CO₂ instantánea, y respiración específica (qCO_2); mientras que, para el CP2 las variables que tuvieron el mayor efecto fueron el carbono hidrosoluble del suelo

(CHS). Además, en el análisis estadístico de las propiedades microbiológicas permitió observar una correlación cofenética del 0,993, indicando el cumplimiento de los supuestos requeridos para el ACP.

Cuadro IV 1. Valores propios y proporción de la varianza total de los componentes principales generados a partir de los datos estandarizados.

Componente	Valor propio	Total de la varianza	Acumulada
1	2,91	0,58	0,58
2	1,14	0,23	0,81
3	0,62	0,12	0,93
4	0,3	0,06	0,99
5	0,03	0,01	1

Cuadro IV 2. Coeficientes de correlación de las variables químicas del suelo y los tratamientos (Control, Suelo+Biochar y Suelo+Pino), para los 3 componentes principales.

Variables	CP 1	CP 2	CP 3
CHS	-0,33	0,89	-0,19
C-BM	-0,7	0,09	0,7
C-CO ₂ acumulado	-0,7	-0,58	-0,19
C-CO ₂ instantáneo	0,95	0,05	0,19
qCO ₂	0,95	-0,1	0,13

Correlación cofenética= **0,993**

CHS: carbono hidrosoluble del suelo. C-BM: carbono de la biomasa microbiana. C-CO₂ acumulado e instantáneo, qCO₂: respiración específica.

A partir del análisis multivariado realizado a las propiedades microbiológicas del suelo, en la Figura IV.6, muestra los resultados del análisis de los dos componentes principales y la ubicación de las 5 variables (CHS, C-BM, C-CO₂ acumulada, C-CO₂ instantáneo, qCO_2) y los tratamientos Suelo Control (T1), Suelo+Biochar (T2) y Suelo+Pino (T3) utilizando los 2 primeros factores o ACP como ejes de abscisas y ordenadas. En los ejes X y Y, se observan las diferentes variables en un plano y las correlaciones entre ellas, siendo el eje X el componente de mayor varianza CP1 y en el eje Y el CP2. Permitiendo inferir, que en el primer y cuarto cuadrante se agrupan las características C-CO₂ instantánea y coeficiente metabólico, respectivamente, por ser muy próximas entre sí debido a la alta correlación entre ellas. En el segundo cuadrante se encontraron las variables: el carbono de la biomasa microbiana y el carbono hidrosoluble del suelo, muy próximas entre sí, debido a la estrecha relación entre ellas. En cambio en el tercer cuadrante se encontró agrupada la liberación C-CO₂ acumulada correlacionándose con el carbono de la biomasa microbiana por ubicarse muy próximos entre sí. Además, se observó correlación inversa entre las variables: el carbono de la biomasa microbiana y el coeficiente metabólico, en el cuadrante dos y cuarto, respectivamente.

De acuerdo a lo mostrado, se pueden separar los diferentes tratamientos en tres grupos (en los cuales D = día y T = tratamiento) de acuerdo a su similitud en sus características microbiológicas (Figura IV.6). Así tenemos que el grupo I está conformado por D3:T1, D1:T2 y D1:T3, los cuales poseen una respiración específica alto que se observa reflejado en el desprendimiento de C-CO₂ instantáneo, relación que se trató de explicar anteriormente, al discutir los resultados. El grupo II, por D14:T2, D28:T2, D56:T2 y D14:T3, presentaron un incremento del carbono de la biomasa microbiana (C-BM), como consecuencia existió una disminución del carbono hidrosoluble del suelo (CHS), por lo que se considera que en estos días y tratamientos los microorganismos fueron más eficiente metabólicamente (qCO_2) en utilizar el CHS para su síntesis celular. No obstante, este grupo presentó características similares al grupo III constituidos por D14:T1, D56:T1, D87:T1, D28:T2, D28:T3, D56:T3 y D87:T3, en la liberación

C-CO₂ acumulada, por presentar un incremento del C-BM. Kolb *et al.* (2009) atribuyen el aumento de la actividad y la masa microbiana del suelo a la presencia de nutrientes que son proporcionados por la adición de los biochars a los suelos.

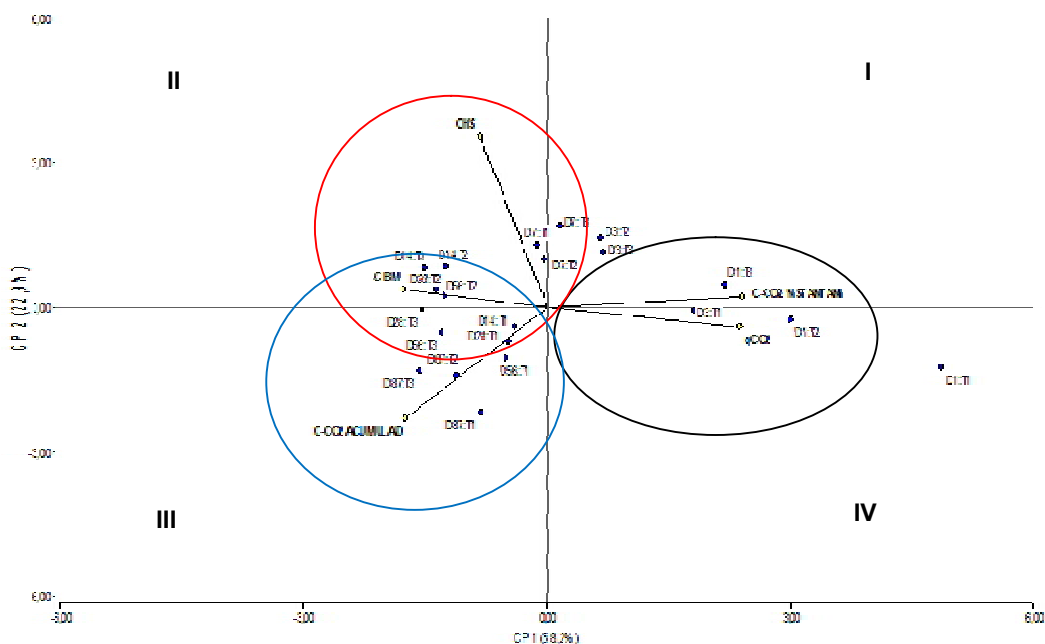


Figura IV. 6. Representación de los componentes principales del efecto de la incorporación del biochar de pino caribe en las propiedades microbiológicas del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. Carbono de la biomasa microbiana (C-BM), carbono hidrosoluble del suelo (CHS), producción de C-CO₂ acumulada e instantánea, respiración específica ($q\text{CO}_2$), D: día; T1: Suelo Control; T2: Suelo+Biochar; T3: Suelo+Pino.

Posible estímulo de la mineralización del carbono orgánico nativo del suelo, producto de la incorporación del biochar.

En esta sección se tratara de dar una explicación aproximada, ya que sólo se utilizaron las diferencias del desprendimiento de C-CO₂ acumulada entre los tratamientos, en tal sentido para cada día se resto a la mineralización de C de los tratamientos (Biochar o Pino) el valor de la mineralización del suelo control, propuesto por Hamer *et al.* (2004) y Kuzyakov *et al.* (2009), haciendo la salvedad de que estos autores si utilizaron marcadores isotópicos, tal como debe ser. En

este sentido, en la Figura IV.7, se observa que durante los primeros siete (7) días de incubación existió un efecto negativo de los materiales incorporados sobre la mineralización del CO en comparación al control. Esto pudiera indicar un efecto inhibitor y por ende un posible secuestro de carbono en el suelo. Durante las primeras 24 horas de la incubación, el tratamiento Suelo+Biochar parece causar un efecto negativo ya que su producción de C-CO₂ es de -32,82% en comparación con el del tratamiento Control. Sin embargo, la incorporación del biochar parece producir un efecto positivo en la mineralización del CO entre los días 3 hasta el día 58 del experimento de incubación, disminuyendo el efecto hasta llegar al día 150 de la incubación cuando nuevamente el efecto se hace negativo (-6,67%) en comparación con el control. El tratamiento Suelo+Pino durante los primeros 7 días de la incubación parece tener un efecto negativo en la mineralización de CO en comparación con el control, ya que su producción de C-CO₂ es de -32,09 a -15,63% menos que en el control, pero cambiando este efecto desde el día 14 hasta los 150 días del experimento de incubación (12,33 a 104% más C-CO₂ que el control).

A pesar de no existir datos comparables de este parámetro sin utilización de marcadores isotópicos, y considerando que las mediciones de la liberación del C-CO₂ no marcado en el suelo se ven obstaculizados por un gran fondo de desprendimiento de CO₂ (Zimmeman, 2010). Por su parte, Luo *et al.* (2011) encontraron un efecto estimulador o priming positivo en la mineralización del COS durante 87 días de incubación al incorporar biochar de *Miscanthus giganteus* producido a 350 °C en un suelo del orden Alfisol de bajo pH (3,70). Algunos autores, reseñan, que el efecto estimulador producto de la incorporación del biochar es relativamente rápido durante los primeros tres meses y después de 2 a 3 años se produce la descomposición parcialmente lenta, a consecuencia de que existe un incremento de la actividad microbiana producto de sustratos orgánicos lábiles, que tiende a disminuir con el tiempo por el poder de agregación que tiene el biochar con las partículas del suelo, reflejándose en las tasas de descomposición (Kuzyakov *et al.*, 2009), por su estabilidad química y recalcitrante para los microorganismos del suelo (Bruun y El-Zehery, 2012).

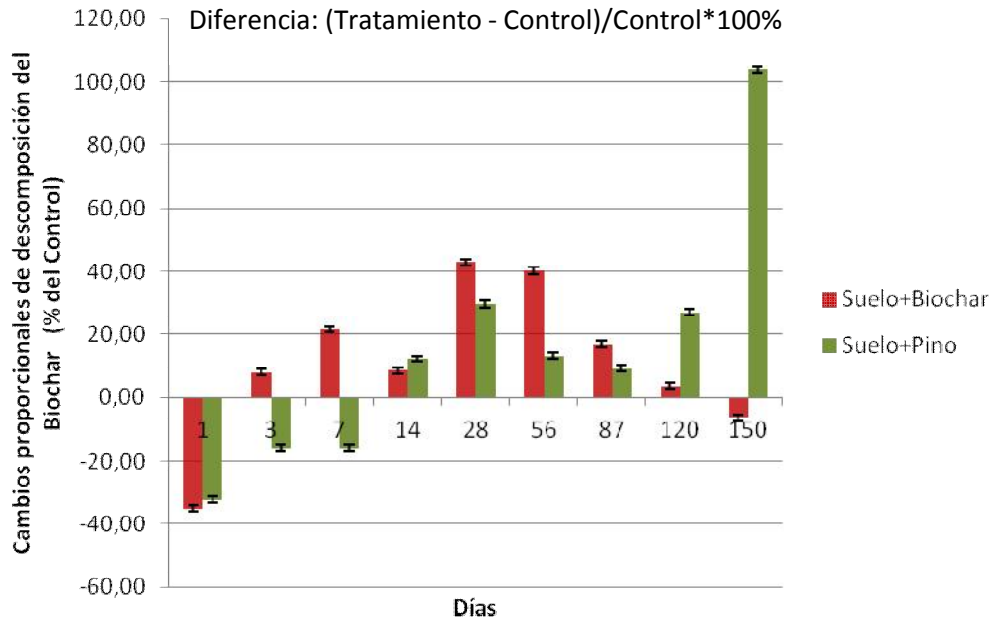


Figura IV. 7. Posible efecto priming del carbono orgánico nativo del suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, después de la incorporación del biochar de pino caribe. Las barras representan el error estándar de la media (n=3), las que no presentan letras indica que no hubo diferencias estadísticas significativas.

CONCLUSIÓN.

Se determinó que la incorporación de biochar al suelo de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui, produjo un estímulo de la actividad (C-CO₂) y biomasa microbiana (C-BM) del suelo durante los primeros días del experimento de incubación como consecuencia de la incorporación de carbono lábil o fácilmente biodegradable con el material que aumento las concentraciones del CHS. Debido a que no se usaron técnicas isotópicas, no pudimos cuantificar el efecto real del biochar sobre la mineralización de COS; sin embargo, si este efecto es positivo como pareciera haber ocurrido, este no comprometería la posibilidad de un secuestro de carbono del suelo, ya que el biochar aportaría C orgánico al suelo.

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN GENERAL

- ✓ Se pudo obtener material carbonizado con características químicas y estructura física de biochar a partir de virutas de pino caribe, mediante técnicas de pirólisis lenta.
- ✓ Las características químicas del material de biochar (COT, pH, bases intercambiables, CIC y COD), promovieron los cambios en las propiedades químicas y microbiológicas en el suelo de la Mesa de Guanipa.
- ✓ El biochar incrementó la fertilidad química del suelo, específicamente el pH del suelo durante 28 días consecutivos y se observó un pequeño incremento de la CIC a partir del día 87 y 180 del experimento como respuesta de las bases intercambiables.
- ✓ Se estimuló la respiración y biomasa microbiana del suelo promovido por la incorporación del COD en el material y aumentando el CHS.
- ✓ El Biochar pudiera permitir un secuestro de carbono en el tiempo por la compensación del aporte de CO al suelo.
- ✓ En Venezuela la investigación en esta área es muy escasa, por lo tanto se cree que este trabajo será una base para futuras investigaciones. En ese sentido, se recomienda realizar más estudios sobre los efectos de la adición de biochar de diferentes especies vegetales a nivel de fertilidad integral en suelos de diferentes tipos, así como las dosificaciones a aplicar, a fin de evaluar las posibilidades del uso del biochar como una enmienda para mejorar las condiciones de los suelos y su efecto en la mitigación del cambio climático.

LITERATURA CITADA

- Abe, I; Satoshi, I; Yoshimi, I; Hiroshi, K y Yoshiya, K. 1998. Relationship between production method and adsorption property of charcoal. *Tanso* 185:277-284.
- Aciego Pietri, J y Brookes, P. 2008. Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. *Soil. Biol. Biochem.* 40: 1856-1861.
- Aciego, J y Brookes, P. 2009. Substrate inputs and pH as factors controlling microbial biomass, activity and community structure in an arable soil. *Soil Biol. Biochem.* 41:1396-1405.
- Aciego, J. 2005. Effects of soil pH on microbial biomass, microbial activity and microbial community structure. Ph. D. Thesis. Rothamsted Research Coventry University. Reino Unido. 306 p.
- Alburquerque, J; Calero, J; Barrón, V; Torrent, J; Del Campillo, M; Gallardo, A y Villar, R. 2014. Effects of biochars produced from different feedstocks on soil properties and sunflower growth. *J.Plant Nutr. Soil Sci.* 177: 16-25.
- Almendros, G; Knicher, H; González-Villa, F. 2013. Rearrangement of carbon and nitrogen forms in peat after progressive thermal oxidation as determined by solid-state ¹³C- and ¹⁵N-NMR spectroscopy. *Org. Geochem.* 34: 1559-1568.
- Amonette, J y Joseph, S 2009. Characteristics of Biochar: Microchemical Properties. En: Lehmann, J y Joseph, S (Eds) *Biochar for environmental management: science and technology*. (pp 33-43). London. Earthscan
- Anderson, T y Domsch, K. 1993. The metabolic quotient for CO₂ (*q*CO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 25(3): 393-395.

- Angin, D y Sensoz, S. 2014. Effect of pyrolysis temperature on chemical and surface properties of biochar of rapeseed (*Brassi Napus L*). *Int. J. Phytoremediation*. 16(7-8): 684-693.
- Antal, M. J y Gronli, M. 2003. The art, science, and technology of charcoal production. *Ind. Eng. Chem. Res.* 42(8): 1619-1640.
- Anuario de estadística forestal del Ministerio del poder popular para el ambiente. 2010. Serie 12. Caracas, Venezuela. 174p.
- Bagreev, A; Badosz, T y Locke, D. 2001. Pore structure and surface chemistry of adsorbents obtained by pyrolysis of sewage sludge-derived fertilizer. *Carbon* 39: 1971 -1979.
- Baldock, J y Smernik, R. 2002. Chemical composition and bioavailability of thermally altered *Pinus resinosa* (Red pine) wood. *Org. Geochem.* 33(9): 1093–1109.
- Birge, H; Conant, R.; Follett, R.; Haddix, M; Morris, S; Snapp, S; Wallenstein, M. y Paul, E. 2015. Soil respiration is not limited by reductions in microbial biomass during long-term soil incubations. *Soil Biol. Biochem.* 81: 304-310.
- Blagodatskaya, E; Yuyukina, T; Blagodatsky, S. y Kuzyakov, Y., 2011. Three-source partitioning of microbial biomass and of CO₂ efflux from soil to evaluate mechanisms of priming effects. *Soil Biol. Biochem.* 43: 778 -786.
- Breland, T y Eltun, R. 1999. Soil microbial biomass and mineralization of carbon and nitrogen in ecological, integrated and conventional forage and arable cropping system. *Biol. Fertil. Soils.* 30:193-201.
- Brown, R. 2009. Biochar production technology. En: Lehmann, J y Joseph, S (Eds) *Biochar for environmental management: science and technology*. (pp 127-146). London. Earthscan.
- Bruum, S y El-Zehery, T. 2012. Biochar effect on the mineralization of soil organic matter. *Pesq. agropec. Bras.* 47(5): 665-671.

- Bruun, S; Jensen, E. y Jensen, L. 2008. Microbial mineralization and assimilation of black carbon: dependency on degree of thermal alteration. *Org. Geochem.* 39: 839–845.
- Carpuz, R. 2005. Materiales orgánicos: Madera. Editorial Universidad Politécnica de Valencia. 279p.
- Chan, K y Xu, Z. 2009. Biochar: Nutrient properties and their enhancement. En: Lehmann, J y Joseph, S (Eds) *Biochar for environmental management: science and technology.* (pp 67-84). London. Earthscan
- Cheng, C; Lehmann, J y Engelhard, M. 2008. Natural oxidation of black carbon in soils: Changes in molecular form and surface charge along a climosequence. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 72: 1598-1610.
- Clough, T; Bertram, J; Ray, J; Condrom, L; O'Callagan, M; Sherloch, R y Wells, N. 2010. Unweathered Wood biochar impacto on nitrous oxide emissions from a bovine-urine-amended pasture soil. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 74:852-810.
- Colom, X; Carrillo, F; Nogues, F y Garriga, P 2003. Structural analysis of photodegraded Wood by means of FTIR spectroscopy. *Polym. Degrad. Stab.* 80(3): 543-549.
- Comerma, J y Chirinos, A. 1977. Características de algunos suelos con y sin horizonte argílico en las mesas orientales de Venezuela. *Agronomía Tropical* 27(2): 181 -206.
- Contreras, J; Rojas, J y Acevedo, I. 2013. Efecto del vermicompost sobre algunas propiedades químicas y biológicas del suelo. Menoría del XX Congreso Venezolano de la Ciencia del Suelo. 5p.
- Cook, B y Allan, D. 1992. Dissolved organic matter in old field soils: total amounts as a measure of available resources for soil mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 24:585-594.

- Cross, A y Sohi, S. 2011. The priming potential of biochar products in relation to labile carbon contents and soil organic matter status. *Soil Biol. Biochem.* 43(10): 2127-2134.
- Demeyer, A; Voundi, J.C y Verloo, M. 2001. Characteristics of wood ash and influence on soil properties and nutrient uptake: an overview. *Bioresour. Technol.* 77: 287-295.
- Demirbas, A y Arin, G. 2002. An overview of biomass pyrolysis. *Energy Sources.* 24(5): 471 -482.
- Demirbas, A. 2004. Effects of temperature and particle size on bio-char yield from pyrolysis of agricultural residues. *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 72(2): 243–248.
- Di Rienzo J; Casanoves, F; Balzarini, M; Gonzalez, L; Tablada, M y Robledo, C. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Dilly, O. y Munch, J. 1998. Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils. *Biol. Fertil. Soils.* 27: 374-379
- Downie, A, Crosky, A y Munroe, P. 2009. Physical properties of biochar. En Lehmann, J y Joseph, S (Eds) *Biochar for environmental management: science and technology.* (pp 13-32). London. Earthscan.
- Espinosa, J; Molina, E. 1999. Acidez y encalado de los suelos. Primera edición. International Plant Nutrition Institute. 49p.
- Fabiano, A y Madari, B. 2012. Biochar: Agronomic and environmental potential in Brazilian savannah soils. *Rev. Bras. Eng. Agric. Ambient.* 16(7): 768-768.
- Ferreira, T; Novotny, E; Eموke, B; De Melo, V; Martin, L y De Araujo, G. 2009. O Carbono Pirogénico. En: Teixeira, W; Kern D; Madari, B; Lima, H y Woods, W (eds), *As Terras Pretas de Índia da Amazonia: Sua caracterizacao e uso desde conhecimento na crisacao de novas áreas.* (pp 263-284). Manaus: Embrapa Amazonia Ocidental.

- Fuenmayor, C; Vera, M; Gomes da Silva, F; Wong, S; Mogollón, G; Sanches, F. 2010. Evaluación del efecto de la carga alcalina y factor H en el pulpeo kraft de *Pinus Caribaea* var. *Hondurensis* de la plantación de CVG-PROFORCA-Venezuela. *Copermico*. Año IV. N° 7. p 03-14.
- Ganduglia, F; Leon, J; Gasparini, R; Rodríguez, M; Huarte, G; Estrada, J y Filgueiras, E. 2009. Manual de combustibles. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) y Asociación Regional de Empresas de Petróleo y Gas Natural de América Latina y el Caribe (ARPEL). 230p.
- García, L; Guindeo, A; Peraza, C y De Palacios, P. 2003. La madera y su anatomía: anomalías y defectos, estructura microscópica de coníferas y frondosas, identificación de maderas, descripción de especies y pared celular. Editorial Fundación Conde del Valle de Salaza. 327p.
- Gaskin, J; Steiner, C; Harris, K; Das, K y Bibens, B. 2008. Effect of low-temperature pyrolysis conditions on biochar for agricultural use. *ASABE*. 51(6): 2061-2069.
- Glaser, B; Haumaier, L; Guggenberger, G y Zech, W. 2001. The 'Terra Preta' phenomenon: a model for sustainable agriculture in the humid tropics. *Naturwissenschaften*. 88(1):37-41.
- Gómez, J; Deneff, K; Stewart, C; Zheng, J. y Cotrufo, M. 2014. Biochar addition rate influences soil microbial abundance and activity in temperate soils. *Eur. J. Soil Sci.* 65: 28 -39
- Gómez, Y y Paolini, J. 2006. Actividad microbiana en suelos de sabanas de los Llanos Orientales de Venezuela convertidas en pasturas. *Rev. Biol. Trop.* 54(2): 273-285.
- Gómez, Y y Paolini, J. 2008. Efecto de la variabilidad temporal y el manejo del suelo sobre los parámetros microbiológicos en sabanas de los llanos orientales de Venezuela. *Saber* 20(1): 18-28.

- Gómez, Y; Paolini, J y Hernández, R. 2008. Sustitución de la sabana native con plantaciones de *Pinus caribaea* (Pinaceae) en Venezuela: efecto sobre parámetros indicadores de cambios en el carbon del suelo. *Rev. Biol. Trop.* 56(4):2041-2053.
- Gómez, Y; Paolini, J y Hernández, R. 2010. La sustitución de la sabana native por plantaciones de pino y la variabilidad temporal en la biomasa microbiana y la mineralización del carbon y nitrógeno en el suelo. *Terra Latinoamericana.* 28:155-163.
- Grace, C; Hart, M y Brookes, P. 2003. Laboratory manual of the soil microbial biomass group, rothamsted experimental station, soil science department, UK. 66 p.
- Gundale, M y DeLuca, T. 2007. Charcoal effects on soil solution chemistry and growth of *Koeleria macrantha* in the ponderosa pine/douglas fir ecosystem. *Biol. Fertil. Soils.* 43:303-311.
- Gundale, M. y DeLuca, T. 2006. Temperature and source material influence ecological attributes of ponderosa pine and Douglas-fir charcoal. *For. Ecol. Manage.* 231: 86-93.
- Hale, S; Hanley, K; Lehmann, J; Zimmerman, A y Cornelissen, G. 2011. Effects of chemical, biological, and physical aging as well as soil addition on the sorption of pyrene to activated carbon and biochar. *Environ. Sci. Technol.* 45(24):10445-10453.
- Hamer, U; Marschner, B; Brodowski, S y Amelung, W. 2004. Interactive priming of black carbon and glucose mineralization. *Org. Geochem.* 35: 823-830.
- Harris, K; Gaskin, J; Cabrera, M; Miller, W y Das, K. 2013. Characterization and mineralization rates of low temperatura peanut hull and pine chip biochars. *Agronomy.* 3: 294-312.

- Harris, P y Tsang, S. 1997. High-resolution electron microscopy studies of non-graphitizing carbons. *Philos. Mag. A.* 76(3): 667-677.
- Harris, P. 1997. Structure of non-graphitising carbons. *Int. Mater. Rev.* 42(5):207: 218.
- Herbert, L; Hosek, I y Kripalani, R. 2012. The characterization and comparison of biochar produced from a decentralized reactor using forced air and natural draft pyrolysis. California Polytechnic State University, San Luis Obispo Materials Engineering Department. 35p.
- Hernández, R y López, D. 2002. Microbial biomass, mineral nitrogen and carbon content in savanna soil aggregates under conventional and no-tillage. *Soil Biol. Biochem.* 34:1563-1570.
- Hossain, M, Strezov, V, Chan, K, Ziolkowski, A y Nelson, P. 2011. Influence of pyrolysis temperature on production and nutrient properties of wastewater sludge biochar. *J. Environ. Manage.* 92(1):223–228.
- Hossain, M; Strezov, V; Chan, K; Ziolkowski, A y Nelson, P. 2011. Influence of pyrolysis temperature on production and nutrient properties of wastewater sludge biochar. *J. Environ. Manage.* 92(1):223–228.
- Huff, M; Kumar, S y Lee, J. 2014. Comparative analysis of pinewood, peanut shell, and bamboo biomass derived biochars produced via hydrothermal conversion and pyrolysis. *J. Environ Manage.* 146: 303-308.
- Insam, H; Mithell, C y Dormaar, J. 1991. Relationship of soil microbial biomass and activity with fertilization practice and crop yield of three Ultisols. *Soil Biol. Biochem.* 23:459-464.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). 2013. Datos de la estación climática del Tigre, estado Anzoátegui. Recopilación de datos, desde 1998-2012. Venezuela.

- Jindo, K; Mizumoto, H; Sawada, Y; Sanchez-Monedero, M y Sonaki, T. 2014. Physical and chemical characterization of biochars derived from different agricultural residues. *Biogeosciences*. 11:6613-6621.
- Jones, D; Jones, G y Murphy, D. 2011. Biochar mediated alterations in herbicide breakdown and leaching in soil. *Soil Biol. Biochem.* 43(4): 804-813.
- Kahl, J; Fernandez, I; Rustad, L. y Peckenham, J. 1996 Threshold application rates of wood ash to an acidic forest soil. *J. Environ. Qual.* 25, 220–227
- Kammen, D y Lew, D. 2005. Review of technologies for the production and use of charcoal. Renewable energy laboratory, Berkeley University. 1 March. (Consulta en línea). Disponible: <http://www.hedon.info/docs/Kammen-Lew-Charcoal-2005.pdf>. (Consulta: 2011, Noviembre 20).
- Keiluweit, M, Nico, P, Johnson, M y Kleber, M. 2010. Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon (Biochar). *Environ. Sci. Technol.* 44(4): 1247–53.
- Kloss, S; Zehetner, F; Oburger, E; Buecker, J; Kitzler, B; Wenzel, W; Wimmer, B y Soja, G. 2014. Trace element concentrations in leachates and mustard plant tissue (*Sinapis alba* L.) after biochar application to temperate soils. *Sci. Total Environ.* 481: 498-508.
- Knoepp, J; DeBano, L y Neary, D. 2005. Soil chemistry. En: Neary, D; Ryan, K y DeBano, L. (Eds). *Wildland fire in ecosystems: effects of fire on soils and water*. (pp 55-71). Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR-42-vol.4. Ogden, UT: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station.
- Kolb, S; Fermanich, K. y Dornbush, M. 2009. Effect of charcoal quantity on microbial biomass and activity in temperate soils. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 73(4): 1173-1181.

- Kolton, M; Meller, Y; Pasternak, Z; Graber, E; Elad, Y. y Cytryn, E. 2011. Impact of biochar application to soil on the root-associated bacterial community structure of fully developed greenhouse pepper plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 77(4):4924-4930.
- Kuzyakov, Y. 2006. Sources of CO₂ efflux from soil and review of partitioning methods. *Soil Biol. Biochem.* 38, 425 -448.
- Kuzyakov, Y. 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1485 -1498
- Kuzyakov, Y. 2010. Priming effects: interactions between living and dead organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 42, 1363 -1371
- Kuzyakov, Y; Blagodatskaya, E y Blagodatsky, S., 2009. The biology of the regulatory gate. *Soil Biol. Biochem.* 41: 435-439.
- Kuzyakov, Y; Subbotina, I; Chen, H; Bogomolova, I y Xu, X. 2009. Black carbon decomposition and incorporation into soil microbial biomass estimated by ¹⁴C labeling. *Soil Biol. Biochem.* 41:210-219.
- Laird, D; Brown, R; Amonette, J y Lehmann, J. 2009. Review of the pyrolysis platform for coproducing bio-oil and biochar. *Biofuels, Bioprod. Biorefin.* 3(5): 547-562.
- Lehmann, J y Joseph, S. 2009. Biochar for environmental management: an introduction. En: Lehmann, J y Joseph, S (Eds), *Biochar for environmental management: Science and Technology*. (pp 1 -12). London. Earthscan.
- Lehmann, J, Gaunt, J y Rondon, M. 2006. Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems: a review. *Mitigation Adapt. Strateg. Glob. Chang.* 11: 403–27.
- Lehmann, J; Da Silva, J; Rondon, M; Da Silva, C; Greenwood, J; Nehls, T; Steiner, C y Glaser, B. 2002. Slash-and-char: a feasible alternative for soil fertility management in the central amazon?. 17th WCSS. Thailand. 12p.

- Lehmann, J; Rillig, M; Thies, J; Masiello, C; Hockaday, W y Crowley, D. 2011. Biochar effects on soil biota – A review. *Soil Biol. Biochem.* 43(9): 1812-1836.
- Lehmann, J. 2007. Bio-energy in the black. *Front. Ecol. Environ.* 5(7): 381–387.
- Liang, B; Lehmann, J; Solomon, D; Kinyangi, J; Grossman, J; O’Neill, B; Skjemstad, J; Thies, J; Luizao, F; Petersen, J; y Neves, E. 2006. Black carbon increases cation exchange capacity in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 1719-1730.
- López, A. 2000. La madera: estructura, composición química y causas de deterioro. En: Inglesias, J. (Eds) Actas de los XI cursos monográficos sobre el patrimonio histórico. Universidad de Cantabria. Reinosa. p 115-140.
- Lui, Y; He, Z y Uchimiya, M. 2015. Comparison of biochar formation from various agricultural by-products using FTIR spectroscopy. *Modern Applied Science.* 9(4):246-253.
- Luo, Y; Durenkamp, M; De Nobili, M; Lin, Q y Brookes, P. 2011. Short term soil priming effects and the mineralisation of biochar following its incorporation to soil of different pH. *Soil Biol. Biochem.* 43: 2304 – 2314.
- Luo, Y; Zhao, L; Meng, H; Xiand, X; Zhao, X, Li, G; Lin, Q. 2013. Physio-chemical characterization of biochars pyrolyzed from miscanthus under two different temperatures. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering.* 29(13): 208-217.
- Mahibbur, R y Govindarajulu, Z. 1997. A modification of the of Shapiro and Wilks for normality. *J. Appl. Statist.* 24(2):219-235.
- McGill, W; Cannon, K; Robertson, J y Cook, F. 1986. Dynamics of soil microbial biomass and water-soluble organic c in breton I after 50 years of cropping to two rotations. *Can. J. Soil Sci.* 66(1): 1-19

- McHenry, M. 2009. Agricultural bio-char production, renewable energy generation and farm carbon sequestration in Western Australia: Certainty, uncertainty and risk. *Agric. Ecosyst. Environ.* 129: 1 –7.
- McLaughlin, H; Anderson, P; Shields, F y Reed, T. 2009. All biochars are not created equal, and how to tell them apart. (Consulta en línea). Disponible: <http://www.drtilud.com/?resource=prr09325> . (Consulta: 2015, Agosto 12).
- Meiwes, K.J. 1995 Application of lime and wood ash to decrease acidification of forest soils. *Water Air Soil Pollut.* 85, 143–152
- Mimmo, T; Panzacchi, P; Baratieri, M; Davies, C y Tonon, G. (2014). Effect of pyrolysis temperature on miscanthus (*Miscanthus × giganteus*) biochar physical, chemical and functional properties. *Biomass Bioenergy.* 62:149-157.
- Mogollón, G., Aguilera, A y Gutiérrez, I. 2003. Caracterización del Pino Caribe resinado proveniente de plantaciones. *Revista Forest. Venez.* 47 (2), 107 – 114.
- Mogollón, G; García, J y León, W. 2008. Materia prima fibrosa. En Area, M (Eds) Panorama de la industria de celulosa y papel en Iberoamérica. 1a ed. - Misiones: Red Iberoamericana de Docencia e Investigación en Celulosa y Papel-Riadicy. p 15-60.
- Morre, A y Owen, N. 2001. Infrared spectroscopic studies of solid wood. *J. App. Spectrosc.* 3(1): 65-86.
- Mukherjee, A; Zimmerman, A y Harris, W. 2011. Surface chemistry variations among a series of laboratory-produced biochars. *Geoderma* 163(3): 247–255.
- Navarro, S y Navarro, G. 2003. Química Orgánica. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. Segunda edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 479p.

- Neary, D; Klopatek, C; DeBano, L y Folliott, P. 1999. Fire effects on belowground sustainability: A review and synthesis. *For. Ecol. Manage.* 122: 51–71.
- Neff, J; Townsend, A; Gleixner, G; Lehman, J; Turnbull, J. y Bowman, W. 2002. Variable effects of nitrogen additions on the stability and turnover of soil carbon. *Nature* 419: 915 -917
- Neves, E; Petersen, J; Bartone, R; Da Silva, C. 2003. Historical and socio-cultural origins of Amazonian Dark Earths. En: Lehmann, J; Kern, D; Glaser, B y Woods, W (Eds). *Amazonian Dark Earths: Origin, Properties, Management.* (pp 29-50). Springer.
- Nigussie, A; Kissi, E; Misganaw, M y Ambaw, G. 2012. Effect of biochar application on soil properties and nutrient uptake of lettuces (*lactuca sativa*) grown in chromium polluted soils. *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.* 12(3): 369-376.
- Novak, J; Lima, I; Xing, B; Gaskin, J; Steiner, C; Das, K.; Ahmedna, M; Rehrh, D; Watts, D y Busscher, W. 2009. Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects on a loamy sand. *Ann. Environ. Sci.* 3:195–206.
- Ohno, T y Erich, M. 1990. Effect of wood ash application on soil pH and soil test nutrients levels. *Agric. Ecosystems Environ.*, 32: 223-239
- Ohno, T. 1992 Neutralisation of soil acidity and release of phosphorus and potassium by wood ash. *J. Environ. Qual.* 21, 433–438
- Omay, A; Rice, C; Maddux, L y Gondon, W. 1997. Changes in soil microbial and chemical properties under long-term crop rotation and fertilization. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 61:1672-1678.
- Palma, Z. 2013. Concentración del carbono del fuste de pino caribe. Datos no publicados.

- Pandey, K y Pitman, A. 2003. FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 52(3):151-160.
- Pérez, D. 2010. Variaciones en los mecanismos de fijación de CO₂ en plantas C4. Cátedra de Fisiología Vegetal. Universidad Central de Venezuela. (Documento en línea). Disponible: <http://www.ucv.ve/organizacion/facultades/facultad-de-agronomia/docencia/botanica/fisiologia-vegetal.html>. (Consulta: 2012, Noviembre 20).
- Pessenda, L; Gouveia, S; Aravena, R; Boulet, R y Valencia, E. 2004. Holocene fire and vegetation changes in southeastern Brazil as deduced from fossil charcoal and soil carbon isotopes. *Quat. Int.* 114(1): 35-45.
- Pla, L. 1986. Análisis multivariado: Método de componentes principales. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Serie de matemática. Monografía N° 27. Washington, D.C. 94 p.
- Primavesi, A. 1998. Manejo ecológico del suelo. 5ta ed. Ateneo, Buenos Aires. 342 p
- Quilliam, R; Glanville, H; Wade, S y Jones, D. 2013. Life in the 'charosphere'— does biochar in agricultural soil provide a significant habitat for microorganisms?. *Soil Biol. Biochem.* 65, 287 –293.
- Renner, R. 2007. Rethinking biochar. *Environ. Sci. Technol.* 41(17): 5932-5933.
- Romero, L y Hernández-Valencia, I. 2011. Cambio en la fertilidad química de un suelo de sabana luego de diez años de su aforestación con *Acacia mangium*. Memorias del XIX Congreso Venezolano de la Ciencia del Suelo, Calabozo-Guárico, Venezuela.

- Ronsse, F, Hecke, S; Dickinson, D y Prins, W. 2013. Production and characterization of slow pyrolysis biochar: influence of feedstock type and pyrolysis conditions. *GCB Bioenergy*. 5(2): 104-115.
- Saccarello, M. 2010. La Madera desde su conocimiento hasta su conservación. Editorial Gente Común. Bolivia. 172 p.
- Sakamoto, K. and Oba, Y. (1991) Relationship between the amount of organic material applied and soil biomass content. *Soil Sci. Plant Nutr.* 37 (3), 387-397
- Sánchez, N; Subero, N y Rivero, C. 2011. Determinación de la adsorción de cadmio mediante isotermas de adsorción en suelos agrícolas venezolanos. *Acta Agronómica*. 60(2):190-197.
- Sandermann, H. 1968. Las industrias químicas de la madera. Instituto interamericano de ciencias agrícolas de la OEA. Centro de enseñanza e investigación. Publicación miscelánea N° 59. Turrialba, Costa Rica. 88p.
- Schmidt, M y Noack, A. 2000. Black carbon in soils and sediments: Analysis, distribution, implications, and current challenges. *Global Biogeochem. Cycles*. 14(3): 777-793.
- Schomberg, H; Gaskin, J; Harris, K; Das, K; Novak, J; Busscher, W; Watts, D; Woodroof, R; Lima, I; Ahmedna, M; Rehrh, D y Xing, B. 2012. Influence of biochar on nitrogen fractions in a Coastal Plain soil. *J. Environ. Qual.* 41(4):1087–1095.
- Shaaban, A; Sian-Mend, S; Nona, M y Dimin, M. 2013. Characterization of biochar derived from rubber wood sawdust through slow pyrolysis on surface porosities and functional groups. *Procedia Eng.* 68: 365-371.
- Shenbagavalli, S y Mahimairaja, S. 2012. Production and characterization of biochar from different biological wastes. *IJPAES*. 2(1): 197-201.

- Shinogi, Y y Kanri, Y. 2003. Pyrolysis of plant, animal and human waste: physical and chemical characterization of the pyrolytic products. *Bioresour. Technol.* 90:241-247.
- Shu, T y Bin, L. (2000) Water soluble organic carbon and its measurement in soil and sediment. *Water Res.* 34 (5): 1751-1755
- Sigua, G; Novak, J; Watts, D; Cantrell, K; Schumaker, P; Szögi, A y Johnson, M. 2014. Carbon mineralization in two Ultisols amended with different sources and particle sizes of pyrolyzed biochar. *Chemosphere.* 103:313–321.
- Silverstein, R; Webster, F; Kiemle, D. 2005. Spectrometric identification of organic compounds. Seventh edition. 502 p.
- Smith, J; Collins, H y Bailey, V. 2010. The effect of Young biochar on soil respiration. *Soil Biol. Biochem.* 24: 2345-2347.
- Sohi, S, Krull, E, Lopez-Capel, E y Bol, R. 2010. A review of biochar and its use and function in soil. *Adv. Agron.* 105: 47–82.
- Sohi, S; Lopez-Capel, E; Krull, E y Bol, R 2009. Biochar's roles in soil and climate change: A review of research needs. CSIRO Land and Water Science Report 05/09, 64 p.
- Sombroek, W; Nachtergaele, O y Hebel, A. 1993. Amounts, dynamics and sequestering of carbon in tropical and subtropical soils. *Ambio.* 22 (7):417-426.
- Steinbeiss, S; Gleixner, G y Antonietti, M. 2009. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity. *Soil Biol. Biochem.* 41(6): 1301 -1310.
- Tinsley, J; Taylor, T y Moore, J. 1951. The determination of carbon dioxide derived from carbonates in agricultural and biological materials. *Analyst.* 76:300-310

- Titirici, M; Thomas, A; Yu, S; Muller, J y Antonietti, M. 2007. A direct synthesis of mesoporous carbons with bicontinuous pore morphology from crude plant material by hydrothermal carbonization. *Chem. Mater.* 19(17): 4205-4212.
- Topoliantz, S; Ponge, J y Ballof, S. 2005. Manioc peel and charcoal: a potential organic amendment for sustainable soil fertility in the tropics. *Biol. Fertil. Soils.* 41 (1): 15-21.
- Tryon, E. 1948. Effect of charcoal on certain physical, chemical, and biological properties of forest soils. *Ecol. Monogr.* 48(1): 81-115.
- Ulery, A, Graham, R y Amrhein, C. 1993. Wood-ash composition and soil pH following intense burning. *Soil Science.* 156(5): 358-364.
- Unger, Y. y Fernandez, I. 1990. Short term effects of wood-ash amendment on forest soils. *Water Air Soil Pollut.* 49, 315-328.
- USDA. 1972. Soil survey laboratory methods and procedures for collecting soil samples. Traducción al español. Edit Trillas. 716p
- USDA. 1999. Soil quality test kit guide. U.S. Department of agriculture, agricultural research service. p 59.
- Vaccari, F; Baronti, S; Lugato, E; Genesio, L; Castaldi, S; Fornasier, F y Miglietta, F. 2011. Biochar as a strategy to sequester carbon and increase yield in durum wheat. *Eur. J. Agro.* 34(4): 231 -238.
- Van Soest, P; Robertson, J y Lewis, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74(10): 3583-3597.
- Van Zwieten, L; Kimber, S; Morris, S; Chan, K; Downie, A; Rust, J; Joseph, S y Cowie, A . 2010. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant soil.* 327: 235-246.

- Vance, E; Brookes, P y Jenkinson, D. 1987. An extracton method for measuring soil microbial biomass c. *Soil Biol. Biochem.*19:703-707.
- Wan, Q; Hua Yuan, J; Kou Xu, R y Hui Li, X. 2014. Pyrolysis temperature influences ameliorating effects of biochar son acidic soil. *Environ Sci Pollut Res.* 21: 2486-2495.
- Wardle, D y Ghani. 1995. Why is the strength of relationship between pairs of methods for estimating soil microbial biomass often so variable?. *Soil. Biol. Biochem.* 27:821-828.
- Warnock, D; Lehmann, J; Kuyper, T y Rillig, M. 2007. Mycorrhizal responses to biochar in soil – concepts and mechanisms. *Plant Soil.* 300: 9- 20.
- Williams, T; Hollis, C. y Smith, B. 1996 Forest soil and water chemistry following bark boiler bottom ash application. *J. Environ. Qual.* 25, 955–961.
- Winsley, P. 2007. Biochar and bioenergy production for climate change mitigation. *N. Z. Sci. Rev.* 64(1): 5-10.
- Winsley, P. 2007. Biochar and bioenergy production for climate change mitigation. *New zealand Science Review.* 64(1): 5-10.
- Woods, W. I y Denevan, W. M. 2009. Amazonian dark earths: the first century of reports. En: Woods, W; Teixeira, W; Jehmann, J; Steiner, C; WinklerPrins, A y Rebellato, L (Eds), *Amazonian dark earths: The first century of reports. In Amazonian Dark Earths: Wim Sombroek's Vision.* (pp 1-14), Springer.
- Xu, R; Zhao, A; Yuan, J; Jiang, J. 2012. pH buffering capacity of acid soils from tropical and subtropical regions of China as influenced by incorporation of crop Straw biochrs. *J Soils Sediments.* 12:494-502.
- Xuyang, L; Jihui, F; Yan, Y. y Xiaodan, W. 2011. Soil water soluble organic carbon under three alpine grassland types in Northern Tibet, China. *Afr. J. Agric. Res.* 6(9): 2066-2071

- Yaman, S. 2004. Pyrolysis of biomass to produce fuels and chemical feedstocks. *Energy Convers. Manage.* 45(5): 651 -671.
- Yuan, J y Xu, R. 2011. The amelioration effects of low temperature biochar generated from nine crop residues on an acidic ultisol. *Soil Use Manage.* 27: 110-115.
- Zanni, E. 2004. Patología de la Madera: degradación y rehabilitación de estructura de madera. Primera edición. Editorial Brujas. Cordoba. 242p.
- Zhang, Z; Yani, S; Zhu, M; Li, J; Zhang, D. 2013. Effect of temperatura and heating rate in pyrolysis on the yield, structure and oxidation reactivity of pine Sawdust biochar. (Documento en línea). Disponible: <http://www.conference.net.au/chemeca2013/papers/30430.pdf>. (Consulta: 1996, Junio 24.)
- Zhao, R, Coles, N y Wu, J. Soil carbon mineralization following biochar addition associated with external nitrogen. *Chilean. J. Agric. Res.* 75(4): 465-471.
- Zheng, H; Wang, Z; Deng, X; Zhao, J; Luo, Y; Novak, J; Herbert, S y Xinh, B. 2013. Characteristics and nutrient values of biochars produced from giant reed at different temperatures. *Bioresour. Technol.* 130: 463-471.
- Zimmerman, A.R. 2010. Abiotic and microbial oxidation of laboratory-produced black carbon (biochar). *Environ. Sci. Technol.* 44: 1295–1301.
- Zimmerman, A; Gao, B y Ahn, M.Y. 2011. Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar – amended soils. *Soil Biol. Biochem.* 43(6): 1169-1179.