

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA



**INFLUENCIA DE *LUMBRICUS TERRESTRIS* EN LA BIOACTIVACIÓN DE
BIOCARBONES EN SUELOS**

POR

YORKA SILVANA MONTECINOS ACUÑA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2024**

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA

**INFLUENCIA DE *LUMBRICUS TERRESTRIS* EN LA BIOACTIVACIÓN DE
BIOCARBONES EN SUELOS**

POR

YORKA SILVANA MONTECINOS ACUÑA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2024**

Aprobada por:

Profesor Asociado, Cristina Muñoz V.
Ing. Agrónomo, Dr. Cs.

Guía

Profesor Asociado, Marco Sandoval E.
Ing. Agrónomo, Dr. Cs.

Asesor

Profesor Asociado, Nelson Zapata SM.
Ing. Agrónomo, Dr. Cs.

Asesor

Profesor Asociado Guillermo Wells M.
Ing. Agrónomo, Mg. Cs.

Decano

RECONOCIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el proyecto Fondecyt 1210503 “Biochar activated for bio-remediation and bio-recovery of soils to promote a climate-smart agriculture”, financiado por la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo”.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen	1
Summary.....	1
Introducción	2
Materiales y Métodos.....	4
Resultados y Discusión.....	8
Conclusiones.....	20
Referencias.....	21

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Página
Figura 1 Respiración microbiana en suelo areno-limoso con diferentes tratamientos de biocarbón.....	14
Figura 2 Respiración microbiana en suelo arcilloso con diferentes tratamientos	14
Figura 3 Análisis de pH en suelo areno-limoso sometido a los diferentes tratamientos de biocarbón.....	15
Figura 4 Análisis de pH en suelo arcilloso sometido a los diferentes tratamientos de biocarbón.....	16
Tabla 1 Identificación de tratamientos	5
Tabla 2 Valores de referencia de los parámetros biológicos y químicos del suelo areno-limoso y arcilloso sin tratamientos aplicados.....	7
Tabla 3 Análisis enzimáticos y biomasa microbiana activa mediante análisis de fluoresceína diacetato el suelo areno-limoso.....	11
Tabla 4 Análisis enzimáticos y biomasa microbiana activa mediante análisis de fluoresceína diacetato en el suelo arcilloso.....	11
Tabla 5 Análisis de nitrógeno, carbono total y relación C/N para suelo areno-limoso.....	12
Tabla 6 Análisis de nitrógeno, carbono total y relación C/N para suelo arcilloso.....	13
Tabla 7 Caracterización química del suelo areno-limoso sometido a diferentes tratamientos.....	18
Tabla 8 Caracterización química del suelo arcilloso, sometido a diferentes tratamientos.....	19

INFLUENCIA DE *LUMBRICUS TERRESTRIS* L. EN LA BIOACTIVACIÓN DE BIOCARBONES EN SUELOS

INFLUENCE OF *LUMBRICUS TERRESTRIS* L. IN THE BIOACTIVATION OF BIOCARBONS IN SOILS

Palabras índices adicionales: Actividad enzimática, biomasa microbiana, emisión de dióxido de carbono.

RESUMEN

Para mitigar el cambio climático se ha planteado la necesidad de secuestrar carbono atmosférico y mejorar las propiedades del suelo, por lo que en los últimos años se ha potenciado el estudio del biocarbón. La interacción con diferentes organismos del suelo no ha sido extensamente estudiada; siendo que la lombriz terrestre (*Lumbricus terrestris* L.) ha mostrado una capacidad de activación para los biocarbones. En esta investigación se evaluó el efecto de la activación de biocarbones mediante la incorporación de *L. terrestris*. Para ello se utilizaron 6 tratamientos con 4 repeticiones, siendo biocarbón de ave (BCA), biocarbón de ave con lombriz (BCA+LT), biocarbón de cerdo (BCC), biocarbón de cerdo más lombriz (BCC+LT), biocarbón de pino (BCP) y biocarbón de pino más lombriz (BCP+LT); y se analizaron diversos parámetros químicos y biológicos de los suelos. En dos tipos de suelo (areno-limoso y arcilloso) como dos ensayos independientes. El tratamiento BCC+LT en el suelo areno-limoso incrementó la actividad carboxilesterasa y fosfatasa; en el suelo arcilloso, BCP aumentó la actividad ureasa. En ambos suelos, no hubo efecto en el N asimilable para las plantas con los biocarbones, pero sí hubo efecto por la adición de lombriz. El estudio mostró que *L. terrestris* produce secreciones ricas en enzimas y nutrientes que permiten la bioactivación de los biocarbones, y que la respuesta del suelo a la adición de lombriz depende de las características del suelo.

SUMMARY

To counteract climate change, the importance of sequestering atmospheric carbon

and enhancing soil properties has been proposed, which has led to increased research into biochar in recent years. The interaction with different soil organisms has not been extensively explored, although the earthworm (*Lumbricus terrestris* L.) has demonstrated an biochar activation capability. This research assessed the impact of *L. terrestris*-induced biochar activation. For this purpose, six treatments were applied with four replicates, including poultry biochar (BCA), poultry biochar with earthworm (BCA+LT), pig biochar (BCC), pig biochar plus worm (BCC+LT), pine biochar (BCP), and pine biochar plus worm (BCP+LT). Various chemical and biological soil parameters were analyzed. Two types of soil (sandy-loamy and clayey) were used as separate trials. The BCC+LT treatment in the sandy-loamy soil increased carboxylesterase and phosphatase activity; in BCP on the clayey soil boosted urease activity. In both soils, there was no effect on plant-assimilable N with the biochars, but there was an effect from the addition of earthworms. The study highlighted that *L. terrestris* produces enzyme-rich and nutrient-rich secretions that enable the bioactivation of biochars, and that soil's response to earthworm addition is dependent on soil characteristics.

INTRODUCCIÓN

Los procesos biológicos del suelo están ligado a una coexistencia que tienen los organismos que habitan e interactúan junto a los minerales (Jones *et al.*, 1994). Diferentes enmiendas en los suelos pueden cambiar propiedades químicas, físicas y/o biológicas, como el caso del biocarbón que mejora la estructura, fertilidad, y la biomasa del suelo (Lehmann, 2007a), y se ha detectado que en conjunto con *Lumbricus terrestris* L., un tipo de lombriz de tierra, generan una estimulación en las comunidades microbianas del suelo (Hoang *et al.*, 2016).

El biocarbón es un producto de la descomposición térmica a través de la pirólisis; generándose un material carbonoso compuesto por dos fracciones estructurales principales: láminas juntas de grafeno cristalino y estructuras aromáticas amorfas ordenadas, ambas asociadas con enlaces de carbono en forma de anillos de tipo benceno con oxígeno o hidrógeno (Escalante *et al.*, 2016). El proceso de pirólisis consiste en la transformación de la biomasa residual en condiciones de oxígeno limitado (Wan *et al.*, 2022; Escalante *et al.*, 2016). Las

temperaturas usadas para la pirólisis pueden oscilar entre 350 - 700 °C (Lehmann y Joseph, 2015; Lehmann, 2007b; Pervinder *et al.*, 2022). Siendo que la mayor temperatura de pirólisis disminuye el rendimiento de sólidos (biocarbón) y compuestos volátiles, aumentando el pH del residuo por el alto contenido de cenizas y K soluble (Rodríguez *et al.*, 2020).

La activación del biocarbón puede tener un origen físico, químico o biológico con el propósito de potenciar alguna de sus características. Para ello, se puede aumentar su área durante el proceso, o se le puede incorporar microorganismos benéficos (Sizmur *et al.*, 2017). La activación física del biocarbón depende de la composición de la biomasa y el sistema de pirólisis empleado (lenta, rápida y/o gasificación); la cual modifica estructuralmente los componentes de la biomasa favoreciendo la capilaridad. De acuerdo con los rangos de temperatura se degradan diferentes componentes de la biomasa, las hemicelulosas se degradan entre los 200 - 260°C, la celulosa entre los 240 - 350°C, y la lignina entre los 280 - 500°C (Downie *et al.*, 2012).

La activación química de los biocarbones puede realizarse en forma previa (en la materia prima) o posterior a la pirólisis; un ejemplo de activación previo a la pirólisis es impregnando la materia prima con un producto químico para deshidratarlo, y así se obtiene un biocarbón con mayor porosidad (Cheng *et al.*, 2008; Kielbasa *et al.*, 2022). En cuanto a la activación biológica, una de las modalidades es la intervención de enzimas extracelulares, las cuales son adosados a la superficie del biocarbón (Sánchez-Hernández *et al.*, 2019).

La influencia que tiene *L. terrestris* en el suelo, ocurre por la formación de túneles en el perfil del suelo y el revestimiento de éstos a través de su mucosa, lo cual aporta a la formación de un microambiente enriquecido de actividad enzimática, como las enzimas hidrolasas que incluyen aminopeptidasas, xilanasas, fosfatasas o glucosidasas que muestran una alta actividad catalítica sobre macromoléculas orgánicas (Sánchez-Hernández *et al.*, 2021). Adicionalmente, los túneles en el suelo favorecen la proliferación de microorganismos, que contribuyen al mejoramiento de la actividad biológica del suelo.

Existen diferentes ecotipos de lombrices de tierra de acuerdo con su morfología, distribución espacial y comportamiento en el suelo, identificándose las epigeas,

endogeas y anécicas (Bouché, 1977), perteneciendo a este último grupo la especie *L. terrestris*.

L. terrestris son anélidos clitelados de hábitos nocturnos, su pigmentación es de un marrón negruzco en la parte dorsal y anterior, de un tamaño de hasta 30 cm en adultos, con una musculatura excavadora y humectación externa muy desarrollada como mucosidad cutánea. Crean madrigueras verticales permanentes, alimentándose de materiales orgánicos en la superficie, los cuales son incorporados en los horizontes minerales en forma de revestimientos de madrigueras, de un espesor de 2 mm (Tiunov y Scheu, 1999).

Esta especie posee una característica que no solo la diferencia dentro de las especies que componen esta familia y es que se adapta a condiciones adversas como falta de riego o periodos de sequía, ya que entra en diapausa obligatoria durante el verano (Briones y Álvarez-Otero, 2018).

La *Drilósfera* es el suelo que se encuentra bajo la influencia de la lombriz, siendo la zona donde construye sus madrigueras. Se presentan de diferentes maneras según su ecotipo, siendo en lombrices anécicas muy frecuente encontrar restos de hojarasca, mezclas de minerales, vegetales y microorganismos (Grigoropoulou y Butt, 2010). La *L. terrestris* forma una red de galerías verticales dentro de la estructura del suelo y conectadas con la superficie, alcanzando los dos metros de profundidad revistiéndolas a través de mucoproteínas y secreciones ricas en nitrógeno mejorando la concentración de este nutriente en el suelo (Andriuzzi y Schmidt, 2013; Lavelle *et al.*, 2016).

Escasa información científica se tiene de la interacción de estos tipos de lombrices con el biocarbón, por lo cual se propone evaluar el potencial efecto de *L. terrestris* en la activación de biocarbones de diferente origen en suelos contrastantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de suelo

Se colectó un suelo arenoso-limoso del orden Entisol derivado de terrazas aluviales de la localidad de Quinquihua y un suelo arcilloso del orden Alfisol derivado de cenizas volcánicas antiguas. Los suelos fueron secados al aire y tamizados a 2 mm y almacenados en frío (4°C).

Establecimiento del experimento

Se dispusieron los suelos en frascos de vidrio de 1000 mL con siete individuos de la especie *L. terrestris*. En la base de cada frasco se dispuso una base de arena previamente lavada (120 g) para acumular los lixiviados, después 280 g de cada suelo se mezcló con 14 g biocarbón de origen vegetal (pino) o animal (ave o porcino), pirolizado a 600 °C en un horno de pirolisis en sistema Batch de confección local previamente reportado en Muñoz *et al.* (2019) y Ginebra *et al.* (2022). Siendo los tratamientos individualizados en la Tabla 1, con un total de seis tratamientos con cuatro repeticiones cada uno y un suelo control (control absoluto).

Tabla 1. Identificación de tratamientos.

Descripción	Abreviación
Suelo + biocarbón de ave	BCA
Suelo + biocarbón de ave + <i>L. terrestris</i>	BCA+LT
Suelo + biocarbón de cerdo	BCC
Suelo + biocarbón de cerdo + <i>L. terrestris</i>	BCC+LT
Suelo + biocarbón de pino	BCP
Suelo + biocarbón de pino + <i>L. terrestris</i>	BCP+LT

Cada frasco se tapó con una lámina de aluminio, perforada para mantener aireación y se dispusieron en una cámara de incubación bajo condiciones de oscuridad durante 6 meses, a una temperatura de 20 ± 2 °C y una humedad estable de 60 % WFPS, monitoreando y restableciendo la humedad semanalmente por adición de agua. El ensayo se realizó en el Laboratorio de Materiales Carbonosos y Agricultura de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción.

Análisis enzimáticos

Se determinó carboxilesterasa mediante el método descrito por Sánchez-Hernández *et al.* (2015); β -Glucosidasa mediante el método Tabatabai (1982); fosfatasa a través de la metodología de Tabatabai y Bremner (1969); ureasa analizada mediante la metodología de Alef y Nannipieri (1995) y Sastre y Lobo

(2003). Para estimar la biomasa microbiana activa se determinó mediante la reacción con Fluoresceína Diacetato (FDA), por medio del método descrito por Alef (1995). Todas las muestras fueron analizadas en un espectrofotómetro UV/VIS (Rayleigh, UV-1601, China).

Análisis de actividad microbiana. Se determinó la respiración de suelo mediante la emisión de dióxido de carbono (CO₂) utilizando un analizador de CO₂ (Li-820, Li-COR Bioscience, Lincoln, NE, USA), siendo determinada la evolución de CO₂ los días 17, 42, 60, 75, 117, 137, 180 y 230 para el suelo areno-limoso, mientras que para el suelo areno-limoso las mediciones ocurrieron en el mismo intervalo de tiempo, pero hasta el día 180.

Determinaciones químicas

Para el análisis químico de suelos, se midió el pH en agua, contenidos de nitratos, (N-NO₃), amonio (N-NH₄), N disponible, fósforo Olsen, potasio disponible e intercambiable, calcio, magnesio y sodio intercambiable, suma de bases, conductividad eléctrica y capacidad de intercambio catiónico (CIC). Las pruebas se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Suelos y Plantas de la Universidad de Concepción de Chillán, siguiendo los protocolos descritos por Sadzawka (2006).

En el transcurso del ensayo se perdieron datos de los tratamientos control de suelo, quedando solo una de las repeticiones de cada uno. Este hecho imposibilitó analizar estadísticamente dichos datos, por lo que se decidió utilizar los valores de las repeticiones únicas simplemente como un valor de referencia. Estos valores se listan en la Tabla 2.

Diseño experimental

El diseño experimental utilizado corresponde a un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial de 3 x 2. Se evaluó el efecto de tres tipos de biocarbón con o sin incorporación de *L. terrestris*. Se realizaron dos ensayos, donde se estudiaron estas variables en dos tipos de suelo de forma independiente. Se evaluó un total de seis tratamientos más un tratamiento control sin aplicación de biocarbón ni *L. terrestris*, y cuatro repeticiones de cada uno, los tratamientos están individualizados en la Tabla 1.

Tabla 2. Valores de referencia de los parámetros biológicos y químicos del suelo areno-limoso y arcilloso sin tratamientos aplicados.

Análisis	Suelo areno-limoso	Suelo arcilloso
β -glucosidasa (μ moles PNF liberado $g^{-1} h^{-1}$)	1,13	0,11
Carboxilesterasa (μ moles $g^{-1} h^{-1}$)	1439,30	757,80
Fosfatasa (μ moles PNF liberado $g^{-1} h^{-1}$)	4,11	2,66
Ureasa (μ g N-NH ₃ $g^{-1} h^{-1}$)	69,02	12,39
FDA (μ g F g^{-1})	7,74	0,28
Respiración microbiana (mg CO ₂ $kg^{-1} h^{-1}$).	15,95	11,75
Carbono (%)	2,40	0,42
Nitrógeno (%)	0,18	0,08
C/N (%)	13,19	5,41
pH de suelo	5,94	6,54
N-NO ₃ (mg kg^{-1})	47,20	15,40
N-NH ₄ (mg kg^{-1})	3,60	3,80
N disponible (mg kg^{-1})	50,80	19,10
P Olsen (mg kg^{-1})	8,00	5,20
K disponible (mg kg^{-1})	120,90	42,90
K intercambiable (cmol kg^{-1})	0,31	0,11
Ca Intercambiable (cmol kg^{-1})	2,54	3,81
Mg Intercambiable (cmol kg^{-1})	0,36	2,55
Na intercambiable (cmol kg^{-1})	0,10	0,17
Suma de Bases (cmol kg^{-1})	3,31	6,63
Conductividad eléctrica (dS m^{-1})	0,10	0,10
CIC (meg 100 g^{-1})	10,70	9,20

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza (ANDEVA) empleando el programa INFOSTAT® (Balzarini *et al.*, 2008). Se comprobaron los supuestos de la varianza mediante la obtención de residuos, para realizar análisis de normalidad a través de la prueba de Shapiro-Wilks (modificado). Además, se obtuvieron los residuos absolutos, para corroborar la homogeneidad de varianzas a través de la prueba de Levene. Fue aplicada la prueba de comparación de medias, determinando los valores entre tratamientos para obtener las diferencias mínimas significativas (DMS), que, a través de la prueba de Fisher, se analizó con un nivel de confianza de 95 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

β -Glucosidasa

En suelo areno-limoso se detectaron diferencias significativas en la producción de enzima β -glucosidasa entre los tratamientos ($P \leq 0,05$) y hubo interacción (biocarbón + *L. terrestris*) entre las variables (Tabla 3). BCA+LT mostró un 35,1 % menos de β -glucosidasa en comparación con su homólogo sin lombriz. Mientras que BCP+LT incrementó en un 36,3 % la actividad de esta enzima en comparación con su homólogo sin lombrices. Por otra parte, al comparar todos los tratamientos, la mayor actividad de β -glucosidasa se obtuvo con el tratamiento de BCP+LT (1,20 μ moles PNF liberado $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$).

Para el suelo arcilloso, en el análisis de β -glucosidasa no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P > 0,05$), y tampoco hubo una interacción entre los diferentes tipos de BC con las lombrices ($P > 0,05$). Los tratamientos con biocarbón de pino produjeron la actividad más alta de la enzima β -glucosidasa (0,37 μ moles PNF liberado $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$) tanto en BCP como en BCP+LT, teniendo como referencia 0,12 μ moles PNF liberado $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ (Tabla 2).

Carboxilesterasa

Con respecto a la actividad carboxilesterasa en el suelo areno-limoso, se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), y con interacción biocarbón + *L. terrestris* ($P \leq 0,05$). Las diferencias producidas por la adición de

lombrices en cada tipo de biocarbón se indican a continuación. BCA+LT mostró un incremento de 50,5 % y BCC+LT en un 69,1 % mayor que la actividad de esta enzima de su homólogo sin lombriz. Al comparar entre todos los tratamientos, el valor más alto se observó en el tratamiento BCC+LT (2197,26 de $\mu\text{moles g}^{-1} \text{ h}^{-1}$), contrastando con el valor de referencia 1439,26 $\mu\text{moles g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (Tabla 2).

En el suelo arcilloso, se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$); en cambio, no se obtuvo respuesta de la interacción ($P > 0,05$). Por lo que no se detectaron diferencias significativas producidas por la adición de *L. terrestris* en cada tipo de biocarbón. Por otra parte, al comparar entre los efectos producidos por todos los tratamientos, BCC alcanzó el valor más alto (848,33 de $\mu\text{moles h}^{-1} \text{ g}^{-1}$).

Fosfatasa

En el suelo areno-limoso, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$) en la actividad de la enzima fosfatasa, al igual que hay una respuesta favorable en su interacción entre biocarbón y lombriz ($P \leq 0,05$). Las diferencias producidas por la adición de *L. terrestris* en cada tipo de biocarbón indican que BCA tuvo una reducción de un 12,7 % de la enzima fosfatasa al incorporar lombriz (BCA+LT). BCC en cambio, aumentó en un 14,7 % (BCC+LT). El biocarbón que produjo el valor más alto de fosfatasa fue BCP, tanto con adición como sin adición de *L. terrestris* (3,88 y 3,86 $\mu\text{moles-PNF liberado g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente).

En el caso del suelo arcilloso, se registraron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los tipos de biocarbón, pero sin diferencia estadística en la interacción, la cual no manifiesta respuesta ($P > 0,05$). BCP fue significativamente mayor al resto de los tratamientos (3,25 $\mu\text{moles-PNF liberado g}^{-1} \text{ h}^{-1}$), tanto con y sin incorporación de lombriz), superando al menos en un 68,3 % el biocarbón de ave y cerdo. El valor de referencia en este caso alcanzó los 2,66 $\mu\text{moles-PNF liberado g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Tabla 2).

Ureasa

En suelo areno-limoso, se registraron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en la actividad ureasa entre los tipos de biocarbón teniendo interacción biocarbón-lombriz ($P \leq 0,05$). El BCC fue el tratamiento que presentó mayor actividad en ureasa. En BCA y BCC no mostraron diferencia significativa en la presencia de

lombrices; mientras que, en BCP la adición de lombriz disminuyó significativamente, en un 51,5 %, la actividad de la enzima ureasa. Por otra parte, el biocarbón que produjo el valor más alto de ureasa fue BCC ($83,22 \mu\text{g N-NH}_3 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$), como se puede observar en la Tabla 3.

En el suelo arcilloso (Tabla 4), se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los tratamientos, sin embargo, no se observó una interacción entre biocarbón y *L. terrestris* ($P > 0,05$); a excepción del biocarbón de pino con lombriz, que aumentó significativamente la actividad ureasa, en un 122 %, respecto a su homólogo sin lombriz.

Al contrastar todos los tratamientos, biocarbón de cerdo con adición de lombriz produjo la mayor actividad enzimática ($52,37 \mu\text{g N-NH}_3 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) siendo considerablemente superior al valor referencia con $12,39 \mu\text{g N-NH}_3 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Tabla 2).

Estimación de biomasa microbiana activa

En el suelo areno-limoso, los resultados no presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos, además, no se advirtió respuesta en la interacción ($P > 0,05$) de ambas variables.

En relación suelo arcilloso, se pudo observar diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$) al igual que su interacción ($P \leq 0,05$). Según se detalla en la Tabla 4, el tratamiento de BCC mostró un valor de $5,36 \mu\text{g F gr}^{-1}$, el cual fue significativamente más alto respecto a los demás tratamientos y respecto al valor de referencia ($0,28 \mu\text{g F gr}^{-1}$) (Tabla 2).

Sánchez-Hernández (2018) estudió el efecto de las exoenzimas inducidas por *L. terrestris* en la activación de biocarbón proveniente de materiales vegetales. Encontró que la activación enzimática del biocarbón fue facilitada en presencia de lombrices, indicando que la enzima carboxilesterasa fue significativamente mayor con la presencia de lombriz. Estos resultados coinciden con esta investigación en el caso del suelo areno-limoso, donde se obtuvo un aumento significativo de la enzima carboxilesterasa (biocarbón de cerdo con incorporación de *L. terrestris*, el cual aumentó en un 69,1 % respecto al valor de referencia sin lombriz (Tabla 2). Sin embargo, en el suelo arcilloso no hubo diferencias significativas en dicha enzima.

Tabla 3. Análisis enzimáticos y biomasa microbiana activa mediante análisis de fluoresceína diacetato el suelo areno-limoso.

Actividad	BCA	BCA+LT	BCC	BCC+LT	BCP	BCP+LT
β –Gluc.	0,94 ± 0,08 b	0,61 ± 0,07 c	0,50 ± 0,04 c	0,56 ± 0,04 c	0,88 ± 0,02 b	1,20 ± 0,06 a
Carboxil.	807,27 ± 45,9 c	1214,67 ± 181,9 bc	1299,11 ± 65,4 b	2197,26 ± 222,6 a	875,13 ± 64,1 c	853,72 ± 148,5 c
Fosfatasa	3,6 ± 0,12 a	3,14 ± 0,07 b	3,27 ± 0,04 b	3,75 ± 0,17 a	3,86 ± 0,09 a	3,88 ± 0,08 a
Ureasa	76,4 ± 1,78 ab	69,34 ± 9,6 b	83,22 ± 2,18 a	75,57 ± 2,71 ab	69,63 ± 0,66 b	33,76 ± 0,94 c
FDA	7,53 ± 0,61 a	6,44 ± 0,52 a	7,12 ± 0,43 a	6,80 ± 0,21 a	7,21 ± 0,26 a	7,22 ± 0,30 a

Letras distintas indican diferencia estadística entre tratamientos (LSD de Fisher; $P \leq 0,05$). BCA: biocarbón de ave, BCA+LT: biocarbón de ave + *L. terrestris*, BCC: biocarbón de cerdo, BCC+LT: biocarbón de cerdo + *L. terrestris*, BCP: biocarbón de pino, BCP+LT: biocarbón de pino + *L. terrestris*.

Tabla 4. Análisis enzimáticos y biomasa microbiana activa mediante análisis de fluoresceína diacetato en el suelo arcilloso.

Actividad	BCA	BCA+LT	BCC	BCC+LT	BCP	BCP+LT
β –Gluc.	0,30 ± 0,05 ab	0,30 ± 0,06 ab	0,18 ± 0,03 b	0,18 ± 0,04 b	0,37 ± 0,03 a	0,37 ± 0,08 a
Carboxil.	614,8 ± 19,1 b	653,9 ± 52,5 b	848,3 ± 101,9 a	751,2 ± 83,4 ab	775,0 ± 48,4 ab	716,6 ± 50,3 ab
Fosfatasa	1,97 ± 0,07 b	1,93 ± 0,12 b	1,66 ± 0,05 c	1,82 ± 0,06 bc	3,25 ± 0,15 a	3,25 ± 0,15 a
Ureasa	27,5 ± 3,26 bc	30,94 ± 3,89 bc	43,87 ± 4,89 ab	52,37 ± 12,06 a	19,52 ± 2,01 c	43,44 ± 6,38 ab
FDA	1,8 ± 0,04 c	1,61 ± 0,06 c	5,36 ± 0,64 a	3,04 ± 0,39 b	2,16 ± 0,26 bc	1,13 ± 0,13 c

Letras distintas indican diferencia estadística entre tratamientos (LSD de Fisher; $P \leq 0,05$). BCA: biocarbón de ave, BCA+LT: biocarbón de ave + *L. terrestris*, BCC: biocarbón de cerdo, BCC+LT: biocarbón de cerdo + *L. terrestris*, BCP: biocarbón de pino, BCP+LT: biocarbón de pino + *L. terrestris*.

Relación C/N

Para el suelo areno-limoso (Tabla 5), los tratamientos a base de biocarbón de cerdo fueron significativamente más altos que el resto de los tratamientos; siendo 4,54 y 4,64 % C para BBC y BBC+LT, respectivamente. En tanto el valor de referencia registró 2,40 % (Tabla 2). Además, respecto al nitrógeno total, en los casos de BCC fue de 0,32 % y BCC+LT con un 0,35 %. En tanto que la relación de C/N, mostró los valores más altos en BCP (19,42 %) y BCP+LT (16,35 %).

Tabla 5. Análisis de nitrógeno, carbono total y relación C/N para suelo areno-limoso.

Tratamiento	C Total (%)	N Total (%)	Relación C/N
BCA	2,79 ± 0,10 b	0,19 ± 0,00 b	14,68
BCA+LT	2,69 ± 0,01 b	0,20 ± 0,01 b	13,45
BCC	4,54 ± 0,04 a	0,32 ± 0,00 a	14,19
BCC+LT	4,64 ± 0,81 a	0,35 ± 0,05 a	13,26
BCP	3,69 ± 0,04 ab	0,19 ± 0,00 b	19,42
BCP+LT	3,27 ± 0,04 b	0,20 ± 0,00 b	16,35

Valores con letras distintas en sentido vertical, indicando diferencia estadística significativa, según prueba LSD de Fisher ($P \leq 0,05$). BCA: biocarbón de ave, BCA+LT: biocarbón de ave más *L. terrestris*, BCC: biocarbón de cerdo, BCC+LT: biocarbón de cerdo más *L. terrestris*, BCP: biocarbón de pino, BCP+LT: biocarbón de pino más *L. terrestris*.

Se puede observar en la Tabla 6, para el suelo arcilloso una respuesta similar al suelo arenoso-limoso (Tabla 5), donde los contenidos de C total fueron en BCC (2,58 %) y BCC+LT (2,23 %) más altos que los otros tratamientos, mientras que la muestra de referencia para suelo arenoso ponderó un 0,42 % (Tabla 2). En N total, para BCC y BCC+LT fue de un 0,18 %, muy por encima de la referencia con un 0,08 % (Tabla 2). La relación C/N fue obtenida está entre los rangos 10,7 - 22,9 con el mayor valor fue obtenido en BCP.

Con base en lo descrito por Chen *et al.* (2003), la relación adecuada o equilibrada de C/N es bajo 24, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este estudio, para ambos suelos todos los tratamientos presentan valores menores a esta relación.

Tabla 6. Análisis de nitrógeno, carbono total y relación C/N para suelo arcilloso.

Tratamiento	C Total (%)	N Total (%)	Relación C/N
BCA	0,93 ± 0,00 c	0,085 ± 0,002 b	10,94
BCA+LT	0,91 ± 0,03 c	0,085 ± 0,001 b	10,71
BCC	2,58 ± 0,23 a	0,182 ± 0,016 a	14,18
BCC+LT	2,23 ± 0,21 a	0,176 ± 0,008 a	12,67
BCP	1,58 ± 0,02 b	0,069 ± 0,001 b	22,90
BCP+LT	1,44 ± 0,03 b	0,074 ± 0,009 b	19,46

Valores con letras distintas en sentido vertical, indicando diferencia estadística significativa, según prueba LSD de Fisher ($P \leq 0,05$). BCA: biocarbón de ave, BCA+LT: biocarbón de ave más *L. terrestris*, BCC: biocarbón de cerdo, BCC+LT: biocarbón de cerdo más *L. terrestris*, BCP: biocarbón de pino, BCP+LT: biocarbón de pino más *L. terrestris*.

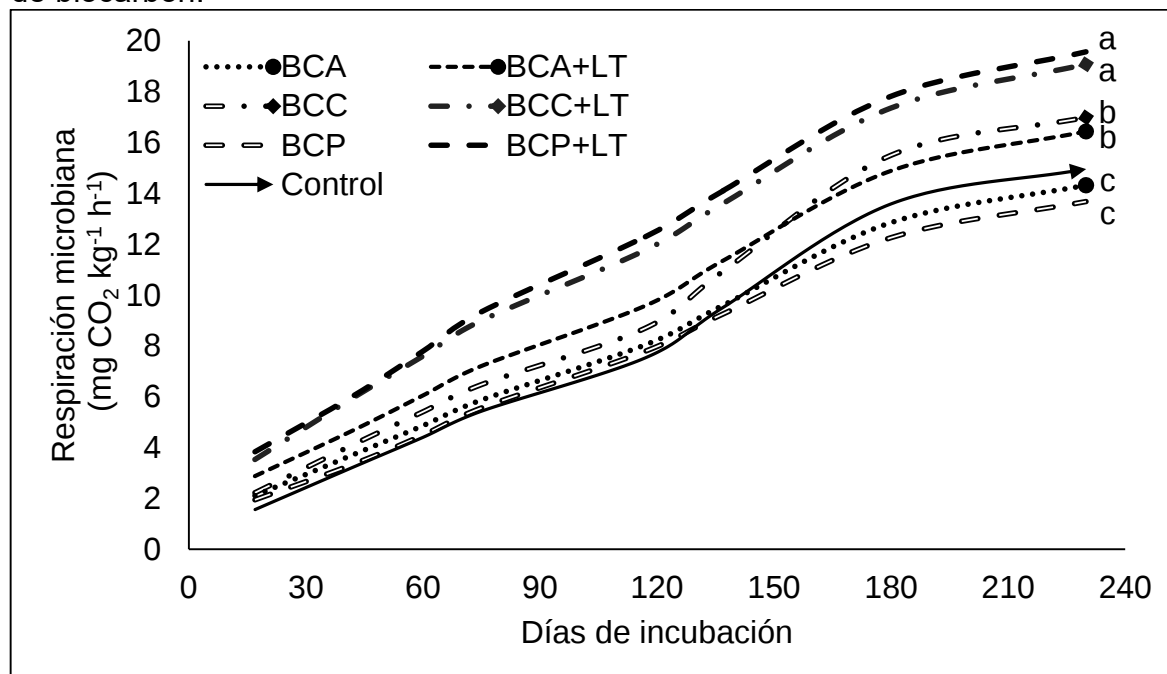
Respiración de la biomasa microbiana

La Figura 1 muestra la respiración microbiana en suelo areno-limoso. Para el suelo arenoso, se pudo observar que los suelos con la adición de *L. terrestris* presentaron la mayor respiración microbiana (Figura 1), destacándose los tratamientos de BCP+LT (19,6 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹) y BCC+LT (19,1 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹), los que presentan mayores diferencias frente los otros tratamientos como el BCA y BCP con 14 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. En términos porcentuales, se observó un aumento de un 21 % en la respiración acumulada a los 230 días de incubación, con el tratamiento de BCC+LT respecto al valor de referencia inicial del suelo areno-limoso de 16 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ T, detallado en la Tabla 2.).

De la misma forma, en el suelo arcilloso (Figura 2), los tratamientos que obtuvieron un mayor incremento de la respiración microbiana fueron los BCP+LT y BCC+LT con 14,2 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, mientras el tratamiento que obtuvo una menor respiración acumulada hasta el día 180 fue el biocarbón de cerdo con 12,7 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

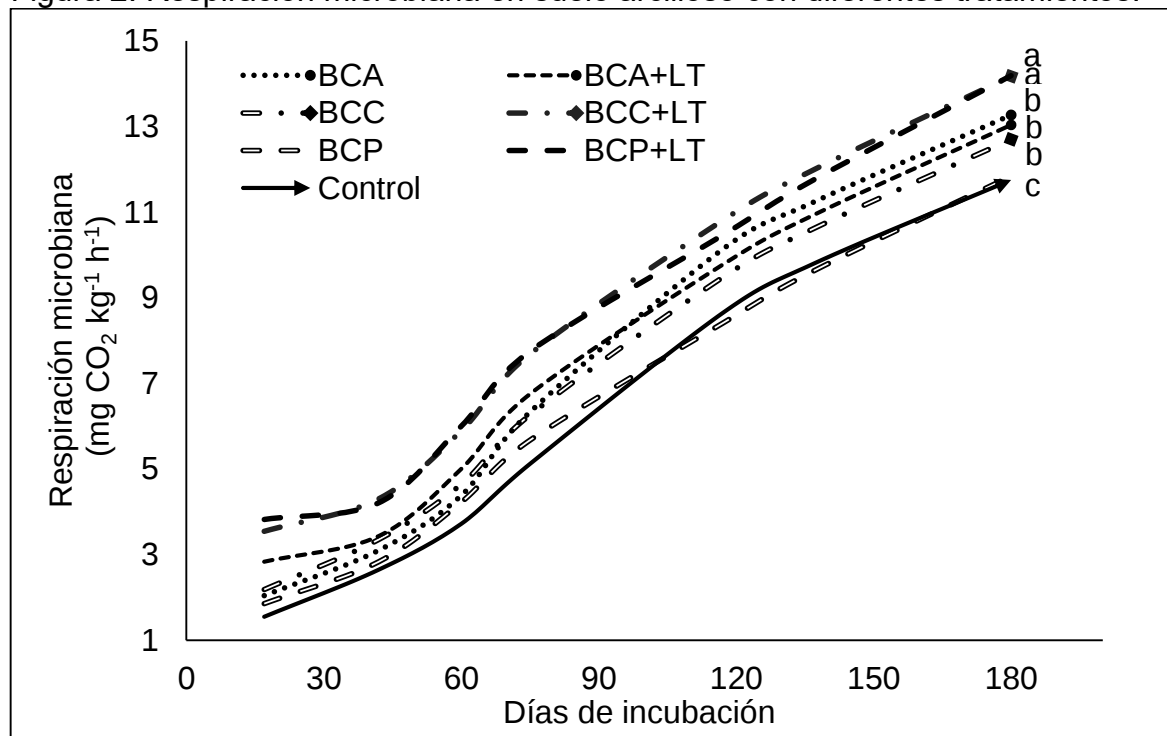
Los resultados coinciden con Gong *et al.* (2022), quienes observaron que la adición de lombriz (*Aporrectodea turgida*) junto a biocarbón de ganado incrementa las emisiones de CO₂ del suelo por actividad microbiana en un 27,9 %.

Figura 1. Respiración microbiana en suelo areno-limoso con diferentes tratamientos de biocarbón.



BCA: biocarbón de ave, BCA+LT: biocarbón de ave + *L. terrestris*, BCC: biocarbón de cerdo, BCC+LT: biocarbón de cerdo + *L. terrestris*, BCP: biocarbón de pino, BCP+LT: biocarbón de pino + *L. terrestris*.

Figura 2. Respiración microbiana en suelo arcilloso con diferentes tratamientos.



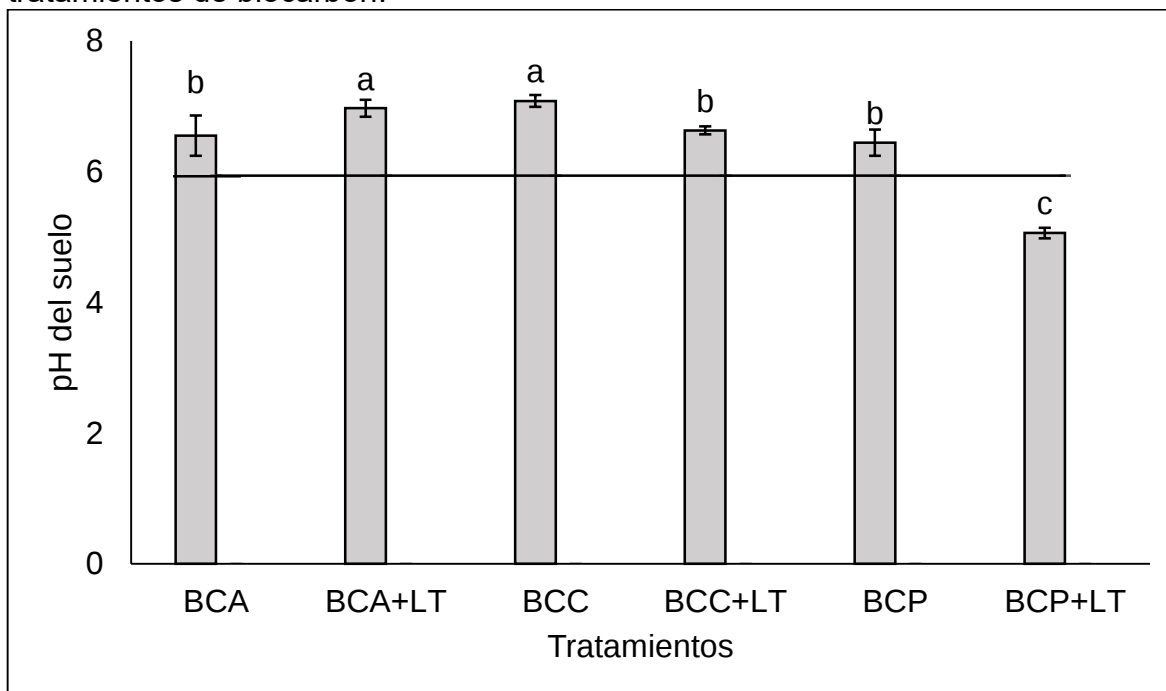
BCA: biocarbón ave, BCA+LT: biocarbón ave + *L. terrestris*, BCC: biocarbón cerdo, BCC+LT: biocarbón cerdo + *L. terrestris*, BCP: biocarbón pino, BCP+LT: biocarbón pino + *L. terrestris*.

Caracterización química de suelos

Los cambios en las propiedades químicas de los suelos sometidos a los diferentes tratamientos se observan en la Tabla 7 para suelo areno-limoso. El tratamiento BCA+LT tiene mayor cantidad de N-NO₃ (280,15 mg kg⁻¹), nitrógeno disponible (283,05 mg kg⁻¹), calcio intercambiable (9,38 mg kg⁻¹) y en suma de bases (12,28 cmol kg⁻¹).

Mientras que en BCC, obtuvo mejores resultados en los análisis de N-NH₄ (3,3, mg kg⁻¹), fósforo Olsen (117,78 mg kg⁻¹), potasio disponible (721,5 mg kg⁻¹) e intercambiable (1,85 cmol kg⁻¹), junto a magnesio intercambiable (3,21 cmol kg⁻¹). En cambio, para BCC+LT destacó en amonio (3,63 mg kg⁻¹), P Olsen (111,92 mg kg⁻¹), K disponible (689,33 mg kg⁻¹) e intercambiable (1,77 cmol kg⁻¹), en Mg intercambiable (3,29 cmol kg⁻¹), Na intercambiable (1,06 cmol kg⁻¹) y conductividad eléctrica (0,95 dS m⁻¹). Con relación a CIC, no se observan diferencias significativas entre los tratamientos.

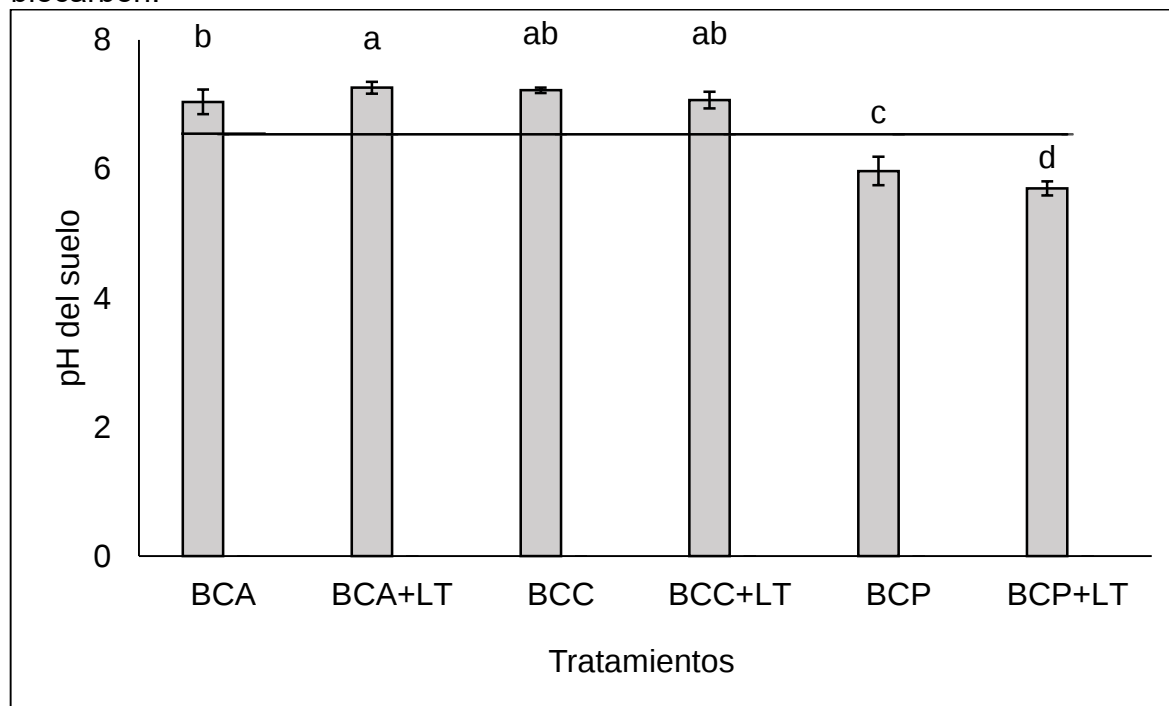
Figura 3. Análisis de pH en suelo areno-limoso sometido a los diferentes tratamientos de biocarbón.



Letras distintas indican diferencia estadística según prueba LSD de Fisher ($P \leq 0,05$), BCA: biocarbón de ave, BCA+LT: biocarbón de ave + *L. terrestris*, BCC: biocarbón de cerdo, BCC+LT: biocarbón de cerdo + *L. terrestris*, BCP: biocarbón de pino, BCP+LT: biocarbón de pino + *L. terrestris*. Línea continua muestra el valor referencial del suelo control.

Los resultados de pH para suelo areno-limoso (Figura 3), destacaron los tratamientos BCC con 7,1 y BCA+LT con 7,0 de pH en agua. En tanto, para el suelo arcilloso (Figura 4), destacó BCA+LT con un pH de 7,3.

Figura 4. Análisis de pH en suelo arcilloso sometido a los diferentes tratamientos de biocarbón.



Letras distintas indican diferencia estadística según prueba LSD de Fisher ($P \leq 0,05$). BCA: biocarbón de ave, BCA+LT: biocarbón de ave + *L. terrestris*, BCC: biocarbón de cerdo, BCC+LT: biocarbón de cerdo + *L. terrestris*, BCP: biocarbón de pino, BCP+LT: biocarbón de pino + *L. terrestris*. Línea continua muestra el valor referencial del suelo control.

Como muestra la Tabla 8 para el suelo arcilloso, los tratamientos que presentaron mayor nivel de nutrientes fueron BCA+LT con el contenido de N-NO_3 ($159,4 \text{ mg kg}^{-1}$), N disponible ($165,1 \text{ mg kg}^{-1}$), Ca intercambiable (11 cmol kg^{-1}) y en suma de bases con $15,1 \text{ cmol kg}^{-1}$. En BCC se destacó en K disponible ($675,4 \text{ mg kg}^{-1}$) e intercambiable ($1,7 \text{ cmol kg}^{-1}$), Mg intercambiable ($4,3 \text{ cmol kg}^{-1}$) y en Na intercambiable con $0,97 \text{ cmol kg}^{-1}$. En BCC+LT, con mayor rango en sus resultados, presentó en de N-NO_3 $131,8 \text{ mg kg}^{-1}$, en N disponible con $139,2 \text{ mg kg}^{-1}$, P Osen con $162,7 \text{ mg kg}^{-1}$, en K disponible ($643,2 \text{ mg kg}^{-1}$) e intercambiable ($1,65 \text{ cmol kg}^{-1}$), Mg intercambiable con $4,4 \text{ cmol kg}^{-1}$, Na intercambiable (1 cmol kg^{-1}) y en conductividad eléctrica con $0,7 \text{ dS m}^{-1}$. Por otra parte, BCP+LT se destacó en N-

NH₄ con 20,7 de mg kg⁻¹.

En el suelo areno-limoso la adición de *L. terrestris*, produjo los mismos efectos en los parámetros químicos estudiados en los tres BC: incremento de nitrato, N disponible, sodio intercambiable, suma de bases y conductividad eléctrica (con excepción de Ca intercambiable que aumentó solo en BCA).

Dentro del análisis de pH en suelo areno-limoso, se puede observar que los resultados entre pH y de actividad ureasa presentan un comportamiento similar en ambos casos. La CE se define como la capacidad de la solución del suelo para transportar corriente eléctrica en función del contenido de sales disueltas o ionizadas en la solución (USDA,1999). Por lo tanto, a mayor CE, mayor es la concentración de sales, explicando los resultados observados. Por su parte, el sodio está directamente relacionado con la CE, no así Ca y Mg (Bosch *et al.*, 2012), razón por la cual también se observó un incremento de Na. Respecto a los resultados de nitrato, las lombrices anécicas pueden aumentar las concentraciones de nitrato en el suelo facilitado por una mayor humedad y condiciones aerobias de este sustrato (Amador *et al.*, 2006). Por otra parte, se ha encontrado que las poblaciones de bacterias fijadoras de N (*Azotobacter*), se incrementan fuertemente en el humus de lombriz, lo que incrementa la proporción de N disponible para las plantas (Domínguez *et al.*, 2009).

En el suelo arcilloso la adición de *L. terrestris* produjo un incremento de nitrato y N disponible, a excepción del biocarbón de cerdo; mientras que se mantuvo amonio, pero no en BCP. El fósforo disponible se mantuvo, excepto BCC en que se registra un aumento; y potasio disponible se mantuvo, pero disminuyó en biocarbón de ave. Todas las sales intercambiables se mantuvieron en BCC y BCP, no así en BCA, donde las sales presentaron distintas tendencias, aumentando en Ca y Na, disminuyendo en K y manteniéndose en Mg. La suma de bases se mantuvo en BCC y BCP, y aumentó en biocarbón de ave. La CIC no presentó variación con la adición de *L. terrestris* en ninguno de los tipos de biocarbón. Se observó que la aplicación de *L. terrestris* tuvo diferentes efectos en los suelos dependiendo del tipo de biocarbón como alcalinizar en el caso de BCA, y acidificando suelo usando BCP.

Tabla 7. Caracterización química del suelo areno-limoso sometido a diferentes tratamientos.

Tratamiento	BCA	BCA+LT	BCC	BCC+LT	BCP	BCP+LT
N-NO ₃ (mg kg ⁻¹)	67,5 ± 5,5 c	280,2 ± 35,9 a	40,1 ± 1,1 cd	206,6 ± 16,4 b	17,2 ± 1,9 d	237,8 ± 9,7 ab
N-NH ₄ (mg kg ⁻¹)	2,8 ± 0,4 ab	2,9 ± 0,4 ab	3,3 ± 0,3 a	3,6 ± 0,3 a	2,0 ± 0,6 b	2,7 ± 0,2 ab
N disp. (mg kg ⁻¹)	70,3 ± 5,9 c	283,1 ± 35,7 a	43,4 ± 1,0 cd	210,2 ± 16,6 b	19,2 ± 2,1 d	240,5 ± 9,7 ab
P Olsen (mg kg ⁻¹)	49,1 ± 8,7 b	55,9 ± 2,2 b	117,8 ± 1,2 a	111,9 ± 2,3 a	8,1 ± 0,5 c	11,0 ± 0,4 c
K disp. (mg kg ⁻¹)	409,5 ± 19,7 b	382,2 ± 15,4 b	721,5 ± 14,3 a	689,3 ± 9,1 a	139,4 ± 1,9 c	170,6 ± 2,5 c
K int. (cmol kg ⁻¹)	1,1 ± 0,1 b	1,0 ± 0,0 b	1,9 ± 0,0 a	1,8 ± 0,0 a	0,4 ± 0,0 c	0,4 ± 0,0 c
Ca int. (cmol kg ⁻¹)	8,2 ± 0,6 b	9,4 ± 0,1 a	4,5 ± 0,1 c	5,0 ± 0,1 c	2,5 ± 0,0 d	3,0 ± 0,0 d
Mg int. (cmol kg ⁻¹)	1,5 ± 0,2 b	1,6 ± 0,1 b	3,2 ± 0,1 a	3,3 ± 0,0 a	0,3 ± 0,0 c	0,5 ± 0,0 c
Na int. (cmol kg ⁻¹)	0,3 ± 0,0 d	0,3 ± 0,0 c	0,9 ± 0,0 b	1,1 ± 0,0 a	0,1 ± 0,0 f	0,2 ± 0,0 e
Suma de Bases (cmol kg ⁻¹)	11,0 ± 0,8 b	12,3 ± 0,2 a	10,4 ± 0,1 b	11,1 ± 0,1 b	3,3 ± 0,0 c	4,1 ± 0,0 c
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)	0,3 ± 0,0 d	0,7 ± 0,1 b	0,6 ± 0,0 c	1,0 ± 0,0 a	0,1 ± 0,0 e	0,6 ± 0,0 c
CIC (cmol kg ⁻¹)	14,5 ± 1,7 a	13,5 ± 1,6 a	14,7 ± 1,2 a	13,9 ± 0,5 a	12,3 ± 1,3 a	12,7 ± 1,3 a

Valores con letras distintas en sentido horizontal, indicando diferencia estadística significativa, según prueba LSD de Fisher ($P \leq 0,05$). BCA: biocarbón de ave, BCA+LT: biocarbón de ave más *L. terrestris*, BCC: biocarbón de cerdo, BCC+LT: biocarbón de cerdo más *L. terrestris*, BCP: biocarbón de pino, BCP+LT: biocarbón de pino más *L. terrestris*.

Tabla 8. Caracterización química del suelo arcilloso, sometido a diferentes tratamientos.

Tratamiento	BCA	BCA+LT	BCC	BCC+LT	BCP	BCP+LT
N-NO ₃ (mg kg ⁻¹)	50,9 ± 1,4 b	159,4 ± 22,6 a	40,2 ± 2,7 b	131,8 ± 19,6 a	29,6 ± 1,8 b	53,2 ± 2,4 b
N-NH ₄ (mg kg ⁻¹)	4,6 ± 0,3 b	5,7 ± 0,9 b	4,5 ± 0,5 b	7,4 ± 0,3 b	10,4 ± 7,1 b	20,7 ± 3,0 a
N disp. (mg kg ⁻¹)	55,5 ± 1,3 b	165,1 ± 23,3 a	44,7 ± 2,7 b	139,2 ± 19,4 a	40,0 ± 7,9 b	73,8 ± 1,4 b
P Olsen (mg kg ⁻¹)	62,1 ± 3,0 c	65,6 ± 2,6 c	140,8 ± 7,4 b	162,7 ± 5,3 a	6,1 ± 0,2 d	5,8 ± 0,2 d
K disp. (mg kg ⁻¹)	306,8 ± 10,5 b	267,1 ± 16,0 c	675,4 ± 12,1 a	643,2 ± 17,2 a	82,2 ± 4,9 d	88,9 ± 7,0 d
K int. (cmol kg ⁻¹)	0,8 ± 0,0 b	0,7 ± 0,0 c	1,7 ± 0,0 a	1,7 ± 0,0 a	0,2 ± 0,0 d	0,2 ± 0,0 d
Ca int. (cmol kg ⁻¹)	9,4 ± 0,2 b	10,9 ± 0,3 a	4,7 ± 0,1 c	5,1 ± 0,2 c	3,5 ± 0,1 d	3,5 ± 0,0 d
Mg int. (cmol kg ⁻¹)	3,2 ± 0,0 b	3,2 ± 0,1 b	4,3 ± 0,1 a	4,4 ± 0,0 a	2,1 ± 0,0 c	2,0 ± 0,1 c
Na int. (cmol kg ⁻¹)	0,3 ± 0,0 c	0,3 ± 0,0 b	1,0 ± 0,0 a	1,0 ± 0,0 a	0,2 ± 0,0 d	0,2 ± 0,0 d
Suma de Bases (cmol kg ⁻¹)	13,7 ± 0,1 b	15,1 ± 0,4 a	11,7 ± 0,2 c	12,2 ± 0,2 c	5,9 ± 0,1 d	5,9 ± 0,1 d
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)	0,3 ± 0,0 bc	0,5 ± 0,1 bc	0,5 ± 0,0 bc	0,7 ± 0,0 a	0,3 ± 0,2 c	0,2 ± 0,0 c
CIC (cmol kg ⁻¹)	9,1 ± 2,1 a	8,0 ± 0,2 a	10,6 ± 1,4 a	11,2 ± 0,5 a	9,7 ± 1,1 a	8,0 ± 0,6 a

Valores con letras distintas en sentido horizontal, indicando diferencia estadística significativa, según prueba LSD de Fisher ($P \leq 0,05$). BCA: biocarbón de ave, BCA+LT: biocarbón de ave más *L. terrestris*, BCC: biocarbón de cerdo, BCC+LT: biocarbón de cerdo más *L. terrestris*, BCP: biocarbón de pino, BCP+LT: biocarbón de pino más *L. terrestris*.

La aplicación de biocarbón de distintos orígenes presentó respuestas según el tipo de suelo y la presencia o ausencia *Lumbricus terrestris*. Con base en los resultados proporcionados por esta investigación se puede recomendar el uso de biocarbón de cerdo para los suelos arcillosos, ya que mejora la concentración de diversos elementos esenciales (nitrato, N disponible, P Olsen, K disponible, SB) con el potencial de ser incrementado por la presencia de lombriz en el suelo.

Para los suelos areno-limosos igualmente se recomienda la aplicación de biocarbón de cerdo, ya que mejora el nivel de ciertos nutrientes (P Olsen, nitrato, N y K disponibles), también susceptible de ser mejorado por la actividad de *L. terrestris* en el suelo. Esto sugiere que además de la aplicación de biocarbón, se recomienda el manejo y preservación de lombrices del suelo.

En términos ambientales, el tratamiento que mayor acumulación de carbono en el suelo y menores emisiones de CO₂ (C evitado) es el biocarbón de cerdo; sin embargo, la adición de lombriz generó mayores respiraciones de suelo, pero sin afectar los niveles de C total obtenido. Para propósitos de secuestro de carbono, este tratamiento también sería efectivo para los dos tipos de suelo evaluados en este estudio.

CONCLUSIONES

1. *L. terrestris* produjo secreciones ricas en enzimas y nutrientes que permiten la bioactivación de biocarbones; lo cual varía de acuerdo con el tipo de suelo.
2. El suelo areno-limoso se incrementó la actividad carboxilesterasa y fosfatasa con la adición de biocarbón de estiércol de cerdo con *L. terrestris*; y para el suelo arcilloso destacó el tratamiento con biocarbón de pino con *L. terrestris*.
3. La adición de *L. terrestris* aumentó la disponibilidad de nitrógeno asimilable para las plantas, mientras que en el pH del suelo no tuvo un efecto relevante.
4. El biocarbón de estiércol de cerdo produjo los mayores contenidos de C total en suelo y la adición de *L. terrestris* generó incrementos en la respiración de suelo.

REFERENCIAS

1. Alef, K. 1995. Estimation of the hydrolysis of fluorescein diacetate. pp: 232-233. In: K. Alef and P. Nannipieri (Eds.). Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press. London, UK.
2. Alef, K. y Nannipieri, P. 1995. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press. London, UK.
3. Amador, J.A., J.H. Görres and M.C. Savin. 2006. Effects of *Lumbricus terrestris* L. on nitrogen dynamics beyond the burrow. Appl. Soil Ecol. 33(1): 61-66.
4. Andriuzzi, W. y T.O Schmidt. 2013. The drilosphere concept: fine-scale incorporation of surface residue-derived N and C around natural *Lumbricus terrestris* burrows. Soil Biol. Biochem. (64): 136-138.
5. Balzarini, M.G., L. González, M. Tablada, F. Casanoves, J.A. Di Renzo y C.W. Robledo. 2008. Infostat: software estadístico. Manual del Usuario. Córdoba, Argentina.
6. Bosch, M., J.L. Costa, F.N. Cabria y V.C. Aparicio. 2012. Relación entre la variabilidad espacial de la conductividad eléctrica y el contenido de sodio del suelo. Ciencia del suelo 30(2): 95-105.
7. Bouché, M. 1977. Strategies lombriciennes. Ecol. Bull. (Stockholm) 25: 122-132.
8. Briones, M. y R. Álvarez-Otero. 2018. Body wall thickness as a potential functional trait for assigning earthworm species to ecological categories. Pedobiologia 67(3): 26-34.
9. Chen, G., H. Zhu and Y. Zhang. 2003. Soil microbial activities and carbon and nitrogen fixation. Res. Microbiol. 154(6): 393-398.
10. Cheng, C., J. Lehmann and M. Engelhard. 2008. Natural oxidation of black carbon in soils: changes in molecular form and surface charge along a climosequence. Geochim. Cosmochim Acta. 72(6): 1598-1610.
11. Downie, A., A. Crosky and P. Munroe. 2012. Physical properties of biochar. pp. 45-64. In: J. Lehmann and S. Joseph (Eds.). Biochar for environmental management. Earthscan. London, UK.

12. Domínguez, J., M. Aira and M. Gómez-Brandón. 2009. El papel de las lombrices de tierra en la descomposición de la materia orgánica y el ciclo de nutrientes. *Ecosistemas* 18(2):20-31.
13. Escalante, A., G. Pérez, C. Hidalgo, J. López, J. Campo, E. Valtierra y J. Etchevers. 2016. Biocarbón (biochar) I: naturaleza, historia, fabricación y uso en el suelo. *Terra Latinoam.* 34(3): 367-382.
14. Ginebra, M., C. Muñoz, R. Calvelo-Pereira, M. Doussoulin and E. Zagal. 2022. Biochar impacts on soil chemical properties, greenhouse gas emissions and forage productivity: a field experiment, *Sci. Total Environ.* 806(2): 150465(Art.No.) doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.150465 [en línea].
15. Gong, X., J. Li, S. Chang, Q. Wu, Z. An, C. Huang and H. Wang. 2022. Cattle manure biochar and earthworm interactively affected CO₂ and N₂O emissions in agricultural and forest soils: observation of a distinct difference. *Front. Environ. Sci. Eng.* 16(3): 39-51.
16. Grigoropoulou, N. and K. Butt. 2010. Field investigations of *Lumbricus terrestris* spatial distribution and dispersal through monitoring of manipulated, enclosed plots. *Soil Biol. Biochem.* 42(1): 40-47.
17. Hoang, D., J. Pausch, B. Razavi, I. Kuzyakova, C. Banfield and Y. Kuzyakov. 2016. Hotspots of microbial activity induced by earthworm burrows, old root channels, and their combination in subsoil. *Biol. Fertil. Soils* 52(8): 1105-1119.
18. Jones, C., J. Lawton and M. Shachak. 1994. Organisms as ecosystem engineers. *Oikos* 69(3): 373-383.
19. Kielbasa, K., Ş. Bayar, E. Varol, J. Sreńscek-Nazzal, M. Bosacka and B. Michalkiewicz. 2022. Thermochemical conversion of lignocellulosic biomass-olive pomace-into activated biocarbon for CO₂ adsorption. *Ind. Crop. Prod.* 187(3): 115416(Art.No.) doi: 10.1016/j.indcrop.2022.115416 [en línea].
20. Lavelle, P., A. España, M. Blouin, J. Marrón, T. Decaens, M. Grimaldi and A. Zangerlé. 2016. Ecosystem engineers in a self-organized soil: a review of concepts and future research questions. *Soil Sci.* 181(3-4): 91-109.
21. Lehmann, J. 2007a. A handful of carbon. *Nature* 447(7141): 143-144.
22. Lehmann, J. 2007b. Bio-energy in the black. *Front. Ecol. Environ.* 5(7): 381-387.

23. Lehmann, J. and S. Joseph. 2015. Biochar for environmental management: an introduction. pp: 1-13. In: J. Lehmann and S. Joseph (Eds.). Biochar for environmental management. Earthscan. London, UK.
24. Muñoz, C., M. Ginebra and E. Zagal. 2019. Variation of greenhouse gases fluxes and soil properties with addition of biochar from farm-wastes in volcanic and non-volcanic soils. Sustainability 11(7): 1831(Art.No.) doi: 10.3390/su11071831 [en línea].
25. Pervinder, K., N. Sharma and K. Khushwinder. 2022. Influence of pyrolysis temperature on rice straw biochar properties and their effect on dynamic changes in bispyribac-sodium adsorption and leaching behaviour. Pedosphere 33(3) doi: 10.1016/j.pedsph.2022.06.046 [en línea].
26. Rodríguez, J., J. Lustosa, L. Melo, I. De Assis, and T. de Oliveira. 2020. Influence of pyrolysis temperature and feedstock on the properties of biochars produced from agricultural and industrial wastes. J. Anal. Appl. Pyrol. 149: 104839(Art.No.) doi: 10.1016/j.jaap.2020.104839 [en línea].
27. Sadzawka, A. 2006. Métodos de análisis recomendados para los suelos de Chile. Serie Actas N°34. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile.
28. Sánchez-Hernández, J.C., J. Notario del Pino and J. Domínguez. 2015. Earthworm-induced carboxylesterase activity in soil: assessing the potential for detoxification and monitoring organophosphorus pesticides. Ecotoxicol. Environ. Saf. 122: 303-312.
29. Sánchez-Hernández, J.C. 2018. Biochar activation with exoenzymes induced by earthworms: a novel functional strategy for soil quality promotion. J. Hazard. Mater. 350: 136-143.
30. Sánchez-Hernández, J., K. Ro and F. Díaz. 2019. Biochar and earthworms working in tandem: research opportunities for soil bioremediation. Sci. Total Environ. 688: 574-583.
31. Sánchez-Hernández, J., K. Ro, A. Szogi, S. Chang and B. Park. 2021. Earthworms increase the potential for enzymatic bio-activation of biochars made from co-pyrolyzing animal manures and plastic wastes. J. Hazard. Mater. 408: 124405(Art.No.) doi: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124405 [en línea].

32. Sastre, I. y M.C Lobo. 2003. Determinación de la actividad ureasa del suelo. Determinación de la actividad ureasa del suelo. pp: 123-147. En: C: García, F. Gil, T. Hernández y C. Trasar (Eds.). Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Ediciones Mundi-Prensa. España.
33. Sizmur, T., T. Fresno, G. Akgül, H. Frost and E. Moreno-Jiménez. 2017. Biochar modification to enhance sorption of inorganics from water. Bioresour. Technol. 246: 37-47. doi: 10.1016/j.biortech.2017.07.082
34. Tabatabai, M.A. 1982. Soil Enzymes. pp: 903-947. In: A.L. Page (Ed.). Methods of soil analysis. Part II. Chemical and microbiological properties. The american society of agronomy. Madison, USA.
35. Tabatabai, M. and J. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil biol. biochem. 1(4): 301-337.
36. Tiunov, A. and S. Scheu. 1999. Microbial respiration, biomass, biovolume and nutrient status in burrow walls of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae). Soil Biol. Biochem. 31(14): 2039-2048.
37. USDA. 1999. Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo. Instituto de Calidad de Suelos. United States Department of Agriculture. Washington, USA.
38. Wan, J., G. Wang, W. Liang, C. Peng, W. Zhang and R. Fu. 2022. Is biochar a reliable catalyst for activating peroxydisulfate damage of biochar during catalytic process. Chemosphere 303: 15240(Art.No.) doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.135240 [en línea].