



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ingeniería Agroalimentaria y del medio rural.

Explotaciones agropecuarias.

Evaluación del manejo agrícola en las propiedades biológicas del suelo

Evaluation of agricultural management on soil
biological properties.

Autor

Paula Guiral Seguí

Directoras

Laura Beatriz Martínez García

María Videgain Marco

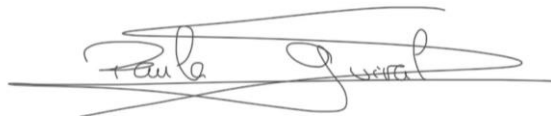
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR HUESCA

2025

Declaración de autoría

“El Trabajo de Fin de Grado que presento para su exposición y defensa es original y todas las fuentes utilizadas para su realización han sido debidamente citadas en el mismo.”

Firmado por la alumna:

A handwritten signature in black ink, reading "Paula Guiral Seguí", is written over a horizontal line. The signature is stylized and cursive.

Contenido

Declaración de autoría.....	1
Índice figuras.....	4
Índice tablas	6
Resumen / Abstract	7
Resumen	7
Abstract.....	7
1. Introducción	8
1.1 Los cultivos herbáceos.....	8
1.1.1 Situación nacional.....	9
1.1.2 Situación Regional.....	10
1.1.3 La cebada (<i>Hordeum vulgare L., cv. Meseta</i>).....	11
1.2 El monocultivo	12
1.3 Manejo agrícola.....	13
1.3.1 Preparación del terreno o cama de siembra.....	13
Laboreo convencional	13
Siembra directa.....	14
1.3.2 Fertilización	15
1.4 Biología del suelo en explotaciones agrarias.....	16
1.4.1 Funcionalidad de los microorganismos del suelo	16
1.4.2 Enzimas como indicadores de la actividad biológica del suelo	17
1.4.3 Perfil catabólico de la comunidad microbiana	17
1.4.4 Carbono orgánico en los suelos agrícolas	18
1.5 Revisión bibliográfica de resultados.....	20
1.5.1 Relación entre manejo agrícola y comunidad microbiana	20
1.5.2 Efecto del monocultivo	20
1.5.3 Efecto del laboreo	21
1.5.4 Efecto de la fertilización	21
1.6 Importancia de los estudios de larga duración (ELD)	23
1.7 Justificación	24
2. Objetivos	26
3. Material y métodos.....	27
3.1 Área de estudio	27
3.1.1 Geología del suelo.....	28
3.2 Diseño experimental.....	29
3.3 Muestreo del suelo.....	30
3.4 Análisis químicos y biológicos del suelo.....	31

3.4.1 Perfil fisiológico de la comunidad de microorganismo (MicroResp™)	31
Protocolo	31
3.4.2 Actividad enzimática.....	34
○ β-Glucosidasa	34
○ Polifenol Oxidasa	34
○ Proteasa	35
○ N-acetyl-b-D-glucosaminidasa.....	35
○ Deshidrogenasa.....	36
Protocolo	36
Cálculos.....	37
3.4.3 Carbono oxidable por permanganato (POXC).....	37
Protocolo	38
Cálculos.....	38
3.4.4 Análisis estadístico	38
4. Resultados y discusión	40
4.1 Actividad enzimática.....	40
4.1.1 Enzimas implicadas en el ciclo del nitrógeno	41
4.1.2 Enzimas implicadas en el ciclo del carbono.....	42
4.1.3 Enzimas implicadas en ambos ciclos	44
4.2 Carbono oxidable con permanganato (POxC)	47
4.3 Perfil fisiológico de la comunidad de microorganismo (MicroResp™)	48
4.3.1 Respiración basal (qCO ₂)	50
4.4 Síntesis de los resultados	51
5. Conclusiones	53
6. Bibliografía.....	54

Índice figuras

Figura 1:Superficie cultivada de cereales de grano en España de 2017 a 2024. (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2024)	9
Figura 3.1: Distribución de tierras agrícolas I) Reparto de tierras totales de cultivo España-Aragón. . II)Sistemas de cultivo en Aragón.	10
Figura 3.2: Tipología de cultivo en Aragón I)Cultivos herbáceos. II) Importancia de los cereales en Aragón.	10
Figura 4:Superficie cultivada de cereales de grano en Aragón de 2017 a 2024. (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2024)	11
Figura 5: Localización de Senés de Alcubierre.	27
Figura 6: Evolución mensual de la precipitación media y de las temperaturas (máxima, mínima y media) registradas durante el año 2024(Estación meteorológica de Lanaja- AEMET).	28
Figura 7: Localización de Senes de Alcubierre en mapa geológico de España, la escala de este mapa es 1:1.000.000 (Instituto Geológico y Minero de España, 2015)	28
Figura 8: Localización y disposición de las parcelas experimentales: imagen satelital y esquema explicativo.	30
Figura 9: Distribución de los ocho sustratos en la placa del ensayo MicroResp™. Cada muestra de suelo incluye cuatro repeticiones por sustrato.	32
Figura 10: Componentes del sistema MicroResp™ (Onica et al., 2018).	32
Figura 11: Esquema del protocolo Microresp™	33
Figura 12: Protocolo general actividad enzimática. (1) En algunos casos hay una agitación en noria intermedia; (2) En algunos casos se incuba en oscuridad para que se produzca la reacción colorimétrica; (3) Se realiza filtrado o centrifugación, si las muestras no salen limpias, se realizan ambas.	36
Figura 13: Actividad de la ureasa. I) Interaccion entre el tipo de fertilización y laboreo de la parcela; II)Interacción entre el tipo de laboreo y la profundidad en la parcela.	41
Figura 14: Actividad de la proteasa.	42
Figura 15: Actividad de la Glucosidasa. Interaccion entre el tipo de fertilización de la parecla y la profundidad de la muestra.	43
Figura 16: Actividad de la Polifenol oxidasa. Interacción entre el tipo de fertilización y el laboreo en la parcela.....	44
Figura 17:Actividad de la Deshidrogenasa. Interacción entre el tipo de fertilización y la profundidad de la parecla.	45

Figura 18: Actividad de la Glucosaminidasa. Interacción entre el tipo de fertilización y la profundidad de la parcela	46
Figura 19: Resultados del Poxc. Interacción entre el tipo de laboreo realizado en la parcela y la profundidad de la muestra.	47
Figura 20: Producción de CO ₂ por tipo de sustrato, profundidad y laboreo.....	49
Figura 21: Resultados análisis ANOVA qCO ₂	50
Figura 22: Resultados análisis ANOVA del qCO ₂ . Interacción entre la profundidad y en laboreo.	51

Índice tablas

Tabla 1: Datos climáticos estación meteorológica Lanaja de 2010 a 2024 (Estación meteorológica de Lanaja- AEMET)	27
Tabla 2: Resultados análisis estadístico ANOVA enzimas en función de la profundidad, el tipo de fertilización y laboreo (GL: grados de libertad, p valor significativo <0.05).....	40
Tabla 3: Análisis ANOVA PO _x C.....	47
Tabla 4: Resultados análisis anova Microresp.	48
Tabla 5: Análisis ANOVA qCO ₂	50

Resumen / Abstract

Resumen

Este trabajo evalúa la calidad biológica del suelo en un monocultivo de cebada en Aragón, considerando los efectos de la profundidad, dos tipos de laboreo (laboreo intensivo y siembra directa) y dos tipos de fertilización (mineral y orgánica). Para ello se analizaron la actividad de seis enzimas del suelo, el carbono lábil oxidable, el perfil fisiológico microbiano (MicroResp™) y el cociente metabólico (qCO₂).

Los resultados mostraron que la profundidad es el factor con más influencia en los análisis: la mayoría de la actividad enzimática se concentran en 0–5 cm, mientras que la deshidrogenasa no sigue ese patrón y destaca en 5–20 cm. El laboreo influye en la estratificación de la actividad enzimática y en la eficiencia metabólica, siendo la siembra directa más favorable que el laboreo intensivo. La fertilización orgánica potencia la actividad enzimática en superficie, a diferencia de la mineral, que no aporta mejoras claras. En conjunto, la combinación de siembra directa y fertilización orgánica se presenta como la práctica más sostenible que también favorece la funcionalidad y el mantenimiento de los suelos agrícolas mediterráneos.

Palabras clave: Calidad biológica del suelo, Siembra directa, Fertilización orgánica, Enzimas del suelo, Monocultivo de cebada

Abstract

This study evaluates the biological quality of soil in a barley monoculture in Aragón, considering the effects of depth, two tillage systems (intensive tillage and no-till), and two fertilization types (mineral and organic). For this purpose, the activity of six soil enzymes, permanganate oxidizable carbon (POXC), the microbial functional profile (MicroResp™), and the metabolic quotient (qCO₂) were analyzed.

Results showed that depth was the most influential factor: most enzymatic activity was concentrated in the 0–5 cm layer, whereas dehydrogenase activity was higher in 5–20 cm. Tillage influenced enzymatic activity stratification and metabolic efficiency, with no-till proving more favorable than intensive tillage. Organic fertilization enhanced enzymatic activity in the surface layer, unlike mineral fertilization, which did not produce clear improvements. Overall, the combination of no-till and organic fertilization emerges as the most sustainable management practice, promoting soil functionality and long-term maintenance in Mediterranean agricultural systems.

Keywords: Soil biological quality, No-till, Organic fertilization, Soil enzymes, Barley monoculture

1. Introducción

En este trabajo se tratará el estudio de diferentes suelos procedentes de varias parcelas con un monocultivo de cebada, centrándose en la calidad del suelo que lo sustenta. Para ello, se tendrán en cuenta las diferencias derivadas del manejo de las parcelas, en las que se han aplicado dos tipos de laboreo (intensivo y siembra directa) y dos modalidades de fertilización (orgánica y mineral).

Con la introducción se quiere dar una visión global de los aspectos que componen el estudio. En primer lugar, se presentará un panorama general de los cultivos herbáceos, tanto a nivel nacional como local, seguido de una breve descripción de la cebada y de su importancia agronómica y económica. A continuación, se abordarán las metodologías empleadas en la preparación del terreno y en la fertilización, destacando los principales problemas a los que estas técnicas se enfrentan en la actualidad.

Finalmente, de manera más específica, se tratará la biología de los suelos agrarios, destacando su importancia como fuente de información sobre el estado de las explotaciones. Cabe destacar que en este proyecto el análisis de los cultivos como de sus rendimientos queda en un segundo plano frente al estudio de las características del suelo.

1.1 Los cultivos herbáceos

Los cultivos herbáceos “comprenden aquellas especies vegetales de consistencia herbácea que son objeto de cultivo, entre las que se encuentran los cultivos más importantes a nivel mundial, tanto en superficies como en producciones y valor de la producción” (Osca Lluch, 2014, p.5). En este grupo se incluyen los cereales, las leguminosas, la patata, el algodón, la remolacha, las forrajeras y las hortalizas. Constituyen un grupo fundamental para la agricultura, siendo esenciales tanto para la alimentación humana como para el animal.

Dentro de este conjunto, los cereales ocupan un lugar destacado, ya que tienen un peso muy importante en la conformación de la alimentación humana (Ordás, A ,2023). Esta relevancia es tanto por su consumo directo como por las múltiples industrias derivadas.

Los cereales son plantas herbáceas monocotiledóneas de ciclo anual pertenecientes a las gramíneas, se caracterizan por presentar tallos en forma de caña y una inflorescencia en espiga o panícula, que producen semillas destinadas tanto a la alimentación animal como humana. Junto al aprovechamiento del grano, la paja que se obtiene tiene múltiples aplicaciones: alimentación para los animales, cama para el ganado, como acolchado inerte de cultivos leñosos o como materia prima en la producción de biomasa. Este tipo de herbáceos se pueden dividir en dos grandes grupos, los cereales de invierno como el trigo y la cebada que tienen mucha resistencia a las temperaturas bajas y se siembran en otoño e invierno; y los cereales de verano como el arroz o el maíz, que son realmente sensibles a las bajas temperaturas y se siembran en primavera o verano (Osca Lluch, 2014).

1.1.1 Situación nacional

En España, el total de tierras de cultivo en el año 2024 fue de 16,7 millones de hectáreas de los cuales los cultivos herbáceos ocupan 8,2 millones.

El sector de los cereales es estratégico, tiene una gran base territorial y desempeña un importante papel en la vida rural. Abarca aproximadamente 5,4 millones de hectáreas según el ministerio de Agricultura, pesca y alimentación del Gobierno de España determinado en el balance de cereales de la campaña 2024/2025 publicado en julio del 2025 (MAPA, 2024), de las cuales el 85% se cultivan en régimen de secano. La producción media anual se sitúa en el entorno de los 20 millones de toneladas, siendo las especies más relevantes en cuanto a producción la cebada, el trigo y el maíz respectivamente. Sin embargo, el país presenta un importante déficit de producción en relación frente a la demanda, por ello se importan aproximadamente 16 millones de toneladas, especialmente de maíz.

En los últimos años, la superficie destinada a estos cultivos muestra una tendencia de reducción paulatina (Figura 1), condicionada por factores como la fuerte competencia internacional en precios, la dependencia de las condiciones hídricas y térmicas interanuales, así como por los efectos del cambio climático, que afectan de manera decisiva al rendimiento de las cosechas.

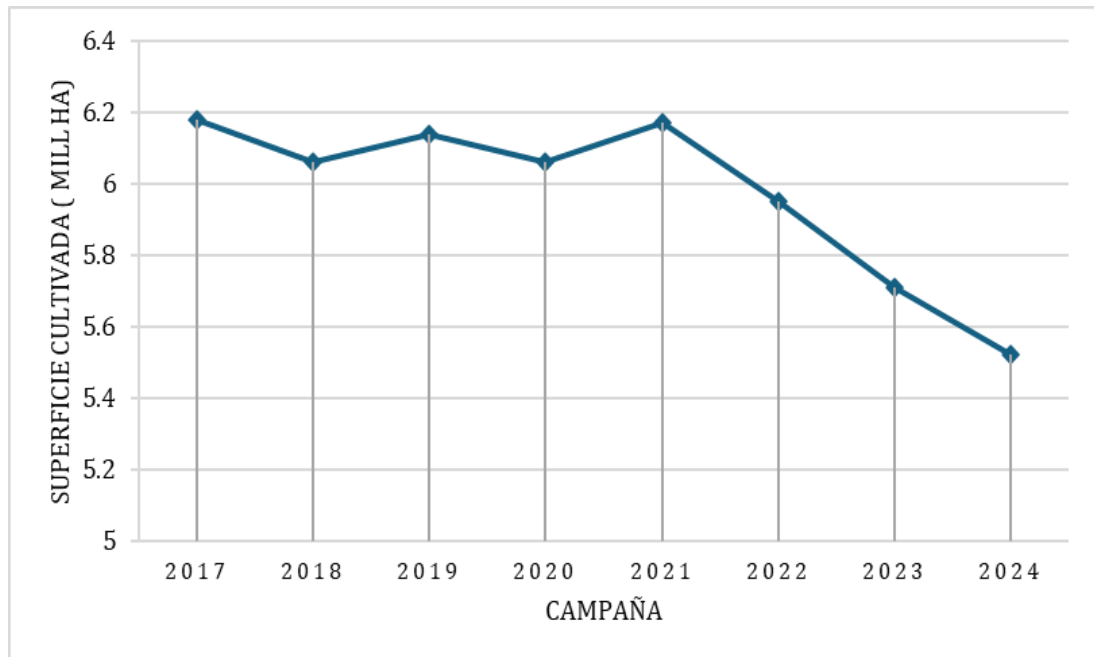


Figura 1: Superficie cultivada de cereales de grano en España de 2017 a 2024. (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2024)

1.1.2 Situación Regional

En Aragón, el predominio de los cultivos herbáceos se ha mantenido estable durante las dos últimas décadas. Dentro de este grupo, los cereales representan el cultivo de mayor relevancia, ya que, al desarrollarse en sistemas extensivos que requieren grandes superficies (Ramo Fuertes, 2023).

Según la Encuesta sobre Superficies y Rendimientos de Cultivos en España (ESYRCE), en la campaña de 2024 las tierras de cultivo en Aragón abarcaron un total de 1.772.438 hectáreas, de las cuales 1.358.879 ha corresponden a secano y 413.253 a regadío (Figura 3.1). Dentro de este conjunto, los cultivos herbáceos concentraron 1.049.976 hectáreas, lo que supone aproximadamente el 60% del total cultivado en la comunidad, confirmando así su papel predominante en el territorio. En este grupo, los cereales son el cultivo principal, con 864.355 hectáreas, equivalentes a más del 80 % de la superficie dedicada a herbáceos (Figura 3.2).

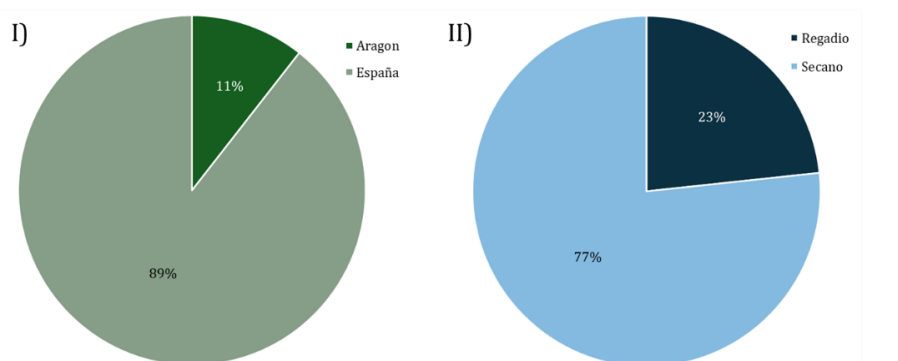


Figura 3.1: Distribución de tierras agrícolas I) Reparto de tierras totales de cultivo España-Aragón. II) Sistemas de cultivo en Aragón.

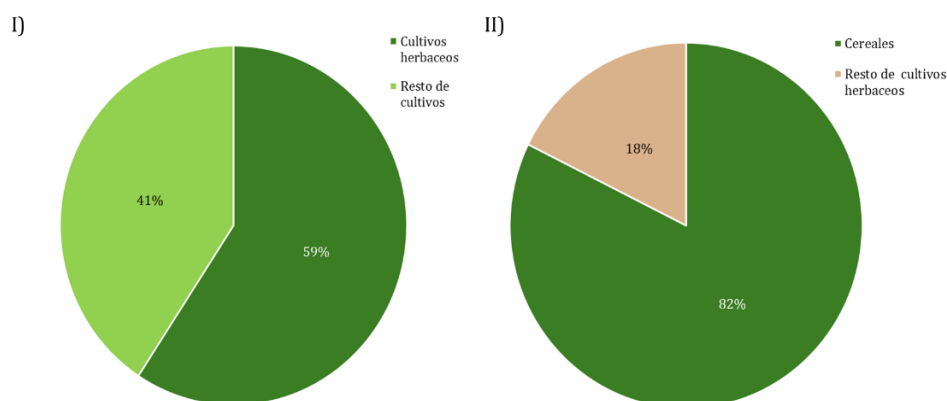


Figura 3.2: Tipología de cultivo en Aragón I) Cultivos herbáceos. II) Importancia de los cereales en Aragón.

Como se puede observar en la Figura 4, la superficie cultivada de cereales en Aragón desciende en 2018, se recupera entre 2019 y 2020 manteniéndose estable en 2021, y vuelve a caer hasta 2023, con un ligero repunte en 2024, lo cual le distingue de la tendencia de España que se ha mantenido en bajada este último año. Entre los diferentes cultivos de cereales, la cebada sobresale como el cereal con mayor superficie, alcanzando 445.779 hectáreas (443.482 ha de cebada de dos carreras y 2.297 ha de seis carreras), lo que representa alrededor del 52 % de la

superficie total de cereales en Aragón. Esta predominancia en el secano y en la producción agraria regional la convierten en un cultivo clave para la economía y el medio rural aragonés (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2024).

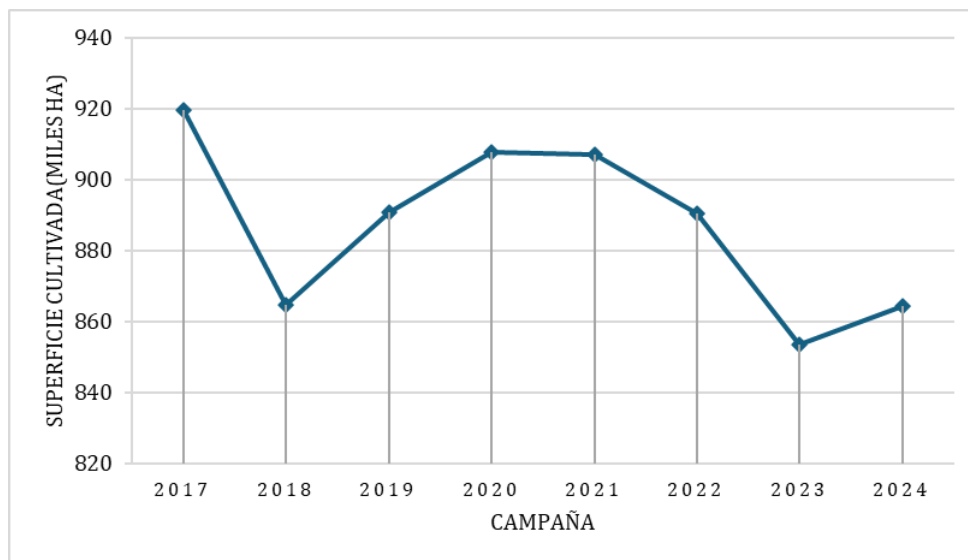


Figura 4: Superficie cultivada de cereales de grano en Aragón de 2017 a 2024. (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2024)

1.1.3 La cebada (*Hordeum vulgare L., cv. Meseta*)

La cebada es uno de los primeros cultivos domesticados en Asia sudoriental y el norte de África. Actualmente está muy extendida por su escasa exigencia climática, aunque requiere suelos fértiles y no tolera los compactos o húmedos. Tradicionalmente se destinaba a la alimentación humana, pero hoy en día su uso se centra en la alimentación animal y la elaboración de bebidas alcohólicas.

España es uno de los países europeos que más superficie dedica a este cultivo, con más de 2,5 millones de hectáreas, concentradas sobre todo en Castilla y León, Castilla-La Mancha y Aragón. Entre las variedades más cultivadas destacan Pewter, Meseta, Hispanic y Volley (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2024).

Morfológicamente, presenta una raíz fasciculada, tallo hueco y erecto de hasta un metro, hojas estrechas de color verde claro, inflorescencia en espiga y fruto en forma de cariópside. Taxonómicamente pertenece a la especie *Hordeum vulgare L.* dentro de la familia Poaceae, diferenciándose en subespecies como *vulgare* (seis carreras), *distichum* (dos carreras) y *spontaneum* (silvestres) (García Ruiz et al., 2024).

El ciclo de cultivo dura alrededor de unos 180 días en variedades de primavera y hasta 270 en las de invierno. Se divide en las fases de germinación, ahijamiento, elongación del tallo y maduración del grano. Se adapta bien a condiciones ambientales variables, pero factores como la disponibilidad de agua, la temperatura y el fotoperiodo influyen notablemente en la floración y en su desarrollo. Además, el proceso de vernalización (exposición previa a bajas temperaturas)

influye notablemente en la inducción de la floración en variedades de invierno (García Ruiz et al., 2024).

En este estudio se ha empleado la variedad Meseta, una cebada de invierno de dos carreras, de talla baja, elevada capacidad de ahijamiento y buen comportamiento frente al encamado¹. Presenta resistencia media a enfermedades foliares y es actualmente la variedad más sembrada en España (Florimond Desprez, 2021).

1.2 El monocultivo

El monocultivo es un sistema de producción agrícola en el cual se cultiva una única especie vegetal en una misma parcela durante varios ciclos productivos consecutivos (Franco et al., 2022). Este sistema está muy extendido en todos los lugares de alta producción, ya que presenta gran simplicidad de manejo, especialización técnica y la posibilidad de optimizar maquinaria y recursos específicos para un único cultivo.

Esta práctica se ha implantado en los países más desarrollados debido a la intensificación de la agricultura (Delgado de Paz, 2022). El monocultivo en España históricamente se ha relacionado con el cultivo extensivo de cereales (trigo, cebada, maíz), sobre todo en zonas de secano. En concreto el monocultivo de cebada, especialmente de la variedad Meseta, es una práctica común en Aragón debido a su facilidad de manejo y fiabilidad productiva. No obstante, debe considerarse su impacto negativo sobre la salud del suelo a medio y largo plazo. La introducción de rotaciones con leguminosas, barbechos vegetativos o cultivos de cobertura puede ser una solución efectiva para conservar la fertilidad del suelo y la sostenibilidad del sistema productivo.

Algunas de las ventajas del monocultivo son la capacidad para favorecer el control de malas hierbas debido a la germinación sincrónica y al desarrollo rápido de una cubierta vegetal densa que permiten limitar el espacio y los recursos disponibles para especies competidoras (Wood, 2000). La uniformidad que aporta simplifica las labores agrícolas, lo que hace más fáciles procesos como la siembra, la cosecha y el control de plagas, llevando a una mayor eficiencia y una reducción de los costes (Wood, 2000). Todo esto, se traduce en mayores producciones disminuyendo los costes, por lo tanto, puede aumentar la rentabilidad de las explotaciones (Snapp, 2020).

Este modelo de producción también tiene importantes inconvenientes. Uno de los más relevantes es que el uso intensivo de fertilizantes y pesticidas químicos, necesarios en este tipo de sistemas, reducen la biodiversidad (polinizadores, microorganismos y la vida silvestre en general), contaminan los ríos, el suelo, las aguas subterráneas y afectan a la salud de las comunidades (Emanuelli, Jonsén & Monsalve Suárez, 2009, p. 28). Específicamente, una práctica continuada de monocultivo en cereales puede provocar una degradación progresiva del suelo, con reducción de nutrientes, carbono orgánico, nitrógeno y biodiversidad edáfica, incluyendo poblaciones de lombrices (Woźniak, 2019). Estos efectos repercutirían en la productividad, como en el ejemplo del estudio de Woźniak, (2019) en el cual se observaba que sistemas de monocultivo

¹ Encamado: “proceso por el que los tallos de las plantas son desplazados de una manera permanente de su posición vertical” (Carrillo Becerril, 2008).

prolongado de trigo reducían tanto el rendimiento como la calidad del grano, en comparación con los sistemas de rotación.

1.3 Manejo agrícola

En este apartado se realizan algunas especificaciones del manejo agrícola. Se tratan las prácticas que tienen como objetivo preparar al suelo previo al cultivo o cama de siembra y la fertilización, que en el caso como un cultivo de cebada en secano tienen bastante importancia.

1.3.1 Preparación del terreno o cama de siembra

De la misma forma que la intensificación agrícola ha afectado a la elección de cultivos y los ciclos realizados en las parcelas, ha llevado al continuo cambio en las técnicas de preparación de la cama de siembra. En los últimos años, se ha observado una transición del laboreo convencional realizado desde el principio de la agricultura a la siembra directa, técnica permitida por los nuevos avances en la maquinaria agrícola.

En este marco de variación también ha influido las diferentes investigaciones que resultan en que un excesivo laboreo puede provocar la pérdida de estructura del suelo, erosión, pérdida de utilidad, etc (González López, 2015; Lacasta & Meco, 2005; Reicosky & Saxton, 2007).

Igualmente, ambas técnicas (laboreo convencional y siembra directa) tienen como objetivo mejorar la implantación, nutrición y rendimiento del cultivo. En los siguientes apartados se darán especificaciones de ambas.

Laboreo convencional

El laboreo convencional se define como el uso de implementos acoplados al tractor que, aplicados en un orden lógico, permiten la labranza del suelo, el cual queda desnudo y con una mínima cantidad de residuos previos. Esta práctica de forma general se realiza en dos fases: la primera cuyo objetivo es cortar y voltear el terreno y la segunda que busca fragmentarlo para reducir el tamaño de los terrones, obteniendo una estructura adecuada para la siembra. En cuanto a la maquinaria empleada, en la primera etapa suelen utilizarse arados de reja vertedera o de discos, mientras que en la segunda se recurre a implementos como la rastra de discos, el cultivador, el vibrocultor o la rastra de púas (Mendoza, M.A, 2021).

Los principales objetivos del laboreo convencional son romper las capas endurecidas del suelo, invertir la capa arable para mejorar la aireación y el suministro de oxígeno a las raíces y microorganismos, facilitar la infiltración de agua, incorporar residuos de cultivos y fertilizantes, y disponer de una cama de siembra adecuada para el desarrollo del cultivo (González López, G. 2015). Entre sus ventajas, se destaca el control de malezas que quedan enterradas al voltear la capa superficial, la reducción de plagas y la posibilidad de obtener una cama de siembra más uniforme; además, mejora los suelos con excesiva humedad al favorecer el drenaje (González López, G. 2015).

Sin embargo, numerosos estudios han mostrado que el laboreo intensivo, aunque favorece propiedades relacionadas con la macroporosidad como la permeabilidad, la penetrabilidad y la aireación, presenta efectos negativos importantes. Algunos de estos efectos son la reducción de la materia orgánica, de la humedad, de la estabilidad estructural, de la disponibilidad de elementos

asimilables y de la actividad biológica (Lacasta & Meco, 2005). Provoca, además, una rápida descomposición de los agregados del suelo, incrementando la erosión y la pérdida de carbono, lo que repercute en su capacidad productiva.

Estas prácticas también generan emisiones de gases de efecto invernadero, especialmente CO₂, contribuyendo al cambio climático. Se ha demostrado que el arado de vertedera produce mayores pérdidas de carbono que los sistemas de siembra directa o labranza reducida, los cuales pueden mitigar o revertir esta tendencia (Reicosky, D., & Saxton, K, 2007). Asimismo, se ha señalado que este tipo de laboreo conlleva desventajas como la compactación, la erosión, la pérdida de humedad y el deterioro de la estabilidad de los agregados, lo que puede desembocar en encostramientos y pérdida de fertilidad a largo plazo (González López, G. 2015).

Siembra directa

La siembra directa o labranza cero, es una técnica de conservación relativamente reciente que ha demostrado tener gran utilidad en la reducción de la erosión de los suelos agrícolas. Se basa en la implantación de la semilla directamente sobre el rastrojo del cultivo anterior, de manera que este permanece en superficie al finalizar la siembra.

En este sistema, las semillas se depositan en surcos de aproximadamente 10 cm de ancho, mientras que el terreno entre hileras permanece intacto y protegido por la cobertura vegetal, siendo este el principal mecanismo que disminuye la erosión. Esta práctica, además de reducir la degradación del suelo, presenta otras ventajas como la disminución del consumo de combustible, aunque también puede conllevar un mayor uso de fertilizantes, herbicidas e insecticidas por hectárea (Alvarado Chaves et al., 2017).

Según la FAO, la característica fundamental de la siembra directa o labranza cero es que la superficie del suelo permanezca recubierta con los residuos del cultivo previo el mayor tiempo posible, ya sea en pie o aplanados tras la cosecha. En países como Estados Unidos se considera necesario un mínimo del 30 % de cobertura después del paso de la sembradora, aunque muchos técnicos recomiendan alcanzar al menos un 70 % para maximizar los beneficios.

Este sistema forma parte de la agricultura de conservación y se ha implementado en contextos agrícolas muy diversos, demostrando que contribuye a una producción sostenible prácticamente en todo el mundo. Entre sus beneficios destacan el incremento de la materia orgánica y su influencia positiva en múltiples procesos relacionados con la calidad del suelo, ya que contribuye al mantenimiento del carbono edáfico, el cual constituye un factor clave para la sostenibilidad de la producción agrícola a largo plazo (Baker et al., 2007)

1.3.2 Fertilización

La fertilización es una práctica agronómica ampliamente utilizada desde hace siglos, debido a su importancia para mejorar los rendimientos de los cultivos. Mediante el aporte de nutrientes que el suelo no puede ofrecer en cantidad suficiente o cuya disponibilidad resulta limitada, las plantas pueden destinar sus recursos principalmente al crecimiento y a la producción, en lugar de invertir su energía en la obtención de dichos nutrientes. Cada vez esta práctica es más necesaria debido al continuo incremento de la demanda de alimentos en el mundo, asociado al aumento paulatino de la población.

Se pueden diferenciar en términos generales, dos tipos de fertilización, la fertilización mineral también denominada inorgánica y la fertilización orgánica. La fertilización mineral permite obtener plantas sanas y vigorosas que, en parte, se incorporan posteriormente al suelo, contribuyendo a mantener o incluso elevar su contenido en humus (MAPA, 2020). Los fertilizantes orgánicos, aunque también aportan nutrientes, actúan principalmente mejorando las propiedades fisicoquímicas del suelo y estimulando su actividad biológica, mientras que los minerales proporcionan la mayor parte de los nutrientes esenciales que las plantas necesitan (MAPA, 2020).

No obstante, en la actualidad el uso de fertilizantes minerales e inorgánicos se encuentra en el centro de debate. Una aplicación intensiva y prolongada de fertilizantes inorgánicos puede conllevar consecuencias ambientales negativas, como son la eutrofización de aguas, la erosión del suelo y la pérdida de biodiversidad (Song et al., 2022). Su empleo continuado incrementa los costes de producción agrícola, causado por el elevado precio de adquisición de estos (Herrera, Vargas & Marín, 2000). Se suma a todo esto la presión social e institucional que existe para reducir su uso. Dentro del Pacto Verde Europeo y la estrategia “De la Granja a la Mesa” (Farm to Fork), la Unión Europea ha puesto como meta disminuir hasta un 20% el uso de fertilizantes para 2030, a la vez se pretende reducir por lo menos un 50% las pérdidas de nutrientes, sin comprometer la fertilidad del suelo.

En este contexto se han realizado numerosos estudios y han surgido múltiples alternativas a para mitigar los problemas mencionados. Algunas de las soluciones podrían ser las rotaciones de cultivos, la incorporación de leguminosas o el uso de enmiendas orgánicas. Este último punto, es el que se analiza en este proyecto, donde se tendrán en cuenta los dos tipos de fertilización, orgánica y mineral. Se analiza su efecto por separado, aunque numerosos estudios evalúan también el efecto de ambas prácticas combinadas.

Como se ha señalado, la fertilización cumple principalmente una función de incremento de la productividad sobre los cultivos, pero desde el punto de vista del suelo, la aplicación de estas enmiendas puede provocar cambios en sus propiedades fisicoquímicas y, sobre todo, en la comunidad microbiana. Según Geisseler y Scow (2014), las aplicaciones de nitrógeno repetidas y prolongadas pueden modificar la estructura de la comunidad microbiana.

Esta es la perspectiva de análisis que se va a tomar en este proyecto, en los siguientes apartados se analizará la importancia de este perfil de microorganismos en el suelo, para determinar la salud de este.

1.4 Biología del suelo en explotaciones agrarias

La biología del suelo es esencial en la sostenibilidad y productividad de las explotaciones agrarias. Un suelo vivo se caracteriza por estar constituido de una comunidad diversa de organismos, desde microorganismos que son invisibles para el ojo humano (bacterias, hongos, actinomicetos, protozoos y nematodos) hasta organismos de mayor tamaño como lombrices de tierra e insectos. Todos se encuentran interconectados en la red trófica que influye de manera decisiva en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, y por lo tanto, en el crecimiento y la salud de los cultivos.

Esta biota edáfica es realmente sensible a las variaciones externas que se pueden producir en las explotaciones agrícolas. Tanto los factores ambientales como las diferentes prácticas de manejo afectan en su estructura y dinámica. La toma de decisiones como el tipo de cultivo, la rotación, el tipo de fertilizante o el uso de fitosanitarios provocan variaciones en la comunidad biológica del suelo (Gaskin et al., 2010).

Aunque es ampliamente reconocido que los microorganismos del suelo responden de forma sensible a las alteraciones del entorno agrícola, el conocimiento científico disponible aún es limitado para diseñar estrategias de manejo detalladas y universalmente aplicables. Una misma práctica puede generar el efecto deseado en unas condiciones climáticas, pero resultar ineficaz en otras, dado que las comunidades biológicas responden a la interacción de múltiples factores, como la disponibilidad de nutrientes, las características físicas del hábitat, la humedad o el historial de uso del suelo (USDA–NRCS, 2004).

1.4.1 Funcionalidad de los microorganismos del suelo

Los microorganismos del suelo son componentes esenciales de los ecosistemas terrestres, ya que participan directamente en procesos clave como la descomposición de la materia orgánica, el ciclado de nutrientes, la supresión de enfermedades y el mantenimiento de la fertilidad edáfica. Su diversidad, que incluye bacterias, hongos, arqueas, virus, protozoos y algas microscópicas, resulta fundamental para sostener la productividad agrícola y la producción de cultivos saludables (Chen et al., 2024).

Estos organismos regulan funciones con gran relevancia para la producción agrícola, como son el secuestro de carbono, la emisión de gases de efecto invernadero, la estructuración del suelo y su capacidad de retención de agua. De la misma forma, contribuyen a mejorar la eficiencia de las plantas en la adquisición de nutrientes y a mantener su salud. En particular, en la rizosfera se establecen interacciones estrechas entre las raíces y comunidades microbianas beneficiosas, como bacterias fijadoras de nitrógeno, hongos micorrícicos o rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, que resultan determinantes para la productividad y resiliencia de los cultivos (Correa 2016).

La diversidad funcional de los microorganismos del suelo determina en gran medida la capacidad de los agroecosistemas para sostener sus funciones ecológicas. Los microorganismos trabajan como descomponedores de la materia orgánica y ayudan a la transformación de compuestos complejos en formas asimilables para las plantas. Las funciones que tienen incluyen la fijación biológica de nitrógeno, la formación de asociaciones micorrícicas que favorecen la absorción de fósforo y agua, y la solubilización de nutrientes minerales esenciales como el fósforo y el potasio.

La relación entre la diversidad de especies y la funcionalidad que existe no es siempre lineal, en sistemas con redundancia funcional, la pérdida de algunas especies puede no alterar el funcionamiento del ecosistema. Sin embargo, en suelos en los que esta redundancia no exista o sean dependientes de algunas especies, como podría ser de bacterias fijadoras de nitrógeno u hongos micorrícicos, pequeñas variaciones en la diversidad pueden tener consecuencias tanto en el rendimiento de los cultivos como en la estabilidad del sistema (Chen et al., 2024).

1.4.2 Enzimas como indicadores de la actividad biológica del suelo

Las enzimas son un tipo de biomoléculas principalmente de naturaleza proteica, cuya función catalizar reacciones bioquímicas sin variar su estructura mediante su unión con un sustrato específico. En términos generales, las enzimas se encuentran en el suelo son primordiales para la transformación de energía y para los diferentes ciclos de nutrientes. A causa de su carácter proteico son muy sensibles a factores externos, por ejemplo, a las variaciones ambientales y a las de pH.

Estas biomoléculas son producidas por plantas, animales y microorganismos (Balezentiene & Klimas, 2009), aunque en este proyecto interesan las de origen microbiano. Su análisis permite obtener una perspectiva de la cantidad y calidad de microorganismos presentes en el suelo, ya que su actividad refleja la intensidad de los procesos metabólicos que regulan. Por esto, se consideran bioindicadores útiles para evaluar la calidad biológica del suelo y los efectos de diferentes prácticas de manejo. Además, forman parte de la mayoría de los fenómenos que tienen lugar en los suelos y sus funciones tienen gran importancia. Participan en la formación de moléculas orgánicas y además son esenciales para el funcionamiento correcto del ciclo del nitrógeno, fósforo y carbono (Henríquez et al., 2014).

En la mineralización es muy importante su presencia. Estas enzimas están implicadas en la sustitución de compuesto orgánicos complejos a sustancias asimilables para las plantas, las cuales se encargan de catalizar las etapas limitantes en la mineralización de nutrientes. Pueden ser extracelulares o intracelulares, unas son liberadas durante el metabolismo y muerte celular mientras que las otras forman parte de la biomasa microbiana o están adsorbidas en la materia orgánica (Henríquez et al., 2014).

Debido a su relación con procesos de gran importancia en el suelo, la determinación de la actividad enzimática ha sido estudiada como un biomarcador, es decir, como una medida de diferentes condiciones de calidad de suelo. Siendo considerada un indicador sensible frente a cambios en el uso y manejo agrícola (Balezentiene & Klimas, 2009).

1.4.3 Perfil catabólico de la comunidad microbiana

El perfil catabólico de la comunidad microbiana se puede definir como el patrón de uso de diferentes fuentes de carbono por los microorganismos que están presentes en el suelo, siendo un indicador de su diversidad funcional. Este perfil permite conocer la capacidad metabólica de la comunidad en conjunto para degradar compuestos orgánicos tanto simples como complejos, lo que va a permitir relacionar la actividad microbiana con procesos como los ciclos de los nutrientes y la mineralización de la materia orgánica.

La determinación se realiza mediante metodologías que están desarrolladas para analizar el perfil fisiológico a nivel de comunidad (CLPP), como son las placas Biolog EcoPlates™ o el

sistema MicroResp™. Estos ensayos representan métodos rigurosos para comparar muestras de suelo en condiciones de laboratorio, aunque se debe tener en cuenta que a causa de las manipulaciones que se realizan con los suelos durante el procedimiento, no refleja exactamente las características reales de actividad, sino que se va a evaluar la actividad potencial. En el caso de este estudio se ha elegido el método MicroResp™.

Este método es relativamente nuevo, ya que fue desarrollado Campbell, Chapman y Artz en el año 2003, en el James Hutton Institute (anteriormente Macaulay Institute) en Escocia. Esta técnica surge con la intención de mejorar los métodos predecesores y hacerlos más sencillos debido a que se permite analizar al suelo completo, con un formato de 96 pocillos y sin necesidad de un cultivo previo (Chapman et al. 2007).

MicroResp™ es un método con el que se realiza una medición de la actividad respiratoria del perfil fisiológico del suelo a través de la adición de sustratos de carbono (Onica et al., 2018). De esta manera, se obtiene una muestra del funcionamiento metabólico de la comunidad microbiana, siendo una herramienta valiosa para evaluar la calidad del suelo y los efectos de diferentes prácticas de manejo agrícola sobre su funcionamiento. Además, la aplicación de MicroResp™ ha demostrado ser especialmente útil a gran escala. Un estudio a nivel europeo evidenció que este método permite determinar con éxito la respuesta potencial de la comunidad microbiana frente a diferentes usos de la tierra y propiedades edáficas, validando el MSIR (Microbial Substrate-Induced Respiration) como un indicador biológico válido (Creamer et al. 2016).

Asimismo, investigaciones que comparan la validez de diferentes métodos señalan que la combinación de un análisis MicroResp™ y de la determinación de actividades enzimáticas permiten un buen análisis ya que actúan como indicadores complementarios de la diversidad funcional microbiana. Esto es debido, a que, aunque ambos permiten detectar diferencias entre categorías de uso del suelo, el primero resulta más sensible en condiciones de baja materia orgánica, mientras que los índices enzimáticos muestran una mayor dependencia de variables edáficas específicas (Moscatelli et al., 2018). En conjunto, la utilización de ambos análisis ofrece una visión más completa y precisa de la funcionalidad microbiana en los ecosistemas agrícolas.

1.4.4 Carbono orgánico en los suelos agrícolas

El carbono orgánico del suelo (COS) es un elemento fundamental en la agricultura y en el funcionamiento de los ecosistemas terrestres. Actúa como fuente de energía para los microorganismos, regula la estructura del suelo y controla la disponibilidad de nutrientes. El COS es el componente principal de la materia orgánica del suelo y se origina a partir de restos de plantas, exudados radiculares, biomasa microbiana, estiércoles, abonos verdes, entre otros. Además, representa una reserva dinámica que puede permanecer en el suelo durante miles de años (Lefèvre, Rekik, Alcantara, & Wiese, 2017).

Destacan entre sus funciones la mejora de la fertilidad de los suelos, el aumento de la capacidad de retención de agua, el incremento de la formación de agregados estables y el mantenimiento de la biodiversidad edáfica (Lefèvre, Rekik, Alcantara, & Wiese, 2017).

Este carbono también forma parte del ciclo global del carbono incorporándose en el suelo cuando se fija el CO₂ atmosférico a través de la fotosíntesis (entra en el suelo como residuo orgánico), también puede acabar formando parte del suelo en el momento en el que la materia

orgánica se mineraliza liberando CO₂ o CH₄. Las pérdidas son provocadas por acciones como la erosión, la disolución en agua o la respiración. Cabe destacar que el suelo es el segundo reservorio de carbono del planeta después de los océanos, por lo que un adecuado manejo es clave para la seguridad alimentaria y la reducción del cambio climático (Lefèvre, Rekik, Alcantara, & Wiese, 2017).

El COS es un material heterogéneo compuesto principalmente por dos fracciones: el carbono lábil y el carbono estable o recalcitrante. El carbono lábil, también denominado fracción activa, responde rápidamente a los cambios de manejo y es sensible a la mineralización, por lo que tiende a perderse en sistemas intensivos, no obstante, constituye una fuente inmediata de energía para la microbiota. Por otra parte, el carbono recalcitrante o húmico tiene un alto peso molecular, con estructuras complejas y aromáticas que dificultan su descomposición microbiana. Esta fracción es la que más contribuye al secuestro de carbono, a la estabilidad estructural del suelo y, en consecuencia, es la que contribuye a la disminución del cambio climático (Lefèvre, Rekik, Alcantara, & Wiese, 2017.; Burbano-Orjuela, 2018).

El contenido de materia orgánica del suelo está estrechamente vinculado a las condiciones climáticas y ambientales de cada territorio. Por ello, al analizar la variabilidad del carbono en suelos agrícolas, resulta fundamental considerar factores como el clima, el tipo de cultivo y el modelo de gestión aplicado.

En general, los suelos agrícolas contienen menores cantidades de materia orgánica que los suelos forestales. La intensificación agrícola que ha sufrido Europa ha provocado una disminución importante de la cantidad de materia orgánica en los suelos. Según estudios realizados, un porcentaje de un 1% del contenido de carbono en los suelos, podría representar el límite para que la relación entre el suelo y el cultivo quede comprometida, incluso aunque se la aporten las enmiendas minerales pertinentes. Por debajo de este nivel y bajo condiciones desfavorables (como pueden ser climáticas) se podría llegar a la desertificación del territorio (Romanyà et al., 2007).

En el caso de España, los datos muestran que los suelos agrícolas presentan niveles de carbono orgánico particularmente bajos, situándose en muchos casos cerca de los umbrales críticos de degradación. En las zonas de clima semiárido, aunque las pérdidas son menores, la capacidad de recuperación del carbono orgánico (resiliencia) es muy limitada, mientras que en climas húmedos la pérdida inicial es mayor, pero existe una mayor capacidad de recuperación tras el abandono. En el área mediterránea, donde predominan los cultivos de secano, la baja cantidad de carbono orgánico en el horizonte superficial es clave en la sensibilidad frente a la erosión y desertificación, lo que destaca la importancia de conservar e incrementar la materia orgánica del suelo (Romanyà et al., 2007).

1.5 Revisión bibliográfica de resultados

1.5.1 Relación entre manejo agrícola y comunidad microbiana

Como se ha comentado en los apartados anteriores, la comunidad microbiana de los suelos es altamente sensible a las variaciones de manejo que se producen en las explotaciones agrarias. En este sentido, la diversidad microbiana se puede ver amenazada por factores globales como el cambio climático, la agricultura intensiva y las alteraciones en el uso del suelo, cuya incidencia puede comprometer gravemente la capacidad de los suelos para mantener sus funciones, como son la disponibilidad de nutrientes o la resistencia frente a patógenos (Chen et al., 2024).

1.5.2 Efecto del monocultivo

En primer lugar, se tiene en cuenta el tipo de cultivo que se va a elegir en la explotación. La opción seleccionada en las parcelas de este estudio fue un monocultivo de cebada. Si se hace una revisión de artículos sobre los efectos que este puede tener sobre la biología del suelo agrario, en general los resultados son bastante variados.

Según Olsson & Alström (2000), en su estudio comparaba un monocultivo con una rotación, se mostraba efectos diversos. En cuanto a cantidad de microorganismos entre los dos tipos de cultivo, las diferencias no fueron significativas. Igualmente, se observaba una mayor heterogeneidad de las bacterias en la rotación, suceso que no ocurría en las parcelas con monocultivo ya que este incentivaba la presencia de grupos de bacterias específicas. Esto puede a largo plazo provocar problemas en el suelo de diversidad funcional.

En cambio, los resultados del estudio realizado por Marais et al. (2012) no concuerdan. En este estudio se compara un trigo en monocultivo con otro en rotación con leguminosas. Aunque analizaban numerosos factores (humedad del suelo, carbono orgánico, N, azufre, fósforo, cultivos microbianos, etc) la conclusión fue que el efecto principal en la variabilidad de los resultados lo tenía la humedad del suelo y no al tipo de manejo. Si que existían diferencias en la actividad microbiana, pero no significativas entre el monocultivo y la rotación.

De la misma forma, otro estudio realizado en Toledo en el año 2005 de 18 años de duración comparaba un monocultivo de cebada con rotaciones de cebada con veza, girasol o garbanzo. En los resultados relacionados con la bioquímica del suelo no se detectaban diferencias significativas entre monocultivo y rotación en pruebas como la respiración basal/inducida, mineralización de materia orgánica, ni qCO_2^2 . Las tendencias siempre eran algo más favorables en rotación, pero sin significancia estadística (Lacasta & Meco, 2005).

Por otro lado, la revisión bibliográfica de Díaz, Hernández & Cabello (2004) aporta una visión más general para el caso del cultivo de arroz. Los autores señalan que una práctica continua de monocultivo provoca la pérdida progresiva de materia orgánica, una mayor compactación y una disminución generalizada de la actividad biológica del suelo. En contraste, las rotaciones con leguminosas, gramíneas y abonos verdes favorecían la conservación de la fertilidad y promovían una microbiota más activa y diversa, contribuyendo a mantener la salud del suelo a largo plazo.

² qCO_2 (Cociente metabólico): Relación entre la respiración y la biomasa microbiana. Fisiológicamente, este índice describe el sustrato mineralizado por unidad de carbono de biomasa microbiana (Bastida et al., 2008).

En conjunto, según la literatura revisada, el monocultivo reduce la diversidad microbiana y limita la actividad biológica del suelo, favoreciendo pérdidas de carbono y materia orgánica. En cambio, la rotación promueve comunidades microbianas más diversas y activas, contribuyendo a mantener la salud del suelo a largo plazo.

1.5.3 Efecto del laboreo

El tipo de laboreo y tratamiento de la tierra que se selecciona en una explotación agraria tiene efecto sobre la comunidad de microorganismos que habitan allí y son numerosos los estudios que se han desarrollado para comprobar esta hipótesis. En un estudio de larga duración (una década) realizado en Alabama (EEUU), en el cual se comparaba la calidad del suelo entre la labranza convencional y la siembra directa, se concluyó que la siembra directa a lo largo de la década del estudio había mejorado significativamente la calidad del suelo, teniendo valores más altos de contenido de carbono y nitrógeno en superficie, así como más biomasa microbiana (Feng et al. 2003).

De forma similar, en el estudio de Mathew et al., (2012) realizado en un sistema de cultivo continuo de maíz los resultados indicaron que en los suelos donde se había realizado siembra directa presentaba mayores contenidos de carbono orgánico y nitrógeno, así como una mayor biomasa microbiana y actividad enzimática en comparación con la labranza convencional. Este trabajo también determinó que dichos efectos eran más evidentes en los primeros centímetros del suelo (0–5 cm), mientras que a mayor profundidad (5–15 cm) las diferencias entre tratamientos resultaban menos marcadas.

Siguiendo la misma línea, en otro estudio de largo plazo en la región semiárida de Argentina, Abril et al. (2005) señalaron que la siembra directa tenía efecto acumulativo, con incrementos de hasta un 20% en la materia orgánica y en el nitrógeno tras diez años de aplicación. Los autores también destacaron que algunos parámetros como son la biomasa, la actividad microbiana y la concentración de nitratos, mostraron una alta dependencia de las precipitaciones previas al muestreo, reflejando que la influencia del clima puede enmascarar o potenciar los efectos del sistema de laboreo sobre la biología del suelo. Montenegro-Gómez et al. (2022) que compara prácticas agroecológicas como son la rotación y la siembra directa con monocultivo, también concuerda en estos resultados, concluyendo que el monocultivo también reduce la biodiversidad del suelo.

1.5.4 Efecto de la fertilización

Teniendo en cuenta el efecto de la fertilización, se pueden establecer varias comparaciones, por un lado, los efectos de la fertilización con la ausencia de esta, como entre una fertilización mineral y otra orgánica.

En el estudio realizado por Ortiz et al., (2020) se evaluaron los efectos a largo plazo de la fertilización mineral sobre la estructura y funcionalidad de la comunidad microbiana del suelo, teniendo en cuenta dos profundidades. Se registraron en los primeros centímetros incrementos en fosfatasas y glomalinas bajo dosis altas, mientras que la ureasa y el nitrógeno potencialmente mineralizable tenían resultados más altos en dosis de poca o nula fertilización. De forma paralela se observó una reducción de la diversidad en las capas subsuperficiales, lo cual se asoció a la acidificación del suelo. Por otro lado, en una revisión realizada en 2014 sobre 64 ensayos de fertilización de larga duración realizados en distintos sistemas agrícolas del mundo, mostró que

la fertilización mineral incrementa en promedio un 15% la biomasa microbiana (Cmic) y un 13% el carbono orgánico del suelo, aunque los beneficios desaparecen en suelos con un pH menor a 5, donde la biomasa microbiana tiende a reducirse; es decir, el pH se establece como un factor crítico en la respuesta microbiana (Geisseler & Scow, 2014).

Teniendo en cuenta la fertilización orgánica, de forma más reciente, en un ensayo de 29 años con sistemas de rotación trigo-maíz y trigo-soja en la Llanura del Norte de China, Song et al. (2022) observó que la aplicación combinada de fertilización mineral y enmiendas orgánicas (estiércol o paja) incrementó significativamente el carbono orgánico total, el nitrógeno total y la biomasa microbiana. El análisis MicroResp realizado mostró que las enmiendas orgánicas aumentaron la diversidad catabólica microbiana y la capacidad de utilizar distintas fuentes de carbono. De nuevo, se mostró la importancia del pH del suelo como una condicionante clave de la respuesta de la comunidad microbiana a los diferentes manejos de fertilización.

En otro metaanálisis realizado con 94 estudios y 204 observaciones para comparar los efectos de la fertilización orgánica con la fertilización mineral se obtuvieron respuestas muy favorables para las enmiendas orgánicas. En promedio, estas enmiendas incrementaron el carbono orgánico, el nitrógeno total, el nitrógeno disponible y la biomasa microbiana, además de elevar el pH del suelo respecto a la fertilización química. También, aumentaron la actividad enzimática relacionadas con el ciclo del nitrógeno, carbono y fósforo (ej. β -glucosidasa, N-acetilglucosaminidasa, ureasa, fosfatasa, deshidrogenasa). Igualmente, se observó una fuerte dependencia de los resultados de tipo del suelo, el tipo de enmienda (el estiércol fue el que tuvo mayores efectos) el pH inicial y la duración de los ensayos, donde los efectos son más notorios tras los 3-10 años o más de 30 años (Liu et al., 2023).

De forma global, los estudios revisados muestran que la fertilización tiene impacto sobre la comunidad microbiana del suelo y la productividad de los agroecosistemas, aunque la magnitud de dichos efectos depende de factores como el tipo, la dosis aplicada, la fuente de nutrientes empleada y las condiciones edáficas. Entre estos factores, el pH del suelo resulta determinante ya que la aplicación continuada de fertilizantes minerales provoca acidificación y esto puede tener efectos negativos sobre la microbiota. Una solución a este problema son las enmiendas orgánicas o la combinación de fertilización orgánica y mineral que, además de contribuir a mejorar la calidad del suelo, favorecen el incremento del pH y, con ello, una respuesta microbiana más positiva y sostenible.

1.6 Importancia de los estudios de larga duración (ELD)

Los estudios o ensayos de larga duración (ELD) son una herramienta esencial en la investigación agronómica, ya que permiten conocer los efectos acumulativos que tienen diferentes prácticas. Estos estudios facilitan la comprensión de los cambios que se realizan en los suelos y en otros componentes del sistema agrícola (Forjan & Manso, 2014). A diferencia de los experimentos de corta duración, los ELD proporcionan resultados más sólidos respecto a los efectos reales que puede provocar las modificaciones en los manejos agrarios.

El seguimiento prolongado de factores como la fertilidad del suelo, la disponibilidad de nutrientes, la actividad biológica o los rendimientos de los cultivos da información que tiene gran valor científico, difícil de alcanzar con otras metodologías. Además, los ELD actúan como fuentes de datos e información para investigaciones futuras, ya que parcelas con tratamientos mantenidos a lo largo del tiempo forman escenarios adecuados para el estudio de nuevos procesos o tecnologías que puedan surgir con el avance de la ciencia (Forjan & Manso, 2014).

De la misma forma, pueden proporcionar información clave sobre la sostenibilidad y la adaptación de los sistemas agrícolas al cambio climático, ofreciendo datos imposibles de obtener mediante estudios de corta duración (Saito et al., 2023). La característica de larga duración da la posibilidad de analizar procesos lentos como son las variaciones en la salud del suelo u otros sucesos más irregulares o imprevisibles (respuesta ante invasiones de plagas, la acumulación de resistencia de patógenos a los métodos de control o la incidencia de eventos climáticos extremos) (Saito et al., 2023).

Un ejemplo de la importancia de estos estudios es el experimento de larga duración de Askov, iniciado en 1894 en Dinamarca. Este ensayo, que compara distintas dosis de fertilización, ha demostrado ser una continua fuente de información para el estudio de cambios en las propiedades del suelo, la productividad de los cultivos y la dinámica del carbono y del fósforo a lo largo de más de 125 años (Christensen, Thomsen, & Eriksen, 2022). El mantenimiento de registros históricos en dicho estudio ha permitido realizar numerosas investigaciones.

Aunque los ELD requieren importantes inversiones económicas, siguen siendo uno de los métodos de investigación más rentables cuando se evalúan de forma integral. Los avances obtenidos gracias a ellos han permitido mejorar los rendimientos, la calidad de los productos agrícolas y la protección ambiental, contribuyendo a garantizar una producción más eficiente y sostenible. Por ello, organismos y científicos europeos han destacado la necesidad de mantener estos ensayos, promoviendo su utilización y conservación para las siguientes generaciones (Körschens, 2006).

En conjunto, los estudios de larga duración son fundamentales para entender los sistemas agrícolas y su evolución, sobre todo teniendo en cuenta el contexto actual marcado por continuos avances tecnológicos y por una creciente tendencia hacia prácticas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.

1.7 Justificación

En la actualidad, mantener unas buenas condiciones en el suelo de los cultivos es fundamental para el funcionamiento de las explotaciones agrícolas. La “salud del suelo” se puede definir como “la capacidad del suelo para funcionar” y puede medirse a través de diferentes propiedades edáficas y biológicas (Vallejo-Quintero, 2013). Con estas mediciones se puede evaluar el efecto de diferentes manejos agrícolas en la salud del suelo con el fin de conseguir sistemas agrícolas más sostenibles. En particular, la actividad microbiológica ha despertado gran interés debido a su influencia en la mineralización de la materia orgánica del suelo, siendo clave su función en el ciclo del C y del N.

Algunas prácticas de manejo como el laboreo, que implica la preparación del suelo previo a la siembra, han sido utilizado durante décadas. Sin embargo, la adopción de técnicas alternativas como la siembra directa han ido en aumento a nivel mundial (Duval et al., 2015). Esta técnica, que implica una mínima perturbación del suelo, puede generar cambios significativos en la descomposición de los residuos postcosecha y en la retención de carbono en el suelo, procesos regulados en gran medida por los microorganismos (Abril et al., 2005).

De igual forma, las distintas técnicas de fertilización tienen efectos sobre los rendimientos del cultivo, pero también sobre las propiedades físico, químicas y biológicas del suelo. Aunque siempre ha sido una práctica habitual en cada campaña, es importante evaluar cómo diferentes tipos de fertilización puede repercutir sobre la actividad de los microorganismos, debido a las modificaciones que genera en sus condiciones fisicoquímicas (Ortiz et al., 2020).

Con este estudio, se pretende mejorar los sistemas agrarios a partir de la mejora de la calidad del suelo y hacerlos menos dependientes de la fertilización. De esta misma manera, se dará una perspectiva sobre la degradación de los suelos agrícolas en los sistemas extensivos del mediterráneo.

Esta investigación adopta una perspectiva novedosa en el ámbito de la agronomía ya que se centra en la biología del suelo como elemento principal de análisis, en lugar de priorizar el estudio del cultivo y su rendimiento, que han recibido tradicionalmente una mayor atención.

El proyecto está enmarcado dentro de la Agenda 2030 de la ONU y cumple con los siguientes Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS):

1. ODS 12: Producción y consumo responsables

Este objetivo pretende garantizar modalidades tanto de consumo como de producción sostenible con la intención de mantener los medios de subsistencia para las generaciones futuras. Evaluando diferentes aspectos del suelo se permite orientar su gestión agrícola hacia prácticas menos contaminantes y más sostenibles, basándolo en datos científicos. Además, se contribuye a la generación de conocimiento aplicado sobre la salud del suelo y su vínculo con las prácticas de manejo agrícola, fomentando una mayor conciencia sobre la importancia de conservar la calidad biológica del suelo como recurso vital y no renovable.

Dentro de las metas de este objetivo, el proyecto está relacionado con:

- Meta 12.1 “Lograr la gestión sostenible y el uso eficiente de los recursos naturales”.

- Meta 12.8:” Asegurar que las personas de todo el mundo tengan la información y los conocimientos pertinentes para el desarrollo sostenible y los estilos de vida en armonía con la naturaleza”

2. ODS 15: Vida de ecosistemas terrestres.

Con este objetivo se pretende proteger y restablecer los ecosistemas terrestres gestionar sosteniblemente los bosques, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras, y detener la pérdida de biodiversidad. De esta forma, el análisis del estado biológico y químico del suelo apoya la conservación y restauración de ecosistemas terrestres, promoviendo su uso sostenible y la prevención de la degradación del suelo. El proyecto se alinea con las siguientes metas:

- Meta 15.3 “luchar contra la desertificación, rehabilitar las tierras y los suelos degradados, incluidas las tierras afectadas por la desertificación, la sequía y las inundaciones, y procurar lograr un mundo con una degradación neutra del suelo”.
- Meta 15.5: “Adoptar medidas urgentes y significativas para reducir la degradación de los hábitats naturales, detener la pérdida de la diversidad biológica y, para 2020, proteger las especies amenazadas y evitar su extinción”

2. Objetivos

Este trabajo de fin de grado busca evaluar el impacto de diferentes estrategias de manejo agrícola, sobre las propiedades biológicas del suelo y su capacidad para contribuir al secuestro de carbono. La estrategia seguida será evaluar el impacto de diferentes tipos de fertilización (orgánica y mineral) y métodos de laboreo (convencional y siembra directa) en la actividad microbiológica en la capa superficial del suelo (0-5) y a una profundidad (5-20) en un sistema de cebada (*Hordeum vulgare*).

Los objetivos generales se alcanzarán siguiendo los objetivos específicos enumerados a continuación:

- 1- Caracterización del efecto de diferentes tipos de fertilización y laboreo en el perfil fisiológico de los microorganismos del suelo.
- 2- Determinación del efecto de diferentes tipos de fertilización y laboreo en la actividad enzimática en cada tipo de tratamiento.
- 3- Cuantificación del carbono lábil (materia orgánica activa a diferentes profundidades bajo diferentes aplicaciones de fertilización y laboreo).

3. Material y métodos

3.1 Área de estudio

El material de estudio usado en este trabajo proviene de un sistema de cultivo ubicado en Senés de Alcubierre, municipio de la comarca de Los Monegros, en la provincia de Huesca (NE Spain, 41° 54' 12" N, 0° 30' 15" W). Este municipio se encuentra al norte de la sierra de Alcubierre al sur de la provincia de Huesca, cuenta con una altitud de 390 ms.n.m.(Figura 5).

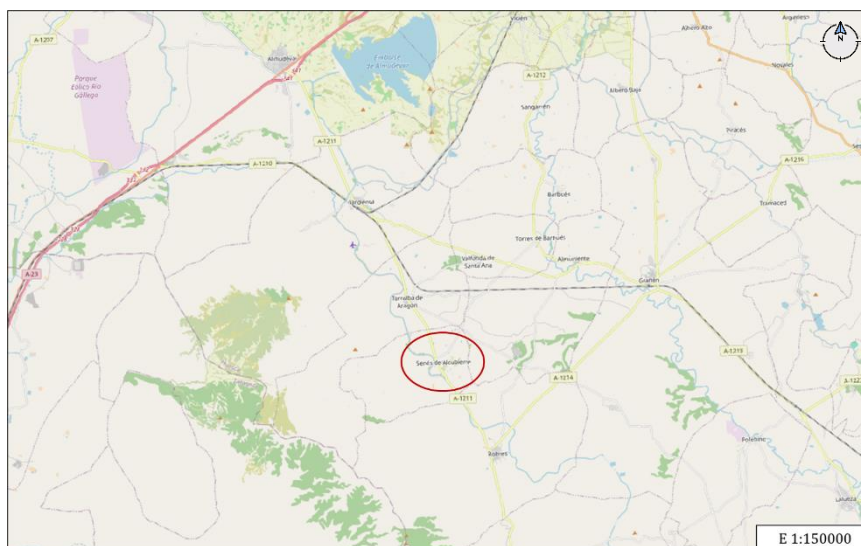


Figura 5: Localización de Senés de Alcubierre.

En la tabla 1 se recogen los datos de precipitaciones y de temperaturas desde el año 2010 hasta el 2024 en la estación meteorológica más cercana al municipio (*Estación meteorológica de Lanaja- AEMET*). El clima es mediterráneo continental templado.

Tabla 1: Datos climáticos estación meteorológica Lanaja de 2010 a 2024 (*Estación meteorológica de Lanaja- AEMET*)

Año	Precipitación (mm.)	Temperatura máxima absoluta (°C)	Temperatura mínima absoluta (°C)	Temperatura media de las medias (°C)
2019	18.6	27.8	4.1	15.14166667
2020	29.1	26.9	4.1	15.25
2021	25.4	25.5	3.9	13.95454545
2022	25.4	26.7	4.5	15.45454545
2023	19.5	28.2	4.8	16.1
2024	39.7	27.4	4.7	15.525

Se puede observar cómo en el año 2024, año en el que se realizó el muestreo, las precipitaciones son las mayores de todo el registro anual. En la figura 6 se muestra el registro mensual de los tres factores mostrados en la tabla únicamente del año 2024.

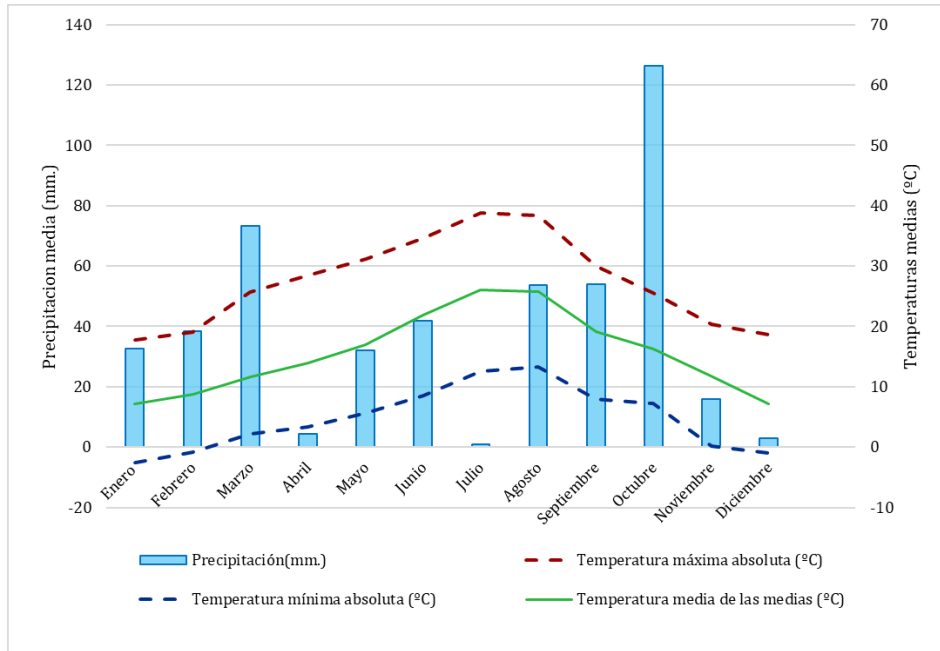


Figura 6: Evolución mensual de la precipitación media y de las temperaturas (máxima, mínima y media) registradas durante el año 2024 (Estación meteorológica de Lanaja- AEMET).

3.1.1 Geología del suelo

La geología del suelo de la zona de estudio se representa en el mapa (Figura 7), en el cual predominan las unidades 164 y, principalmente, la 173. Estos números, según la leyenda del mapa obtenido del Instituto geológico y minero de España corresponden, respectivamente, a “conglomerados, areniscas, lutitas, calizas y yesos” y “conglomerados, gravas, arenas, lutitas, margas, calcerenitas, calizas travertínicas y tobas” (Instituto Geológico y Minero de España, 2015).

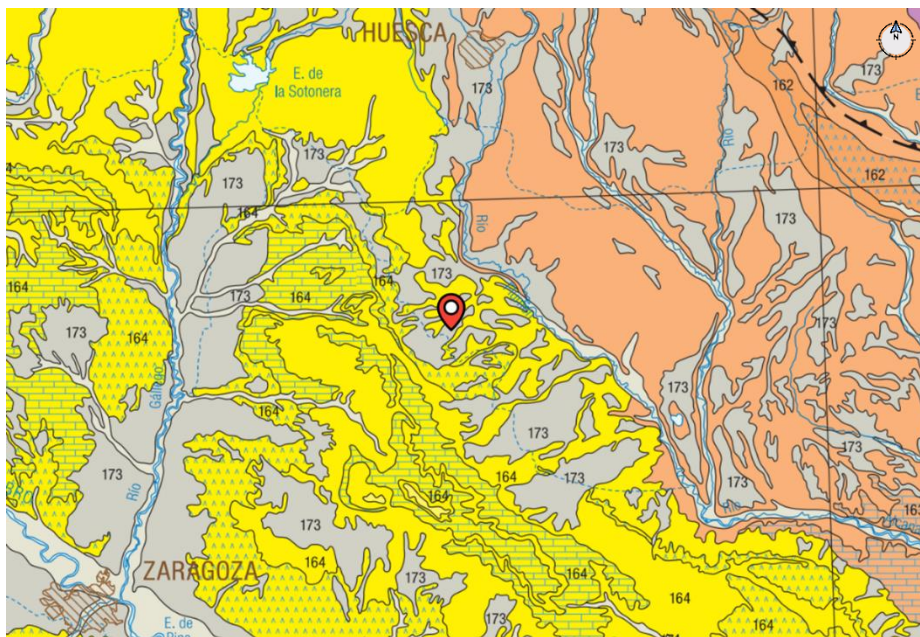


Figura 7: Localización de Senes de Alcubierre en mapa geológico de España, la escala de este mapa es 1:1.000.000 (Instituto Geológico y Minero de España, 2015)

3.2 Diseño experimental

En 2010 se estableció un experimento de larga duración con el fin de estudiar el efecto de diferentes tipos de laboreo, tipos de fertilización y dosis de fertilización en un sistema de monocultivo de cebada (*Hordeum vulgare* L., cv. Meseta) bajo condiciones de secano. En este proyecto se tendrá en cuenta los resultados como conjunto de los diferentes procesos sucedidos desde dicho año hasta la recogida de las muestras el 18 de noviembre del 2024.

El diseño experimental, establecido en 2010, se basó en un sistema de bloques aleatorizados con tres repeticiones en las cuales se combinan dos prácticas de laboreo (laboreo convencional y siembra directa), dos tipos de fertilización nitrogenada (mineral y orgánica) y tres dosis de fertilización. Los tratamientos se basaban en:

- Laboreo (CT): Una pasada con arado de discos (15 cm de profundidad) seguida de un cultivador.
- Siembra directa (NT): Una sembradora de siembra directa equipada con discos abridores de surcos ajustados a una profundidad de 2-4 cm.
- Tipo de fertilización:
 - o Nitrógeno mineral: Se realizó con sulfato de amonio (21% N) y nitrato de amonio (33.5% N).
 - o Nitrógeno orgánico: Consistió en la aplicación de purín de cerdos de engorde de una explotación comercial cercana. La aplicación se llevó a cabo mediante un tanque de vacío comercial equipado con una placa de distribución.
- Dosis de fertilización:
 - o Sin fertilización.
 - o 75 kg de N por hectárea.
 - o 150 kg de N por hectárea

En este proyecto solamente se tendrá en cuenta la dosis de fertilización de 75Kg N/ha y se excluirá del estudio las aplicaciones de 150kg N/ha debido a que no son frecuentemente utilizadas por los agricultores locales.

En resumen, esta investigación muestra el efecto de dos tipos de laboreo (convencional y siembra directa), dos tipos de fertilización (mineral y orgánico) y dos dosis de fertilización (0 y 75 kgN/ha) con tres repeticiones por tratamiento distribuidos en tres bloques. La combinación de estos tratamientos da un total de 18 parcelas. Las parcelas con fertilización orgánica presentan unas dimensiones de 480 m² (40x12m), en cambio las parcelas con fertilización mineral 240 m² (40x6m). La figura 8 muestra una foto aérea de la zona experimental con un diagrama del diseño experimental.

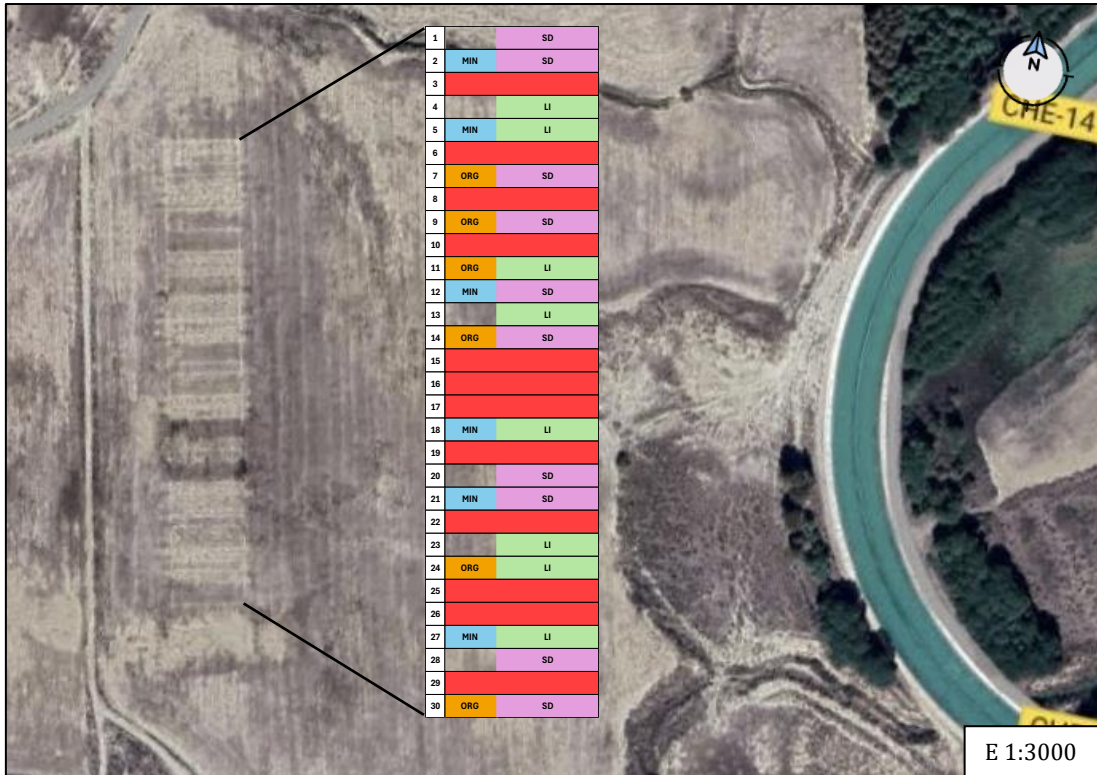


Figura 8: Localización y disposición de las parcelas experimentales: imagen satelital y esquema explicativo.

3.3 Muestreo del suelo

Para el muestreo en campo se prepararon 36 bolsas de plástico duro, etiquetadas con el nombre del tratamiento y la profundidad correspondiente. A continuación, se llevó a cabo el muestreo a dos profundidades: 0–5 cm y 5–20 cm. En cada parcela seleccionada, se tomó una muestra compuesta de aproximadamente 10 puntos. Se garantizó la recolección de suficiente muestra, alrededor de 1,5 kg, para permitir la extracción de todas las submuestras necesarias. Para ambas profundidades, las muestras se obtuvieron con una barrena de suelos.

Posteriormente, las muestras fueron transportadas en neveras para su correcta conservación. En el laboratorio, se tamizaron las muestras lavándose los tamices entre cada una, evitando contaminación cruzada de microorganismos.

Finalmente, se registró cada una de las muestras con el código correspondiente al grupo de Manejo del Suelo y Cambio Global para el correcto almacenamiento y tratamiento posterior.

3.4 Análisis químicos y biológicos del suelo

3.4.1 Perfil fisiológico de la comunidad de microorganismo (MicroResp™)

La comunidad microbiana del suelo es un componente vivo esencial y su actividad está relacionada directamente con el grado de salud de este (Chapman et al., 2007). Esta comunidad tiene verdadera importancia en la inmovilización y mineralización de nutrientes, como en la estabilización y descomposición de la materia orgánica (ONICA et al., 2018).

Conocer el perfil fisiológico de la comunidad de microorganismos es importante debido a que es un gran indicador de la salud del suelo. Estos microorganismos son reguladores de la productividad, de la interacción dentro de la comunidad microbiana y de la diversidad de las plantas (Ruiz et al., 2019). Muchos factores como la fertilización, los tipos de cultivos y el manejo utilizado pueden afectar a esta comunidad y su medición pueden dar una perspectiva de su eficiencia a la hora de metabolizar diferentes compuestos de carbono orgánicos.

En este estudio se utilizó el método de la respiración inducida por múltiples sustratos (MicroResp™), para caracterizar el perfil fisiológico de la comunidad de microorganismos. Esta técnica consiste en la aplicación de diferentes sustratos de carbono de diferente complejidad a las muestras de suelo para conocer el perfil catabólico de la comunidad de microorganismos. Esta técnica da información sobre la biomasa microbiana, la respiración basal del suelo, la eficiencia para degradar diferentes compuestos de carbono y la diversidad funcional de los microorganismos del suelo.

Este proceso se realiza mediante la incubación de las muestras con los sustratos y la posterior determinación colorimétrica en un espectrofotómetro de placas contienen un gel con una disolución indicadora, variando su color en base al pH.

Protocolo

En la figura 11 se muestra de forma esquemática el protocolo seguido para la realización del ensayo MicroResp™. A continuación, se describen detalladamente cada una de las etapas del procedimiento:

1º Llenado de placas: Las placas contienen 96 pocillos, los cuales se dividirán en tres grupos, permitiendo que en cada placa se analicen 3 muestras diferentes. Se distribuyen en la placa como muestra la figura 9. Tras el llenado y rotulado de todas las placas se incuban 5 días a 25°.

2º Preparación de las placas de detección: Las placas de detección tienen el mismo número de pocillos (aunque de una profundidad menor) y la misma distribución que las placas con las muestras de suelo, coincidiendo así para el posterior análisis. Se llenan con una disolución compuesta de agar y una solución indicadora la cual dará el color rosa que muestra el esquema, en este paso es muy importante que no se cree ninguna burbuja en los pocillos porque provocaría fallos en la medición. Se dejan secar durante 48h y se mantienen cubiertos de Parafilm 2 o 3 días más.

3º Adición de sustratos: Tras la incubación de las placas con las muestras de suelo, se añaden las fuentes de carbono, que son 8 sustratos diferentes. Cada uno de ellos se le añade a cada una de las muestras que hay en la placa, quedando 4 repeticiones de sustrato por muestra (figura

9). Tras la adición de todos los sustratos a todas las muestras de la placa con la organización seguida en la figura 9, se incuba la placa durante 15 minutos.

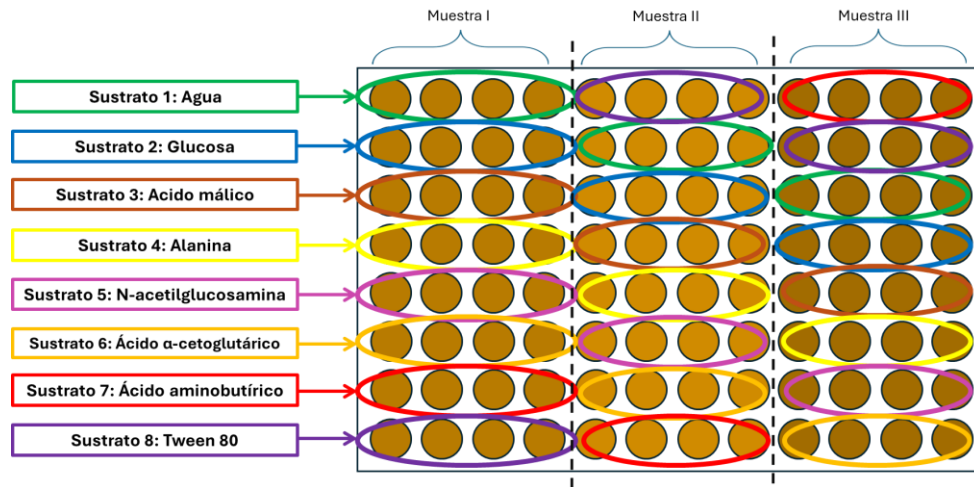


Figura 9: Distribución de los ocho sustratos en la placa del ensayo MicroResp™. Cada muestra de suelo incluye cuatro repeticiones por sustrato.

4º Montaje: Para que las placas de detección reaccionen adecuadamente, es necesario que estén en contacto directo con los gases emitidos por las muestras de suelo como consecuencia de la adición de los sustratos. Con este objetivo, la placa que contiene las muestras debe colocarse alineada con la placa de detección, de manera que los pocillos de ambas coincidan. Entre ambas se interpone el denominado “sellado azul”, que es una junta de silicona con orificios de interconexión, cuya función es asegurar la correcta unión y evitar desplazamientos durante la incubación. Para finalizar, se introduce en una caja metálica que asegura la ausencia de movimiento de todos los componentes (Figura10). Una vez montado el sistema, se deja incubar nuevamente durante 6 horas a 25 °C.

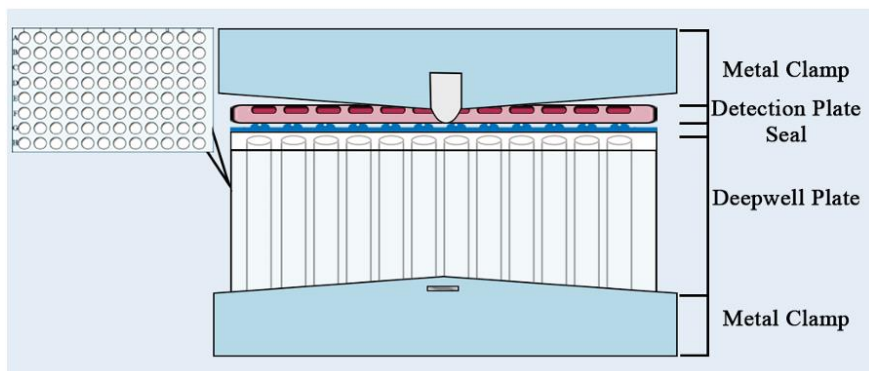


Figura 10: Componentes del sistema MicroResp™ (Onica et al., 2018).

5º Medición: Transcurrido este tiempo, las placas se separan y únicamente se mide la placa de detección, la cual, debido a la solución indicadora que contiene en el gel, habrá cambiado de color en función del pH alcanzado. Este cambio es la base de los resultados obtenidos, que posteriormente serán analizados e interpretados.

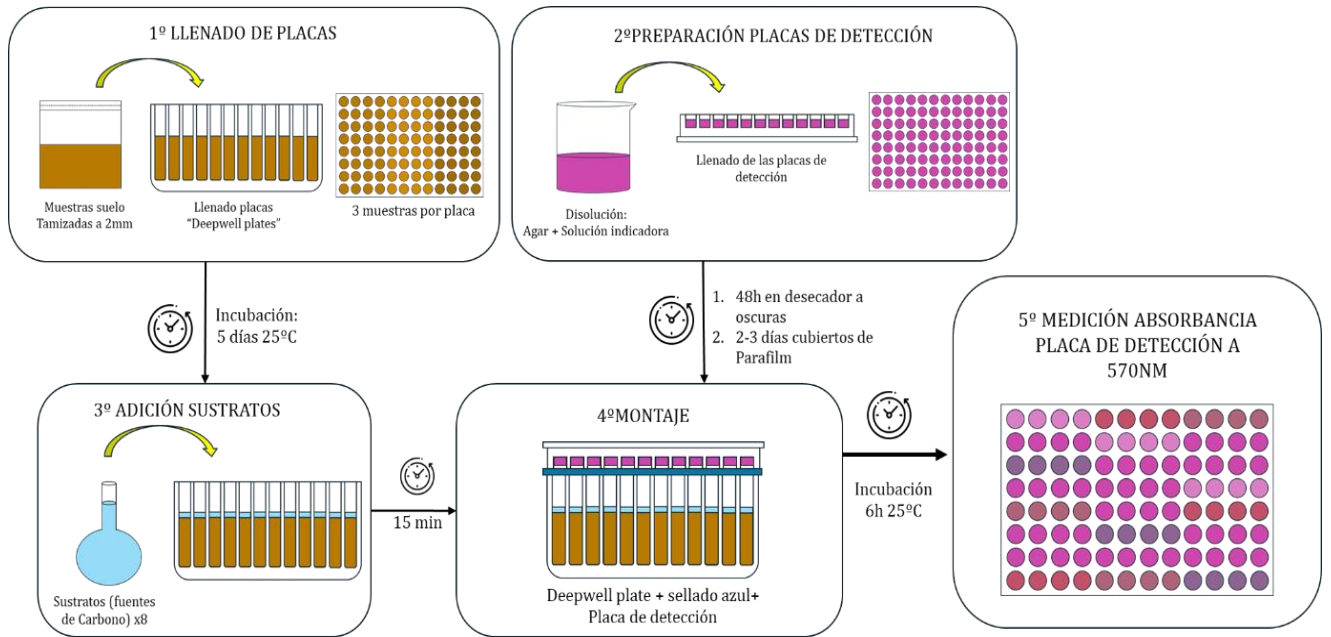


Figura 11: Esquema del protocolo Microresp™

3.4.2 Actividad enzimática

Las enzimas son un tipo de proteínas que actúan catalizando diferentes reacciones bioquímicas. Cuando se habla de la actividad enzimática en el suelo, se tiene en cuenta que es esencial para diferentes sucesos que ocurren, sobre todo en el ciclo del nitrógeno (N), fósforo (P) y carbono (C); como pueden ser la mineralización, la inmovilización de nutriente y la fijación biológica de nitrógeno (Henríquez et al., 2014). Queda así establecido que son unos grandes indicadores de la vitalidad del suelo (Valbuena Mora, 2019).

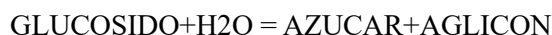
Por todo ello, en el presente estudio se ha realizado la medición de 6 enzimas, con la intención de analizar la variación de su actividad en los diferentes suelos que se analizan y en relación con los ciclos de C y del N. Las enzimas que participan en el ciclo de carbono son: β -glucosidasa y polifenol oxidasa, las enzimas que participan en el ciclo del N son: ureasa y proteasa. Las enzimas que participan en ambos ciclos son la deshidrogenasa y la β -glucosaminidasa.

Algunas características de estas se especifican a continuación.

- **Implicadas en el ciclo del Carbono**

o β -Glucosidasa

Enzima que pertenece al grupo de las glicosidasas las cuales se clasifican según el grupo que hidrolizan. Esta en particular cataliza la hidrólisis de beta-D-glucopiranosidos, cuya reacción general es la siguiente:



Esta enzima es la más importante tanto de las glicosidasas como de las galactosidasas. Interviene en el proceso final de degradación de la celulosa ya que descompone los derivados de bajo peso molecular acumulados en el suelo liberando glucosa, es decir contribuye a la degradación de la materia orgánica vegetal. Su actividad está normalmente relacionada con el contenido de carbono orgánico en el suelo y su origen se atribuye a la presencia de bacterias hongos y plantas.

Existen varios métodos para la identificación de la actividad a través de esta enzima, pero todos tienen en común el uso del mismo sustrato beta-fenilglucosido (García, 2003).

o Polifenol Oxidasa

Dentro del grupo de enzimas establecido, esta es una de la menos explorada, aunque está involucrada en procesos como la ontogenia, mecanismos de defensa y la adquisición de carbono y nitrógeno.

Estas enzimas, igualmente, tienen un papel importante en el ecosistema mediando funciones como la degradación de la lignina, la humificación, la mineralización del carbono y la exportación de carbono orgánico disuelto (Sinsabaugh, 2009).

Por todo esto es indicadora de los procesos de humificación y descomposición lenta de la materia orgánica. Su origen se encuentra en hongos bacterias y plantas.

- **Implicadas en el ciclo del Nitrógeno:**

o Ureasa

La ureasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de la urea a amonio y dióxido de carbono en una reacción basada en la formación de carbonato como intermediario.



Está ampliamente distribuida en la naturaleza, en microorganismos, células animales y vegetales. Se sabe que esta enzima está principalmente en micro unidades estructurales con un diámetro menor a 50µm. Las fracciones de ácidos húmicos del suelo son muy importantes en la estabilidad y actividad de la enzima ureasa.

La actividad de esta enzima es una de las más estudiadas debido a la relación que tiene con el ciclo del nitrógeno facilitando la disponibilidad de este para las plantas y por el amplio uso que se ha dado a la urea como fertilizante en agricultura. Su origen principalmente se atribuye a microorganismos, raíces y residuos vegetales. Sirve como indicadores de la actividad microbiana relacionada con la mineralización del nitrógeno.

Numerosos estudios identifican la variedad en ureasa dependiendo del tipo de uso del suelo como uso de cubiertas vegetales, tipo de cultivos, utilización de pesticidas o fertilizantes etc (García, 2003). Por ello, parece que lo que afecta a la actividad de esta enzima no es la cantidad de materia orgánica sino el tipo de esta, aumentando su actividad con el tamaño de las fracciones tipo arcilla.

o Proteasa

La actividad de esta enzima es la responsable de la descomposición progresiva del nitrógeno contenido en las proteínas a nitrógeno peptídico y finalmente al nitrógeno de aminoácidos. Las enzimas del suelo catalizadoras de estos procesos provienen de los microorganismos, residuos vegetales y de su fauna contenidos en el suelo y su acción consiste siempre en la hidrólisis del enlace peptídico. (Rivas et al., 2009).

Se puede decir que la actividad de esta enzima es un indicador de la capacidad del suelo para reciclar proteínas y mantener el suministro de nitrógeno. Principalmente, proviene de microorganismos y residuos orgánicos.

- **Implicadas en ambos ciclos:**

o N-acetyl-b-D-glucosaminidasa

Esta enzima también es del grupo de las glicosidasas como la anterior. Tiene bastante importancia debido a que participa en la descomposición de compuestos orgánicos complejos.

La actividad de esta enzima es indicadora de la actividad microbiana sobre todo de suelos con alta cantidad de quitina, como ocurre por ejemplo en suelos forestales. Además, juega un importante papel en los ciclos del carbono y del nitrógeno (Parham & Deng, 2000). Procede principalmente de bacterias y hongos.

○ Deshidrogenasa

La oxidación microbiana de sustancias orgánicas bajo condiciones aeróbicas está ligada a una cadena de transporte de electrones, acoplada a la síntesis de ATP, que se conoce como fosforilación oxidativa. En la ruta principal de transporte electrónico participan 4 enzimas de oxido-reducción, entre ellas se encuentran dos tipos de deshidrogenasas. Ambas tienen un papel bastante importante en las etapas iniciales de oxidación de la materia orgánica.

Por ello, la medición de su actividad es útil, ya que es un indicador del sistema redox microbiano del mismo, siendo así una gran indicadora de la actividad microbiana total. Se podría decir que la actividad de esta enzima tiene una buena relación entre la actividad y la respiración del suelo (García, 2003). Tiene su origen únicamente en células microbiana viables, debido a que es una enzima intracelular.

Protocolo

El protocolo seguido para análisis de forma general se especifica en la figura 11. Para cada una de las enzimas se utiliza un sustrato encargado de activar los procesos enzimáticos, estos son:

- Ureasa: Urea
- β -glucosidasa: p -nitrofenil- β -D-glucopiranosido (0.025M)
- Deshidrogenasa: 2- p -iodofenil-3- p -nitrofenil-5-feniltetrazolio (0.5%)
- Proteasa: N-Benzoil-L-Arginina amida (0.03M)
- Polifenol oxidasa: Pirogallol 50 mM.
- β -glucosaminidasa: p -nitrofenil-N-acetyl- β -D-glucosaminide (10mM)

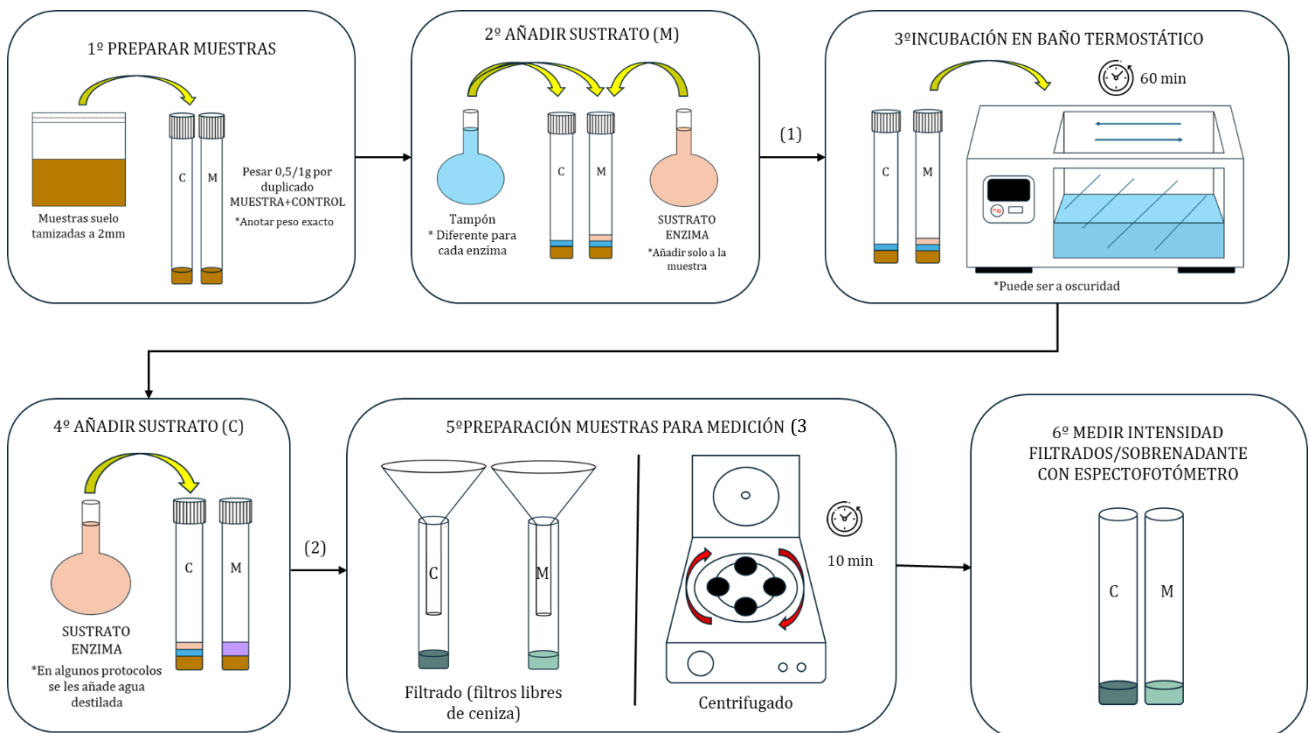


Figura 12: Protocolo general actividad enzimática. (1) En algunos casos hay una agitación en noria intermedia; (2) En algunos casos se incuba en oscuridad para que se produzca la reacción colorimétrica; (3) Se realiza filtrado o centrifugación, si las muestras no salen limpias, se realizan ambas.

Cálculos

Para transformar los datos obtenidos por espectrofotometría a concentración de la enzima en $\mu\text{moles/gh}$, se realiza siguiendo tres pasos:

1. Con una recta de calibrado que relaciona la absorbancia de las muestras con la ppm del extracto, se calculan la ppm de las muestras.

Formula general de la recta

$$y = ax + b$$

- y: Absorbancia (nm)
- a: pendiente
- x: mg L^{-1} del extracto, según la recta de calibrado.
- b: ordenada en el origen.

Fórmula general calculo ppm:

$$x = \frac{y - b}{a}$$

2. Con una formula específica para cada extracto se calculan los $\mu\text{moles/gh}$ de la muestra analizado

Fórmula general:

$$\frac{\mu\text{moles de extracto}}{\text{gh}} = \frac{M * V * fd}{P * t * Pm}$$

- M: mg del producto de reacción del extracto, según la recta de calibración.
- V: Volumen añadido de sustrato (mL)
- Fd: factor de dilución (solo si es necesario)
- P: Peso de la muestra del suelo seco(g)
- T: tiempo de incubación
- Pm: peso molecular del extracto

3. Para el dato obtenido en cada muestra se restará el obtenido en los controles, resultando así el dato final en $\mu\text{moles del extracto/gh}$.

3.4.3 Carbono oxidable por permanganato (POXC)

El carbono oxidable por permanganato es otro gran indicador en la agricultura de la salud del suelo, además se ha comprobado que es sensible a las variaciones de sus manejos. Principalmente, es capaz de medir el carbono lábil, es decir la fracción de carbono orgánico que es más fácilmente degradable por los microorganismos. Este carbono es inestable y es de rápida renovación (Chambers et al., 2024), además está demostrado que está íntimamente relacionado con la mayoría de los indicadores de la actividad microbiana del suelo (Duval et al., 2018).

Este proyecto realizará la medición del POXC en cada uno de los suelos de las diferentes parcelas, resultando así 36 muestras (2 profundidades para cada parcela).

Protocolo

La medición de la POXC se realiza por el cambio de color que ocurre en las muestras por el KMnO_4 , que es un agente oxidante fuerte con un color púrpura intenso. Este agente oxidante reacciona con el COS haciendo que el carbono se oxide y el manganeso se reduzca. Con esta reacción el color de las muestras va disminuyendo su color rosa intenso de forma proporcional al COS oxidado. Este protocolo se realizó con las muestras previamente secadas (Chambers et al., 2024).

Cálculos

Los resultados que se obtienen tras este ensayo son de absorbancia, los cuales se quieren transformar a cantidad de carbono lábil que presenta la muestra. Se tiene en cuenta que se calcula el carbono lábil en función de la cantidad de permanganato reducido. Por tanto, valores altos de POXC coincidirán con valores bajos de absorbancia.

La fórmula usada para la transformación es la siguiente:

$$POXC \left(\frac{mg}{kg \text{ sol}} \right) = \left[\frac{0.02 mol}{l} - (a + b * absorbancia) \right] * \left(\frac{9000 mg C}{mol} \right) * \left(\frac{0.02 L \text{ solución}}{Wt} \right)$$

- 0.02mol/L: concentración inicial de KMnO_4 .
- a y b: ordenada en el origen(a) y pendiente(b) de la recta de calibrado. Esta recta de calibrado sigue el mismo modelo que el explicado en el apartado anterior para las enzimas.
- 9000mg C/mol.
- 0.02L solución: volumen añadido de la disolución de permanganato.
- Wt: peso seco de la muestra en gramos.

3.4.4 Análisis estadístico

En primer lugar, se realiza el test de Shapiro-Wilk con el fin de verificar la normalidad en la distribución estadística de los datos obtenidos para cada una de las variables medidas. Si los resultados indican que los datos siguen una distribución normal, se procede a realizar un análisis de varianza (ANOVA) de tres factores para determinar la existencia de diferencias significativas entre los grupos. En los casos en los que los datos no se ajustaron a una distribución normal, se aplicaron transformaciones estadísticas (inverso de los valores, logaritmo en base 10 y raíz cuadrada) con el fin de aproximarlos a la normalidad y, posteriormente, se efectuó el ANOVA.

Estas pruebas permitirán verificar la existencia de diferencias significativas entre las variables analizadas. En caso de encontrar diferencias significativas, se realiza una comparación de medias utilizando el post hoc test de Tukey ($p < 0,05$), lo que permitirá identificar las diferencias específicas entre los grupos comparados por pares.

Los datos obtenidos de los diferentes ensayos se recogen en el software de Microsoft Excel versión 2506 para Microsoft Office 365 y se realizaron los correspondientes análisis estadísticos con el programa Jamovi versión 2.6.26.

4. Resultados y discusión

En este apartado se describen los resultados obtenidos a partir de los distintos análisis realizados durante el estudio. Como se ha comentado en el apartado anterior, los datos se han tratado con análisis de la varianza de tres factores (ANOVA). Posteriormente, en aquellos casos en los que se detectaron diferencias estadísticamente significativas, se aplicó un análisis post-hoc, el test de Tukey, que permite identificar de manera precisa entre qué grupos se producen dichas diferencias.

Para facilitar la interpretación, los resultados se presentan en función de cada una de las pruebas realizadas, lo que permite observar de manera más clara el efecto de cada tratamiento y la condición experimental. En las diferentes secciones se muestran los resultados que presentan diferencias significativas.

4.1 Actividad enzimática

En primer lugar, se presenta la tabla 1 que plasma todos los datos resultantes de las ANOVA realizadas para evaluar el efecto de los tratamientos en cada una de las actividades enzimáticas. Se pretende dar una perspectiva global de los resultados y de las diferentes respuestas que tienen cada enzima a los diferentes tratamientos.

Tabla 2: Resultados analisis estadístico ANOVA enzimas en función de la profundidad, el tipo de fertilización y laboreo (GL: grados de libertad, p valor significativo <0.05)

I)

	UREASA			PROTEASA		
	GL	F	P	GL	F	P
Profundidad (cm)	1	2.49	0.13	1	23.02	<.001
Tipo Fert	2	4.26	0.03	2	6.36	0.006
Laboreo	1	3.21	0.088	1	0.88	0.36
Profundidad (cm) * Tipo Fert	2	0.47	0.63	2	3.33	0.05
Profundidad (cm) * Laboreo	1	4.96	0.037	1	4.79	0.039
Tipo Fert * Laboreo	2	0.60	0.56	2	3.10	0.0630
Profundidad (cm) * Tipo Fert * Laboreo	2	0.32	0.73	2	1.66	0.212

II)

	GLUCOSIDASA			PF		
	GL	F	P	GL	F	P
Profundidad (cm)	1	31	<.001	1	12.28	0.28
Tipo Fert	2	14	<.001	2	0.57	0.57
Laboreo	1	0.242	0.627	1	34.11	0.0770
Profundidad (cm) * Tipo Fert		5	0.019	2	0.41	0.67
Profundidad (cm) * Laboreo	1	1	0.299	1	0.02	0.88
Tipo Fert * Laboreo	2	3	0.062	2	70.86	0.004
Profundidad (cm) * Tipo Fert * Laboreo	2	3	0.066	2	12.20	0.31

III)

	GLUCOSAMINIDASA			DESHIDROGENASA		
	GL	F	P	GL	F	P
Profundidad (cm)	1	14.42	<.001	1	40.4080	<.001
Tipo Fert	2	4.96	0.0160	2	5.2680	0.0110
Laboreo	1	0.94	0.34	1	0.7262	0.4030
Profundidad (cm) * Tipo Fert	2	5.70	0.009	2	0.0392	0.9620
Profundidad (cm) * Laboreo	1	0.93	0.35	1	1.6076	0.2170
Tipo Fert * Laboreo	2	2.05	0.15	2	0.0208	0.9790
Profundidad (cm) * Tipo Fert * Laboreo	2	0.30	0.74	2	0.5597	0.5790

Nota: I)Enzimas implicadas en el ciclo del nitrógeno; II) Enzimas implicadas en el ciclo del carbono; III)Enzimas implicadas en ambos ciclos.

4.1.1 Enzimas implicadas en el ciclo del nitrógeno

1. Ureasa

Al realizar el análisis post-hoc para la actividad de la enzima ureasa, la interacción entre el tipo de fertilización y el laboreo muestra diferencias significativas (tabla 1). La fertilización mineral con laboreo intensivo (MIN-LI) muestra menor actividad enzimática de la ureasa que la fertilización orgánica en siembra directa (ORG-SD) (Fig.12). Como muestra la figura 13, los valores más altos de actividad de ureasa se registran en los dos tipos de laboreo cuando se aplica fertilización orgánica (ORG). Además, en todos los tipos de fertilización (MIN, NO, ORG), existe una tendencia a que la actividad de ureasa sea mayor bajo el sistema de siembra directa (SD).

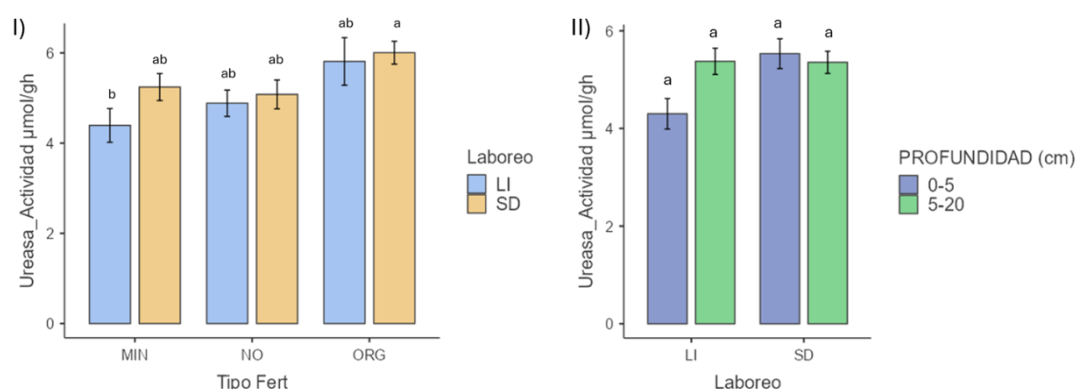


Figura 13: Actividad de la ureasa. I) Interacción entre el tipo de fertilización y laboreo de la parcela;
II) Interacción entre el tipo de laboreo y la profundidad en la parcela.

Estos resultados son coherentes con el papel de la ureasa en la mineralización del nitrógeno. La enzima se origina principalmente de microorganismos del suelo, raíces y residuos vegetales, los cuales se conservan en mayor medida en suelos no labrados. La siembra directa, al no remover el suelo y dejar los residuos en la superficie, crea un ambiente más favorable para la actividad microbiana y, en concordancia, para la producción de ureasa.

Esta tendencia se observa también en el gráfico que muestra la interacción entre el tipo de laboreo y la profundidad. Aunque las diferencias no son significativas, la distribución de la ureasa es más homogénea en el suelo con siembra directa (SD). Por el contrario, el suelo con laboreo intensivo (LI) presenta una tendencia menor actividad de ureasa en los primeros 5 cm de profundidad (0-5), podría ser por la mezcla de los residuos orgánicos superficiales que se realiza con este tratamiento.

2. Proteasa

La proteasa es otra enzima clave en la mineralización del nitrógeno, sobre todo del nitrógeno orgánico. Al igual que la ureasa, su origen principal está en los microorganismos del suelo y en los residuos orgánicos.

Los gráficos muestran la influencia de la profundidad en la actividad de la proteasa, tanto en función del tipo de laboreo como del tipo de fertilización. En ambos casos, se observa una mayor actividad de la enzima en la capa superficial del suelo (0-5 cm), lo cual es previsible, ya que es en esta zona donde se concentra la mayor cantidad de residuos vegetales.

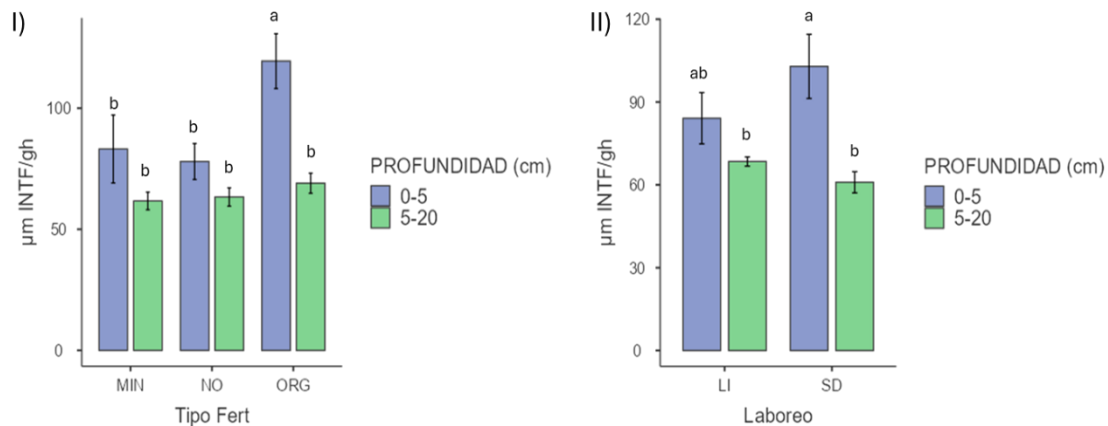


Figura 14: Actividad de la proteasa.

I) Interacción entre tipo de fertilización y profundidad de la parcela;

II) Interacción entre tipo de laboreo y profundidad en la parcela.

Comparando los tipos de laboreo, se aprecia que la siembra directa (SD) presenta la mayor actividad de proteasa en la capa superficial, lo que concuerda con los resultados obtenidos para la ureasa. De esta forma, se reafirma que la ausencia de laboreo y la conservación de los residuos en superficie favorecen la actividad enzimática y la descomposición de la materia orgánica, al menos en las primeras capas.

Por otro lado, la interacción con el tipo de fertilización sigue el mismo patrón de profundidades. La fertilización orgánica (ORG) es la que más promueve la presencia de esta enzima, especialmente en la capa superficial (0-5 cm). Esto subraya la importancia de los aportes orgánicos para estimular la actividad biológica del suelo, lo que a su vez ayuda en la nutrición de las plantas al facilitar la disponibilidad de nitrógeno.

4.1.2 Enzimas implicadas en el ciclo del carbono

1. Glucosidasa

La glucosidasa es una enzima fundamental en el ciclo biogeoquímico del carbono, cuya función principal es romper los enlaces β -glucosídicos para degradar la celulosa y otros polisacáridos. Su actividad es un indicador clave de la descomposición de la materia orgánica vegetal en el suelo (García, 2003).

En este caso, se presenta únicamente el gráfico que muestra la interacción entre el tipo de fertilización y la profundidad, ya que es la única interacción que ha resultado ser estadísticamente significativa (Tabla 1).

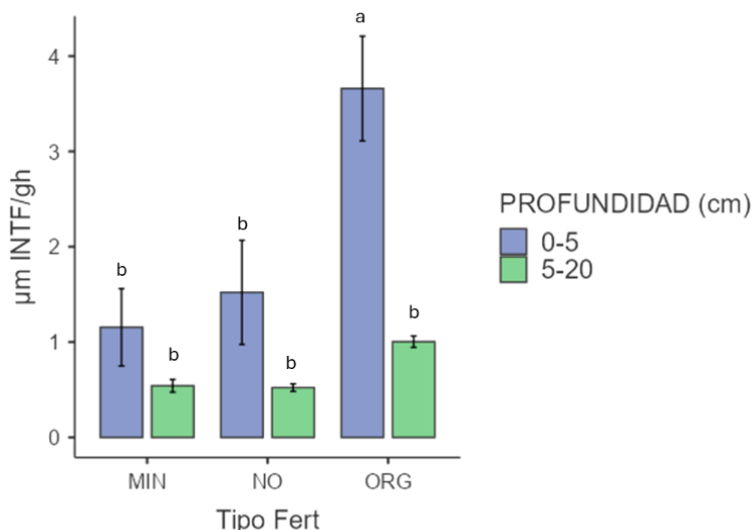


Figura 15: Actividad de la Glucosidasa. Interacción entre el tipo de fertilización de la parcela y la profundidad de la muestra.

El gráfico muestra como la actividad de la glucosidasa es significativamente mayor en la capa superficial del suelo (0-5 cm) en comparación con la capa más profunda (5-20 cm), sin importar el tratamiento de fertilización aplicado. Como ya se ha dicho es la capa donde se concentra la mayor cantidad de residuos vegetales, que son el sustrato principal para esta enzima.

Además, se observa que la fertilización orgánica (ORG) estimula notablemente la actividad de la glucosidasa, alcanzando los valores más altos en la capa superficial. Este resultado es coherente, ya que la adición de materia orgánica aumenta la disponibilidad de sustrato y, por lo tanto, fomenta la proliferación de las bacterias y hongos responsables de la producción de esta enzima.

2. Polifenol oxidasa

La polifenol oxidasa es una enzima clave en el ciclo del carbono, que se encarga de oxidar compuestos fenólicos para degradar la lignina y otros compuestos recalcitrantes. Es un indicador importante de la humificación y la descomposición de materia orgánica que es difícil de degradar. Sus principales orígenes son hongos, bacterias y plantas (García, 2003).

El gráfico muestra la interacción entre el tipo de fertilización y el laboreo. Se observa que la actividad de la polifenol oxidasa es mayor en el suelo con laboreo intensivo (LI) respecto a la siembra directa (SD), mostrándose sobre todo en el caso de la fertilización orgánica (ORG). Sin embargo, bajo fertilización mineral (MIN) la tendencia se invierte, ya que la siembra directa (SD) presenta valores superiores en comparación con el laboreo intensivo (LI).

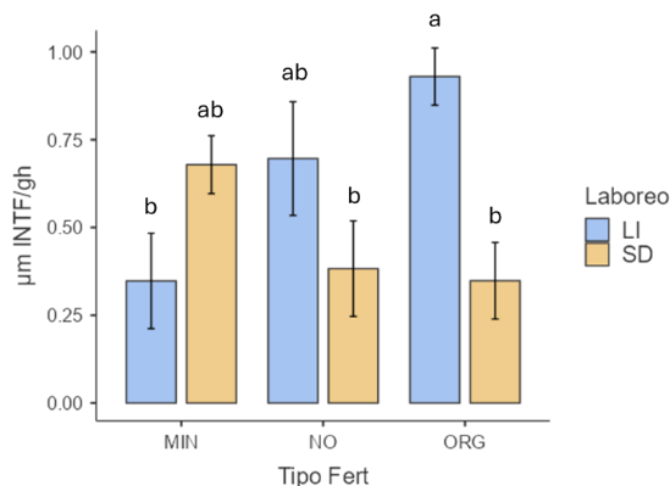


Figura 16: Actividad de la Polifenol oxidasa. Interacción entre el tipo de fertilización y el laboreo en la parcela.

La tendencia que muestran la fertilización orgánica y la ausencia de fertilización (NO) es coherente con la función de la polifenol oxidasa. El laboreo intensivo, al mezclar y airear el suelo, puede exponer y fragmentar la materia orgánica más compleja, lo que facilita su acción. En contraste, la siembra directa, al mantener la materia orgánica en la superficie, puede limitar la actividad de esta enzima debido a una menor mezcla y exposición de los sustratos. Además, se observa que la fertilización orgánica (ORG) incrementa significativamente la actividad de la polifenol oxidasa bajo el sistema de laboreo intensivo, lo cual se relaciona con un mayor aporte de compuestos orgánicos complejos.

Sin embargo, en el caso de la fertilización mineral (MIN) la tendencia se invierte. Este comportamiento podría deberse a que la fertilización mineral aporta nutrientes fácilmente disponibles sin añadir compuestos orgánicos complejos, lo que podría favorecer una mayor actividad en la capa superficial no removida de la siembra directa.

4.1.3 Enzimas implicadas en ambos ciclos

1. Deshidrogenasa

La deshidrogenasa es una enzima fundamental en el ciclo del carbono, así como en el del nitrógeno, que se utiliza como un indicador de la actividad metabólica total de los microorganismos viables del suelo y de la biomasa microbiana viva.

El gráfico presenta la interacción entre el tipo de fertilización y la profundidad. Revela una tendencia notablemente diferente a la de otras enzimas analizadas. Se observa que la actividad de la deshidrogenasa es claramente más alta en la capa más profunda del suelo (5-20 cm) en comparación con la capa superficial (0-5 cm) en todos los tratamientos.

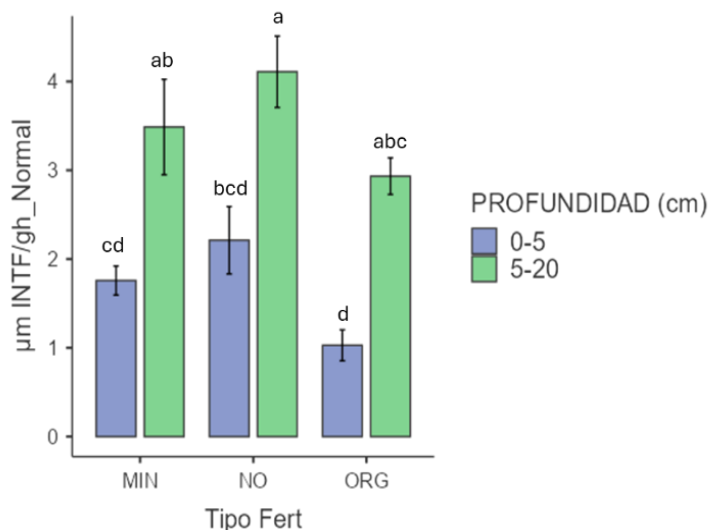


Figura 17: Actividad de la Deshidrogenasa. Interacción entre el tipo de fertilización y la profundidad de la parcela.

A diferencia de las anteriores enzimas que dependen de la descomposición de los residuos frescos que se acumulan en la superficie, la deshidrogenasa refleja la biomasa microbiana total. Teniendo este factor en cuenta, este patrón de actividad más elevada en profundidad podría tener sentido en el marco de un sistema de monocultivo de cebada mantenido durante años.

La capa profunda del suelo, con su mayor estabilidad en cuanto a temperatura y humedad y menores modificaciones, podría ofrecer un entorno más favorable para el desarrollo de estas comunidades microbianas. Los valores más elevados se registran en el tratamiento sin fertilización (NO) a una profundidad de 5-20 cm, lo que sugiere una adaptación de la biomasa microbiana a las condiciones estables del subsuelo en ausencia de aportes externos.

2. Glucosaminidasa

El gráfico (Fig. 8) muestra la interacción entre el tipo de fertilización y la profundidad en la actividad de la β -glucosaminidasa, una enzima clave en la descomposición de compuestos quitinosos y, por tanto, indicadora de la actividad microbiana ligada al reciclaje de residuos de origen fúngico y microbiano (García, 2003).

Estos resultados reflejan que la fertilización orgánica (ORG) tiene los valores más altos de β -glucosaminidasa, especialmente en la capa superficial (0-5 cm), donde la actividad prácticamente cuadruplica la observada en la capa más profunda (5-20 cm). Esta gran diferencia entre profundidades podría explicarse por la acumulación de residuos orgánicos en superficie, que sirven de sustrato para la proliferación microbiana y, en consecuencia, para la síntesis de esta enzima implicada en la descomposición de compuestos quitinosos. La elevada actividad superficial bajo la fertilización orgánica evidencia el papel central de los aportes orgánicos en estimular la microbiota y favorecer el reciclaje de nitrógeno y carbono en los primeros centímetros del suelo.

Por otro lado, tanto en fertilización mineral (MIN) como en ausencia de fertilización (NO), la actividad en la capa superficial (0-5 cm) se mantiene en niveles similares, lo que indica que la ausencia de compuestos orgánicos complejos limita la respuesta enzimática en esta fracción

del suelo. Sin embargo, en la capa profunda (5–20 cm) aparecen diferencias: en la fertilización mineral (MIN) los valores se mantienen estables respecto a la superficie, en cambio en ausencia de aportes disminuyen de forma clara, lo que sugiere que la fertilización mineral, aun sin aportar materia orgánica, permite sostener cierta actividad microbiana a mayor profundidad.

En conjunto, estos resultados muestran que la β -glucosaminidasa responde de forma más intensa a la fertilización orgánica en superficie, mientras que en profundidad la fertilización mineral contribuye a mantener un nivel de actividad superior al observado en suelos sin fertilizar.

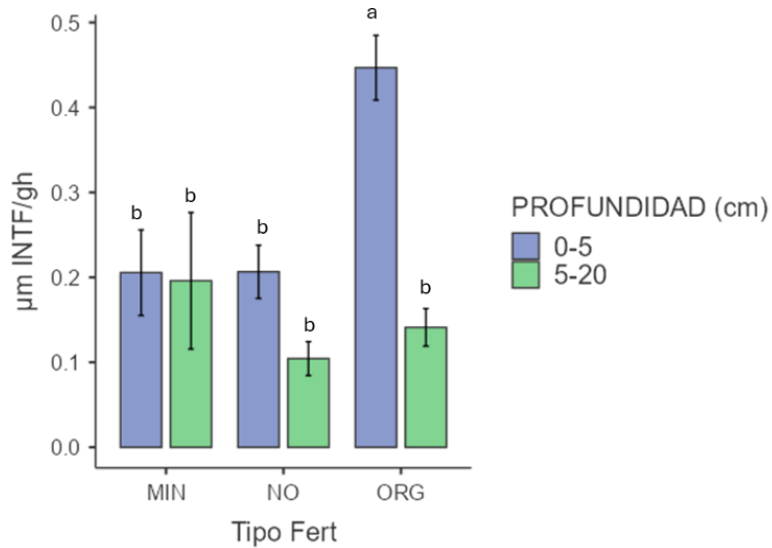


Figura 18: Actividad de la Glucosaminidasa. Interacción entre el tipo de fertilización y la profundidad de la parcela

4.2 Carbono oxidable con permanganato (POxC)

En la Figura 19 se observa que los valores de carbono oxidable por permanganato (POxC) no siguen el patrón habitual de distribución con la profundidad. En el tratamiento de laboreo intensivo (LI), el POxC es muy similar entre 0–5 cm y 5–20 cm, lo que puede atribuirse a la mezcla mecánica de los horizontes durante las labores, que homogeniza el contenido de carbono lábil a lo largo del perfil trabajado.

Sin embargo, en siembra directa (SD) se detecta un comportamiento atípico: la capa de 5–20 cm presenta valores superiores a la capa superficial (0–5 cm), cuando normalmente se esperaría lo contrario debido a la acumulación de residuos en superficie y a una mayor actividad biológica en los primeros centímetros del suelo. Este patrón inverso podría deberse a las lluvias intensas registradas en los días previos al muestreo, que habrían favorecido el transporte de carbono lábil desde la capa superficial hacia 5–20 cm.

Tabla 3: Análisis ANOVA POxC.

	F	gl	p
Profundidad (cm)	28.3198	1	<.001
Tipo Fert	8.8138	2	0.001
Laboreo	0.0275	1	0.87
Profundidad (cm) * Tipo Fert	2.7022	2	0.087
Profundidad (cm) * Laboreo	14.4961	1	<.001
Tipo Fert * Laboreo	0.1581	2	0.855
Profundidad (cm) * Tipo Fert * Laboreo	0.1869	2	0.831

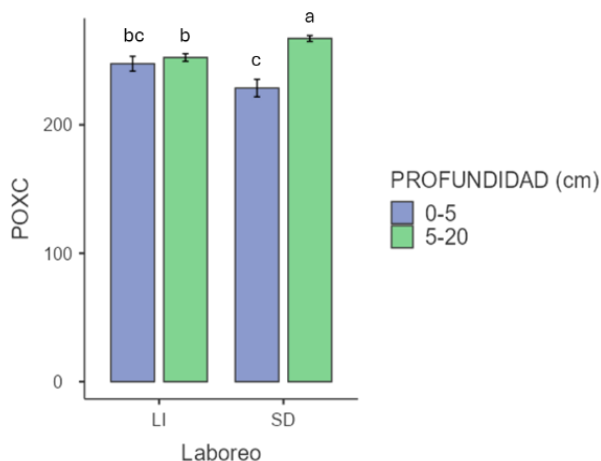


Figura 19: Resultados del Poxc. Interacción entre el tipo de laboreo realizado en la parcela y la profundidad de la muestra.

4.3 Perfil fisiológico de la comunidad de microorganismo (MicroResp™)

La caracterización del perfil fisiológico de la comunidad de microorganismos del suelo mediante la prueba MicroResp, mostró diferencias en la actividad microbiana en función del tipo de laboreo y la profundidad del suelo (tabla 3).

Como se puede observar en la tabla 3 la fertilización no afectó significativamente a los resultados de este análisis, por ello, no se tendrá en cuenta en este apartado.

Tabla 4: Resultados análisis anova Microresp.

	Agua			Glucosa			Respiración basal		
	GL	F	P	GL	F	P	GL	F	P
Profundidad (cm)	1	14.0633	<0.001	1	50	<0.001	1	26.689	<.001
Tipo Fert	2	0.2084	0.813	2	0.04986	0.951	2	0.917	0.413
Laboreo	1	0.7709	0.389	1	0.00214	0.963	1	0.276	0.604
Profundidad (cm) * Tipo Fert	2	0.4561	0.639	2	0.80372	0.459	2	0.564	0.576
Profundidad (cm) * Laboreo	1	0.5478	0.466	1	2.21614	0.15	1	1.013	0.324
Tipo Fert * Laboreo	2	1.3402	0.281	2	0.1532	0.859	2	0.8	0.461
Profundidad (cm) * Tipo Fert * Laboreo	2	0.0478	0.953	2	0.21411	0.809	2	0.288	0.752

	Alanina			N-ace tilglucosamina			Ácido aminobutírico		
	GL	F	P	GL	F	P	GL	F	P
Profundidad (cm)	1	29.0403	<0.001	1	5.3047	0.03	1	18.6279	<0.001
Tipo Fert	2	0.0522	0.949	2	0.5313	0.595	2	0.0965	0.908
Laboreo	1	0.5761	0.455	1	1.4287	0.244	1	0.5123	0.481
Profundidad (cm) * Tipo Fert	2	0.5806	0.537	2	1.5978	0.223	2	0.4159	0.664
Profundidad (cm) * Laboreo	1	2.4703	0.129	1	7.3763	0.012	1	0.874	0.334
Tipo Fert * Laboreo	2	0.2991	0.744	2	0.0499	0.951	2	0.4159	0.664
Profundidad (cm) * Tipo Fert * Laboreo	2	0.0813	0.922	2	0.0168	0.983	2	0.2985	0.745

	Ácido málico			Acido α-ce toglutarato			Twe en 80		
	GL	F	P	GL	F	P	GL	F	P
Profundidad (cm)	1	11.633	0.002	1	0.396	0.535	1	28.3786	<0.001
Tipo Fert	2	0.268	0.767	2	0.295	0.747	2	0.0891	0.915
Laboreo	1	0.414	0.526	1	2.305	0.142	1	0.3167	0.579
Profundidad (cm) * Tipo Fert	2	1.035	0.37	2	2.839	0.078	2	0.8258	0.45
Profundidad (cm) * Laboreo	1	3.68	0.067	1	0.407	0.529	1	1.7938	0.193
Tipo Fert * Laboreo	2	0.309	0.737	2	2.96	0.071	2	0.7107	0.501
Profundidad (cm) * Tipo Fert * Laboreo	2	0.171	0.844	2	1.075	0.357	2	0.2264	0.799

Notas: I) Sustratos relacionados con la respiración basal; II) Sustratos relacionados con el ciclo del Nitrógeno; III) Sustratos relacionados con el ciclo del carbono.

En general, la siembra directa (SD) presentó mayores tasas de producción de CO₂ que el laboreo intensivo (LI), especialmente en la capa superficial (0–5 cm) y para sustratos fácilmente asimilables como la glucosa y el ácido málico.

La glucosa, asociada a la biomasa microbiana total (Ruiz & Paolini, 2004), mostró respuestas muy superiores en siembra directa, indicando una comunidad microbiana más abundante y activa. El ácido málico, relacionado con rizodeposición y microorganismos de la

rizosfera (Onica et al., 2018), también presentó una respiración más elevada en siembra directa (SD), lo que puede indicar una mayor presencia de comunidades adaptadas a las raíces del cultivo.

La respuesta al N-acetilglucosamina, compuesto ligado a la degradación de quitina y residuos microbianos (referencia), fue asimismo mayor en siembra directa (SD), indicando una mayor actividad fúngica y capacidad de reciclaje de compuestos de origen microbiano.

En contraste, en el tratamiento de laboreo intensivo (LI) las diferencias entre profundidades fueron más reducidas, seguramente a causa de la mezcla de horizontes generada por las labores, que homogeniza la distribución de materia orgánica y nutrientes. En este manejo, la respuesta microbiana a los sustratos más simples fue menor, lo que puede reflejar una reducción de la biomasa microbiana o un cambio en la comunidad hacia grupos menos especializados en la utilización de fuentes de carbono fácilmente disponibles.

Para compuestos más complejos o menos accesibles, como Tween 80 (lípidos) o ácido α -cetoglutárico (metabolismo central), las tasas de respiración fueron bajas en todos los tratamientos.

En conjunto, los resultados indican que la siembra directa favorece un microbiota más activa y versátil en el aprovechamiento de fuentes de carbono, lo que puede tener implicaciones positivas en la dinámica de nutrientes y en la calidad biológica del suelo. Estos resultados tienen coherencia con lo que se esperaba obtener, debido a que la siembra directa es más “respetuosa” con el hábitat y la organización de los sustratos en el suelo.

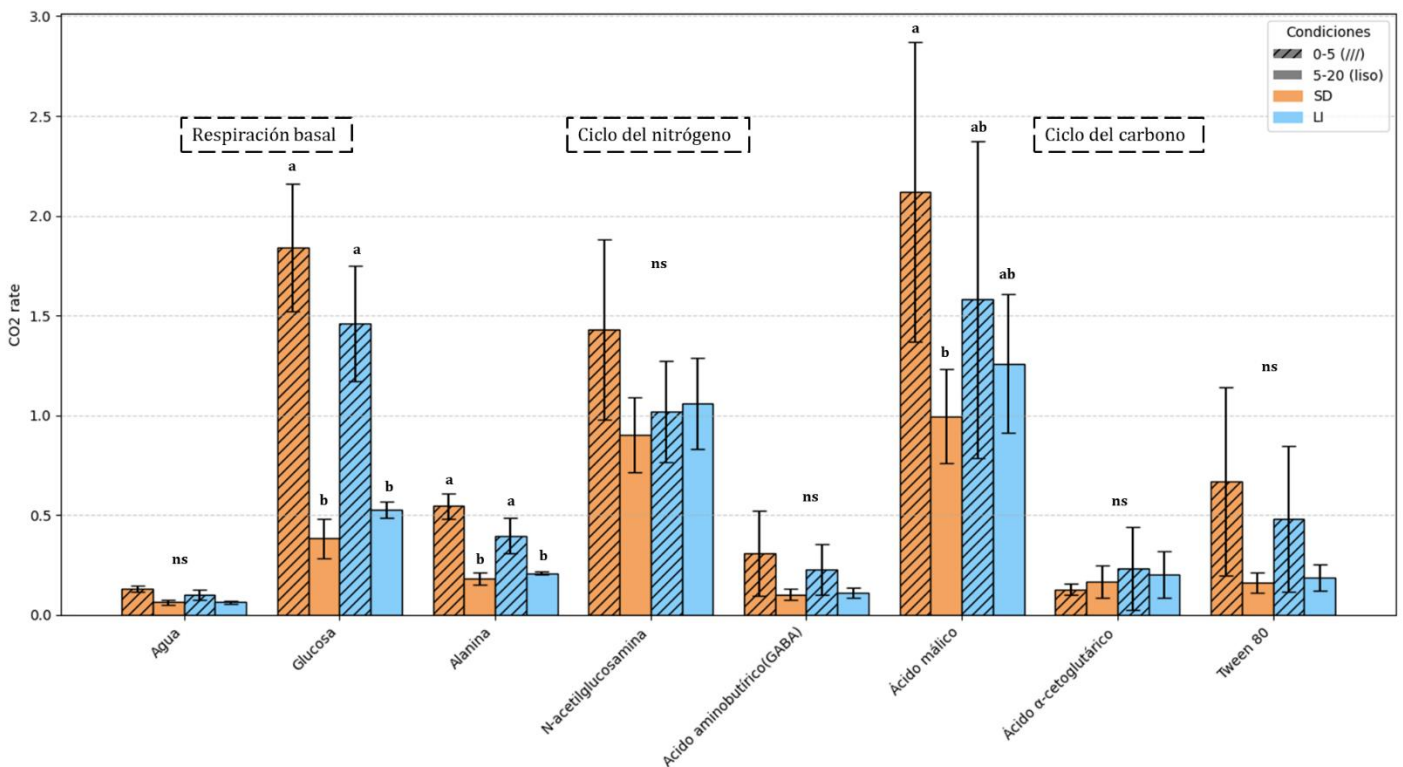


Figura 20: Producción de CO₂ por tipo de sustrato, profundidad y laboreo

4.3.1 Respiración basal (qCO₂)

El cociente metabólico muestra dependencia con la profundidad del suelo (Tabla 4). En la capa superficial (0–5 cm) los valores son más bajos en general, mientras que en la más profunda (5–20 cm) se observan valores más elevados y una mayor variabilidad en los datos (Fig. 21). Esto indica que la microbiota de la superficie del suelo presenta una mayor eficiencia metabólica, es decir, los microorganismos utilizan el carbono disponible de una manera más eficiente, incorporándolo en su biomasa. Sin embargo, en la capa más profunda se incrementan los costes de mantenimiento, en profundidad el carbono disponible suele ser más recalcitrante y hay menos disponibilidad de nutrientes, lo que limita la eficiencia en su uso y el crecimiento de los microorganismos.

Tabla 5: Análisis ANOVA qCO₂

	GL	F	P
Profundidad (cm)	26.689	1	<.001
Tipo Fert	0.917	2	0.413
Laboreo	0.276	1	0.604
Profundidad (cm) * Tipo Fert	0.564	2	0.576
Profundidad (cm) * Laboreo	1.013	1	0.324
Tipo Fert * Laboreo	0.8	2	0.461
Profundidad (cm) * Tipo Fert * Laboreo	0.288	2	0.752

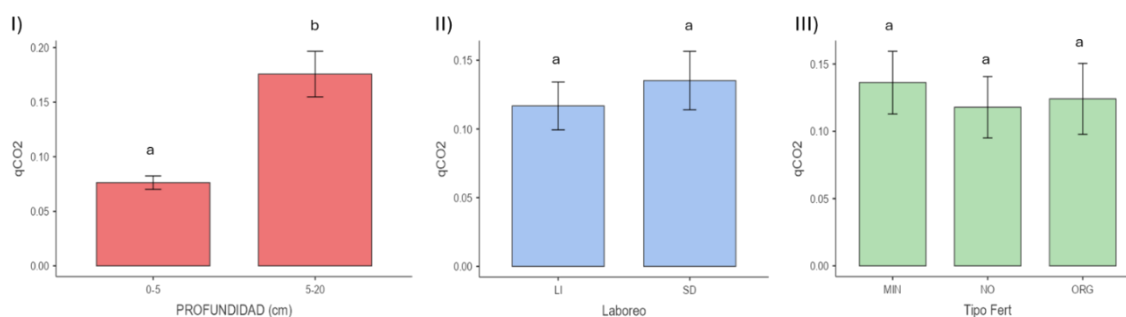


Figura 21: Resultados análisis ANOVA qCO₂

En cuanto al tipo de fertilización, los suelos manejados con fertilización mineral tienden a presentar qCO₂ más elevados que los no fertilizados o con aporte orgánico (figura 21), igualmente son resultados no significativos (tabla 4). Este comportamiento sugiere que, bajo fertilización mineral, los microorganismos responden con un metabolismo menos eficiente, lo que podría deberse a un desbalance en la relación C/N y a una menor disponibilidad de carbono. La relación C/N está muy relacionada con el grado de mineralización de la materia orgánica y es importante aportar carbono orgánico que fomente la degradación de esta materia orgánica que a su vez permite una mayor mineralización (Soto-Mora et al., 2016).

Respecto al laboreo, las diferencias entre siembra directa y laboreo intensivo son menos marcadas que en el caso de la profundidad (figura 22). Igualmente, se observa una ligera tendencia a valores más altos en suelos en siembra directa, lo cual puede estar relacionado con la mayor estratificación del carbono y nutrientes que se produce en estos sistemas. Igualmente, si observamos su relación con la profundidad, el tipo de laboreo no condiciona significativamente los resultados, por lo que, aunque la siembra directa sí que presenta resultados mayores las diferencias no son significativas.

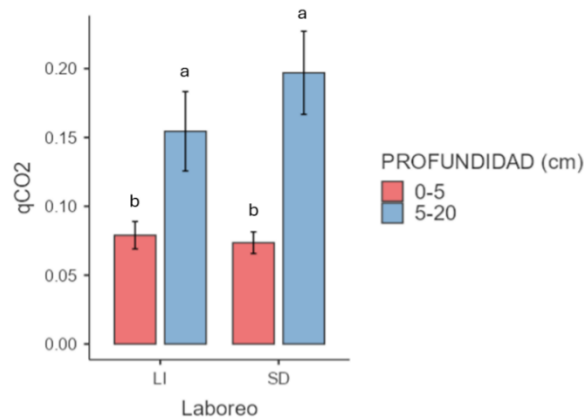


Figura 22: Resultados análisis ANOVA del qCO_2 . Interacción entre la profundidad y en laboreo.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, los resultados indican que hay mejor eficiencia metabólica de la comunidad microbiana en los primeros centímetros del suelo. Analizando los datos por tratamiento de forma individual, cómo se observa en la figura 22, existe una tendencia de la siembra directa a mostrar valores más alto de qCO_2 y, por tanto, a un metabolismo microbiano más costoso y menos eficiente, de la misma forma ocurre con la fertilización mineral.

4.4 Síntesis de los resultados

En la mayoría de las enzimas la profundidad muestra efectos significativos, exceptuando la ureasa y la polifenol-oxidasa. La proteasa presenta valores mayores en 0–5 cm, especialmente cuando se combina con fertilización orgánica (ORG) o siembra directa (SD). De igual forma la β -glucosidasa y la β -glucosaminidasa tienden a presentar sus mayores resultados en la capa superficial, y la significación estadística se muestra al combinarse con fertilización orgánica. En contraposición, la deshidrogenasa no sigue este patrón y alcanza sus máximos en la capa más profunda (5–20 cm), una explicación podría ser porque a esa profundidad existen microhábitats más estables con mayor actividad de biomasa viva.

En cuanto al carbono lábil (POxC), la profundidad es determinante para los resultados, sobre todo combinada con el tipo de laboreo, pero con un patrón inverso a las enzimas (excepto deshidrogenasa). Los valores más altos se encuentran en siembra directa en la capa profunda (5–20 cm). Se trata de un patrón atípico que podría estar influido por un episodio de lluvias abundantes que sucedió cercano al momento del muestreo (desplazamiento del carbono lábil hacia capas subsuperficiales).

En tercer lugar, el análisis del perfil fisiológico de la comunidad de microorganismos muestra efecto de la profundidad en todos los sustratos salvo el ácido α -cetoglutárico. En general, la capa superficial (0–5 cm) tiene resultados mayores (no siempre significativas), y el coeficiente metabólico (qCO_2) indica mayor eficiencia en el uso del carbono también en esa capa.

Respecto a la influencia del laboreo, este afecta al conjunto de los análisis, aunque en el caso de las enzimas su efecto suele expresarse por interacción (no como efecto principal). En concreto, la ureasa y proteasa muestran la interacción con la profundidad, con una actividad mayor en siembra directa (SD), y en el caso de la proteasa en siembra directa y en la capa superficial (SD+0–5 cm). En cambio, la polifenol-oxidasa responde sobre todo a la interacción con la fertilización.

Para el análisis de POxC, el laboreo interactúa con la profundidad, como se ha indicado previamente. El máximo se observa en siembra directa a 5–20 cm.

En el perfil fisiológico (MicroResp™), el laboreo por sí solo tiene un efecto limitado. Combinado con la profundidad, sí se podría mostrar que tiene un impacto en la mayoría de los sustratos. En la Figura 20 se aprecia que, de forma general, la siembra directa (SD) en profundidades de 0–5 cm proporciona las tasas más elevadas (con la excepción del α -cetoglutarico). En cuanto a la respiración basal, los resultados son poco concluyentes, ya que, aunque podría existir interacción con la profundidad, en la figura 22 se observa que realmente el efecto lo produce la profundidad.

Por último, la fertilización únicamente muestra influencia en los resultados del análisis enzimático. En la ureasa, la combinación de fertilización orgánica con siembra directa (ORG + SD) muestra actividades superiores a la mineral junto a un laboreo intensivo (MIN + LI). En la proteasa, la β -glucosidasa y la β -glucosaminidasa, la fertilización orgánica en la capa superficial (0–5 cm) presenta mayor actividad frente a otras combinaciones. En el caso de la polifenol-oxidasa, el patrón es menos claro, pero la fertilización orgánica combinada con el laboreo presenta valores elevados, siendo mayor significativamente frente a combinaciones como ORG–SD, MIN–LI y NO–SD, resultado coherente teniendo en cuenta el papel del laboreo para la disponibilidad de materia orgánica. Finalmente, la deshidrogenasa muestra un comportamiento opuesto al de las demás enzimas (máximos en 5–20 cm), un resultado coherente con lo observado en los demás resultados de dicha enzima.

Esta visión general de los resultados permite tener una perspectiva global y mostrar que la interacción entre factores de manejo y características intrínsecas del suelo no genera efectos aislados, sino que interactúan entre ellas y tienen efectos sobre los microhábitats, la disponibilidad de sustratos y la eficiencia en el uso del carbono.

5. Conclusiones

1. Todas las conclusiones sacadas se encuentran dentro del marco de este ensayo, con las características geológicas, climatológicas y agronómicas especificadas previamente.
2. La profundidad es el factor con mayor influencia en la actividad biológica del suelo.
3. Las enzimas proteasa, β -glucosidasa y β -glucosaminidasa muestran mayor actividad en la capa superficial, mientras que la deshidrogenasa alcanza sus máximos en la capa profunda.
4. El carbono lábil (POxC) presenta un patrón inverso al de la mayoría de las enzimas, con valores más altos bajo siembra directa y a mayor profundidad.
5. El tipo de laboreo influye en los resultados especialmente en combinación con la profundidad y la fertilización, destaca la siembra directa por su efecto positivo sobre la actividad microbiana.
6. La fertilización orgánica incrementa la actividad enzimática respecto a la mineral, especialmente en la capa superficial y bajo siembra directa.
7. Las prácticas de conservación, como la siembra directa y la fertilización orgánica, ejercen un efecto positivo sobre la biología del suelo.
8. Los resultados no son del todo concluyentes y no permiten afirmar de manera categórica que una estrategia de manejo o de fertilización sea siempre superior a otra.
9. No es necesario recurrir a prácticas no conservativas o con impacto negativo para el medioambiente para mantener una calidad adecuada del suelo.

6. Bibliografía

Abril, A., Salas, P., Lovera, E., Kopp, S., & Casado-Murillo, N. (2005). Efecto acumulativo de la siembra directa sobre algunas características del suelo en la región semiárida central de Argentina. *Ciencia del suelo*, 23(2), 179-188. Disponible en: https://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1850-20672005000200008&script=sci_arttext

Alvarado Chaves, A., Rojas, L. A., & Mora, A. (2017). Métodos de labranza conservacionista y maquinaria para la conservación de suelos en el establecimiento de plantaciones dendroenergéticas. *Escuela de Agronomía, ITCR, Sede San Carlos*.

Baker, C. J., Saxton, K. E., Ritchie, W. R., Chamen, W. C. T., Reicosky, D. C., Ribeiro, M. F. S., ... & Hobbs, P. R. (2007). Siembra con labranza cero en la agricultura de conservación. Disponible en: <https://www.fao.org/4/al298s/al298s.pdf>

Balezentiene, L., & Klimas, E. (2009). Effect of organic and mineral fertilizers and land management on soil enzyme activities. *Agronomy Research*, 7, 191-197. <https://agronomy.emu.ee/vol07Spec1/p7sI08.pdf>

Chambers, L. G., Mirabito, A. J., Brew, S., Nitsch, C. K., Bhadha, J. H., Hurst, N. R., & Berkowitz, J. F. (2024). Evaluating permanganate oxidizable carbon (POXC)'s potential for differentiating carbon pools in wetland soils. *Ecological Indicators*, 167, 112624. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2024.112624>

Chapman, S. J., Campbell, C. D., & Artz, R. R. (2007). Assessing CLPPs Using MicroResp™: a comparison with Biolog and multi-SIR. *Journal of Soils and Sediments*, 7(6), 406-410. Disponible en: *Assessing CLPPs using MicroResp™*

Chen, Q., Song, Y., An, Y., Lu, Y., & Zhong, G. (2024). Soil microorganisms: Their role in enhancing crop nutrition and health. *Diversity*, 16(12), 734. <https://doi.org/10.3390/d16120734>

Christensen, B. T., Thomsen, I. K., & Eriksen, J. (2022). The Askov long-term field experiment (1894–2021) represents a unique research platform#. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 185(2), 187-201. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jpln.202100354>

Correa, O. (2013). Los microorganismos del suelo y su rol indiscutido en la nutrición vegetal. *Aportes de la microbiología a la producción de los cultivos*. Editorial de la Facultad de Agronomía. Buenos Aires, Argentina, 1-11. https://www.researchgate.net/publication/306960003_LOS_MICROORGANISMOS_DEL_SU_ELO_Y_SU_ROL_INDISCUTIDO_EN_LA_NUTRICION_VEGETAL

Creamer, R. E., Stone, D., Berry, P., & Kuiper, I. (2016). Measuring respiration profiles of soil microbial communities across Europe using MicroResp™ method. *Applied Soil Ecology*, 97, 36-43. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929139315300573>

Description of the MicroResp™ components | MicroResp™. (n.d.). <https://www.microresp.com/components>

Delgado de Paz, E. (2022). Estudio de la influencia de la densidad de siembra sobre el rendimiento de forraje en cultivos asociados de cebada y guisante. <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/57939>

Díaz, G. S., Hernández, T., & Cabello, R. (2004). Reseña bibliográfica de “LA ROTACIÓN DE CULTIVOS, UN CAMINO A LA SOSTENIBILIDAD DE LA PRODUCCIÓN ARROCERA”. *Cultivos tropicales*, 25(3), 19-44. <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193217916004.pdf>

Duval, M. E., Galantini, J. A., Martínez, J. M., & Limbozzi, F. (2018). Labile soil organic carbon for assessing soil quality: influence of management practices and edaphic conditions. *CATENA*, 171, 316–326. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.07.023>

Duval, M. E., Galantini, J. A., Martínez, J. M., López, F. M., & Wall, L. G. (2015, December 1). Evaluación de la calidad física de los suelos de la región pampeana: efecto de las prácticas de manejo. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/11587>

Feng, Y., Motta, A. C., Reeves, D. W., Burmester, C. H., Van Santen, E., & Osborne, J. A. (2003). Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(12), 1693-1703. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071703002876?casa_token=QBxONKe1BZsAAAAA:NuKIyglkPAIuuLAVaVg2N2zGD1RXCwEkV9bGU_tQ3gr1ZCeHQ4C5O5_p87u49lygt_aQMA

Florimond Desprez. (2021). Meseta: ficha técnica de cebada. https://www.florimond-desprez.com/es/wp-content/uploads/sites/6/2021/10/ficha_cebada_meseta_2021.pdf

Forjan, H. J., & Manso, M. L. (2014). Los ensayos de larga duración: su importancia como generadores de información. <https://www.academia.edu/download/117388859/322638346.pdf>

Franco, S., Pancino, B., Martella, A., & De Gregorio, T. (2022). Assessing the presence of a monoculture: from definition to quantification. *Agriculture*, 12(9), 1506. <https://www.mdpi.com/2077-0472/12/9/1506>

García Ruiz, A., Aibar Lete, J., Gutiérrez López, M., & Malón Litago, H. (s.f.). Evaluación de un ensayo de nuevas variedades comerciales de cebada ubicado en la Hoya de Huesca mediante un programa de gestión de la información agronómica. <https://zagan.unizar.es/record/146374>

García, C. (2003). Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. *Dialnet*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=311325>

Gaskin, J. W., Hartel, P., Little, E. L., & Harris, G. H. (2010). Soil inoculants. https://nydairyadmin.cce.cornell.edu/uploads/doc_36.pdf

Geisseler, D., & Scow, K. M. (2014). Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms—A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 75, 54-63. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071714001187>

González López, G. (2015). EFECTO EN EL CORTO PLAZO DE SISTEMAS DE LABRANZA Y MEJORADORES EN LOS INDICADORES N, K Y MO EN UN SUELO FRANCO ARCILLOSO. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5735/T19674%20GONZALEZ%20LOPEZ%20C%20GERARDO%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Henríquez, C., Uribe, L., Valenciano, A., & Nogales, R. (2014). Actividad enzimática del suelo: deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa y ureasa bajo diferentes cultivos. *Agronomía*

Costarricense, 38(1), 43–54. Universidad de Costa Rica. ISSN: 0377-9424. Disponible en:
https://www.mag.go.cr/rev_agr/index.html

Herrera, O. F., Vargas, O. Y., & Marin, C. P. (2000). La contaminación ambiental por el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados en el cultivo del tomate. *SCIENTIA gerundensis*, 5-12.
<https://www.raco.cat/index.php/Scientia/article/download/45579/55143>

Instituto Geológico y Minero de España. (2015). Mapa geológico de España a escala 1:1.000.000 [Mapa]. IGME.
[https://info.igme.es/cartografiadigital/datos/geologicos1M/Geologico1000_\(2015\)/pdfs/Editado_G1000_\(2015\).pdf](https://info.igme.es/cartografiadigital/datos/geologicos1M/Geologico1000_(2015)/pdfs/Editado_G1000_(2015).pdf)

Körschens, M. (2006). The importance of long-term field experiments for soil science and environmental research—a review. *Plant Soil Environ*, 52(Special Issue), 1-8.
https://www.researchgate.net/profile/Martin-Koerschens/publication/283838520_The_importance_of_long-term_field_experiments_for_soil_science_and_environmental_research_-_A_review/links/5a7831ca0f7e9b41dbd26dd7/The-importance-of-long-term-field-experiments-for-soil-science-and-environmental-research-A-review.pdf

Lacasta, C., & Meco, R. (2005). Efecto de la incorporación de la paja del cereal sobre la productividad de la cebada y sobre algunos parámetros químicos y bioquímicos del suelo. En Congreso Internacional sobre Agricultura de Conservación: El Reto de la Agricultura, el Medio Ambiente, la Energía y la Nueva Política Agraria (pp. 417-422).
<https://digital.csic.es/handle/10261/18859>

Lacasta, C., & Meco, R. (2005). Manejo de agrosistemas de cereales. CSIC. Manual de agricultura ecológica. XI Jornadas Técnicas de la SEAE–Toledo.

Lefèvre, C., Rekik, F., Alcantara, V., & Wiese, L. (2017). Carbono orgánico del suelo: el potencial oculto. FAO. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/6e5e1fa9-ef55-4198-9160-fa580483f991/content>

Liu, W., Yang, Z., Ye, Q., Peng, Z., Zhu, S., Chen, H., ... & Huang, H. (2023). Positive effects of organic amendments on soil microbes and their functionality in agro-ecosystems. *Plants*, 12(22), 3790.

Marais, A., Hardy, M., Booyse, M., & Botha, A. (2012). Effects of monoculture, crop rotation, and soil moisture content on selected soil physicochemical and microbial parameters in wheat fields. *Applied and Environmental Soil Science*, 2012(1), 593623.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1155/2012/593623>

Mathew, R. P., Feng, Y., Githinji, L., Ankumah, R., & Balkcom, K. S. (2012). Impact of no-tillage and conventional tillage systems on soil microbial communities. *Applied and Environmental Soil Science*, 2012(1), 548620.
https://www.researchgate.net/publication/235912371_Impact_of_No-Tillage_and_Conventional_Tillage_Systems_on_Soil_Microbial_Communities

Mendoza, M. A. (2021). Efectos de la labranza convencional y labranza de conservación en la producción agrícola: Revisión de literatura (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2021).

<https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/a8681a48-2637-44e2-9867-5b12a8ee8a51/content>

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) (2024). Balances de cereales de España. Campaña 2024/25. Gobierno de España. https://www.mapa.gob.es/dam/mapa/contenido/agricultura/temas/producciones-agricolas/cultivos-herbaceos/cereales/balances-de-mercado-de-cereales/balances-cereales-de-espana-campanas/balances-cereales-es_2024_25.pdf

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). (2020). Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España. Gobierno de España. https://www.mapa.gob.es/dam/mapa/contenido/agricultura/publicaciones/01_fertilizacion-baja.pdf

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2024). Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos en España (ESYRCE). Resultados 2024. Gobierno de España. <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/esyrce>

Moscatelli, M. C., Secondi, L., Marabottini, R., Papp, R., Stazi, S. R., Mania, E., & Marinari, S. (2018). Assessment of soil microbial functional diversity: land use and soil properties affect CLPP-MicroResp and enzymes responses. *Pedobiologia*, 66, 36-42. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031405617301609>

Olsson, S., & Alström, S. (2000). Characterisation of bacteria in soils under barley monoculture and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(10), 1443-1451. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071700000626?casa_token=N0BUDQ9ntwAAAAA:116o4rWZA7naA53_VCNXA8Qjf6NusIfMY_5tVjvMx9JdZoYvcV4pyIf_nXDeS_HfmABPdjQ

Onica, B. M., Vidican, R., & Sandor, M. (2018). A Short Review about Using MicroResp Method for the Assessment of Community Level Physiological Profile in Agricultural Soils. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Agriculture*, 75(1), 24–31. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-agr:001817>

Ortiz, J., Faggioli, V. S., Ghio, H., Boccolini, M. F., Ioele, J. P., Tamburrini, P., ... & Gudelj, V. (2020). Impacto a largo plazo de la fertilización sobre la estructura y funcionalidad de la comunidad microbiana del suelo. *Ciencia del suelo*, 38(1), 45-55. https://www.scielo.org/ar/scielo.php?pid=S1850-20672020000100005&script=sci_arttext

Parham, J., & Deng, S. (2000). Detection, quantification and characterization of β -glucosaminidase activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(8-9), 1183-1190. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00034-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00034-1)

Pomares, F. (1998). Efecto del tipo de fertilización sobre la actividad biológica del suelo en reconversión a la agricultura ecológica. <https://redivia.gva.es/handle/20.500.11939/6547>

Ramo Fuertes, V. (2023). La evolución del sector agrícola aragonés (2009-2019) [Trabajo fin de Grado, Universidad de Zaragoza]. <https://zagan.unizar.es/record/155347/files/TAZ-TFG-2023-316.pdf>

Reicosky, D., & Saxton, K. (2007). Reducción de las emisiones ambientales y secuestro de carbono. En *Siembra con labranza cero en la agricultura de conservación*. Zaragoza, Spain: Editorial ACRIBIA, 311-324. <https://www.fao.org/4/al298s/al298s05.pdf>

Rivas, Y., Oyarzún, C., Godoy, R., & Valenzuela, E. (2009). Mineralización del nitrógeno, carbono y actividad enzimática del suelo en un bosque de *Nothofagus obliqua* (Mirb) Oerst y una plantación de *Pinus radiata* D. Don. del centro-sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 82(1). <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2009000100008>

Romanyá, J. A., Rovira, P., & Vallejo, R. (2007). Análisis del carbono en los suelos agrícolas de España. Aspectos relevantes con relación a la reconversión a la agricultura ecológica en el ámbito mediterráneo. *Ecosistemas*, 16(1). <http://revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/138>

Ruiz, E. B., Salort, J. M. B., Munar, A. R., & Fernández, B. N. (2019). Application of the Biolog™ ECO-plate technique for the study of the physiological profile of microbial communities in agricultural land. *Ecosistemas*, 28(3), 46-53. <https://doi.org/10.7818/ecos.1687>

Ruiz, Magaly, & Paolini, Jorge. (2004). El cultivo y el agua de riego sobre el carbono de la biomasa microbiana. *Agronomía Tropical*, 54(2), 161-178. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2004000200003&lng=es&tlng=es

Saito, K., Casimero, M., Rosenstock, T. S., Six, J., Snapp, S., Chikowo, R., & Vanlauwe, B. (2023). EiA's long-term experiments (LTEs) for assessing long-term sustainability and climate change adaptation. <https://cgspace.cgiar.org/items/5e1f7482-86ad-4981-85bc-4ab3af391858>

Selimovic, A., Tissier, M. L., & Arnold, W. (2022). Maize monoculture causes niacin deficiency in free-living European brown hares and impairs local population development. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 1017691. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fevo.2022.1017691/full>

Sinsabaugh, R. L. (2009). Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(3), 391-404. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.014>

Snapp, S. (2020). A mini-review on overcoming a calorie-centric world of monolithic annual crops. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 540181. Disponible en: [Frontiers | A Mini-Review on Overcoming a Calorie-Centric World of Monolithic Annual Crops](https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsufs.2020.540181/full)

Song, D., Dai, X., Guo, T., Cui, J., Zhou, W., Huang, S., ... & Zhang, S. (2022). Organic amendment regulates soil microbial biomass and activity in wheat-maize and wheat-soybean rotation systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 333, 107974. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167880922001232>

Soto-Mora, E. S., Hernández-Vázquez, M., Luna-Zendejas, H. S., Ortiz-Ortiz, E., & García-Gallegos, E. (2016). Evaluación del contenido de materia orgánica en suelos agrícolas y su relación carbono/nitrógeno. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 3(5), 98-102. <https://www.reibci.org/publicados/2016/oct/1800105.pdf>

United States Department of Agriculture [USDA], Natural Resources Conservation Service [NRCS]. (2004). Soil biology and land management (Soil Quality Technical Note No. 4). Washington, DC: USDA-NRCS. <http://soils.usda.gov/sqi>

Valbuena Mora, F. (2019). EFECTO DE UN PERIODO DE EXTREMA SEQUÍA SOBRE LAS PROPIEDADES BIOQUÍMICAS DE PASTIZALES MEDITERRÁNEOS EN EL TÉRMINO MUNICIPAL DE LAS ROZAS, COMUNIDAD DE MADRID. Máster Universitario en Restauración de Ecosistemas.

https://ebuah.uah.es/dspace/bitstream/handle/10017/41769/TFM_Valbuena_Mora_2019.pdf;jsessionid=035DFF79816957E16274895A705B854E?sequence=1

Vallejo-Quintero, V. E. (n.d.). IMPORTANCIA y UTILIDAD DE LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE SUELOS MEDIANTE EL COMPONENTE MICROBIANO: EXPERIENCIAS EN SISTEMAS SILVOPASTORILES. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-07392013000100006&script=sci_arttext

Wood, D. (2000). In defence of monocultures. LEISA-LEUSDEN-, 16, 14-15. <https://edepot.wur.nl/82992>

Woźniak, A. (2019). Effect of crop rotation and cereal monoculture on the yield and quality of winter wheat grain and on crop infestation with weeds and soil properties. International Journal of Plant Production, 13(3), 177-182. <https://link.springer.com/article/10.1007/s42106-019-00044-w>