



POLITÉCNICA



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA, ALIMENTARIA Y DE BIOSISTEMAS

GRADO EN CIENCIAS AGRARIAS Y BIOECONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRARIA

***Agricultura regenerativa para mejorar la salud del
suelo en cultivos herbáceos extensivos***

TRABAJO FIN DE GRADO

Autor/a: Ailuros Vallesa García

Tutor/a: Chiquinquirá Hontoria Fernández

Cotutor/a: Ana Belén Muñiz González

Junio de 2025

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1. Degradación y pérdida de suelo.....	8
1.2. Salud del suelo.....	9
1.3. Agricultura Regenerativa.....	10
1.3.1. Definición.....	10
1.3.2. Prácticas de agricultura regenerativa aplicadas en el presente estudio.....	11
1.4. Lombrices como bioindicador de salud del suelo.....	16
1.5. Justificación y objetivos del ensayo.....	18
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
2. 1. Caracterización de la zona de estudio.....	19
2.2. Diseño experimental.....	21
2.3. Manejo agronómico.....	21
2.4. Métodos de muestreo.....	22
2.5. Procedimientos de laboratorio.....	23
2.5.1. Humedad del suelo.....	23
2.5.2. pH.....	23
2.5.3. Conductividad Eléctrica (CE).....	24
2.5.4. Carbono Orgánico Total (COT) y Nitrógeno total (N total).....	24
2.5.5. Determinación del contenido en nutrientes.....	24
2.5.6. Nitrógeno Potencialmente Mineralizable (NPM).....	25
2.5.7. Respiración Basal (RB) y Respiración Inducida por Substrato (SIR).....	25
2.5.8. Carbono de la Biomasa Microbiana (CBM).....	26

2.5.9. Actividades Enzimáticas.....	27
2.5.10. Análisis de lombrices.....	28
2.6. Métodos estadísticos.....	28
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
3.1. Propiedades fisicoquímicas del suelo.....	30
3.2. Concentración de nutrientes del suelo.....	33
3.3. Parámetros biológicos del suelo.....	35
3.4. Análisis de lombrices.....	41
4. CONCLUSIONES.....	43
5. BIBLIOGRAFÍA.....	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores climatológicos de Sepúlveda, serie climática 1991- 2021 (Climate Data.org, s. f.).	20
Tabla 2. Resultados del ANOVA para las propiedades fisicoquímicas del suelo: pH, conductividad eléctrica (CE), carbono orgánico total (COT) y nitrógeno total (N total) según los factores tratamiento y profundidad.....	31
Tabla 3. Resultados del ANOVA para la concentración de nutrientes del suelo: nitrógeno (N min), fósforo (P), potasio (K), azufre (S), calcio (Ca), magnesio (Mg), hierro (Fe) y cobre (Cu) según los factores tratamiento y profundidad.....	34
Tabla 4. Resultados del ANOVA de parámetros biológicos del suelo: respiración basal (RB), respiración inducida por substrato (SIR), nitrógeno potencialmente mineralizable (NPM) y carbono de la biomasa microbiana (CBM) según tratamiento y profundidad.....	36
Tabla 5. Resultados del ANOVA de las actividades enzimáticas: β -glucosidasa (GLU), fosfatasa ácida (PHO), N-acetil-glucosaminidasa (NAG) y ureasa (URE) según los factores tratamiento y profundidad.....	40
Tabla 6. Resultados de abundancia y biomasa de lombrices según el factor tratamiento.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Interacción (A, B, C) de los distintos tratamientos con la profundidad del suelo e intervalos de medias en la profundidad 0-10 (D, E, F) de las variables fisicoquímicas del suelo que mostraron un nivel de interacción significativo.	31
Figura 2. Interacción (A, B) de los distintos tratamientos con la profundidad del suelo e intervalos de medias en la profundidad 0-10 (C, D) de los parámetros biológicos del suelo que mostraron un nivel de interacción significativo.....	36
Figura 3. Interacción (A) de los distintos tratamientos con la profundidad del suelo e intervalos de medias en la profundidad 0-10 (B) de la actividad enzimática β -glucosidasa, que mostró un nivel de interacción significativo.	39

GLOSARIO

ANOVA – análisis de la varianza

C - carbono

Ca – calcio

CBM – carbono de la biomasa microbiana

CE – conductividad eléctrica

CEBAS-CSIC - Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura – Consejo Superior de Investigaciones Científicas

CO₂ - dióxido de carbono

COS – carbono orgánico soluble

COT – carbono orgánico total

Cu – cobre

CVE – cubierta vegetal enterrada

CVG – cubierta vegetal pastoreada

ETP – evapotranspiración potencial

Fe – hierro

GLU - β -glucosidasa

HDS - Honestly Significant Difference

ICP-AES - Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectroscopy

K – potasio

Mg – magnesio

MLG - Modelo Lineal General

N - nitrógeno

N min – nitrógeno mineral

N₂ - dinitrógeno

NAC – nitrato amónico cálcico

NAG - N-acetil-glucosaminidasa

NH₄⁺ - amonio

NPM – nitrógeno potencialmente mineralizable

P – fósforo

p/v – peso/volumen

PHO - fosfatasa ácida

PNP – p-nitrofenol

RB – respiración basal

RB – respiración basal

S – azufre

SDF – suelo desnudo fertilizado

SDO – suelo desnudo sin fertilización

SIR – respiración inducida por substrato

UNEP-FAO - United Nations Environment Programme - Food and Agriculture

Organization of the United Nations

URE – ureasa

RESUMEN

La degradación del suelo representa uno de los mayores problemas derivados de la intensificación de la agricultura a escala global y supone un riesgo para la salud de los ecosistemas, la seguridad alimentaria y la salud humana. En este estudio se evalúa el efecto a corto plazo de prácticas de agricultura regenerativa sobre la salud del suelo en un sistema de cultivos herbáceos extensivo de secano con una rotación girasol-trigo. El ensayo experimental se estableció en 2023 en Duruelo (Segovia) con cuatro tratamientos: suelo desnudo con volteo del suelo y sin fertilización (SDO), suelo desnudo con volteo del suelo y fertilización convencional (SDF), cubierta vegetal enterrada como abono verde (CVE) y cubierta vegetal pastoreada por ganado bovino (CVG). Se utilizaron indicadores físicos, químicos y biológicos, incluyendo el uso de lombrices como bioindicador para determinar el estado de salud del suelo 18 meses después del inicio del ensayo. En comparación con los tratamientos de suelo desnudo, el uso combinado de cubiertas vegetales y ganado incrementó la humedad del suelo, el carbono orgánico total, el nitrógeno total, la respiración basal y el nitrógeno potencialmente mineralizable, mientras que la incorporación de la cubierta vegetal como abono verde mostró un comportamiento intermedio sin diferencias significativas. Estos resultados indican una rápida mejora de la salud del suelo en los tratamientos con manejo regenerativo frente al convencional, cuyo mantenimiento a largo plazo debe ser confirmado.

ABSTRACT

Soil degradation is one of the biggest problems resulting from the intensification of agriculture on a global scale and poses a risk to ecosystem health, food security and human health. This study evaluates the short-term effect of regenerative agriculture practices on soil health in an extensive rainfed arable crop system with a sunflower-wheat rotation. The experimental trial was established in 2023 in Duruelo (Segovia) with four treatments: bare soil with tillage and no fertilisation (SDO), bare soil with tillage and conventional fertilisation (SDF), plant cover buried as green manure (CVE) and plant cover grazed by cattle (CVG). Physical, chemical and biological indicators were used, including earthworms as a bioindicator to determine soil health 18 months after the start of the trial. Compared to bare soil treatments, the combined use of plant cover and cattle increased soil moisture, total organic carbon, total nitrogen, basal respiration and potentially mineralisable nitrogen, while the incorporation of plant cover as green manure showed intermediate behaviour with no significant differences. These results indicate a rapid improvement in soil health in regenerative management treatments compared to conventional management, whose long-term maintenance must be confirmed.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Degradación y pérdida de suelo

La degradación y pérdida de suelo constituye uno de los principales retos ambientales, productivos y sociales a los que se enfrenta la agricultura a escala global. Según informes técnicos, el 70% de la superficie terrestre ya ha sido transformada por el ser humano y aproximadamente un 30% del suelo se encuentra actualmente degradado, lo que afecta directamente a casi la mitad de la población mundial (CLD, 2022; FAO, 2024). Si las tendencias actuales continúan, más del 90% de la superficie terrestre podría verse afectada por procesos de pérdida y degradación de suelo antes de 2050 (FAO y GTIS, 2015).

La degradación de la tierra provocada por el ser humano afecta principalmente a las tierras agrícolas, que representan solo el 13 % de la cobertura terrestre mundial, pero concentran el 29 % de las zonas degradadas (FAO, 2021). Se estima que las tasas de erosión acelerada en tierras cultivadas o pastoreadas intensivamente superan entre 100 y 1000 veces las tasas de erosión natural (FAO, 2025).

La degradación y pérdida de suelo promovida por la intensificación de la agricultura genera impactos ecológicos muy importantes en todo el mundo, el suelo pierde la capacidad de prestar servicios ecosistémicos como la regulación del clima, reciclaje de carbono, mitigación del cambio climático, mantenimiento de la biodiversidad, etc. Por otro lado, los terrenos agrícolas degradados experimentan una reducción del rendimiento anual de aproximadamente el 0,3%, lo que podría deparar en un 10% para 2050 (FAO y GTIS, 2015). Estos hechos suponen un grave riesgo para el ecosistema terrestre y la seguridad alimentaria.

En este contexto, resulta prioritario desarrollar e implementar estrategias agrícolas que reduzcan las tasas de degradación del suelo, limiten las emisiones de la agricultura, minimicen la pérdida de biodiversidad y servicios ecosistémicos, y a su vez mantengan los niveles de productividad necesarios para garantizar la seguridad alimentaria (FAO, 2021).

La agricultura regenerativa emerge como una posible solución multidimensional capaz de abordar estas problemáticas de forma global, centrándose en mejorar la salud del suelo en los agroecosistemas y promoviendo prácticas para una agricultura más sostenible y resiliente, en línea con los principales objetivos establecidos a nivel europeo en el marco de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible.

1.2. Salud del suelo

La salud del suelo se define como la capacidad de este para funcionar como un ecosistema vivo de forma continua y de sostener a su vez las actividades de la biosfera. Un suelo sano contribuye de forma directa al mantenimiento de la calidad del aire y el agua, así como a la salud de los ecosistemas y los seres humanos. Según el Grupo Intergubernamental de Expertos Técnicos sobre el Suelo (ITPS), la salud del suelo se define como “la capacidad del suelo para mantener la productividad, la diversidad y los servicios medioambientales de los ecosistemas terrestres” (FAO e ITPS, 2020).

La salud del suelo viene determinada por sus propiedades físicas, químicas y biológicas, que en conjunto y de forma sistémica, hacen que éste sea ecológicamente funcional. Depende de múltiples características y del contexto local en el que se encuentra. Algunas características de un suelo sano son: profundidad, buena estructura, capacidad de retención e infiltración de agua, biodisponibilidad de nutrientes, ausencia de contaminantes, diversidad microbiológica y alto contenido en materia orgánica (FAO e ITPS, 2020).

1.3. Agricultura Regenerativa

1.3.1. Definición

La Agricultura Regenerativa es una estrategia de producción agrícola que se sirve de los recursos y procesos presentes en el ecosistema local, con el objetivo de producir alimentos a la vez que se mejora la salud del suelo, incrementando la actividad biológica, optimizando el ciclo de nutrientes, restaurando la funcionalidad del paisaje y aumentando el rendimiento agrícola de las explotaciones mediante una reducción en la necesidad de insumos externos. El objetivo central de la agricultura regenerativa no es restaurar el ecosistema nativo, sino aprovechar los procesos ecológicos naturales del sistema agrícola para mejorar la salud general del mismo (Khangura et al., 2023). De esta forma, la agricultura regenerativa puede favorecer la resiliencia de las explotaciones agrícolas, tanto a nivel económico como ecológico (Khangura et al., 2023; Schreefel et al., 2020; Sahu y Das, 2020; Merfield, 2019; Devasirvatham et al., 2020).

Schreefel et al., 2020 en su artículo “Regenerative agriculture—the soil is the base” proponen la siguiente definición de agricultura regenerativa: «un enfoque de la agricultura que utiliza la conservación del suelo como punto de partida para regenerar y contribuir a múltiples servicios de aprovisionamiento, regulación y apoyo, con el objetivo de mejorar no sólo las dimensiones medioambientales, sino también las sociales y económicas de la producción sostenible de alimentos».

El enfoque de la agricultura regenerativa tiene un carácter profundamente práctico, ya que se basa en estrategias de manejo enfocadas a optimizar el uso de recursos naturales y generar un impacto positivo en el ecosistema agrario. Actualmente no hay un consenso claro sobre el término agricultura regenerativa, pero en diversos estudios (Khangura et al., 2023; Schreefel et al., 2020; Sahu y Das, 2020; Merfield, 2019) se señalan las siguientes prácticas como pilares fundamentales de este modo de producción:

- Minimizar la alteración del suelo
- Mantenimiento del suelo cubierto durante todo el año
- Mantenimiento de plantas y raíces vivas en el suelo durante el mayor tiempo posible
- Incorporación de biodiversidad
- Integración de animales
- Consideración y adaptación al contexto local: social, económico y ecológico

Ya que estas prácticas y principios clave de la agricultura regenerativa mejoran de forma directa la salud del suelo, se podría decir que el suelo es el pilar fundamental sobre el que se apoya esta estrategia de producción agrícola. La mejora de la salud del suelo está sometida a procesos de retroalimentación positiva, siendo los factores de mayor importancia en el impulso de esta: fijación / aumento de carbono orgánico en el suelo, aumento en el contenido de materia orgánica, mejora de la estructura, retención de humedad y biodiversidad microbiana del suelo (Khangura et al., 2023).

1.3.2. Prácticas de agricultura regenerativa aplicadas en el presente estudio

Cultivos cubierta

El uso de cultivos cubierta se ha extendido mucho a lo largo de la última década. Existe una amplia bibliografía científica que reporta múltiples beneficios sobre la salud del suelo y los agroecosistemas, así como potencial para minimizar y mitigar el cambio climático (Khangura et al., 2023; Schreefel et al., 2020; Sahu y Das, 2020; Kaye y Quemada, 2017). Esta es una de las prácticas clave en agricultura regenerativa, ya que proporciona múltiples beneficios y servicios ecosistémicos claves para la mejora de la salud del suelo y el ecosistema agrario (Khangura et al., 2023).

Se entiende por cultivos cubierta aquellos cultivos secundarios cuya función principal es la protección y mejora del suelo. Normalmente se siembran entre ciclos del cultivo principal o simultáneamente en los espacios entre líneas. Es habitual el uso de mezclas de

varias especies que atiendan a funciones complementarias, por ejemplo: gramíneas para alta competencia o elevada formación de biomasa, leguminosas para fijación de nitrógeno, brassicáceas para exploración profunda del suelo o descompactación, etc. Una característica clave de los cultivos cubiertos es que éstos no se cosechan, sino que se mantienen en la parcela tras su terminación para favorecer el reciclaje de nutrientes, agua y materia orgánica; y proveer de esta forma los beneficios asociados (Sullivan, 2003).

Existen múltiples opciones de manejo de las cubiertas, en función del manejo y especie/s cultivada/s los servicios ecosistémicos proporcionados por esta práctica pueden variar. No obstante, los beneficios generales más reportados son los siguientes (Khangura et al., 2023; Garland et al., 2021; Sullivan, 2003; Devasirvatham et al., 2020; de Faccio Carvalho et al., 2021):

- Minimización de la erosión y pérdida de suelo
- Mantenimiento del suelo cubierto y con raíces vivas
- Mejora de la fertilidad del suelo (si se emplean especies fijadoras de N)
- Aumento de la biodiversidad, tanto del suelo como del agroecosistema
- Reducción de plagas, enfermedades y presión de malas hierbas
- Mayor biodisponibilidad de nutrientes: reducción de pérdidas por fijación en forma de biomasa, exudación radicular, extracción de capas más profundas del suelo, micorrización, etc
- Mejora de la estructura del suelo y aumento de la infiltración y retención de agua, reducción de compactación del suelo y pérdidas hídricas por evaporación directa del suelo o escorrentía
- Aporte de materia orgánica y secuestro de carbono orgánico, estimulación de la actividad biológica del suelo

Reconexión de agricultura y ganadería

Tradicionalmente la ganadería y la agricultura estaban directamente relacionadas de forma interdependiente a nivel local, pero con la modernización de la agricultura y la introducción de fertilizantes químicos ambas ramas se han ido distanciando, dando lugar a sistemas de producción intensivos totalmente desacoplados. Esta tendencia general es una de las causas principales de contaminación y cambio climático derivadas de la actividad del sector primario a nivel global. La intensificación y especialización basada en la fertilización química y estabulación masiva deriva en una alta demanda y dependencia de insumos externos, así como genera grandes pérdidas por contaminación y mal uso de los “residuos” agrícolas (Lemaire et al., 2023).

Recientemente, ante la creciente preocupación por los problemas medioambientales y la seguridad alimentaria, se han realizado numerosos estudios para evaluar los posibles beneficios derivados de la reconexión de la ganadería y la agricultura. Esta práctica es relevante desde el punto de vista de la agricultura regenerativa, ya que tiene un gran potencial para reequilibrar los agroecosistemas y favorecer la resiliencia de la producción agrícola ante el contexto de cambio climático e inestabilidad actual.

Múltiples estudios valoran los beneficios derivados de la reconexión de herbívoros (principalmente rumiantes) con la agricultura (Khangura et al., 2023; Devasirvatham et al., 2020; de Faccio Carvalho et al., 2021; Lemaire et al., 2023; Rietra et al., 2022), es importante señalar que para la consecución de los mismos se requiere un manejo del ganado y estimación de la carga ganadera acorde con las circunstancias locales concretas del ecosistema agrario para evitar posibles impactos negativos derivados del sobrepastoreo. Este hecho tiene gran relevancia, ya que depara en mayor complejidad y necesidades de manejo del sistema.

La base fundamental de los beneficios reportados radica en el restablecimiento de los ciclos biogeoquímicos de nutrientes, materia orgánica y agua, promovido por la adición de un nivel trófico en el ecosistema agrario, así como la reducción del uso de insumos externos. Además, el aprovechamiento de la biomasa vegetal no digestible por el ser humano por parte del rumiante aumenta la cantidad de energía digestible producida por el sistema mediante la conversión en productos de origen animal, esto representa un factor relevante al hablar de aumento de rendimiento. El rumiante sirve al ecosistema agrario como una especie de “máquina” de reciclado de nutrientes y fijación de carbono, acelerando la descomposición de la materia orgánica producida por el cultivo (generalmente cultivos cubierta, cultivos secundarios o restos del cultivo principal) y proporcionando una fuente de materia orgánica lábil y con un elevado contenido en nutrientes fácilmente asimilables al suelo. Esto reduce la necesidad de fertilizantes químicos para el mantenimiento del siguiente cultivo, aumentando la eficiencia y resiliencia del sistema (de Faccio Carvalho et al., 2021; Lemaire et al., 2023).

Además, también se han reportado otros beneficios ecosistémicos asociados (Khangura et al., 2023; Devasirvatham et al., 2020; de Faccio Carvalho et al., 2021; Lemaire et al., 2023):

- Aumento de la biodiversidad, incluida la biota del suelo
- Reducción de las emisiones generadas por la agricultura, derivado de la reducción en el uso de fertilizantes químicos
- Secuestro de C en suelos y mejora de la calidad de los mismos
- Reducción de la presión de plagas y malas hierbas, así como de ectoparásitos animales
- Aumento de la resiliencia y estabilidad del sistema agrícola

Reducción del laboreo

La reducción del laboreo es una práctica clave en agricultura regenerativa. Los efectos del mínimo laboreo y no-laboreo han sido ampliamente estudiados gracias al potencial que presentan como vías para mejorar la salud del suelo, aumentar el rendimiento agrícola, minimizar la erosión y reducir y mitigar el cambio climático. La perturbación del suelo mediante el laboreo intensivo, y principalmente de corte y volteo (vertedera), causa múltiples problemas derivados de la alteración de la estructura del suelo y la inversión y exposición de horizontes subsuperficiales. Es una de las principales causas de erosión y pérdida de suelo de los terrenos agrícolas. Se ha demostrado que las prácticas de mínimo laboreo o laboreo de conservación proveen múltiples beneficios sobre la salud del suelo y el cultivo frente al laboreo intensivo, todos derivados de minimizar la alteración de la estructura del suelo (Khangura et al., 2023; Rietra et al., 2022):

- Reducción de tasas y riesgo de erosión y pérdida de suelo
- Aumenta la infiltración y retención de agua, minimiza pérdidas por escorrentía
- Reduce compactación del suelo e incrementa profundidad explorada por las raíces
- Favorece la proliferación y crecimiento de microorganismos con estructuras hifales, así como de la mesofauna y macrofauna del suelo
- Promueve el secuestro de carbono y aumenta la biodisponibilidad de nutrientes (mediado por microorganismos)
- Mejora el rendimiento agrícola y reduce emisiones netas de gases de efecto invernadero

En conjunto con la incorporación de restos de cosecha y rotación de cultivos, el mínimo laboreo se presenta como una de las prácticas más prometedoras para mejorar la salud del suelo y aumentar el secuestro de carbono en terrenos agrícolas de regiones climáticas templadas semiáridas (Khangura et al., 2023).

1.4. Lombrices como bioindicador de salud del suelo

Se entiende como bioindicador aquel organismo o comunidad capaz de proporcionar información sobre el estado de un ecosistema (en este caso el suelo) en base a su respuesta frente a cambios en el mismo. Este tipo de indicadores son muy interesantes para evaluar y monitorizar la salud del suelo, ya que son altamente sensibles y dinámicos: tienen la capacidad de responder ante ligeros cambios de manejo del suelo o perturbaciones, como la presencia de contaminantes o alteraciones de estructura y humedad, a escala temporal humana. Esto es muy relevante, ya que la valoración de la salud del suelo es una actividad compleja que depende de múltiples procesos cambiantes e interrelacionados.

Las lombrices de tierra son organismos clave en los ecosistemas edáficos, ya que contribuyen a la formación del suelo y a la mejora de sus condiciones físicas, lo que a su vez mejora el crecimiento vegetal y ayuda a mantener la salud de las comunidades microbianas del suelo (Edwards et al., 2022). De modo que están directamente relacionadas con la salud del suelo y proporcionan múltiples beneficios a nivel de propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Además, las lombrices han sido propuestas como bioindicadores de la salud y la contaminación del suelo (Edwards et al., 2022; Hirano y Tamae, 2011).

Las lombrices de tierra se clasifican en tres grandes categorías ecológicas de acuerdo con la profundidad en la que habitan y su rol en el ecosistema edáfico, éstos son: epigeas, endogeas y anécicas (Bouché, 1972; Bottinelli y Capowiez, 2021). Las lombrices epigeas habitan en la parte más superficial del suelo (5-10 cm), se alimentan de restos orgánicos depositados en la superficie y participan, por tanto, en el proceso de degradación de materia orgánica, algunas especies representativas son *Eisenia fetida* o *Lumbricus rubellus*. Las endogeas viven a mayor profundidad (10-30 cm), se alimentan de partículas de suelo y son constructoras de túneles, mejoran la porosidad, infiltración de agua y

favorecen la dispersión de nutrientes, *Aporrectodea rosea* o *Octolasion lacteum* se incluyen en este grupo. Por último, las lombrices anécicas, construyen galerías verticales a gran profundidad (hasta 2m), estas son las lombrices de mayor tamaño y son las principales responsables de las mejoras en la estructura y aireación del suelo, como por ejemplo *Octodrilus complanatus* o *Lumbricus terrestris*. Es importante indicar que muchas especies se encuentran en un punto intermedio entre una y otra categoría. Las lombrices tienen un papel esencial en la degradación de la materia orgánica en los suelos, generación de mucosa, la modificación de la comunidad microbiana, la formación de galerías y la producción de excrementos. Además, pueden modular propiedades del suelo como la porosidad, la capacidad de retención de agua, la estabilidad y la formación de los agregados (Gómez-Brandón y Domínguez, 2014).

El análisis de las lombrices del suelo nos permite evaluar la calidad y salud del suelo a nivel de organismo, suborganismo o población mediante (1) la abundancia, biomasa y composición de especies de la fauna de lombrices de tierra en un sitio particular, (2) el comportamiento de las lombrices de tierra individuales en contacto con un sustrato de suelo (preferencia/evitación/actividad), (3) la acumulación de sustancias químicas del suelo en el cuerpo y (4) los biomarcadores de estrés bioquímico/citológico como la actividad enzimática o la expresión génica en la lombriz de tierra (Fusaro et al., 2018; Pérès et al., 2011; Paoletti, 1999). Los métodos de muestreo son relativamente sencillos y están estandarizados, la evaluación de variables básicas, como la abundancia y biomasa, no requiere costes altos ni materiales específicos y puede proporcionar información valiosa orientativa de la salud del suelo.

No obstante, el uso de lombrices como bioindicador de la salud del suelo es una técnica relativamente novedosa que aún está en fase de exploración, y se requiere mayor conocimiento para extrapolar resultados contundentes a través de su evaluación. En

diversos estudios (Pérès et al., 201; Paoletti, 1999; Sutri et al., 2024; Cozim-Melges et al., 2025) se menciona la capacidad de respuesta de las lombrices frente a distintos factores bióticos y abióticos, los que mostraron impactos más significativos fueron los siguientes: textura del suelo, contenido de humedad, pH, metales pesados o contaminantes químicos (pesticidas), laboreo, cobertura del suelo y diversificación de cultivos.

1.5. Justificación y objetivos del ensayo

El manejo convencional de cultivos herbáceos de secano en la zona centro de la Península Ibérica se basa en la preparación del suelo previo al cultivo con un arado de vertedera (laboreo intensivo) y en métodos de fertilización química. Además, durante el periodo entre cultivos, ya sea en rotación o en monocultivo, lo habitual es dejar el suelo en barbecho tras otro pase de vertedera. De esta forma, durante varios meses por cada ciclo de cultivo el suelo queda desnudo y con la estructura totalmente alterada por la acción de la vertedera. Este tipo de manejo amenaza gravemente la salud del suelo y promueve procesos de erosión y pérdida de suelo muy intensos, acentuados por la climatología de la zona; además compromete la fertilidad del suelo y la producción de alimentos a corto, medio y largo plazo. Por ello, es necesario evaluar alternativas más sostenibles a las prácticas agrícolas actuales con el fin de ampliar el conocimiento y determinar qué alternativas ofrecen mejores soluciones.

En el ensayo planteado en este trabajo se han incluido prácticas de agricultura regenerativa en una rotación de cultivos herbáceos muy común en la zona de Segovia (girasol-trigo-barbecho). Sustituyendo el método tradicional de barbecho por dos tratamientos que incluyen manejos con laboreo reducido, aporte de restos de cultivo al suelo, cultivos cubierta con leguminosa y reconexión de ganadería; se pretende comparar

los efectos de la inclusión de prácticas de agricultura regenerativa frente al manejo convencional sobre la salud del suelo.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar el impacto del uso de alternativas de manejo regenerativas frente al método convencional de labranza del suelo con arado de vertedera y período de barbecho sobre la salud del suelo mediante una selección de indicadores físicos, químicos y biológicos; incluyendo las lombrices de tierra como un bioindicador de salud del suelo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2. 1. Caracterización de la zona de estudio

El ensayo se localiza en el municipio de Duruelo, Segovia, y fue establecido en 2023 en las parcelas agrícolas 61 y 10061, polígono 2, con coordenadas: 41° 14' 35" N 3° 39' 7" W. La altitud es de 998 m sobre el nivel del mar, y la pendiente media es del 4% (MAPA, 2025a).

La caracterización climática de la zona se ha tomado de la estación meteorológica de Sepúlveda, con una localización que puede considerarse representativa. La temperatura media anual, según la serie climática de 1991 a 2021, es de 11,4 ° C, y la precipitación anual de 656 mm. El mes más lluvioso es noviembre (74 mm) y el más seco es julio (21 mm). La evapotranspiración potencial (ETP) de la zona se sitúa entre 700 – 720 mm año (AEMET e ITACyL, 2025).

Según la clasificación climática de Köppen (AEMET e ITACyL, 2025) la zona presenta un clima mediterráneo de veranos frescos (Csb): presenta inviernos suaves y húmedos y veranos frescos y secos, con un marcado déficit hídrico estival durante el verano. El índice de aridez según la clasificación UNEP-FAO es de 0,76 puntos, lo que indica un clima húmedo con cierto déficit estacional, manteniéndose un balance hídrico anual positivo.

Tabla 1. Valores climatológicos de Sepúlveda, serie climática 1991- 2021 (Climate Data.org, s. f.).

	En	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ag	Sept	Oct	Nov	Dic	Año
Temperatura media (°C)	2,8	3,5	6,5	9,2	13,2	18,6	21,7	21,7	17,5	12,5	6,2	3,6	11,4
Temperatura min. (°C)	-0,4	-0,5	1,7	4	7,3	11,9	14,6	14,8	11,6	7,8	2,8	0,3	6,3
Temperatura máx. (°C)	6,7	7,9	11,6	14,3	18,6	24,4	28,1	28,1	23,4	17,5	10,1	7,7	16,5
Precipitación (mm)	65	55	58	75	76	41	21	24	37	70	74	60	656
Humedad (%)	82	76	69	67	62	53	43	43	52	67	79	80	64
Días lluviosos (días)	8	7	7	9	9	6	3	4	5	8	9	8	6,9
Horas de sol (horas)	4,4	5,2	6,7	7,7	10	12	12,7	11,7	9,8	7	4,7	4,5	8
Temperatura media de las máximas en los meses más cálidos (°C)													26,9
Temperatura media de las mínimas en los meses más fríos (°C)													-0,2

Según la clasificación agroclimática de Papadakis, la zona en la que está ubicada la parcela cumple con las características de invierno, avena fresca (av), verano tipo trigo menos cálido (t), y régimen de humedad mediterráneo seco (Me) (de León Llamazares, 1987). Esta caracterización indica inviernos templados y húmedos, con pocas heladas severas; veranos moderadamente cálidos, con temperaturas máximas del mes más cálido entre 21 y 30 °C; y un régimen hídrico que presenta una clara sequía estival durante el verano, con las precipitaciones concentradas principalmente en invierno. El tipo climático de Papadakis en la zona es Mediterráneo templado fresco (MAPA, 2025b).

La parcela de estudio se ubica en la cuenca sedimentaria del Duero-Almazán en un entorno geomorfológico dominado por terrazas fluviales altas formadas entre el Plioceno y el Pleistoceno inferior. El sustrato de la unidad geológica está compuesto mayoritariamente por gravas, cantos y arenas, con presencia puntual de arcillas y posibles encostramientos carbonatados. También se identifican, en un ámbito más amplio, materiales del Cuaternario como conglomerados, arenas, lutitas, margas, calcarenitas y calizas travertínicas (IGME-CSIC, 2025).

Los suelos de la zona son luvisoles háplicos (AEMET e ITACyL, 2025), caracterizados por presencia de un horizonte argílico, con acumulación de arcillas en capas inferiores pero sin acumulación de carbonatos u horizonte albico.

2.2. Diseño experimental

El ensayo fue establecido en octubre de 2023 en una superficie de 2 ha, sobre una rotación bianual de dos cultivos: Girasol (*Helianthus annuus* L., var. LG.54.85) y Trigo (*Triticum aestivum* L., var. Chambo). Se han definido cuatro tratamientos, que difieren principalmente en el manejo realizado durante el período tradicional de barbecho entre los cultivos principales y en la introducción o no de pastoreo con ganado bovino. Se caracterizan de forma sintética por:

- Suelo Desnudo labrado con arado de vertedera sin fertilización (SDO);
- Suelo Desnudo labrado con arado de vertedera con Fertilización (SDF);
- Cubierta Vegetal de avena (*Avena sativa* L.) y veza (*Vicia sativa* L. subsp. *sativa*) incorporada en primavera al suelo como abono verde (CVE);
- Cubierta Vegetal de avena y veza con pastoreo de cubiertas y residuos de cultivo por Ganado vacuno (*Bos taurus* L. raza Berrenda en Negro) (CVG).

Los tratamientos se replicaron cuatro veces y se distribuyeron en 16 parcelas experimentales de 14,14 m x 63,63 m, organizadas en 4 bloques.

Este estudio evalúa los efectos de los tratamientos en la primavera del segundo año de la rotación (abril 2025), transcurridos 18 meses desde el inicio del ensayo, por lo que se considera un estudio a corto plazo.

2.3. Manejo agronómico

En los tratamientos de Suelo Desnudo se realizó un volteo del suelo con vertedera en noviembre 2023, quedando el terreno en barbecho durante el periodo invernal, en abril de 2024 se realizó un pase de semichisel de cara a preparar el terreno para la siembra de girasol.

En los tratamientos con Cubierta Vegetal se sembró una mezcla de avena y veza en octubre de 2023 tras un pase de semichisel. En abril de 2024 se introdujo el ganado en las

parcelas CVG para pastorear la cubierta. Posteriormente, en el mismo mes, se hizo un pase de grada de discos en todas las parcelas CVG y CVE para terminar e incorporar las cubiertas y deyecciones al suelo.

En mayo de 2024, se aplicó una fertilización convencional en las parcelas SDF (6-8-10 a una dosis de 120 kg/ha). Posteriormente, se realizó un pase de semichisel en todas las parcelas del ensayo y se sembró girasol.

El girasol se cosechó en octubre de 2024. En las parcelas CVG se introdujo el ganado a pastar los restos del cultivo. En SDF se aplicó una fertilización de fondo (200 kg/ha de ENTEC 15-13-13). Posteriormente se hizo otro pase con semichisel en toda la parcela y se sembró trigo.

Durante el cultivo del trigo se aplicó una fertilización de cobertera en SDF (100 kg/ha de nitrosulf27 eurochem), y en CVE se aplicó una dosis reducida (75 kg/ha de NAC 27). El trigo se cosechará en julio de 2025 y se iniciará el siguiente ciclo de la rotación.

2.4. Métodos de muestreo

El muestreo se realizó el 24 de abril de 2025 en el segundo año de la rotación, con el trigo en fase de encañado. Para el análisis de suelo se tomaron 32 muestras en total, haciendo uso de un muestreador cilíndrico de 5 cm de diámetro interno. En cada parcela se tomaron dos muestras alteradas, compuestas de 3 puntos en zigzag a 2 profundidades: 0 – 10 cm y 10 – 25 cm. Las muestras se conservaron en nevera de campo hasta su traslado al laboratorio en el mismo día, momento en el cual se conservaron a 4°C hasta su preparación.

El muestreo de lombrices se realizó in situ, de acuerdo con (Fiorini et al., 2020). Se tomaron dos submuestras por parcela de un monolito de suelo de 25 x 25 x 25 cm, de modo que se obtuvieron un total de 16 muestras. Posteriormente, se obtuvieron las

lombrices, descomponiendo manualmente el núcleo de suelo intacto para facilitar la extracción de las lombrices una a una y contando el número de individuos presentes en el suelo. Estas fueron lavadas en agua destilada y se recogieron en tubos Falcon (50mL) con etanol 70% para su posterior análisis en el laboratorio.

2.5. Procedimientos de laboratorio

Al día siguiente del muestreo, las muestras de suelos fueron fraccionadas en 3 partes: una parte fue secada al aire, otra conservada en nevera a 4°C y la tercera conservada en congelador a -20°C. El contenido en elementos gruesos (> 2mm) de las muestras fue despreciable. La tierra fina seca al aire se empleó para la determinación de las variables físico-químicas de carácter general. Una submuestra de la tierra fina seca al aire fue molida con molino de bolas de óxido de circonio para la posterior medida de C y N. Las medidas de carácter microbiológico se realizaron en las muestras frescas conservadas a 4°C. A continuación, se explican brevemente los métodos analíticos empleados.

2.5.1. Humedad del suelo

La humedad de la muestra se determina por diferencia de peso entre una submuestra fresca (húmeda) y el peso de la misma tras secado en estufa durante un período de 24-48h hasta peso constante (Gardner, 1986). La humedad de las muestras se determinó en las muestras frescas al día siguiente de su extracción (Humedad de campo) con objeto de realizar el ajuste del peso seco de la muestra en los cálculos de las diferentes variables.

2.5.2. pH

Se midió el pH actual de la muestra en una suspensión suelo / agua destilada 1:2,5 (p/v) con un pH-metro modelo micropH 2000 CRISON tras la calibración con patrones a pH 7 y pH 4. La suspensión se realizó pesando 10 g de tierra fina y añadiendo 25 ml de agua destilada, que se dejó en reposo tras agitación (Thomas, 1996).

2.5.3. Conductividad Eléctrica (CE)

Se midió la conductividad eléctrica de la muestra normalizada a 25°C en la misma suspensión suelo / agua destilada 1:2,5 (p/v) que se utilizó para pH con un conductímetro modelo microCM 2200 CRISON con corrector automático de temperatura. En el momento de realizar la medida se midió la temperatura de la suspensión para aplicar un factor de corrección y expresar la CE normalizada a 25°C (Rhoades, 1996).

2.5.4. Carbono Orgánico Total (COT) y Nitrógeno total (N total)

Para la determinación del contenido total de Carbono y Nitrógeno del suelo se empleó el método de combustión seca con un analizador elemental modelo EA2400 CHNS PerkinElmer, basado en el principio del método de Dumas (Bremner, 1996; Nelson y Sommers, 1996). El procedimiento consiste en la combustión completa de las muestras a alta temperatura en presencia de exceso de oxígeno, promoviendo la oxidación total del C y N en CO₂ y N₂. Posteriormente se determina la cantidad generada de estos gases mediante espectroscopía infrarroja para el CO₂ y conductividad térmica para el N₂.

Ante la ausencia de carbono inorgánico (prueba con HCl 11%) y el pH ácido, se asumió que la medida de C total corresponde al carbono orgánico total (Soil Survey Staff, 2014).

2.5.5. Determinación del contenido en nutrientes

Para la determinación del contenido de nutrientes del suelo se realizó una extracción multielemental de macro- y micronutrientes siguiendo el método de Mehlich 3 (Mehlich, 1984). Se utiliza una solución extractante y quelante ácida, que favorece la liberación de nutrientes de distinta naturaleza (cationes/aniones) del complejo de cambio, mediante bajada de pH y reacciones de complejación. Para la extracción se mezcló y agitó una submuestra de suelo seco al aire con la solución Mehlich-3 en una relación 1:10; posteriormente se filtró con un filtro Whatman 42 para obtener los extractos. Este

procedimiento se repitió para blancos sin muestra de suelo. Los extractos se analizaron en el Laboratorio de Ionómica del CEBAS-CSIC con un espectrómetro de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) que proporcionó la concentración de 30 elementos. Tras restar la concentración de los blancos y ajustar por peso de suelo seco, se transformaron los valores en a g/kg o mg/kg de suelo.

2.5.6. Nitrógeno Potencialmente Mineralizable (NPM)

Para determinar el NPM se mide la cantidad de amonio (resultado de la mineralización del nitrógeno) producida en condiciones de incubación anaeróbica a 37°C durante 7 días y en un duplicado fresco no incubado (Schindelbeck et al., 2016). Las muestras incubadas se mezclan con agua destilada para proveer unas condiciones anaeróbicas durante la incubación; el resto del procedimiento es igual para las incubadas y no incubadas, a excepción de la cantidad y concentración del KCl utilizado como extractante. Después de la incubación se añade KCl 2 M ò 2,64M a las muestras de suelo incubadas o no incubadas, respectivamente, se agitan durante 30 minutos y finalmente se filtra el extracto y se guarda en congelador hasta el momento de medición del amonio. En las muestras no incubadas se realiza la extracción el mismo día (T0) en el que se preparan las dobles para incubar.

El NPM se determina por diferencia entre la cantidad de amonio producido por las muestras incubadas y no incubadas. El amonio se midió con un equipo autoanalizador de flujo modelo AutoAnalyzer AA 100 Seal Analytical en el Laboratorio de Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA-CSIC).

2.5.7. Respiración Basal (RB) y Respiración Inducida por Substrato (SIR)

En ambas medidas se incuba una muestra de suelo fresca en un recipiente hermético junto con una trampa de hidróxido de sodio (NaOH) que captura el CO₂ producido durante la

incubación. Se añaden varios blancos sin suelo para determinar la cantidad de CO₂ liberado en las muestras. Posteriormente se cuantifica el CO₂ liberado utilizando la trampa de NaOH correspondiente a cada muestra (Alef y Nannipieri, 1995).

Para la respiración basal se incubaron las muestras con la trampa de hidróxido sódico durante un período de 24h a 22°C, pasado este período se extrajeron las trampas de CO₂ para la valoración. Las mismas muestras se utilizaron posteriormente para medir la respiración inducida por substrato, para ello se añadió y mezcló un substrato a base de glucosa y talco (aditivo) con el suelo, se colocaron en los recipientes nuevas trampas de hidróxido sódico y se incubaron durante 2 h a 22 °C.

Para cuantificar el CO₂ liberado en cada muestra se hace una valoración de las trampas de hidróxido sódico. El NaOH reacciona con el CO₂ formando carbonato de sodio (Na₂CO₃), tras la incubación se retira el Na₂CO₃ haciéndolo precipitar con cloruro de bario (BaCl₂). Posteriormente se cuantifica el NaOH por titulación con ácido clorhídrico (HCl) y fenoftaleína como indicador.

2.5.8. Carbono de la Biomasa Microbiana (CBM)

El carbono de la biomasa microbiana representa el C contenido en los microorganismos del suelo, es un indicador muy sensible de la actividad biológica del suelo. Para cuantificarlo hemos seguido el método de fumigación-extracción con cloroformo (Brookes et al., 1985; Vance et al., 1987).

La exposición a una atmosfera con cloroformo causa la lisis celular de los microorganismos, liberándose así el carbono orgánico contenido en los mismos a la solución del suelo. En este procedimiento se preparan muestras duplicadas para cuantificar por diferencia el carbono asociado a la biomasa microbiana del suelo frente al Carbono Orgánico Soluble (COS) presente en el suelo, en las muestras fumigadas y no

fumigadas, respectivamente. En ambos casos se realiza la extracción del C con una solución de sulfato de potasio (K_2SO_4) para su posterior valoración.

En las muestras no fumigadas se realiza la extracción en el mismo momento en el que se introducen las fumigadas en la incubadora (T0), y se conserva el extracto en nevera hasta su valoración. Las muestras fumigadas se introducen en incubadora durante un periodo de 48 h a 22 °C en una atmósfera con cloroformo, pasado este tiempo se les añade la solución extractante y se filtran para su posterior valoración.

Para la valoración del C se realizó un proceso previo de digestión del carbono orgánico a 135 °C durante 40 minutos en presencia de dicromato ($Cr_2O_7^{2-}$), durante el cual el carbono se oxida a CO_2 reduciendo parte del dicromato a Cr^{3+} (Yakovchenko y Sikora, 1998). Posteriormente, se realiza una valoración redox por retroceso del exceso de dicromato con sal de Möhr ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$), utilizando ortofenantrolina como indicador (Nelson y Sommers, 1996). El volumen de dicromato consumido en la reacción de oxidación se relaciona directamente con la cantidad de carbono oxidado, permitiendo calcular el C en cada muestra. La diferencia de C entre muestras fumigadas y no-fumigadas es el carbono de la biomasa microbiana.

2.5.9. Actividades Enzimáticas

En nuestro análisis se han determinado los niveles de actividad de cuatro enzimas relevantes en los ciclos del carbono, fósforo, nitrógeno y azufre: β -glucosidasa (GLU), fosfatasa ácida (PHO), N-acetil-glucosaminidasa (NAG) y ureasa (URE), de acuerdo con la norma UNE-EN ISO 20130:2020 (UNE, 2020).

Para ello, se incubaron las muestras en presencia de sustratos específicos a 37 °C y durante el tiempo indicado para cada enzima. En el caso de GLU, PHO y NAG, los sustratos estaban unidos al indicador molecular p-nitrofenol (PNP), al consumirse el

substrato se libera el PNP y es detectable por espectrofotometría colorimétrica. En el caso de URE, la determinación se basa en la cuantificación de la proporción amoniaco/amonio generado durante la incubación mediante la reacción de Berthelot (Cantarella, 2007), que genera un compuesto azul medible por espectrofotometría.

Para la determinación de la cantidad de producto generado se utilizó un lector de microplacas de absorbancia modelo BMG LABTECH SPECTROstar Nano. Los resultados se expresaron como cantidad de producto liberado por gramo de suelo seco y por hora, tras la interpolación con curvas estándar de PNP o NH_4^+ .

2.5.10. Análisis de lombrices

La evaluación de las lombrices se realizó mediante el recuento del número de lombrices por muestra, la determinación del peso (g) y medida (mm) individuales. Estas medidas fueron utilizadas para determinar la abundancia (N° lombrices/ m^2) y la biomasa (g/m^2). Para lo cual se contaron, pesaron y midieron con una balanza calibrada y un vernier.

2.6. Métodos estadísticos

Se empleó el programa Statgraphics Centurion 19 para realizar el análisis estadístico de 29 propiedades del suelo, con 32 observaciones cada una. Con ayuda de un Modelo Lineal General (MLG), se aplicó un análisis de varianza en donde los factores de estudio individuales (Tratamiento y Profundidad) y su interacción se consideraron factores fijos y el bloque factor aleatorio. El factor Tratamiento contó con 4 niveles (CVE, CVG, SDF y SDO), el factor Profundidad de estudio con 2 (0-10 cm y 10-25 cm) y el factor Bloque con 4. Previamente se analizaron los outliers (residuo estudentizado >3) y se comprobó la aplicabilidad del análisis de varianza mediante el estudio de las gráficas de probabilidad normal de los residuos estudentizados. En caso necesario, se aplicó una transformación box cox a las variables. Así, las variables que fueron transformadas por este

procedimiento fueron N total (-0,125) y nitrógeno potencialmente mineralizable (-0,146875). En la sección de resultados, las tablas muestran las medias y desviación típica de las variables originales no transformadas, mientras que los resultados del ANOVA y la prueba post-hoc corresponden a la variable transformada.

Cuando el ANOVA indicó diferencias estadísticamente significativas entre las medias (p-valor < 0,05), se aplicó la prueba HSD (Honestly Significant Difference) de Tukey para realizar comparaciones e identificar entre qué medias las diferencias eran estadísticamente significativas para un nivel de significación del 95% (y eventualmente para el 90%).

En caso de una interacción Tratamiento x Profundidad significativa para un nivel de significación del 95% (y eventualmente para el 90%), se obtuvo la Gráfica de Interacción con sus medias e intervalos HDS Tukey y se creó un MLG con los factores Tratamiento y Bloque para cada profundidad por separado, procediendo como en el caso anterior.

Para el análisis estadístico de los datos de lombrices se recurrió a un procedimiento diferente, debido a que se disponía de un número menor de réplicas y por tanto de muestras totales. Primero se verificó la normalidad con la prueba de Shapiro Wilk, debido a que $n < 50$, en el caso de cumplirse normalidad se evaluó la homocedasticidad o varianza con el test de Levene, . En el caso del parámetro Abundancia se cumplían ambos supuestos (normalidad y homocedasticidad), por lo que se realizó el análisis estadístico con un ANOVA multivariable que contenía los factores Tratamiento (4) y Bloque (3). En el caso del parámetro Biomasa, los datos no cumplieron el supuesto de normalidad, por lo que se aplicó la prueba no-paramétrico de Kruskal Wallis.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan y discuten los resultados obtenidos en función de los factores Tratamiento (F1) y Profundidad (F2), así como la interacción entre los mismos (F1xF2). En las tablas se muestran los valores medios y la desviación típica de cada variable, así como el P-valor de los efectos obtenidos en el ANOVA.

Se evalúan una serie de propiedades del suelo, organizadas en fisicoquímicas: Humedad de campo, pH, Conductividad Eléctrica (CE), Carbono Orgánico Total (COT) y Nitrógeno total (N total); contenido de nutrientes del suelo: Nitrógeno mineral (N min), Fósforo (P), Potasio (K), azufre (S), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Hierro (Fe) y Cobre (Cu); propiedades biológicas: Respiración Basal (RB), Respiración Inducida por Substrato (SIR), Nitrógeno Potencialmente Mineralizable (NPM), Carbono de la Biomasa Microbiana (CBM) y actividades enzimáticas: β -glucosidasa (GLU), fosfatasa ácida (PHO), N-acetil-glucosaminidasa (NAG), ureasa (URE). También se hace una evaluación de las lombrices en base a los parámetros de Abundancia y Biomasa.

3.1. Propiedades fisicoquímicas del suelo

Gran parte de las propiedades mostraron interacción tratamiento x profundidad con diferencias por tratamiento en la capa más superficial, mientras que no hubo respuesta en la capa más profunda. Los resultados mostraron efectos significativos por tratamiento en pH. En humedad de campo, carbono orgánico total y nitrógeno total, se encontraron mayores valores en los tratamientos con cubiertas vegetales en la capa más superficial del suelo. La conductividad eléctrica no mostró diferencias significativas, se mantuvo baja en todos los casos. También se realizó un análisis del contenido en nitrato ($2,19 \pm 0,16$ mg/kg), amonio ($4,47 \pm 0,16$ mg/kg), carbono orgánico disuelto ($34,6 \pm 1,96$ mg/kg) y relación carbono/nitrógeno ($9,96 \pm 0,11$ C/N), que no mostraron diferencias significativas entre manejos o profundidades de estudio (datos no mostrados).

Tabla 2. Resultados del ANOVA para las propiedades fisicoquímicas del suelo: pH, conductividad eléctrica (CE), carbono orgánico total (COT) y nitrógeno total (N total) según los factores tratamiento y profundidad.

Factor	Nivel	Humedad de campo (%)	pH	CE (dS/m)	COT (%)	N total (%)
Tratamiento (F1)	CVE	19,39 ± 1,74 a	6,05 ± 0,21 a	0,042 ± 0,008 a	0,78 ± 0,12 ab	0,079 ± 0,009 a
	CVG	20,37 ± 1,67 a	6,32 ± 0,23 b	0,041 ± 0,006 a	0,84 ± 0,17 b	0,082 ± 0,012 a
	SDF	19,24 ± 1,34 a	6,05 ± 0,25 a	0,046 ± 0,009 a	0,76 ± 0,08 a	0,079 ± 0,006 a
	SDO	19,37 ± 1,03 a	6,46 ± 0,26 b	0,037 ± 0,011 a	0,77 ± 0,11 ab	0,075 ± 0,007 a
Profundidad cm (F2)	0–10	20,34 ± 1,26 b	6,26 ± 0,28 a	0,043 ± 0,009 a	0,84 ± 0,12 b	0,083 ± 0,009 b
	10–25	18,84 ± 1,30 a	6,18 ± 0,30 a	0,040 ± 0,008 a	0,74 ± 0,09 a	0,075 ± 0,006 a
P-valor	F1	0.134	0.000	0.215	0.044	0.170
	F2	0.000	0.170	0.206	0.000	0.000
	F1 × F2	0.011	0.490	0.481	0.000	0.001

Media ± desviación típica. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba HSD Tukey para $P < 0.05$ P-valor en negrita indica un nivel de significación $> 95\%$. CVE: cubierta vegetal enterrada, CVG: cubierta vegetal pastada, SDF: suelo desnudo fertilizado, SDO: suelo desnudo sin fertilización; F1x F2: interacción tratamiento x profundidad.

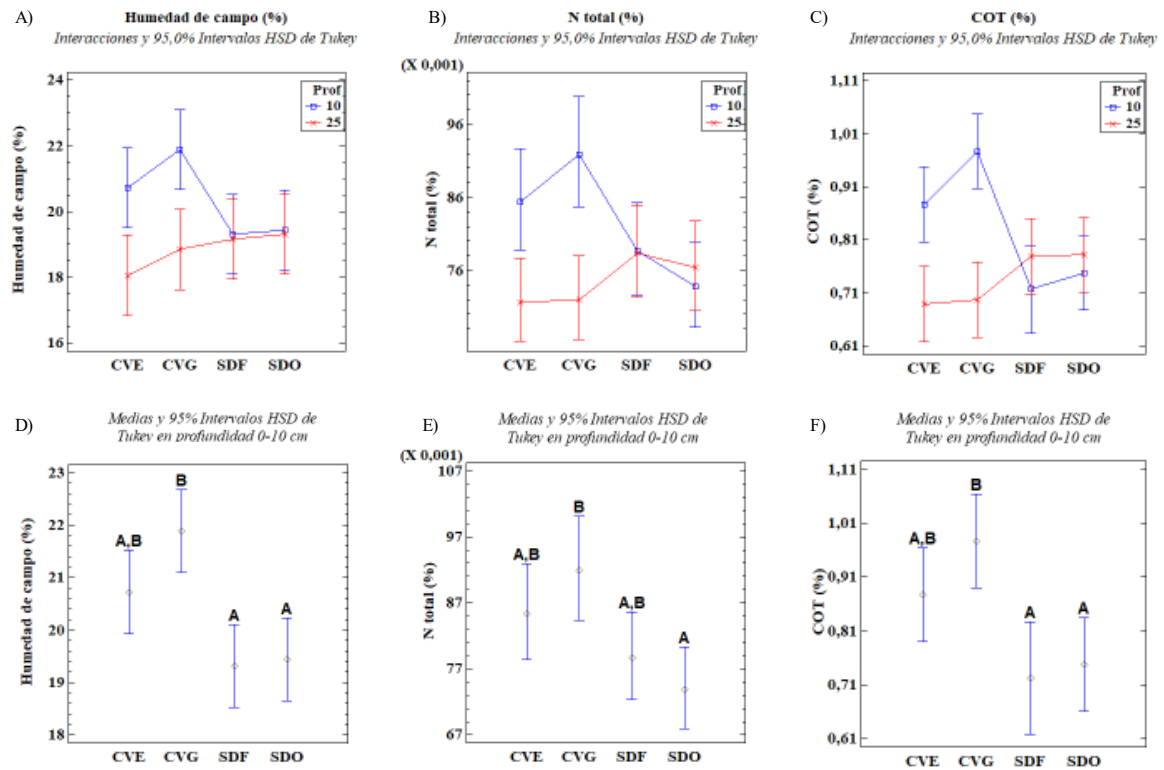


Figura 1. Interacción (A, B, C) de los distintos tratamientos con la profundidad del suelo e intervalos de medias en la profundidad 0-10 (D, E, F) de las variables fisicoquímicas del suelo que mostraron un nivel de interacción significativo.

CVE: cubierta vegetal enterrada, CVG: cubierta vegetal pastada, SDF: suelo desnudo fertilizado, SDO: suelo desnudo sin fertilización; N total: nitrógeno total; COT: carbono orgánico total

Los resultados mostraron diferencias significativas entre tratamientos en el pH, que presenta valores en torno a 6 - 6,5 (Tabla 2). Se distinguen dos grupos homogéneos claros: SDO y CVG presentaron valores un 6% más altos que SDF y CVE. Esta diferencia se podría atribuir a una bajada de pH provocada por la aplicación de fertilizantes en SDF; y por la producción de ácidos orgánicos durante la descomposición de la biomasa vegetal enterrada proveniente de las cubiertas en CVE. Por otro lado, el pH más alto en CVG respecto a CVE podría explicarse considerando el efecto de las deyecciones del ganado bovino incorporadas al suelo, que tienen un pH de entre 7-8 en función de la alimentación y otros factores (Betrán, Orús y Quílez, 2000; Mangado Urdániz y Garraza Pérez, 2013). Los tratamientos solo afectaron la humedad de campo, N total y COT en la capa de menor profundidad 0-10 cm, en la profundidad 10-25 cm no se encontraron diferencias por tratamiento (Tabla 2; Figura 1). Los tres parámetros mostraron mayores valores en la profundidad 0-10 cm y tratamientos con cubiertas. Se observaron máximos en CVG, que presentó diferencias estadísticamente significativas respecto a SDO en humedad y carbono orgánico total.

El mantenimiento de raíces vivas en el suelo durante todo el año y el aporte de materia orgánica deberían mejorar la infiltración y retención de agua, minimizando pérdidas por escorrentía o evaporación directa del suelo (Khangura et al., 2023). Los efectos fueron acordes a lo esperado, los mayores valores de humedad se dieron en los tratamientos con cubiertas, perteneciendo los máximos a CVG; mientras que los tratamientos de suelo desnudo presentaron valores más bajos.

En cuanto al nitrógeno total y carbono orgánico total, resulta consecuente que un mayor aporte de materia orgánica al suelo incremente ambos valores (Khangura et al., 2023), en los resultados se puede ver como CVG es el tratamiento que presenta valores mayores que el resto en ambos parámetros, seguido de CVE (Tabla 2, Figura 1). El aporte de

materia orgánica en los tratamientos con cubiertas vegetales debe ser el factor que determina este patrón y la correlación entre ambos parámetros.

En el caso del N total (Figura 1B), al haber aporte de fertilizantes en SDF los valores son similares a CVE, y un 4,5% menores que en CVG; esta tendencia podría indicar que el aporte de material vegetal fresco provee N a una velocidad menor que en el caso del pastoreo, donde la velocidad de descomposición de la materia orgánica se puede ver acelerada mediante el proceso de rumiación y digestión efectuado por el ganado (Lemaire et al., 2023); no obstante, la biomasa vegetal al ser enterrada podría proveer una cantidad de N al suelo significativa y más o menos equivalente al uso de fertilizantes químicos.

En el COT se observó un patrón similar (Figura 1C), pero CVE en este caso presentó valores un 2,5% mayores que SDF. Se puede apreciar como el uso de cubiertas vegetales frente a barbecho en el período entre cultivos aumenta el contenido en carbono orgánico del suelo mediante el aporte de materia orgánica (Khangura et al., 2023; Sullivan, 2003), los mayores efectos se observaron de nuevo en el tratamiento con ganado.

3.2. Concentración de nutrientes del suelo

Excepto en el caso del nitrógeno mineral (N min), en el resto de macro y micronutrientes presentados en la Tabla 3 se encontraron diferencias estadísticamente significativas por tratamiento, sin embargo, la interacción tratamiento x profundidad no fue significativa en ningún caso. Solo se encontraron diferencias por profundidad en el potasio (K), con mayores valores en la capa más superficial del suelo (0-10 cm).

También se analizó la concentración de zinc ($0,95 \pm 0,06$ mg/kg) y plomo ($3,14 \pm 0,07$ mg/kg), no mostraron diferencias estadísticamente significativas para ningún factor (datos no mostrados).

Tabla 3. Resultados del ANOVA para la concentración de nutrientes del suelo: nitrógeno (N min), fósforo (P), potasio (K), azufre (S), calcio (Ca), magnesio (Mg), hierro (Fe) y cobre (Cu) según los factores tratamiento y profundidad.

Factor	Nivel	N min (mg/kg)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	S (mg/kg)
Tratamiento (F1)	CVE	7,00 ± 1,91 a	23,82 ± 8,97 ab	97,20 ± 21,04 a	16,84 ± 2,90 a
	CVG	7,39 ± 1,42 a	22,08 ± 12,28 a	117,0 ± 32,21 ab	19,49 ± 1,39 ab
	SDF	6,36 ± 1,06 a	29,55 ± 7,63 b	113,0 ± 24,22 ab	20,40 ± 3,55 b
	SDO	5,72 ± 0,79 a	28,38 ± 11,93 b	138,1 ± 30,65 b	17,19 ± 2,85 a
Profundidad cm (F2)	0-10	6,83 ± 1,38 a	25,89 ± 10,13 a	130,7 ± 27,67 b	18,39 ± 3,20 a
	10-25	6,48 ± 1,54 a	26,03 ± 10,92 a	101,9 ± 25,41 a	18,50 ± 3,09 a
P-valor	F1	0.135	0.006	0.008	0.008
	F2	0.590	0.927	0.000	0.816
	F1 × F2	0.325	0.820	0.447	0.893
Factor	Nivel	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)
Tratamiento (F1)	CVE	1556,8 ± 419,5 a	226,0 ± 61,61 a	162,0 ± 19,82 a	1,29 ± 0,13 ab
	CVG	1840,5 ± 311,8 b	273,9 ± 44,77 b	157,6 ± 13,40 a	1,25 ± 0,07 a
	SDF	1785,7 ± 546,1 ab	254,8 ± 83,64 ab	192,1 ± 22,62 b	1,47 ± 0,19 b
	SDO	1796,6 ± 473,5 b	263,1 ± 68,47 ab	179,3 ± 15,67 ab	1,44 ± 0,12 b
Profundidad cm (F2)	0-10	1753,2 ± 459,3 a	260,2 ± 68,64 a	172,7 ± 22,68 a	1,41 ± 0,19 a
	10-25	1736,6 ± 431,5 a	248,6 ± 63,64 a	172,8 ± 22,64 a	1,32 ± 0,12 a
P-valor	F1	0.015	0.031	0.011	0.005
	F2	0.787	0.299	0.982	0.105
	F1 × F2	0.876	0.925	0.938	0.952

Media ± desviación típica. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba HSD Tukey para $P < 0.05$ P-valor en negrita indica un nivel de significación $> 95\%$. CVE: cubierta vegetal enterrada, CVG: cubierta vegetal pastada, SDF: suelo desnudo fertilizado, SDO: suelo desnudo sin fertilización; F1 x F2: interacción tratamiento x profundidad.

En general, los valores de nutrientes fueron mayores en los tratamientos de suelo desnudo, y en algunos casos (K, S, Ca, Mg) también en cubierta vegetal pastada. En cambio, CVE tendió a mostrar los contenidos de nutrientes más bajos. Esta tendencia coincide con lo esperable y se podría asociar a la inmovilización de nutrientes por las cubiertas vegetales, haciendo que baje la disponibilidad de nutrientes en forma mineral a corto plazo. En el caso de incorporar la biomasa producida por la cubierta como abono verde, los nutrientes podrían devolverse al suelo, pero su disponibilidad en forma mineral sería a medio-largo

plazo, ya que éstos se irían liberando durante el proceso de descomposición de la materia orgánica (Sullivan, 2003). Para ciertos nutrientes (K, S, Ca, Mg) el pastoreo parece haber tenido una influencia significativa, aumentando su contenido en el suelo frente al tratamiento CVE. Esto podría explicarse a través de la forma química y concentración en la que se presentan los nutrientes en las deyecciones del ganado bovino frente a la biomasa vegetal fresca. El estiércol de ganado bovino podría ser una fuente de materia orgánica más lábil y con un mayor contenido de nutrientes en forma mineral que la biomasa vegetal fresca proveniente de las cubiertas vegetales (Lemaire et al., 2023).

Por otro lado, sería esperable que el contenido en nutrientes fuera más alto en el tratamiento fertilizado, ya que se han aplicado abonos durante el ciclo de cultivo; la similitud de valores con SDO y CVG puede indicar que ciertos nutrientes ya habían sido consumidos por el cultivo en el momento del muestreo, que se realizó en la fase de encañado del trigo. Esta hipótesis podría explicar también la falta de diferencias significativas entre tratamientos en N mineral, ya que el trigo consume prácticamente todo el N que requiere en estadios previos hasta la fase de encañado (López Bellido, 1991). La falta de diferencias significativas en N mineral podría indicar que las diferencias observadas entre tratamientos con cubiertas y tratamientos con suelo desnudo para N total estén en función del N orgánico aportado en forma de biomasa y deyecciones que aún no ha sido mineralizado.

3.3. Parámetros biológicos del suelo

En la respiración basal (RB) y nitrógeno potencialmente mineralizable (NPM) se dio interacción estadísticamente significativa entre los factores, mostrando un patrón muy interesante relacionado con N total y COT (Figura 2; Figura 1). La respiración inducida por substrato (SIR) y el carbono de la biomasa microbiana (CBM) no mostraron diferencias significativas por tratamiento, en SIR se encontraron diferencias por profundidad.

Tabla 4. Resultados del ANOVA de parámetros biológicos del suelo: respiración basal (RB), respiración inducida por sustrato (SIR), nitrógeno potencialmente mineralizable (NPM) y carbono de la biomasa microbiana (CBM) según tratamiento y profundidad

Factor	Nivel	RB (mg C-CO ₂ /g·día)	SIR (mg C-CO ₂ /g·día)	NPM (mg/kg·semana)	CBM (mg/kg)
Tratamiento (F1)	CVE	0,0072 ± 0,0039 a	0,12 ± 0,05 a	9,05 ± 4,73 ab	103,9 ± 24,19 a
	CVG	0,0087 ± 0,0072 a	0,13 ± 0,07 a	12,02 ± 7,60 b	124,4 ± 44,67 a
	SDF	0,0082 ± 0,0054 a	0,11 ± 0,03 a	6,32 ± 1,24 a	119,0 ± 34,73 a
	SDO	0,0076 ± 0,0050 a	0,12 ± 0,04 a	6,52 ± 1,00 a	129,3 ± 58,63 a
Profundidad cm (F2)	0-10	0,0095 ± 0,0052 b	0,15 ± 0,03 b	11,56 ± 5,76 b	121,6 ± 38,85 a
	10-25	0,0064 ± 0,0049 a	0,08 ± 0,03 a	5,71 ± 1,06 a	116,3 ± 43,66 a
P-valor	F1	0.688	0.772	0.000	0.647
	F2	0.040	0.000	0.000	0.690
	F1 × F2	0.018	0.129	0.000	0.183

Media ± desviación típica. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba HSD Tukey para $P < 0.05$ P-valor en negrita indica un nivel de significación $> 95\%$. CVE: cubierta vegetal enterrada, CVG: cubierta vegetal pastada, SDF: suelo desnudo fertilizado, SDO: suelo desnudo sin fertilización; F1 x F2: interacción tratamiento x profundidad.

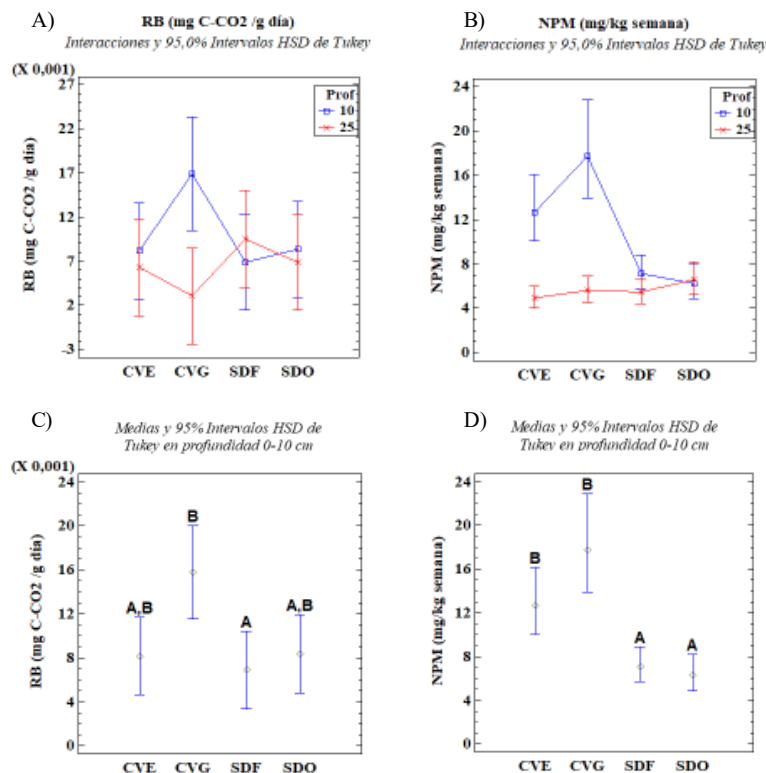


Figura 2. Interacción (A, B) de los distintos tratamientos con la profundidad del suelo e intervalos de medias en la profundidad 0-10 (C, D) de los parámetros biológicos del suelo que mostraron un nivel de interacción significativo.

CVE: cubierta vegetal enterrada, CVG: cubierta vegetal pastada, SDF: suelo desnudo fertilizado, SDO: suelo desnudo sin fertilización; RB: respiración basal; NPM: nitrógeno potencialmente mineralizable.

Los parámetros de respiración basal y nitrógeno potencialmente mineralizable mostraron un nivel de interacción significativo entre tratamiento y profundidad, con diferencias estadísticamente significativas en la profundidad 0-10 cm entre los distintos tratamientos.

En ambos casos se define un patrón en el que CVG muestra máximos (Figura 2), similar al mostrado por el N total y COT (Figura 1), que también muestran máximo en CVG seguido por CVE.

En la respiración basal se mide el C-CO₂ emitido por los microorganismos del suelo, proveniente del COT tras haber sido metabolizado por los microorganismos. Si se comparan las gráficas de RB y COT (Figura 2A; Figura 1C), se puede ver un patrón similar con valores máximos en el tratamiento CVG, y valores similares entre sí en el resto de tratamientos, distinguiéndose en el carbono orgánico valores ligeramente más altos de CVE frente a los tratamientos de suelo desnudo. El carbono orgánico del suelo es el sustrato del que disponen los microorganismos que habitan en él para realizar sus funciones metabólicas, por lo que es coherente que ambas propiedades muestren tendencias similares (Eberwein et al., 2015).

De forma similar, el NPM expresa la fracción de N total que está potencialmente disponible para los microorganismos del suelo. Si se observan las gráficas de NPM y N total (Figura 2B; Figura 1B) se puede ver también un patrón similar entre ellas, con valores más altos en CVG y CVE que en SDF y SDO; en este caso, las diferencias son altamente significativas entre los tratamientos con cubiertas y suelo desnudo. Resulta coherente que una mayor presencia de N total en el suelo pueda proporcionar mayores valores de NPM; además cabe destacar que no se habían encontrado diferencias en N min, lo que podría resaltar la importancia de la presencia de N orgánico en el suelo para los microorganismos (Eberwein et al., 2015).

Además, RB y NPM también se relacionan entre sí, ya que el C y N funcionan como sustratos para la actividad microbiana del suelo, por lo que la cantidad de NPM y COT presentes en el suelo determinan RB (Eberwein et al., 2015; Yan et al., 2021). Todas estas interrelaciones se pueden apreciar muy bien en la similitud de las gráficas (Figura 1; Figura 2).

Aparentemente, la sustitución de barbecho por cubiertas vegetales durante el periodo entre cultivos favorece la disponibilidad de fuentes de C y de N para los microorganismos, estimulando la actividad biológica del suelo. Los valores mayores en CVG frente a CVE pueden tener una posible explicación: en CVE se ha introducido un solo ciclo de cubierta que fue enterrada en abril de 2024, por lo que es muy probable que la biomasa vegetal proveniente de las cubiertas como abono verde hubiera sido ya parcialmente mineralizada y/o descompuesta en el momento del muestreo (abril 2025). En cambio, en CVG el ganado ha pastoreado la parcela en tres ocasiones, aprovechando no solo la cubierta sino los residuos del cultivo principal. El pastoreo por triplicado puede estar aumentando mucho el efecto de este tratamiento sobre el suelo, como se ve en la mayoría de variables en las que se encuentran diferencias o interacción significativas, con CVG en máximos o mínimos.

La respiración inducida por sustrato (SIR) mostró diferencias altamente significativas por profundidad, con mayores valores en la capa más superficial del suelo (0-10 cm). Este resultado concuerda con lo esperado, ya que es habitual que en la superficie del suelo se concentre una mayor actividad biológica debido a una mayor abundancia de fuentes de C y O₂ disponible para los microorganismos. Sorprende no encontrar diferencias estadísticamente significativas por tratamientos como en el caso de la respiración basal, ya que se utilizaron las mismas muestras, aun así la tendencia mostrada por SIR coincide con el patrón de RB.

El carbono de la biomasa microbiana (CBM) no mostró diferencias significativas para ningún factor, ni tampoco interacción entre los mismos, aunque CVG mostró el valor máximo. La falta de diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en SIR y CBM probablemente se deba al breve lapso de tiempo que lleva establecido el ensayo.

Tabla 5. Resultados del ANOVA de las actividades enzimáticas: β -glucosidasa (GLU), fosfatasa ácida (PHO), N-acetil-glucosaminidasa (NAG) y ureasa (URE) según los factores tratamiento y profundidad.

Factor	Nivel	GLU ($\mu\text{g PNP/g}\cdot\text{h}$)	PHO ($\mu\text{g PNP/g}\cdot\text{h}$)	NAG ($\mu\text{g PNP/g}\cdot\text{h}$)	URE ($\mu\text{g PNP/g}\cdot\text{h}$)
Tratamiento (F1)	CVE	94,56 \pm 36,35 a	173,3 \pm 34,29 a	34,23 \pm 8,02 a	33,56 \pm 10,48 a
	CVG	95,25 \pm 35,60 a	180,6 \pm 28,85 a	34,75 \pm 3,74 a	35,09 \pm 11,58 a
	SDF	72,96 \pm 16,90 a	162,0 \pm 44,21 a	28,40 \pm 7,63 a	27,44 \pm 11,13 a
	SDO	72,14 \pm 20,67 a	160,5 \pm 62,86 a	26,07 \pm 11,49 a	34,42 \pm 10,28 a
Profundidad cm (F2)	0–10	102,70 \pm 28,95 b	157,2 \pm 32,17 a	29,61 \pm 10,44 a	35,43 \pm 10,98 a
	10–25	64,76 \pm 14,18 a	181,0 \pm 50,02 a	32,11 \pm 6,52 a	29,82 \pm 10,17 a
P-valor	F1	0.018	0.700	0.067	0.317
	F2	0.000	0.099 ⁺	0.344	0.089
	F1 \times F2	0.014	0.253	0.217	0.056

Media \pm desviación típica. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba HSD Tukey para $P < 0.05$. P-valor en negrita indica un nivel de significación $> 95\%$. CVE: cubierta vegetal enterrada, CVG: cubierta vegetal pastada, SDF: suelo desnudo fertilizado, SDO: suelo desnudo sin fertilización; F1 \times F2: interacción tratamiento \times profundidad.

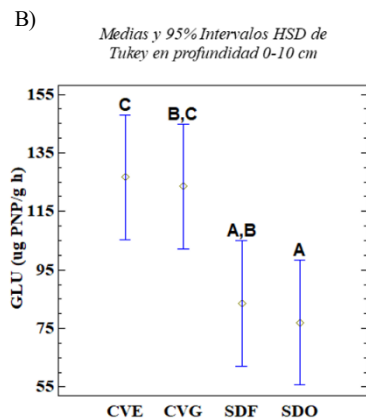
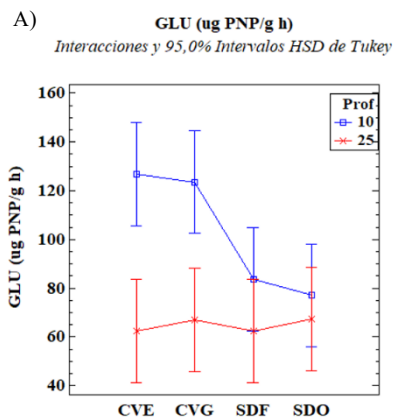


Figura 3. Interacción (A) de los distintos tratamientos con la profundidad del suelo e intervalos de medias en la profundidad 0-10 (B) de la actividad enzimática β -glucosidasa, que mostró un nivel de interacción significativo.

CVE: cubierta vegetal enterrada, CVG: cubierta vegetal pastada, SDF: suelo desnudo fertilizado, SDO: suelo desnudo sin fertilización; GLU: β -glucosidasa.

En las actividades enzimáticas, (Tabla 5) la que mostró mayor sensibilidad a fue la actividad de la β -glucosidasa con una interacción significativa entre los factores tratamiento y profundidad. Las diferencias por tratamiento solo se observaron en la capa superficial del suelo (0-10 cm), de forma que los tratamientos con cubierta incrementaron algo más de 30% la actividad de la β -glucosidasa en relación con los de suelo desnudo (Figura 3). Esta enzima cataliza la degradación de celulosa a glucosa y es un bioindicador

de la actividad microbiológica del suelo relacionada con el ciclo del C y la descomposición de los restos vegetales. Altos niveles indican tasas altas de descomposición, actividad microbiana y disponibilidad de sustrato (celulosa) (Margenot y Wade, 2023). Por lo tanto, los resultados muestran un patrón acorde con lo esperado, ya que como se ha mencionado previamente, en los tratamientos con cubiertas vegetales hay una entrada extra de residuos vegetales con respecto a los de suelo desnudo, que resulta además en un incremento significativo del contenido en COT (Figura 1C).

En el resto de actividades enzimáticas solo se observaron tendencias con un nivel de significación del 90%. N-acetil-glucosaminidasa (NAG) mostró diferencias significativas al 90% entre los distintos tratamientos, la tendencia fue la misma que en β -glucosidasa, con valores más altos en los tratamientos con cubiertas que en los de suelo desnudo; esta actividad está asociada al ciclo del nitrógeno, principalmente al reciclaje de N orgánico y efectos de micorrización y colonización fúngica, valores más altos en los tratamientos con cubiertas podrían indicar una mayor actividad fúngica en los mismos (García-Gonzalez et al., 2016). Este resultado coincide con García-Gonzalez et al.(2016), que refieren una mayor actividad de esta enzima cuando se sustituye el barbecho desnudo por una cubierta en el cultivo del girasol en un sistema en regadío del centro peninsular.

La ureasa (URE), cuya actividad está relacionada con la mineralización del N inorgánico, mostró interacción significativa al 90%, los resultados mostraron mayores valores en CGV seguidos de CVE y SDO, con los menores valores en SDF. La menor actividad en SDF podría asociarse con una reducción de la eficiencia de esta enzima al tener una disponibilidad alta de N inorgánico de forma continuada gracias a la fertilización química.

3.4. Análisis de lombrices

En el estudio de las poblaciones de lombrices se han evaluado dos parámetros clave como son la abundancia y la biomasa. Los resultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas, en ninguno de los parámetros. Las bajas temperaturas y abundante lluvia previas al muestreo, junto con el tiempo relativamente corto de aplicación de los tratamientos podrían explicar esta falta de diferencias.

Tabla 6. Resultados de abundancia y biomasa de lombrices según el factor tratamiento.

Factor	Nivel	Abundancia (Nº/m²)	Biomasa (g/m²)
Tratamiento (F1)	CVE	66,67 ± 39,73 a	23,49 ± 24,50 a
	CVG	56,00 ± 48,27 a	25,47 ± 28,78 a
	SDF	69,33 ± 55,12 a	60,69 ± 51,95 a
	SDO	42,67 ± 21,86 a	21,28 ± 28,89 a
P valor	F1	0.703	0.481

Media ± desviación típica. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba HSD Tukey para $P < 0.05$ P-valor en negrita indica un nivel de significación $> 95\%$. CVE: cubierta vegetal enterrada, CVG: cubierta vegetal pastada, SDF: suelo desnudo fertilizado, SDO: suelo desnudo sin fertilización.

Tanto en abundancia como en biomasa, los valores máximos se encuentran en el tratamiento SDF, aunque en el caso de la abundancia también se encuentran valores similares en CVE, mientras que los mínimos se encuentran en ambos parámetros para SDO. Esta respuesta se puede atribuir a una fuente de alimento más lábil en el caso de SDF gracias a la fertilización. En CVG sería esperable encontrar una repuesta similar ante el contenido de nutrientes y labilidad de la materia orgánica proveniente de las deyecciones, los resultados obtenidos se podrían atribuir a un efecto negativo sobre las lombrices derivado del pisoteo del ganado o mayores contenidos de humedad del suelo.

En todos los parámetros donde se observó una interacción significativa entre los factores tratamiento y profundidad se puede apreciar el efecto de estratificación, esto es, diferenciación de propiedades en función de la profundidad, en los tratamientos con cubiertas frente a los tratamientos de suelo desnudo, en los cuales se homogeniza el suelo mediante el uso de una vertedera. Las diferencias por tratamiento en todos estos casos se dieron en la capa más superficial del suelo (0-10 cm), que es normalmente la capa que responde antes al manejo.

Los mayores valores de CVG frente a CVE en parámetros de salud del suelo se pueden asociar al hecho de que en CVG, el ganado ha pastoreado la parcela en 3 ocasiones: antes del establecimiento del ensayo aprovechando los restos del cultivo previo de cebada, después de las cubiertas y después de la cosecha de girasol aprovechando los restos del cultivo, por lo que el efecto puede haberse visto incrementado respecto al tratamiento de abono verde.

4. CONCLUSIONES

La agricultura regenerativa se vislumbra como una posible solución para enfrentar las problemáticas sobre la salud del suelo derivadas de prácticas agrícolas intensivas, como el laboreo con volteo del suelo y barbecho a suelo desnudo. En el estudio se vieron efectos significativos a corto plazo, derivados del uso de ganadería integrada en rotación con los cultivos principales y el uso de cubiertas vegetales como abono verde, en sustitución al barbecho de suelo desnudo.

Las respuestas mostraron un efecto relevante, siendo el tratamiento de cubierta vegetal con ganado integrado (CVG) el que presentó mayores diferencias respecto a los tratamientos de suelo desnudo; mientras que el tratamiento con cubierta vegetal enterrada (CVE) mostró en general una respuesta intermedia entre la cubierta pastada y los tratamientos de suelo desnudo. Los principales parámetros afectados mostrando un impacto positivo fueron aquellos asociados a la entrada extra en el sistema de compuestos orgánicos, tanto de naturaleza vegetal como animal, con incrementos en el carbono orgánico total, nitrógeno total, respiración basal y nitrógeno potencialmente mineralizable, así como una mayor capacidad de retención de agua en el suelo. Nuestros resultados confirman la relevancia del aumento en el contenido de materia orgánica y carbono orgánico del suelo sobre la mejora de la salud del mismo, en línea con otros estudios de agricultura regenerativa.

Estos resultados reflejan una mejora general en los procesos ecológicos y la salud del suelo, con un mayor impacto en el caso de la integración de agricultura y ganadería. No obstante, es necesario confirmar que estos patrones observados a los 18 meses se mantienen en el tiempo, ya que es posible que varíen a largo plazo, dada la escala temporal en la que se desarrollan los efectos de regeneración y evolución del suelo.

Pese a no haberse encontrado diferencias significativas en el análisis de biomasa y abundancia de lombrices, se perciben tendencias que enfatizan el interés del uso de este bioindicador como parámetro complementario en el estudio de la salud del suelo, dada la relevancia de las lombrices sobre la funcionalidad ecológica del suelo. Los resultados obtenidos indican que, de cara a profundizar en el análisis, en un futuro sería necesario obtener un mayor número de muestras y evaluar otros parámetros descriptores como el ratio juvenil/adulto y la clasificación en grupos ecológicos, con el fin de poder correlacionar más estrechamente este bioindicador con el resto de parámetros físicos, químicos y biológicos.

En este estudio se aporta evidencia inicial sobre el potencial beneficioso de la aplicación de prácticas regenerativas en el contexto específico de sistemas agrícolas extensivos de secano y clima semiárido. No obstante, será necesario continuar con esta línea de investigación y obtener resultados en el largo plazo para determinar el impacto real sobre la salud del suelo y la permanencia de estos efectos en el tiempo.

5. BIBLIOGRAFÍA

- AEMET e ITACyL. 2025. Visor Atlas Agroclimático de Castilla y León. <https://www.atlas.itacyl.es/visor> Consultado: 09/04/2025.
- Alef, K. 1995. Soil Respiration, en Alef, K. y Nannipieri, P. editores: *Methods in Soil Microbiology and Biochemistry*, Academic Press Inc., San Diego, pág: 214–215.
- Betrán, J., Orús, F., Quílez, D. 2000. El Código de Buenas Prácticas Agrarias (I) Fertilización nitrogenada y contaminación por nitratos, Dirección General de Tecnología Agraria, Madrid.
- Bottinelli, N., & Capowiez, Y. 2021. Earthworm ecological categories are not functional groups. *Biology and Fertility of Soils*, 57(2): 329–331.
- Bouché, M. B. 1972. Lombriciens de France. *Ecologie et systématique*, Vol. 72, No. HS, pp. 671. Inra Editions.
- Bremner, J. M. 1996. Nitrogen – Total, en Sparks, D. L. editor: *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, Soil Science Society of America, Madison, WI, pág: 1085–1121.
- Brookes, P. C., Landman, A., Pruden, G., & Jenkinson, D. S. 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 17(6): 837–842.
- Cantarella, H. 2007. Urease activity in soils: Methods and protocols, en Haynes, R. J. editor: *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, Soil Science Society of America, Madison, WI, pág: 843–851.
- CLD. 2022. “Resumen para los responsables de la adopción de decisiones”. *Perspectiva global de la tierra*, segunda edición, Bonn.

- Climate Data.org. n.c. Clima Sepúlveda: Temperatura, Climograma y Tabla climática para Sepúlveda. <https://es.climate-data.org/europe/espana/castilla-y-leon/sepulveda-26127/> Consultado: 10/03/2025.
- Cozim-Melges, F., Ripoll-Bosch, R., Oggiano, P., van Zanten, H. H., van der Putten, W. H., & Veen, G. C. 2025. The effect of alternative agricultural practices on soil biodiversity of bacteria, fungi, nematodes and earthworms: A review. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 379: 109329.
- de Faccio Carvalho, P. C., de Albuquerque Nunes, P. A., Pontes-Prates, A., Szymczak, L. S., de Souza Filho, W., Moojen, F. G., & Lemaire, G. 2021. Reconnecting Grazing Livestock to Crop Landscapes: Reversing Specialization Trends to Restore Landscape Multifunctionality. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5: 750765.
- de León Llamazares, A. 1987. Caracterización agroclimática de la provincia de Segovia, Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Neografis SL, Madrid.
- Devasirvatham, P., Mugica, M., Gregori, A., & Kallen, S. 2020. Regenerative agriculture: Opportunities and challenges to catalyze profitable and resilient agriculture in the context of climate change. W/ Case studies from the Iberian Peninsula.
- Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Bohlen, P. J., & Hendrix, P. 2022. *Biology and ecology of earthworms* (Vol. 567), Springer, New York.
- Eberwein, J. R., Oikawa, P. Y., Allsman, L. A., & Jenerette, G. D. 2015. Carbon availability regulates soil respiration response to nitrogen and temperature. *Soil Biology and Biochemistry*, 88: 158–164.
- FAO. 2021. El estado de los recursos de tierras y aguas del mundo para la alimentación y la agricultura - Sistemas al límite. Informe de síntesis 2021, Roma. <https://doi.org/10.4060/cb7654es>

- FAO. 2024. Restoration of degraded agricultural lands. An urgent need for agrifood system transformation and land degradation neutrality. FAO COP 16 Combat desertification.
- FAO. 2025. Simposio Mundial sobre la Erosión del Suelo. Mensajes clave. <https://www.fao.org/about/meetings/soil-erosion-symposium/key-messages/es/>
Consultado: 03/2025.
- FAO y GTIS. 2015. Estado Mundial del Recurso Suelo (EMRS) – Resumen Técnico, Roma.
- FAO, ITPS. 2020. Towards a definition of soil health, Roma.
- Fiorini, A., Boselli, R., Maris, S. C., Santelli, S., Perego, A., Acutis, M., ... & Tabaglio, V. 2020. Soil type and cropping system as drivers of soil quality indicators response to no-till: A 7-year field study. *Applied Soil Ecology*, 155: 103646.
- Fusaro, S., Gavinelli, F., Lazzarini, F., & Paoletti, M. G. 2018. Soil Biological Quality Index based on earthworms (QBS-e). A new way to use earthworms as bioindicators in agroecosystems. *Ecological Indicators*, 93: 1276–1292.
- García-González, I., Hontoria, C., Gabriel, J. L., Alonso-Ayuso, M., & Quemada, M. 2018. Cover crops to mitigate soil degradation and enhance soil functionality in irrigated land. *Geoderma*, 322: 81–88.
- Gardner, W. H. 1986. Water Content, en Klute, A. editor: *Methods of Soil Analysis*. Part 1. Physical and Mineralogical Methods, Agronomy Monograph No. 9 (2nd ed.), ASA-SSSA, Madison, WI, pág: 493–544.
- Garland, G., Edlinger, A., Banerjee, S., et al. 2021. Crop cover is more important than rotational diversity for soil multifunctionality and cereal yields in European cropping systems. *Nature Food*, 2: 28–37.

- Gómez-Brandón, M., & Domínguez, J. 2014. Recycling of solid organic wastes through vermicomposting: microbial community changes throughout the process and use of vermicompost as a soil amendment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44(12): 1289–1312.
- Hirano, T., & Tamae, K. 2011. Earthworms and soil pollutants. *Sensors*, 11(12): 11157–11167.
- IGME-CSIC. 2025. Visor cartográfico del Instituto Geológico y Minero de España: <https://info.igme.es/visor/> Consultado: 10/04/2025.
- Kaye, J. P., & Quemada, M. 2017. Using cover crops to mitigate and adapt to climate change. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37: 1–17.
- Khangura, R., Ferris, D., Wagg, C., & Bowyer, J. 2023. Regenerative Agriculture—A Literature Review on the Practices and Mechanisms Used to Improve Soil Health. *Sustainability*, 15(3): 2338. <https://doi.org/10.3390/su15032338>
- Lemaire, G., Garnier, J., da Silveira Pontes, L., de Faccio Carvalho, P. C., Billen, G., & Simioni Assmann, T. 2023. Domestic herbivores, the crucial trophic level for sustainable agriculture: avenues for reconnecting livestock to cropping systems. *Agronomy*, 13: 982.
- López Bellido, L. 1991. Cultivos Herbáceos. I. Cereales, MundiPrensa, Madrid.
- MAPA. 2025a. Visor SIGPAC: <https://sigpac.mapama.gob.es/fega/visor/> Consultado: 09/04/2025.
- MAPA. 2025b. Sistema de Información Geográfica de Datos Agrarios (SIGA): <https://sig.mapama.gob.es/siga/> Consultado: 10/04/2025.
- Margenot, A. J., & Wade, J. 2023. Getting the basics right on soil enzyme activities: A comment on Sainju et al. (2022). *Agrosystems, Geosciences & Environment*, 6(3): e20405.

- Mangado Urdániz, J. M., & Garraza Pérez, L. 2013. Estiércoles. Características de los producidos en las explotaciones ganaderas de Navarra, Navarra Agraria.
- Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 15(12): 1409–1416. <https://doi.org/10.1080/00103628409367568>
- Merfield, C. N. 2019. An analysis and overview of regenerative agriculture (Report No. 2-2019). The BHU Future Farming Centre. <https://www.bhu.org.nz/futurefarmingcentre/ffc/information/misc/an-analysis-and-overview-of-regenerativeagriculture-2019-ffcmerfield.pdf>
- Nelson, D. W., & Sommers, L. E. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter, en Sparks, D. L. editor: *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, SSSA Book Series No. 5, Madison, WI, pág: 961–1010.
- Paoletti, M. G. 1999. The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74: 137–155.
- Pérès, G., Vandenbulcke, F., Guernion, M., Hedde, M., Beguiristain, T., Douay, F., ... & Cluzeau, D. 2011. Earthworm indicators as tools for soil monitoring, characterization and risk assessment. An example from the national Bioindicator programme (France). *Pedobiologia*, 54(Supplement): S77–S87.
- Rhoades, J. D. 1996. Salinity: Electrical Conductivity and Total Dissolved Solids, en Sparks, D. L. editor: *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, SSSA Book Series No. 5, ASA-SSSA, Madison, WI, pág: 417–435.
- Rietra, R., Heinen, M., & Oenema, O. 2022. A review of crop husbandry and soil management practices using meta-analysis studies: Towards soil-improving cropping systems. *Land*, 11: 255.

- Sahu, G., & Das, S. 2020. Regenerative Agriculture: Future of Sustainable Food Production. *International Journal of Environment and Climate Change*, 2: 745–748.
- Schindelbeck, R. R., Moebius-Clune, B. N., Moebius-Clune, D. J., Kurtz, K. S., & van Es, H. M. 2016. *Cornell University Comprehensive Assessment of Soil Health Laboratory Standard Operating Procedures*, Cornell University, Ithaca, NY.
- Schreefel, L., Schulte, R. P. O., de Boer, I. J. M., Pas, A., & van Zanten, H. H. E. 2020. Regenerative agriculture – The soil is the base. *Global Food Security*, 26: 100404. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100404>
- Soil Survey Staff. 2014. *Field Book for Describing and Sampling Soils, Version 3.0*, USDA-NRCS, Washington, D.C.
- Sullivan, P. 2003. Overview of cover crops and green manures. *Fundamentals of sustainable agriculture*, ATTRA.
- Sutri, M., Ivask, M., Kuu, A., Escuer-Gatius, J., Reintam, E., & Shanskiy, M. 2024. The effects of agricultural practices on earthworm communities in Estonia. *European Journal of Soil Biology*, 122: 103662.
- Thomas, G. W. 1996. Soil pH and Soil Acidity, en Sparks, D. L. editor: *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, SSSA Book Series No. 5, ASA-SSSA, Madison, WI, pág: 475–490.
- UNE. 2020. UNE-EN ISO 20130:2020. Calidad del suelo. Medición de los patrones de actividad enzimática en muestras de suelo utilizando sustratos colorimétricos en placas de micropocillos (ISO 20130:2018). Ratificada en junio de 2020.
- Vance, E. D., Brookes, P. C., & Jenkinson, D. S. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(6): 703–707. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6)

Vladimir P. Yakovchenko, & Lawrence J. Sikora. 1998. Modified dichromate method for determining low concentrations of extractable organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 29(3–4): 421–433. <https://doi.org/10.1080/00103629809369955>

Yan, W., Zhong, Y., Liu, J., & Shangguan, Z. 2021. Response of soil respiration to nitrogen fertilization: Evidence from a 6-year field study of croplands. *Geoderma*, 384: 114829.