

## NOTA TÉCNICA

# DETERMINACIÓN DEL HORARIO ÓPTIMO PARA LA MEDICIÓN DEL ÓXIDO NITROSO EN UNA PLANTACIÓN DE CAFÉ DE UNA ZONA ALTA DE COSTA RICA

*Ing. Agr. Francisco José Arguedas Acuña<sup>1</sup>*

## RESUMEN

**Determinación del horario óptimo para la medición del óxido nitroso en una plantación de café de una zona alta de Costa Rica.** Introducción. Las emisiones de óxido nitroso ( $N_2O$ ) en el suelo fluctúan durante el día, por lo cual se requiere determinar la hora o momentos en los que se libera este gas al ambiente. Objetivo. Determinar el rango horario diario, donde se presentan las mayores emisiones de  $N_2O$  del suelo. Materiales y métodos. El estudio se llevó a cabo en un lote cultivado con café en Santa María de Dota, San José; entre diciembre 2015 y mayo 2016. Se realizaron mediciones durante seis días en dos épocas del año, durante tres días consecutivos, con muestreos cada dos horas, distribuidos entre las seis y las veinte horas. Se utilizó la metodología de cámaras estáticas y se contabilizó la cantidad de gas liberada en diferentes momentos del día. Resultados. La emisión de  $N_2O$  presentó una media de  $0,021 \pm 0,028 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ , durante los períodos muestreados. El patrón de emisión a lo largo del día fue heterogéneo con valores entre 0,001 y 0,032  $\text{mg } N_2O\text{-N}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ . Se identificó que los momentos de mayor emisión promedio fueron entre las ocho y las diez horas; y entre las dieciséis horas y las dieciocho horas ( $p<0.05$ ). Se concluye que para el sitio evaluado, hay dos momentos óptimos en el día para un muestreo representativo (promedio emisión de  $N_2O$  diaria). Se recomienda la utilización del rango horario para la toma de muestras, entre las ocho y las diez horas de la mañana; y entre las quince y diecisiete horas de la tarde.

**Palabras clave:** Horas para muestreo, Monitoreo de GEI, Emisiones, Café, Cámaras estáticas.

## ABSTRACT

**Determination of the optimal time for the measurement of nitrous oxide in a coffee plantation in a highland area of Costa Rica.** Introduction. Nitrous oxide ( $N_2O$ ) emissions in the soil fluctuate during the day, so it is necessary to determine the time or times when this gas is released into the environment. Objective. Determine the daily hourly range, where the highest  $N_2O$  emissions from the soil occur. Materials and methods. The study was carried out in a plot grown with coffee in Santa María de Dota, San José; between December 2015 and May 2016. Measurements were taken over six days at two times of the year, for three consecutive

<sup>1</sup> M.Sc. F. Arguedas, Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria, INTA. Costa Rica. Correo: farguedasa@inta.go.cr

days, with sampling every two hours, distributed between six and twenty hours. The static chamber methodology was used and the amount of gas released at different times of the day was counted. Results.  $N_2O$  emission averaged  $0.021 \pm 0.028 \text{ mg.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$  during the sampled periods. The emission pattern throughout the day was heterogeneous with values between 0.001 and  $0.032 \text{ mg N}_2\text{O-N.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ . It was identified that the moments of highest average emission were between eight and ten hours; and between sixteen hours and eighteen hours ( $p < 0.05$ ). It is concluded that for the evaluated site, there are two optimal times of day for representative sampling (average daily  $N_2O$  emission). It is recommended to use the time range for sampling, between eight and ten o'clock in the morning; and between fifteen and seventeen o'clock in the afternoon.

**Keywords:** Hours for sampling, GHG monitoring, Emissions, Coffee, Static cameras.

## INTRODUCCIÓN

En Costa Rica, el cultivo de café representa el tercer rubro económico más importante del sector agropecuario, con ingresos de 285 millones de dólares para el año 2018-19 (PROCOMER 2019). Es una actividad estratégica, concentrada en más de 90 mil pequeños productores, donde el 91,4 % de ellos entrega menos de 100 fanegas al año y en conjunto representan el 38,7 % de la producción nacional (cosecha 2018-19; ICAFE 2020). En los resultados del último Censo Agropecuario Nacional (INEC 2015), en el país se registran 84,133 hectáreas de café, de las cuales 75.184 (89,36 %), están en edad de producción.

El nutrimento que más requiere el cultivo de café es el nitrógeno (N), cuyo requerimiento promedio en Costa Rica es de alrededor de  $250 \text{ kg.ha}^{-1}.\text{año}^{-1}$  (Yara Costa Rica 2022). La necesidad que tiene el café por fertilizantes nitrogenados para tener buenos rendimientos, hace que se produzcan fuertes aplicaciones de los mismos y exista alto riesgo de fuertes emisiones del óxido nítrico ( $N_2O$ ), un potente gas con efecto invernadero cuyo potencial de calentamiento global es 310 veces mayor que el  $CO_2$  y permanece en la atmósfera durante un promedio de 114 años antes de ser eliminado por disipador o destruidas por medio de reacciones químicas (IPCC 2006). El gas se produce por diversas actividades del ser humano como la agricultura, la combustión de combustibles, el manejo de aguas residuales y los procesos industriales (US EPA 2023). El nivel de este gas se ha incrementado cerca de 50 ppb desde la revolución industrial, siendo el uso de fertilizantes nitrogenados en las actividades

agropecuarias, una de las principales fuentes de emisión (Chacón P.A. 2018). La nitrificación (oxidación de  $NH_4^+$  a  $NO_3^-$ ) y la desnitrificación (reducción de  $NO_3^-$  a  $N_2O$ ), son los procesos naturales que generan óxido nítrico; ocurren por acción de los microorganismos del suelo, que son estimulados por distintas prácticas agrícolas que ocurren en el proceso productivo, donde la aplicación de nitrógeno es abundante (Butterbach-Bahl *et al.* 2013).

La tasa de producción de óxido nítrico varía en función del contenido hídrico, la disponibilidad de nitratos y la temperatura del suelo entre otros factores; su participación en el proceso, es distinta según la opinión de diferentes autores (Dobbie y Smith 2002; Schindlbacher *et al.* 2004; Jantalia *et al.* 2008). Pero como el contenido de humedad y la disponibilidad de nitratos en el suelo no presentan variaciones diarias tan marcadas como las que presenta la temperatura, es probable que esta última variable es la que tiene mayor influencia sobre los cambios en la emisión de óxido nítrico, que ocurren a lo largo del día (Jantalia *et al.* 2008).

Varios estudios han encontrado una relación cercana entre la variación diurna de la temperatura del aire y la emisión de óxido nítrico, en la cual se da un patrón general de mayor liberación del gas durante el día y una disminución durante la noche, lo que ocurre también con la temperatura del suelo (Ryden *et al.* 1978; Denmead *et al.* 1979; Akiyama *et al.* 2000). Sin embargo, otros autores no han observado esta relación (Chao *et al.* 2000; Du *et al.* 2006; Perdomo y Cardellino 2006).

Ryden *et al.* (1978), sugirieron que la emisión de óxido nítrico podría determinarse en cualquier hora del día, excepto durante la tarde; momento donde se produce la máxima emisión de óxido nítrico, en concordancia con la máxima temperatura del día; lo cual fue ratificado por Alves *et al.* (2012). Laville *et al.* (2011) en un ensayo de campo en Francia, observaron que cuando la temperatura superficial del suelo llegaba a estar cerca de su promedio diario, casi siempre la liberación de óxido nítrico que se obtuvo, representó la emisión promedio diaria.

Debido al transporte vertical, la difusión superficial de óxido nítrico suele encontrarse disminuida en su velocidad de liberación, conforme aumenta la profundidad a la cual se genera (Clough *et al.* 1999). Por esto, la hora del día a la cual la emisión de óxido nítrico en superficie iguala a la emisión promedio del día, varía según la profundidad en el suelo donde se produce y a la capacidad de difusión del gas dentro de ese suelo (Clough *et al.* 2005). La estimación de la emisión de óxido nítrico a partir de la temperatura del suelo, puede conducir a errores metodológicos. Para conocer del momento del día más representativo para determinar la liberación de óxido nítrico promedio diario, requeriría asegurar que las futuras determinaciones, se hagan en un único momento de muestreo diario, hora(s) definidas y que sean representativas (Rochette 2011).

De acuerdo con datos climáticos recopilados por el Instituto Meteorológico Nacional (IMN 2013), en la región de Los Santos, la cual pertenece a la zona de vida denominada Bosque muy húmedo-Montano bajo (Holdridge 1978); ocurre una oscilación entre la temperatura máxima y la mínima del día, principalmente en el periodo que se presenta entre las seis de la mañana y el mediodía. La mayor oscilación ocurre entre diciembre y mayo, llegando a ser máxima con un valor de 12-13 °C; mientras que durante los meses

de agosto a noviembre ocurre la menor con una media de 6 °C. En promedio, la oscilación anual es de aproximadamente 6 °C.

Con respecto a la temperatura media; marzo, abril y mayo son los meses más calientes, mientras que agosto, setiembre y octubre son los meses menos calientes. En general, se conoce que la emisión de N<sub>2</sub>O es mayormente controlada por la temperatura del suelo; esto por diferentes resultados obtenidos para varias latitudes en el mundo (Cosentino 2016). Para los trópicos muy húmedos, es escasa la información disponible para tomar decisiones sobre el mejor momento del día para tomar muestras en la determinación de las concentraciones del N<sub>2</sub>O; para esto, el criterio apropiado es medir las emisiones de un gas durante la mayor parte de las horas del día, por varios días y así definir por situación climática y geográfica del sitio; los momentos del día donde se producen las mayores emisiones del gas (Cosentino *et al.*, 2012). A este trabajo se le denomina calibración o monitoreo del gas y se requiere conocer para cada zona ecológica de Costa Rica, para la realización de muestreos de gases de efecto invernadero.

El sector cafetalero costarricense aplica fertilizantes nitrogenados y contribuye a la emisión de N<sub>2</sub>O a partir de los mismos, pero no se tiene información recopilada por región ó zona de vida, con respecto al momento óptimo para tomar las muestras de gases y esto es fundamental para lograr la mayor precisión en las determinaciones en fincas y para los inventarios nacionales de gases. Por lo tanto, el objetivo general de la actividad fue determinar los momentos óptimos (en horas) del día, durante los cuales se producen las mayores emisiones de N<sub>2</sub>O, en un suelo cultivado con café en Santa María de Dota, San José, Costa Rica. Este estudio de calibración es de tipo exploratorio y pretende encontrar las mayores liberaciones de óxido nítrico (mg N<sub>2</sub>O-N.m<sup>-2</sup>.h<sup>-1</sup>) en el campo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del estudio

El estudio se llevó a cabo en un área recién sembrada de café, de la finca El Tajo (CoopeDota R.L.); ubicada en Santa María de Dota, San José. La zona de vida de acuerdo con la clasificación de Holdridge (1978), corresponde al Bosque muy húmedo-Montano bajo; el área se ubica a una altitud de 1574 m s.n.m., tiene una precipitación promedio anual de 2200 mm y una temperatura promedio anual de 16.0 °C. Asimismo, presenta un período seco que se extiende desde diciembre hasta finales de abril.



Figura 1. Área de la finca El Tajo (CoopeDota R.L.), donde se ubicaron las cámaras estáticas para los muestreos de óxido nítrico. Santa María, Dota, San José. Diciembre 2015.

### Características del sitio seleccionado

El lote seleccionado tenía un área de 5000 m<sup>2</sup> aproximadamente y las variedades de café sembradas fueron Catuai (rojo y amarillo) y Caturra; con una densidad de siembra de 4784 plantas por hectárea (a 1,90 x 1,10 m). Las partes del lote utilizadas en las dos evaluaciones del ensayo, fueron secciones de la entrecalle de siembra (Figura 1).

## METODOLOGÍA

No se implementó un diseño experimental definido, dado que no se evaluaron tratamientos. Se determinó la emisión de N<sub>2</sub>O durante cada dos horas, por un periodo de dieciocho horas, durante tres días continuos, bajo las condiciones naturales del sitio y definir los rangos horarios con mayores concentraciones del gas.

Para el muestreo del óxido nítrico, se utilizó la técnica de cámaras estáticas descrita por Klein y Harvey (2012); en la misma se usan cámaras cerradas como la que se muestra en la Figura 2.



Figura 2. Foto de la cámara estática utilizada en los ensayos de campo.

### Conformación y distribución de las cámaras estáticas

Las cámaras estáticas utilizadas (Figura 2), tenían forma cilíndrica, confeccionadas en acero inoxidable, con un diámetro de 40,0 cm y 38,0 cm de altura. Asimismo, poseían una tapa acrílica transparente para poder observar el termómetro (que se coloca dentro de la cámara); en ella hay un punto central para la toma de las muestras del gas y la ventilación se realiza en forma manual (usando jeringas). La otra parte de la cámara, estaba compuesta por una base de acero inoxidable, con una cobertura cilíndrica que se profundiza 15,0 cm en el suelo, cuando se instalan en el campo.

En cada proceso de evaluación de la liberación de óxido nítrico, se ubicaron ocho bases de cámaras estáticas en el campo, tratando que estuvieran separadas entre sí al menos tres metros, esto con el fin de abarcar mayor diversidad de puntos en el suelo y que los resultados obtenidos representaran la generalidad del suelo. Luego se introdujeron las aletas de metal de las bases en el suelo, lo cual se realizó golpeando la parte superior de la base con un trozo de madera que tuviera un largo mayor al diámetro de la base y un mazo metálico. En el golpeo se alterna el lado de ubicación del trozo de madera, con el fin de que penetre uniformemente hasta que el anillo superior de la base pegue con la superficie del suelo. Si se presentan problemas por la presencia de piedras enterradas, raíces de árboles u otro obstáculo; se debe trasladar la base a otro punto, hasta que penetre sin

problemas. Las bases de las cámaras se colocaron en los sitios de evaluación con al menos 24 horas de anticipación (entre su instalación y la realización del primer muestreo); para lograr que se estabilizaran las condiciones propias del suelo, por la desagregación que ocurre en el proceso, al momento de la instalación de las bases.

Cada unidad experimental (2 m<sup>2</sup> de terreno), estuvo compuesta por una cámara estática (base y tapa) y un área para muestrear suelo (determinar características del mismo). En total se utilizaron ocho cámaras estáticas durante cada hora de muestreo. Cada cámara constituyó una repetición y se ubicaron en secciones de entrecalles de siembra (Figura 3). Cada parcela útil fue de 1 m<sup>2</sup> y el área total del ensayo en cada evaluación fue de 44 m<sup>2</sup>.

La técnica de las cámaras estáticas se basa en abarcar un área determinada del suelo con una cámara cerrada y hermética que permita el intercambio de gas entre el suelo que cubre la cámara y la atmósfera dentro de ésta. La tasa de cambio de la concentración dentro de la cámara a través del tiempo se cuantifica para calcular una tasa de flujo, la cual puede ser extrapolada a un área fuera de la cámara (Pihlatie *et al.* 2013). Según Arenas (2015), esta metodología de medición de flujos de gases de efecto invernadero (GEI), se ha utilizado muy ampliamente en los últimos 30 años.





Días de Muestreo	Hora de muestreo	Número de cámaras (repeticiones)
2	6 pm	8
2	8 pm	8
3	6 am	8
3	8 am	8
3	10 am	8
3	12 md	8
3	2 pm	8
3	4 pm	8
3	6 pm	8
3	8 pm	8

El volumen de aire retenido por cada submuestra se trasvasó a un vial y se mantuvo a baja temperatura en campo (dentro de recipiente con hielo); mientras se terminaba de desarrollar el cronograma del día. Los viales muestreados cada día, se mantuvieron en una refrigeradora, hasta su traslado definitivo a la Unidad de Gases del Laboratorio de suelos, plantas y aguas del Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA). En el muestreo de cada hora evaluada, se toma tres submuestras, en tres tiempos distintos ( $T_0$ ,  $T_{20}$  y  $T_{40}$ ).

En cada toma de submuestras, se recogió previamente una muestra del aire externo de la cámara, a la misma altura del punto de muestreo dentro de esta. El dato de esta muestra se utilizó como “blanco” en la determinación de gases por el cromatógrafo del laboratorio utilizado.

### Precauciones durante el período de muestreos

Durante el periodo de muestreo, no se deben realizar aplicaciones de fertilizantes inorgánicos (líquidos ni granulados) ni orgánicos u otros tratamientos que incluyeran la adición de alguna forma de nitrógeno.

Como durante el período de evaluación de la emisión de gases el muestreo es muy intensivo (cada 2 horas hay uno), se debe tener el cuidado de no afectar mucho el área alrededor de las cámaras; por el frecuente tránsito requerido para realizar la toma de las submuestras. Específicamente para evitar la compactación del suelo, que modificará la liberación natural de los gases emitidos desde adentro del suelo. Para

lograr esto, se debe colocar una cinta plástica de precaución para restringir al máximo el tránsito no requerido en esos puntos; principalmente cuando hay lluvias presentes y se pueda empozar el agua en la superficie del suelo. Lo anterior bloquearía los poros del suelo y estimularía la liberación de  $N_2O$  por desnitrificación en condiciones anaeróbicas; afectando los resultados.

### Condiciones evaluadas

Se registraron las condiciones ambientales que afectan las emisiones de gases de efecto invernadero que se determinan con cámaras estáticas cerradas en suelos. Entre ellas la temperatura interna de las cámaras, la temperatura externa y la humedad relativa del sitio del ensayo, en esos tres tiempos antes indicados.

### Determinación de los gases

Los gases de las submuestras obtenidas, se analizaron por medio de la técnica de cromatografía de gases, se utilizó un detector de captura de electrones (Cromatógrafo), para conocer las concentraciones de  $N_2O$ .

### VARIABLES evaluadas

En las muestras de gases se determinaron las concentraciones de óxido nítrico en las cámaras estáticas y también se obtuvieron los datos de las variables que afectan la emisión de los GEI (temperatura interna y externa de las cámaras, temperatura del suelo y la humedad relativa en el sitio), durante cada muestreo realizado.

### Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza de las concentraciones de óxido nítrico encontradas en cada evaluación. Se infirieron diferencias entre las concentraciones de  $N_2O$  determinadas entre los días muestreados de cada evaluación y las interacciones entre las mismas. Además, se hicieron comparaciones de medias con significancia estadística (Tukey), con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.* 2008). Asimismo, se hizo el cálculo de la distribución de la probabilidad para la frecuencia de emisión de  $N_2O$  (coeficientes de regresión y estadísticos asociados).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Concentración de óxido nítrico en cámaras

Con respecto a la concentración del  $N_2O$  dentro de las cámaras, en el Cuadro 2 se observa una tendencia hacia el aumento de la concentración del  $N_2O$  durante los tiempos de medición en cada muestreo realizado. Según Alves et al. (2012), se espera que la concentración del gas aumente dentro de la cámara debido a la primera ley de Fick, la cual explica que el flujo de gas es dependiente del gradiente de concentración y de su difusividad en el suelo. Este incremento varía por el comportamiento de la temperatura del suelo, de la temperatura dentro de la cámara y de la temperatura ambiente, externa a la cámara. La emisión del presente estudio fue menor en un 43,55 % (0,35 ppm), a la encontrada por Arguedas-Acuña et al. (2018), en un ensayo similar a este pero en la zona de vida trópico húmedo. Allí el promedio de la concentración de óxido nítrico en las cámaras fue de 0,62 ppm.

### Emisión de óxido nítrico del suelo

Con relación a la emisión del óxido nítrico, se obtuvo para la primera evaluación (salida de lluvias) un valor promedio diario de 0,028  $mg\ N_2O-N.m^{-2}.h^{-1}$  y para la segunda evaluación

(entrada de lluvias) un valor promedio diario de 0,014  $mg\ N_2O-N.m^{-2}.h^{-1}$ . Es decir, se presentó una diferencia entre la primera y segunda evaluación de 0,014  $mg\ N_2O-N.m^{-2}.h^{-1}$ ; pero no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos valores. La razón de la falta de diferencia, se debe a la alta variación de los datos encontrados en las cámaras, durante cada día de evaluación; como se puede observar en el Cuadro 2.

Cabe señalar que no hay estudios similares a este, que se hayan realizado en Costa Rica, para una zona de vida denominada Bosque muy húmedo-Montano, típica de los cafetales de Dota y Tarrazú. Encontré otro estudio donde se realizaron determinaciones de la emisión de  $N_2O$  en café durante todo el año, para la zona de Tarrazú (Montenegro-Ballesteros 2019a); pero en el mismo, no se muestran resultados de un estudio de calibración previo al mismo. El bajo valor de la emisión, se podría deber a que el lote de café utilizado en este estudio, tenía entre 4 y 5 meses de edad, lo que indica que estaba empezando a recibir fertilización en bajas cantidades y que no había residuos de fertilizaciones anteriores (plantación vieja). También, podría ser porque el estudio evaluó específicamente sólo tres días por semana, en dos diferentes meses; aunque las fertilizaciones en café, se acostumbra realizarlas en mayo, agosto y noviembre de cada año.

Cuadro 2. Estadística descriptiva para la concentración y emisión de  $N_2O$  en dos periodos del año. Santa María de Dota, San José, Costa Rica; 2021.

Variables	n	Prom. ()	Me	D.E.	Mín	Máx	Intervalo de Confianza 95 %	
							Inf	Sup
Concentración 0 min (ppm)	357	0,33	0,34	0,04	0,1	0,6	0,33	0,33
Concentración 20 min (ppm)	357	0,35	0,35	0,04	0,2	0,7	0,35	0,35
Concentración 40 min (ppm)	357	0,37	0,37	0,05	0,3	0,8	0,36	0,38
Emisión $N_2O$ ( $mg.m^{-2}.hora^{-1}$ )	357	0,0208	0,021	0,028	0,001	0,032	0,003	0,004

Como se observa en la Figura 4, la distribución de la probabilidad de la emisión de óxido nítrico, tuvo una tendencia hacia la derecha. La distribución de probabilidad para la variable emisión de  $N_2O$ , ha sido previamente descrita por otros investigadores (Veldkamp et al. 1998; Venterea et al. 2012) y debe ser considerada a la hora del análisis estadístico; dado que un 80 % de los valores que presenta la emisión de  $N_2O$  (observados durante el día), son menores a 0,004  $mg.m^{-2}.h^{-1}$  (equipo detecta valores menores a 0,0001  $mg.m^{-2}.h^{-1}$ ) y existe un 20 % de valores superiores, de hasta un máximo de 0,032  $mg.m^{-2}.h^{-1}$  que ocurren esporádicamente. Por esta razón, es muy importante para el estudio de esta variable, que se reporten ambas medidas de tendencia central (la media y la mediana).



## Análisis de varianza

En el Cuadro 3, se muestran los resultados del análisis de varianza realizado a los datos de la variable óxido nitroso, en relación con las horas evaluadas, los días muestreados, las repeticiones utilizadas (cámaras) y sus interacciones. Esto se realizó para evaluar la influencia de las condiciones ambientales en los resultados obtenidos en los muestreos. El ambiente influye mucho en la capacidad del suelo de liberar  $N_2O$  a la atmósfera; importante determinar el nivel de influencia de sus factores, bajo las condiciones específicas del sitio evaluado.

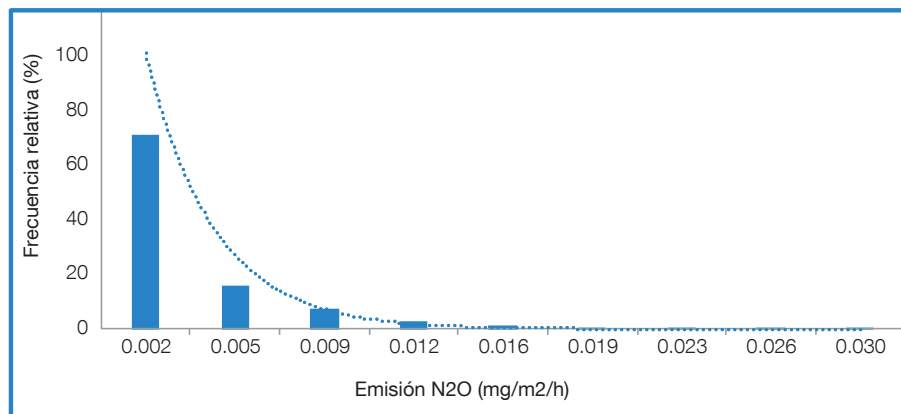


Figura 4. Frecuencia relativa (%) de la difusión de óxido nitroso por metro cuadrado por hora, en el ensayo (con distribución normal).

Como observamos en el Cuadro 3, el valor de  $R^2$  indica que los datos de la línea de regresión ajustada no están tan cerca entre sí y que existe mucha variabilidad en la emisión de  $N_2O$  bajo las condiciones del estudio (diferentes valores durante el año para la precipitación, la temperatura del suelo y aire, la humedad relativa, etc). Asimismo, la concentración de  $N_2O$  no tuvo diferencia significativa (ns) entre los distintos valores obtenidos durante todos los días evaluados ( $p < 0,05$ ), mientras que las concentraciones evaluadas por día, por hora de cada día y por repeticiones del muestreo (cámaras); sí mostraron diferencia significativa ( $p < 0,05$ ). Con respecto a las interacciones evaluadas, se observó que la interacción entre la concentración de  $N_2O$  y el día de muestreo, fue altamente significativa (\*\*). En cambio, las otras dos interacciones (concentración de  $N_2O$  y hora del día / día de muestreo y hora del día), no tuvieron diferencias significativas (Cuadro 3).

Cuadro 3. Resumen del análisis de varianza realizado a los datos de los seis días evaluados, de la variable emisión de óxido nitroso.

Variable		n	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
mg N <sub>2</sub> O-N.ha <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup>		223	0,32	0,20	103,36	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Coef.
Modelo	64749506,74	33	1962106,26	2,71	<0,0001 **	-46,87
[N <sub>2</sub> O]	2523881,34	1	2523881,34	3,48	0,0636 ns	
DÍA	7429255,97	2	3714627,98	5,12	0,0068 *	
HORA	12665691,05	7	1809384,44	2,50	0,0179 *	
CAMARA	3040195,46	1	3040195,46	4,19	0,0420 *	
[N <sub>2</sub> O]*DÍA	17889676,25	2	8944838,13	12,34	<0,0001 **	
[N <sub>2</sub> O]*HORA	8871665,03	6	1478610,84	2,04	0,0624 ns	
DÍA*HORA	12329141,64	14	880652,97	1,21	0,2675 ns	
Error	137047990,79	189	725121,64			
<b>Total</b>	<b>201797497,53</b>	<b>222</b>				

## Comparaciones entre medias

Los momentos evaluados (horas, días y repeticiones) presentaron diferencia significativa ( $p < 0,05$ ), como se muestra en el Cuadro 3.

La mayor emisión de óxido nitroso se encontró al final de las lluvias, al compararla con la encontrada al inicio de las lluvias (906,38 contra 558,60 mg N<sub>2</sub>O-N.ha<sup>-1</sup>.día<sup>-1</sup>), como se indica en el Cuadro 4. En el resultado, pudo haber influido la presencia de mayor humedad en el suelo y la existencia de menores temperaturas ambientales, porque en el mes de diciembre estaba saliendo la época lluviosa (alta humedad) y las temperaturas estaban bajas; mientras en mayo, se estaba iniciando la época lluviosa (baja humedad) y las temperaturas estaban altas. Es normal la presencia de valores diferentes para las precipitaciones y temperatura ambiental durante el año en cada zona geográfica. Por lo que es importante realizar las evaluaciones en momentos diferentes del año, para homogeneizar esas diferencias. (Dobbie y Smith, 2001; Jantalia et al., 2008).

Cuadro 4. Comparación de medias (mg N<sub>2</sub>O-N.ha<sup>-1</sup>.día<sup>-1</sup>), entre las dos evaluaciones realizadas en el ensayo.

Evaluación	Medias	n	E.E.	
1 (Finalización de lluvias)	906,38	134	76,40	<b>a</b>
2 (Inicio de lluvias)	558,60	89	96,30	<b>b</b>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes según prueba de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ).

En el Cuadro 5, se muestra el resultado de las comparaciones entre las medias con diferencias significativas, de cada uno de los tres días muestreados en cada evaluación. Como se observa, sólo se presentó diferencia significativa entre el primero y el segundo día muestreados, para las dos evaluaciones. Esto muestra que hay variabilidad intrínseca en la emisión de N<sub>2</sub>O cuando se muestrean días consecutivos bajo condiciones ambientales muy similares. Lo que adiciona importancia a la definición de un momento óptimo para muestrear y que presente valores promedio para la emisión diaria.

Cuadro 5. Comparación de medias (mg N<sub>2</sub>O-N.ha<sup>-1</sup>.día<sup>-1</sup>), entre cada uno de los tres días consecutivos de la semana, cuando se realizó una evaluación del ensayo (salida y entrada de lluvias).

Día	Medias	n	E.E.	
1	935,51	80	98,30	<b>a</b>
2	493,61	70	110,17	<b>b</b>
3	733,57	73	109,20	<b>a b</b>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes según prueba de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## Evaluación en función de las horas del día muestreadas

En el Cuadro 6, se observa el resultado de la comparación entre medias de la emisión de N<sub>2</sub>O (mg.ha<sup>-1</sup>.día<sup>-1</sup>) para todas las horas del día muestreadas en las dos evaluaciones (salida y entrada de lluvias). En el mismo, vemos que se presentó diferencia significativa para la difusión de óxido nitroso a las diez, doce y veinte horas del día, con respecto a las demás horas muestreadas. Esto indica que ambas evaluaciones presentan periodos menos variables en magnitud de la liberación de N<sub>2</sub>O, los cuales ocurren entre las seis y las ocho horas de la mañana; así como entre las catorce y dieciocho horas de la tarde, de cada día.

En el mismo Cuadro 6, apreciamos que el rango horario que mejor representa el promedio de emisión de N<sub>2</sub>O, se encuentra entre las catorce y las dieciocho horas.

Sin embargo, si consideramos que no hubo evaluación del rango horario diario sin luz natural (el cual ocurre entre las veinte horas (noche) y las seis 6 horas (madrugada)); posiblemente esas horas de muestreo hubiesen presentado bajos valores de emisión de N<sub>2</sub>O, según lo encontrado por Cosentino *et al.* (2012) y Cosentino (2016) en Argentina. Lo cual haría, que si tomamos ese periodo de muestreo nocturno en cuenta, posiblemente el período entre las seis y las ocho horas (por la mañana) y el período entre las

catorce y dieciocho horas (por la tarde); fuesen los momentos donde se presente el valor real que mejor representa al promedio diario de emisión. Asimismo, los estudios sobre la emisión de óxido nitroso basados en la toma de una sola muestra diaria, los cuales se realizan durante las horas con luz solar; puede que estén generando un grado de sobreestimación del valor de las emisiones, principalmente con las muestras tomadas entre las ocho horas de la mañana y hasta las doce horas del día.

Diferentes autores (Irrisari *et al.* 2012; Arenas 2015; Cosentino 2016 y Núñez *et al.* 2021), indican que no es apropiado realizar muestreos en horas sin luz solar, por los peligros e inconvenientes en los protocolos que se deben seguir. Debido a eso, recomiendan definir las horas óptimas de muestreo para el óxido nitroso, dentro del rango horario diurno.

Por lo tanto, para las doce horas diurnas en que se realizó este estudio, sin la aplicación de fertilizantes de ningún tipo u otros tratamientos que incluyeran la adición de alguna forma de nitrógeno; el muestreo más representativo sería en el rango horario entre las 8 horas de la mañana y las dieciséis horas por la tarde, según se puede apreciar en la Figura 5.

Cuadro 6. Comparación de medias para la variable emisión de óxido nitroso (en  $\text{mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ ), en función de las horas de cada día muestreado, para las dos evaluaciones. Santa María de Dota, San José, Costa Rica; 2021.

HORA	Medias	n	E.E.	$\alpha$ 0,05
6	622	29	161	ab
8	552	32	153	ab
10	1245	35	146	a
12	1051	30	158	a
14	776	28	163	ab
16	733	32	153	ab
18	912	27	166	ab
20	311	10	274	b

Para la estimación de las horas más apropiadas para realizar el muestreo diario, se puede utilizar el modelo de regresión no lineal que se presenta a continuación:

$$Y = -139,1 = 119,6 \text{ hora} - 4,8 \text{ hora}^2$$

El mismo se construyó con los datos surgidos de la ecuación de regresión que involucra variables dependientes e independientes que participen y que se presentan en el Cuadro 7.

En algunos ensayos de determinación de la emisión de óxido nitroso realizados en Costa Rica, se han llevado a cabo muestreos entre las ocho horas y las doce horas (Montenegro-Ballesteros 2019b) ó durante las horas de la mañana (Herrera *et al.* 2014). Mientras que estudios similares al realizado en Santa María de Dota, han determinado rangos horarios para muestreo óptimo de  $\text{N}_2\text{O}$ , entre las ocho horas y las once horas en Colombia con Maíz (Arenas 2015); de las nueve horas a las doce horas en Argentina con Soja (Cosentino 2016); de las diez horas a las trece horas en República Dominicana con pasto (Núñez- Ramos *et al.* 2021) y de las trece horas a las quince horas en Uruguay con arroz (Irrisari *et al.* 2012).

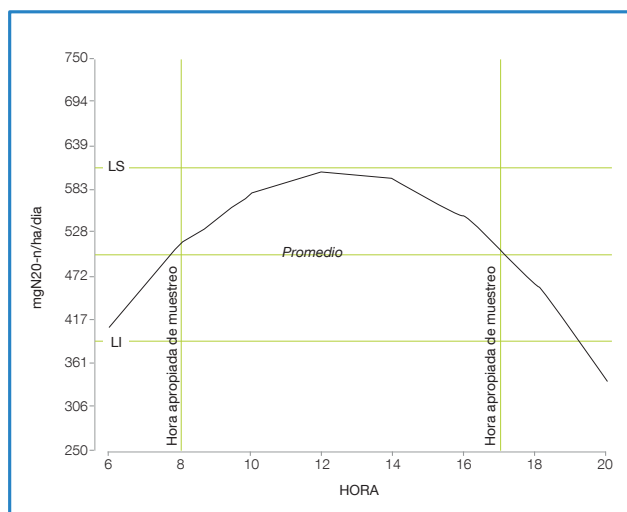


Figura 5. Curva de emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  durante las horas del día evaluadas con luz natural ( $\text{mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ ), donde se marcan las horas apropiadas para muestreo en campo.

Mientras que en Costa Rica (Arguedas-Acuña *et al.* 2018), en un ensayo similar al del presente estudio, encontraron que el momento óptimo del día para tomar muestras de  $\text{N}_2\text{O}$  en la zona trópico muy húmedo, se presenta en el rango horario entre las diez y las dieciséis horas.

Cuadro 7. Coeficientes de regresión y estadísticos asociados a la Figura 5.

Coef	Est.	E.E.	p-valor
Const	-139,06	242,18	0,5665
HORA	119,62	41,85	0,0047
HORA^2	-4,79	1,66	0,0043

## CONCLUSIONES

El estudio de calibración demuestra que hay variabilidad en la emisión de  $N_2O$ , debida a la hora del día donde se toma la muestra, al día (dentro de la semana) donde se muestrea y al punto de muestreo en campo (repeticiones); bajo las condiciones de la zona de vida Bosque húmedo-Montano bajo donde se realizó el estudio.

La mayor emisión de óxido nítrico se encontró en la primera evaluación (al final de las lluvias), al compararla con la segunda evaluación (al inicio de las lluvias) y fue de 906,38 contra 558,60 mg  $N_2O-N.ha^{-1}.día^{-1}$ .

Se observó que la interacción entre la concentración de  $N_2O$  y el día de muestreo, fue altamente significativa (\*\*). Sólo se presentó diferencia entre el primero y el segundo día del periodo de muestreo, para las dos evaluaciones realizadas.

Hubo diferencia significativa para la difusión de óxido nítrico que se produjo a las diez, doce y veinte horas del día, con respecto a las demás

horas muestreadas; en las dos evaluaciones (salida y entrada de lluvias).

El rango horario que mejor representa el promedio diario de emisión de  $N_2O$ , se encuentra entre las ocho horas (de la mañana) y las dieciséis horas (de la tarde). Es el periodo donde se producen la mayores liberaciones de óxido nítrico a la atmósfera. Se recomienda el mismo para la toma de muestras en experimentos de gases de efecto invernadero (GEI).

De acuerdo con los muestreos realizados, el período del día con las mayores emisiones de óxido nítrico, ocurrieron entre las diez y las doce horas y estuvieron en el rango de 1051 y 1245 mg. $ha^{-1}.día^{-1}$ .

Se recomienda determinar el horario para cada región agroecológica ya definida en el país y que el mismo sirva para la evaluación de las emisiones de las distintas fuentes  $N_2O$  ó de los tratamientos para la reducción de la difusión del óxido nítrico.

## LITERATURA CITADA

Akiyama, H; Tsuruta, H; Watanabe, T. 2000.  $N_2O$  and NO emissions from soils after the application of different chemical fertilizers. *Chemosphere e Global Change Science*. 2: 313-320.

Alves, BJR; Smith, K; Flores, R; Cardoso, AS; Oliveira, WRD; Jantalia, CP; Boddey, RM. 2012. Selection of the most suitable sampling time for static chambers for the estimation of daily mean  $N_2O$  flux from soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 46 (July):129-135. <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.11.022>

Arenas, LN. 2015. Diseño de cámara estática cerrada y medición de flujos de gases de efecto invernadero (GEI) en suelos. Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de: Magister en Ingeniería Ambiental. Palmira, Cali, Colombia, Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería y Administración.

- Arguedas-Acuña, F; Jiménez-Araya, J; Abarca-Monge, S. 2018. Momento óptimo del día para muestrear óxido nitroso en el trópico muy húmedo de Costa Rica. *Revista Alcances Tecnológicos* 12(2):31-44. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria (INTA). Costa Rica.
- Butterbach-Bahl, K; Baggs, EM; Dannenmann, M; Kiese, R; Zechmeister-Boltenstern, S. 2013. Nitrous oxide emissions from soils: how well do we understand the processes and their controls? *Philosophical Transactions of The Royal Society B*. 368: 2013012. In: <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2013.0122>
- Chacón, PA. 2018. Uso de *Tithonia diversifolia* como forraje alternativo para la reducción de emisiones de óxido nitroso en excretas de vacas. Tesis del Programa de Posgrado del CATIE. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Capítulo #3. 76 p.
- Chao, CC; Young, CC; Wang, YP; Chao, WL. 2000. Daily and seasonal nitrous oxide fluxes in soils from hardwood forest and different agroecosystems of Taiwan. *Chemosphere*.
- Clough, TJ; Jarvis, SC; Dixon, ER; Stevens, RJ; Laughlin, RJ; Hatch, DJ. 1999. Carbon induced subsoil denitrification of <sup>15</sup>N-labelled nitrate in 1 m Deep soil columns. *Soil Biology and Biochemistry*. 31: 31-41.
- Clough, TJ; Sherlock, RR; Rolston, DE. 2005. A review of the movement and fate of N<sub>2</sub>O in the subsoil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 72: 3-11.
- Cosentino, VR. 2016. Factores y procesos que afectan a la emisión de óxido nitroso en un suelo pampeano manejado con siembra directa. Tesis de Doctorado del área Ciencias Agropecuarias. Buenos Aires, Argentina, Universidad de Buenos Aires.
- Cosentino, VR; Fernandez, PL; Figueiro Aureggi, SA; Taboada, MA. 2012. N<sub>2</sub>O emissions from a cultivated mollisol: optimal time of day for sampling and the role of soil temperature. *Revista Brasileira de Ciência Do Solo*. 36: 1814–1819. <http://doi.org/10.1590/S0100-06832012000600015>
- Denmead, OT; Freney, JR; Simpson, JR. 1979. Studies of nitrous oxide emission from a grass sward. *Soil Science Society of America Journal*. 43(4): 726-728.
- Di Rienzo, JA; Robledo, CW; Casanoves, F; Balzarini, M. 2008. InfoStat (software estadístico), versión beta. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dobbie, KE; Smith, KA. 2002. The effects of temperature, water-filled pore space and land use on N<sub>2</sub>O emissions from an imperfectly drained gleysol. *European Journal of Soil Science*. 52(4): 667-673. En: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2001.00395.x>
- Du, R; Lu, D; Wang, G. 2006. Diurnal, seasonal, and inter-annual variations of N<sub>2</sub>O fluxes from native semi-arid grassland soils of inner Mongolia. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 474-482.
- Herrera, J; Beita VH; Solórzano, D; Argüello, H; Rodríguez, A. 2014. Determinación de emisiones de CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O generadas en plantaciones de arroz en Guanacaste, Costa Rica. *Ciencias Ambientales*. 46:5-14.
- Holdridge, L. 1978. *Ecología basada en zonas de vida*. San José, Costa Rica, IICA. 216p.
- Instituto del Café de Costa Rica (ICAFE). 2020. Informe sobre la Actividad Cafetalera de Costa Rica. Para Delegados al XLIX Congreso Nacional Cafetalero Ordinario. Heredia, Costa Rica, Instituto Del Café. 50p.
- Instituto Meteorológico Nacional (IMN). 2013. Temperatura y humedad promedio zona atlántica. <https://www.imn.ac.cr/web/imn/inicio> (consultado 20 agosto 2016).
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). 2015. Censo Agropecuario Nacional. San José, Costa Rica. Instituto Nacional de Estadística y Censos <http://www.inec.go.cr/Web/Home/GeneradorPagina.aspx> (consultado 11 nov 2015).
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2006. Guidelines for national greenhouse gas inventories. Greenhouse Gas Inventory. Reference Manual 4. Intergovernmental Panel on Climate Change. 128 p. Disponible en <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/vol4.html>.
- Irrisari, P; Pereyra, V; Fernández, A; Terra, J; Tarlera, S. 2012. Emisiones de CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O en un arrozal: primeras medidas en el sistema productivo uruguayo. *Agrociencia Uruguay*. 16(2).



- Jantalia, CP; dos Santos, HP; Urquiaga, S; Boddey, RM; Bruno, JR. 2008. Fluxes of nitrous oxide from soil under different crop rotations and tillage systems in the South of Brazil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 82 (2), 161-173. En: <https://doi.org/10.1007/s10705-008-9178-y>
- Klein, CAM.; Harvey, MJ. 2012. Nitrous Oxide Chamber Methodology Guidelines. Chapter 3. (Deployment Protocol). Global Research Alliance on Agricultural Greenhouse Gases. In Curso de Capacitación "Investigación en Sistemas Ganaderos y Medición de Gases de Efecto Invernadero" 8-25 de enero 2015. INIA Remehune – Osorno, Chile.
- Laville, P; Lehuger, S; Loubet, B; Chaumartin, F; Cellier, P. 2011. Effect of management, climate and soil conditions on N<sub>2</sub>O and NO emissions from an arable crop rotation using high temporal resolution measurements. *Agricultural and Forest Meteorology* 151: 228-240.
- Montenegro-Ballester, J. 2019a. Respuesta polinómica de la emisión de óxido nítrico en plantaciones de café en Costa Rica. *Revista de Ciencias Ambientales (UNA)*. 53(2): 1-24.
- Montenegro-Ballester, J. 2019b. Determinación de la emisión de óxido nítrico derivado de la aplicación de fertilizante nitrogenado a plantaciones de café en Costa Rica. Informe de Investigación. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA). San José, Costa Rica.
- Núñez-Ramos, PA; García-Lagombra, G; Caridad del Rosario, J. 2021. Mediciones de N<sub>2</sub>O en suelo manejado bajo pastoreo con bovinos de leche. *Terra Latinoamericana*. 39 (Ene-Dic).
- Perdomo, C; Cardellino, G. 2006. Respuesta de maíz a fertilizaciones definidas con diferentes criterios de recomendación. *Informaciones Agronómicas*. 33: 17-24. <http://www.ipni.net>
- Pihlatie, MK; Christiansen, JR; Aaltonen, H; Korhonen, JFJ; Nordbo, A; Rasilo, T; Pumpanen, J. 2013. Comparison of static chambers to measure CH<sub>4</sub> emissions from soils. *Agricultural and Forest Meteorology*, 171-172, 124-136. In: <http://doi.org/10.1016/j.agrformet.2012.11.008>
- Promotora de Comercio Exterior (PROCOMER). 2019. Memoria Institucional. Promotora de Comercio Exterior. San José, Costa Rica, Ministerio de Comercio Exterior. 45 p.
- Rochette, P. 2011. Towards a standard non-steady-state chamber methodology for measuring soil N<sub>2</sub>O emissions. *Animal Feed Science and Technology*. 166e167:141-146.
- Ryden, JC; Lund, LJ; Focht, DD. 1978. Direct infield measurement of nitrous oxide flux from soil. *Soil Science Society of America Journal*. 42: 731-737.
- Schindlbacher, A; Zechmeister-Boltenstern, S; Butterbach-Bahl, K. 2004. Effects of soil moisture and temperature on NO, NO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O emissions from European forest soils. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*. 109 (D17). En: <https://doi.org/10.1029/2004JD004590>
- US EPA. 2023. Emisiones de óxido nítrico. United States Environmental Protection Agency. En: <https://español.epa.gov>
- Veldkamp, E., Keller, M. and Núñez, M. 1998. Effect of management on N<sub>2</sub>O and NO emissions from soils in the humid tropics of Costa Rica. *Global Biogeochem. Cy*. 12: 71-79.
- Venterea, RT.; Parkin, TB.; Cárdenas, L.; Petersen, SO.; Pedersen, AR. 2012. Data Analysis Considerations. Chapter 6. Global Research Alliance on Agricultural Greenhouse Gases. In Curso de Capacitación "Investigación en Sistemas Ganaderos y Medición de Gases de Efecto Invernadero" 8-25 de enero 2015. INIA Remehue – Osorno, Chile.
- Yara, Costa Rica. 2022. Nutrición Vegetal-Café-Resumen Nutricional. En: <https://www.yaracr.com>