



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
**DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO**  
**AMBIENTE**



**TESIS**

**EFECTO DE LA CENIZA DE MADERA EN LAS EMISIONES DE ÓXIDO  
NITROSO EN SUELOS CON PASTO CULTIVADO TRATADO CON  
PARCHES DE ORINA**

**PRESENTADA POR:**

**JOSÉ EDUARDO RAMÍREZ ARQUIPA**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE**

**PUNO, PERÚ**

**2022**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
**DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO**  
**AMBIENTE**

**TESIS**

**EFFECTO DE LA CENIZA DE MADERA EN LAS EMISIONES DE ÓXIDO  
NITROSO EN SUELOS CON PASTO CULTIVADO TRATADO CON  
PARCHES DE ORINA**

**PRESENTADA POR:**

**JOSÉ EDUARDO RAMÍREZ ARUQUIPA**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE**



APROBADA POR EL JURADO SIGUIENTE:

PRESIDENTE

.....  
Dr. EDMUNDO GERARDO MORENO TERRAZAS

PRIMER MIEMBRO

.....  
Dr. DOMINGO ALBERTO RUELAS CALLOPAZA

SEGUNDO MIEMBRO

.....  
Dr. BERNABÉ CANQUI FLORES

ASESOR DE TESIS

.....  
Ph.D. BERNARDO ROQUE HUANCA

Puno, 13 de Julio de 2022

**ÁREA:** Ciencias Biomédicas

**TEMA:** Efecto de la ceniza de madera en las emisiones de óxido nitroso en suelos con pasto cultivado tratado con parches de orina

**LÍNEA:** Recursos Naturales y Medio Ambiente



## DEDICATORIA

A Dios, a mis queridos padres Evelio y Ada Luz, por el amor, la confianza y todo el apoyo inmensurable que me brindaron durante todos estos años de mi vida y formación profesional, muy agradecidos por ese gesto incondicional, los llevo siempre presentes.

A mis hermanos (a) Efraín, Miriam, Rubén, Vanesa y a toda mi familia por ser parte de mi fortaleza y motivación para seguir firme y no desmayar en culminar este trabajo de investigación. Con mucho cariño se los dedico y deseo que les sea de utilidad como guía, soporte y motivación para alcanzar sus metas propuestas, conociendo y explorando el mundo de la investigación científica. “Los logros de hoy son los sueños de ayer”.

A la persona que me acompaña en todo momento de mi vida, a pesar de las adversidades, me motiva a ser perseverante y alcanzar el éxito en nuestra vida personal y profesional, para ti, que conoces todo el sacrificio y esfuerzo que ha conllevado este trabajo de investigación, con todo mi cariño y amor esta tesis es para ti Miriam.

A mis amigos y compañeros del Doctorado por toda las experiencias y vivencias compartidas, gracias compañeros (a) por todo el aprecio y apoyo incondicional y gracias por ser parte de mi formación personal y profesional.

Eduardo Ramírez

## AGRADECIMIENTOS

Al apoyo financiero del Proyecto Concytec – Banco Mundial “Mejoramiento y Ampliación de los Servicios del Sistema Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación Tecnológica” 8682-PE, a través de su unidad ejecutora ProCiencia (contrato número 01-2018-FONDECYT/BM-Programas de Doctorados en Áreas Estratégicas y Generales).

A los docentes que formaron parte del Programa de Doctorado en Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente - Concytec, fueron excelentes maestros de espíritu motivador en la búsqueda incesante del conocimiento científico, confiriendo soporte académico que fue de gran importancia en el proceso de mi formación profesional como investigador.

Al asesor de tesis PhD. Bernardo Roque Huanca, por su amistad y apoyo inagotable en mi formación doctoral y gracias a sus enseñanzas y recomendaciones se ha alcanzado la conclusión de esta investigación.

A los jurados de la tesis; Dr. Edmundo Gerardo Moreno Terrazas, Dr. Domingo Alberto Ruelas Calloapaza, Dr. Bernabé Canqui Flores, por las sugerencias ofrecidas para la mejora del trabajo de investigación.

Al Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA, a la Estación Experimental Agraria Illpa, por intermedio del Ing. Julio Cesar Zeballos Cabana, mi sincero agradecimiento por su incondicional apoyo y por permitirme trabajar en sus instalaciones durante la ejecución de esta investigación.

Al Grupo de Físico Química Ambiental de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN), Facultad de Ciencias Exactas (EXA), Tandil, Argentina. Mi reconocimiento especial a la PhD. Paula Julianaera coordinadora académica de EXA y Banira Lombardi Becaria de doctorado en ciencias aplicadas del Medio Ambiente y Salud; por su orientación, apoyo y colaboración durante el desarrollo de la estancia de investigación para recibir entrenamiento en la determinación y cálculo de gases de efecto invernadero (GEI) por el método de cromatografía de gases (GC), específicamente el análisis del gas óxido nitroso a partir de muestras de aire procedentes de Puno – Perú. De igual forma expreso mi agradecimiento a Sergio, Patricia, Pablo, Ezequiel, Carla y Mary por compartir sus experiencias en la medición de GEI. La lista es extensa, pero a todos ustedes agradecerles por el apoyo incondicional y su espíritu motivador de continuar por la investigación científica.



## ÍNDICE GENERAL

|                     | <b>Pág.</b> |
|---------------------|-------------|
| DEDICATORIA         | i           |
| AGRADECIMIENTOS     | ii          |
| ÍNDICE GENERAL      | iii         |
| ÍNDICE DE TABLAS    | vii         |
| ÍNDICE DE FIGURAS   | viii        |
| ÍNDICE DE ANEXOS    | ix          |
| ÍNDICE DE ACRÓNIMOS | xi          |
| RESUMEN             | xii         |
| ABSTRACT            | xiii        |
| INTRODUCCIÓN        | 1           |

## CAPÍTULO I

### REVISIÓN DE LITERATURA

|   |     |
|---|-----|
| 1.1 Marco teórico                                       | 3   |
| 1.1.1 Cambio climático y efecto invernadero             | 3   |
| 1.1.2 Intensificación de la ganadería lechera           | 4   |
| 1.1.3 Balance de nitrógeno en el ganado bovino          | 5   |
| 1.1.4 Ciclo del nitrógeno                               | 6   |
| 1.1.5 Principales procesos del ciclo del nitrógeno.     | 8   |
| 1.1.6 Amonificación                                     | 9   |
| 1.1.7 Nitrificación                                     | 11  |
| 1.1.8 Desnitrificación                                  | 12  |
| 1.1.9 Oxidación anaeróbica de amonio (Anammox)          | 13  |
| 1.1.10 Óxido nitroso como gas de efecto invernadero     | 14  |
| 1.1.11 El pH del suelo y las emisiones de óxido nitroso | 14  |
|   | iii |



|        |  |    |
|--------|--|----|
| 1.1.12 | Enmiendas naturales del suelo en la agricultura                  | 15 |
| 1.1.13 | La ceniza de madera como enmienda agrícola                       | 16 |
| 1.1.14 | Factores que intervienen en las emisiones de óxido nitroso       | 18 |
| 1.1.15 | Metodologías para medir las emisiones de óxido nitroso del suelo | 18 |
| 1.2    | Antecedentes   | 19 |

## **CAPÍTULO II**

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

|       |                             |    |
|-------|-----------------------------|----|
| 2.1   | Identificación del problema | 21 |
| 2.2   | Enunciados del problema     | 23 |
| 2.2.1 | Problema general            | 23 |
| 2.2.2 | Problemas específicos       | 23 |
| 2.3   | Justificación               | 23 |
| 2.4   | Objetivos                   | 24 |
| 2.4.1 | Objetivo general            | 24 |
| 2.4.2 | Objetivos específicos       | 24 |
| 2.5   | Hipótesis                   | 24 |
| 2.5.1 | Hipótesis general           | 24 |
| 2.5.2 | Hipótesis específicas       | 25 |

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 3.1   | Lugar de estudio   | 26 |
| 3.2   | Población  | 27 |
| 3.3   | Muestra  | 27 |
| 3.4   | Método de investigación                                    | 27 |
| 3.5   | Descripción detallada de métodos por objetivos específicos | 27 |
| 3.5.1 | Fase Pre – experimental                                    | 27 |



|         |   |    |
|---------|---|----|
| 3.5.1.1 | Diseño de la cámara estática                      | 27 |
| 3.5.1.2 | Diseño del sistema de vacío para viales           | 31 |
| 3.5.1.3 | Obtención de ceniza de madera                     | 33 |
| 3.5.1.4 | Colección de orina                                | 33 |
| 3.5.2   | Diseño experimental                               | 34 |
| 3.5.2.1 | Tratamientos                                      | 34 |
| 3.5.2.2 | Distribución de parcelas e instalación de cámaras | 35 |
| 3.5.3   | Aplicación de ceniza de madera                    | 37 |
| 3.5.4   | Adicción del parche de orina                      | 37 |
| 3.5.5   | Fase de muestreo                                  | 38 |
| 3.5.5.1 | Determinación del horario de muestreo             | 38 |
| 3.5.5.2 | Muestreo de aire                                  | 40 |
| 3.5.6   | Fase analítica                                    | 41 |
| 3.5.6.1 | Análisis de la concentración de N <sub>2</sub> O  | 41 |
| 3.5.6.2 | Cálculo de los flujos de emisión de óxido nitroso | 43 |
| 3.5.7   | Mediciones de variables complementarias           | 45 |
| 3.5.7.1 | Variables ambientales                             | 45 |
| a.      | Temperatura                                       | 45 |
| b.      | Precipitación                                     | 45 |
| 3.5.7.2 | Parámetros fisicoquímicos del suelo               | 45 |
| a.      | Humedad del suelo (Hw, %)                         | 45 |
| b.      | Densidad aparente (Da)                            | 46 |
| c.      | Espacio poroso lleno de agua (WFPS, %)            | 46 |
| d.      | pH del suelo                                      | 47 |
| e.      | Nitrato y amonio                                  | 48 |
| f.      | Caracterización del Suelo                         | 48 |
| 3.5.8   | Análisis estadístico                              | 48 |



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

|         |  |    |
|---------|--|----|
| 4.1     | Determinación de los flujos de emisión de óxido nitroso (N <sub>2</sub> O)             | 50 |
| 4.1.1   | Flujos de emisión diaria de óxido nitroso  | 50 |
| 4.1.2   | Flujos de emisión acumulada de óxido nitroso   | 52 |
| 4.2     | Determinación de los parámetros fisicoquímicos del suelo                               | 55 |
| 4.2.1   | Parámetros fisicoquímicos del suelo  | 55 |
| 4.2.1.1 | Densidad aparente (Da)   | 55 |
| 4.2.1.2 | Humedad gravimétrica (Hw, %)   | 56 |
| 4.2.1.3 | Espacio poroso lleno de agua (WFPS, %)   | 56 |
| 4.2.1.4 | pH del suelo   | 57 |
| 4.2.1.5 | Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )  | 58 |
| 4.2.1.6 | Amonio (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )   | 59 |
| 4.2.2   | Correlación de parámetros del suelo con el flujo de emisión diaria de N <sub>2</sub> O | 60 |
| 4.2.3   | Mediciones complementarias   | 62 |
| 4.2.3.1 | Temperatura y precipitación  | 62 |
|         | CONCLUSIONES   | 64 |
|         | RECOMENDACIONES  | 65 |
|         | BIBLIOGRAFÍA   | 66 |
|         | ANEXOS   | 84 |



## ÍNDICE DE TABLAS

|   | <b>Pág.</b> |
|---|-------------|
| 1. Parámetros fisicoquímicos de la superficie del suelo en el lugar de estudio  | 26          |
| 2. ANVA para flujos de emisión diaria de óxido nitroso  | 85          |
| 3. Estadísticos descriptivos para flujos de emisión diaria de óxido nitroso   | 85          |
| 4. Prueba Dunnett para flujos de emisión diaria de óxido nitroso  | 85          |
| 5. Prueba múltiple de Duncan para flujos de emisión diaria de óxido nitroso   | 86          |
| 6. ANVA para flujos de emisión acumulada de óxido nitroso   | 87          |
| 7. Estadísticos descriptivos para flujos de emisión acumulada de óxido nitroso  | 88          |
| 8. Prueba Dunnett para flujos de emisión acumulada de óxido nitroso   | 88          |
| 9. Prueba múltiple de Duncan para flujos de emisión acumulada de óxido nitroso  | 89          |
| 10. Matriz correlacional de parámetros fisicoquímicos del suelo con mayor influencia en los flujos de emisión diaria de óxido nitroso | 89          |
| 11. Flujos de emisión diaria de óxido nitroso en N-N <sub>2</sub> O mg/m <sup>2</sup> /h  | 89          |
| 12. Integración de los flujos de emisión acumulada de óxido nitroso en N-N <sub>2</sub> O mg/m <sup>2</sup> por OriginLab 2018        | 90          |
| 13. Registro de la temperatura del suelo a 10 cm de profundidad, temperatura del aire y temperatura interna de la cámara              | 91          |
| 14. Primera medición de altura interna de la cámara, registrado el 28-01-2022   | 91          |
| 15. Última medición de altura interna de la cámara, registrado el 04-03-2022  | 92          |
| 16. Densidad aparente del suelo de 0-10 cm de profundidad según tratamiento y días de muestreo (10 campañas)                          | 92          |
| 17. Humedad gravimétrica del suelo según tratamiento y días de muestreo (10 campañas)   | 93          |
| 18. Espacio poroso lleno de agua (WFPS) del suelo según tratamiento y días de muestreo  | 94          |
| 19. Determinación de pH del suelo in situ mediante pH metro HANNA (HI81030), según tratamiento y días de muestreo (10 campañas)       | 95          |
| 20. Concentración de nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) en ppm del suelo según tratamiento y días de muestreo                    | 95          |
| 21. Concentración de amonio (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) en ppm del suelo según tratamiento y días de muestreo                     | 96          |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  | <b>Pág.</b> |
|--|-------------|
| 1. Intermediarios del ciclo del nitrógeno  | 7           |
| 2. Diseño y configuración de la cámara estática utilizada  | 29          |
| 3. Ensamble del extractor de muestras de aire  | 30          |
| 4. Tapa con extractor de muestras y termómetro acoplado y desacoplado  | 31          |
| 5. Sistema de vacío, sellado y rotulado de viales de vidrio de 12 mL tapa rosca  | 33          |
| 6. Configuración del diseño de investigación   | 35          |
| 7. Distribución espacial de tratamientos en las sub parcelas experimentales  | 36          |
| 8. Estación meteorológica instalada con sensores inalámbricos de temperatura   | 38          |
| 9. Monitoreo de la temperatura del aire en el área experimental  | 39          |
| 10. Variación de la concentración de N <sub>2</sub> O en función al tiempo de despliegue   | 44          |
| 11. Flujos de emisión diaria de óxido nitroso  | 51          |
| 12. Flujos de emisión acumulada de óxido nitroso en 34 días  | 53          |
| 13. Densidad aparente del suelo g/cm <sup>3</sup>  | 55          |
| 14. Humedad gravimétrica del suelo (Hw, %)   | 56          |
| 15. Espacio poroso lleno de agua (WFPS, %)   | 57          |
| 16. Monitoreo del pH de las parcelas experimentales según tratamiento  | 58          |
| 17. Niveles de nitrato en las parcelas experimentales  | 59          |
| 18. Niveles de amonio en las parcelas experimentales   | 59          |
| 19. Correlación de parámetros más importantes del suelo en la emisión de N <sub>2</sub> O  | 61          |
| 20. Monitoreo de temperatura del aire (°C) y lluvia (mm)   | 62          |
| 21. Monitoreo de temperatura del suelo a 10 cm de profundidad con relación a la superficie del suelo                             | 63          |
| 22. Histograma y curva de distribución normal de flujos de emisión diaria de N <sub>2</sub> O                                    | 84          |
| 23. Distribución de normalidad Q-Q Plot y distribución de residuos estándar para flujos de emisión diaria de N <sub>2</sub> O    | 84          |
| 24. Prueba de comparación Dunnett para flujos de emisión diaria de N <sub>2</sub> O  | 86          |
| 25. Histograma y curva de distribución normal de flujos de emisión acumulada de N <sub>2</sub> O                                 | 87          |
| 26. Distribución de normalidad Q-Q Plot y distribución de residuos estándar para flujos de emisión acumulada de N <sub>2</sub> O | 87          |



## ÍNDICE DE ANEXOS

|  | <b>Pág.</b> |
|--|-------------|
| 1. Prueba de normalidad para flujos de emisión diaria de N <sub>2</sub> O mediante el estadístico de Kolmogorov-Smirnov    | 84          |
| 2. Análisis estadístico para flujos de emisión diaria de óxido nitroso   | 85          |
| 3. Prueba de normalidad para flujos de emisión acumulada de N <sub>2</sub> O mediante el estadístico de Kolmogorov-Smirnov | 86          |
| 4. Análisis estadístico para flujos de emisión acumulada de óxido nitroso  | 87          |
| 5. Flujos de emisión diaria de óxido nitroso (N <sub>2</sub> O)  | 89          |
| 6. Flujos de emisión acumulada de óxido nitroso (N <sub>2</sub> O)   | 90          |
| 7. Registro de temperatura en el suelo, del aire e interior de cámara durante la fase de muestreo                          | 91          |
| 8. Determinación de las medidas de altura del interior de la cámara estática   | 91          |
| 9. Determinación de parámetros fisicoquímicos de las parcelas experimentales a partir de muestras de suelo                 | 92          |
| 10. Determinación de pH del suelo in situ  | 95          |
| 11. Determinación de nitrato y amonio de las parcelas experimentales a partir de muestras de suelo                         | 95          |
| 12. Determinación del área de estudio en las instalaciones del INIA – Illpa, Puno  | 97          |
| 13. Preparación del área de estudio INIA – Illpa, Puno   | 97          |
| 14. Instalación de la estación meteorológica para medir temperatura  | 97          |
| 15. Diseño y construcción de la cámara estática cerrada  | 98          |
| 16. Obtención de la ceniza de madera   | 99          |
| 17. Construcción del colector de orina   | 100         |
| 18. Colección de orina de vacas lecheras Brown Swiss   | 100         |
| 19. Aplicación de ceniza de madera antes de la instalación de las cámaras estáticas  | 101         |
| 20. Instalación de las cámaras estáticas en las parcelas experimentales  | 101         |
| 21. Aplicación de los parches de orina (1L) según el tratamiento correspondiente   | 102         |
| 22. Formación de vacío de los viales mediante sistema de vacío   | 103         |
| 23. Demostración de vacío de los viales mediante prueba de agua  | 103         |



|  |     |
|--|-----|
| 24. Muestreo de aire del interior de las cámaras y almacenamiento en los viales                    | 104 |
| 25. Manteamiento del crecimiento de la alfalfa $\leq$ a 5 cm de la superficie del suelo            | 104 |
| 26. Muestreo de suelo para determinar los parámetros fisicoquímicos de las parcelas experimentales | 105 |
| 27. Medición de pH, conductividad eléctrica (CE) y temperatura del suelo.                          | 105 |
| 28. Análisis y procesamiento de muestras de suelo para determinar los parámetros fisicoquímicos    | 106 |
| 29. Determinación de nitrógeno total de la orina por el método micro Kjeldahl                      | 106 |
| 30. Determinación de materia orgánica (MO) a partir de muestras de suelo                           | 107 |
| 31. Determinación del gas óxido nitroso (ppm) por cromatografía de gases                           | 108 |
| 32. Inyección manual de muestras de aire al cromatógrafo de gases                                  | 108 |
| 33. Supervisión de los picos cromatográficos y registro de resultados                              | 109 |



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

|              |   |
|--------------|---|
| ABO:         | Bacterias oxidantes de amoníaco   |
| AMO:         | Enzima Amonio-Monooxigenasa   |
| ANRA:        | Reducción asimilatoria de nitrito   |
| AOA:         | Arquea oxidante de amoníaco   |
| AOAC:        | Asociación de Químicos Analíticos Oficiales                               |
| BNF:         | Fijación biológica del nitrógeno  |
| CHON:        | Carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno                                    |
| CV, %:       | Coefficiente de variabilidad  |
| DNRA:        | Reducción disimilatoria de nitrito  |
| FAO:         | Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación |
| $F_{N_2O}$ : | Flujo de óxido nitroso  |
| GEI:         | Gases de Efecto Invernadero   |
| GPS:         | Sistema de Posicionamiento Global   |
| HAO:         | Enzima Hidroxilamina reductasa  |
| IPCC:        | Panel Intergubernamental del Cambio Climático                             |
| MO:          | Materia orgánica  |
| N:           | Nitrógeno   |
| $N_2O$ :     | Óxido nitroso   |
| $NH_2OH$ :   | Hidroxilamina   |
| $NH_3$ :     | Amoniaco  |
| $NH_4^+$ :   | Amonio  |
| $NO_2$ :     | Dióxido de nitrógeno  |
| $NO_2^-$ :   | Nitrito   |
| $NO_3^-$ :   | Nitrato   |
| Nr:          | Nitrógeno reactivo  |
| NT:          | Nitrógeno total   |
| OMM:         | Organización Meteorológica Mundial  |
| SD:          | Desviación Estándar   |
| WFPS:        | Espacio poroso lleno de agua en el suelo (%)                              |

## RESUMEN

La ceniza de madera, se puede utilizar para devolver los nutrientes al suelo y neutralizar suelos ácidos. Su aplicación como enmienda agrícola, puede afectar las emisiones de óxido nitroso ( $N_2O$ ), un gas de efecto invernadero con un potencial de calentamiento global 300 veces mayor al dióxido de carbono ( $CO_2$ ). Aquí se investigó el efecto de la ceniza de madera en las emisiones de óxido nitroso en suelos con pasto cultivado tratado con parches de orina y su relación con los parámetros fisicoquímicos del suelo (nitrato, amonio, WFPS, pH), en la estación experimental agraria Illpa-Puno. Se utilizaron 12 cámaras estáticas distribuidas aleatoriamente en cuatro grupos experimentales; con orina (U), orina más ceniza 0.5 t/ha (U+A1), orina más ceniza 1 t/ha (U+A2) y control (C). El muestreo de aire se realizó después del cierre de la cámara en tres tiempos 0, 20 y 40 minutos, durante 10 campañas a los 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 20, 27 y 34 días. Las emisiones acumuladas de  $N_2O$  ( $N-N_2O$  mg/m<sup>2</sup>) por 34 días, en los tratamientos U+A1 y U+A2, fueron superiores en comparación al tratamiento U ( $p<0.05$ ), con  $718.44 \pm 110.10$ ,  $685.31 \pm 139.19$ ,  $489.98 \pm 96.79$ , respectivamente. Sin embargo, estas emisiones fueron superiores al grupo control  $170.37 \pm 26.57$  ( $p<0.05$ ). Las diferencias presentadas obedecen a la deposición de orina y el cambio de pH del suelo. Se concluye que la ceniza de madera tuvo un efecto sinérgico significativo en la emisión de  $N_2O$  y la orina es una fuente localizada de  $N_2O$ .

**Palabras clave:** Ceniza de madera, cámara estática cerrada, gestión de pH, parches de orina, óxido nitroso.

## ABSTRACT

The wood ash can be utilized to return nutrients to the soil and neutralize acidic soils. Its application as an agricultural amendment can affect emissions of Nitrous Oxide (N<sub>2</sub>O), which is a greenhouse gas with a global warming potential 300 times greater than Carbon Dioxide (CO<sub>2</sub>). Here we investigated the effect of wood ash on Nitrous Oxide emissions in soils with cultivated grass treated with urine patches and its relationship with soil physicochemical parameters (nitrate, ammonium, WFPS, pH), at the Illpa-Puno agricultural experimental station. Twelve static chambers were randomly distributed in four experimental groups; with urine (U), urine plus ash 0.5 t/ha (U+A1), urine plus ash 1 t/ha (U+A2) and control (C). Air sampling was performed after chamber closure at three times 0, 20 and 40 minutes, during 10 campaigns at 1, 3, 5, 7, 7, 9, 11, 11, 13, 13, 20, 27 and 34 days. The cumulative N<sub>2</sub>O emissions (N-N<sub>2</sub>O mg/m<sup>2</sup>) for 34 days, in treatments U+A1 and U+A2, were higher compared to treatment U (p<0.05), with 718.44 ± 110.10, 685.31 ± 139.19, 489.98 ± 96.79, respectively. However, these emissions were higher than the control group 170.37 ± 26.57 (p<0.05). The differences presented are due to urine deposition and soil pH change. We conclude that wood ash had a significant synergistic effect on N<sub>2</sub>O emission and urine is a localized source of N<sub>2</sub>O.

**Keywords:** Nitrous oxide, pH management, static chamber method, urine patches, and wood.

## INTRODUCCIÓN

El calentamiento global y el aumento de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera, ha sido ampliamente abordado por científicos de todo el mundo en los últimos años (Barbera et al., 2018; Vallero, 2019), a consecuencia de los efectos ambientales generados por las actividades antrópicas (Böttner et al., 2020).

Es así que actualmente existe un innegable interés por monitorear y cuantificar las fuentes de emisión y sumideros de los gases de efecto invernadero, con la perspectiva de implementar estrategias de mitigación que permitan reducir su concentración atmosférica o limitar su incremento por las actividades antropogénicas (IPCC, 2013, 2014; OMM, 2019).

El óxido nitroso ( $N_2O$ ) es un potente gas de efecto invernadero con un potencial de calentamiento global 300 veces mayor que el dióxido de carbono ( $CO_2$ ) con una larga vida en la atmósfera y se estima que lleva alrededor de 120 años eliminar el 63 % de sus emisiones iniciales (IPCC, 2013; Luo et al., 2018; Pauleta et al., 2019). Por lo tanto, tiene una gran contribución al calentamiento global y juega un papel importante en el agotamiento de la capa de ozono que ocurre en la estratósfera en un 6 % del forzamiento radiactivo antropogénico (Pauleta et al., 2019; Yi et al., 2017).

La concentración atmosférica de óxido nitroso es actualmente alrededor de 331 (ppb), y se ha observado un aumento promedio de 0.25 % cada año. De hecho, su concentración es 123 % más alta que la estimada para la era preindustrial y antes de la introducción de los fertilizantes inorgánicos en la agricultura (OMM, 2019).

La intensificación de los sistemas de producción ganadera y sus efectos ambientales están asociadas con las emisiones de gases de efecto invernadero. Estudios anteriores determinaron que el ganado al pastoreo superará el 10 % de las emisiones globales anuales de  $N_2O$ . Estas emisiones se atribuyen a la pérdida de nitrógeno que el ganado elimina al ambiente en forma de estiércol y orina durante el pastoreo o su reposo en el establo (van der Weerden et al., 2017). Entre el 70 % y el 95 % del N consumido por los rumiantes se deposita en los pastos por excreción (Oenema et al., 2005). Según de Klein y Eckard (2008), el N urinario se encuentra principalmente en forma de urea. En consecuencia, el nitrógeno es depositado en los suelos de pastoreo a tasas superiores a la demanda de las plantas y la capacidad de fijación de los microorganismos del suelo,



esto dará como resultado que el nitrógeno (N) se transforme a nitrógeno reactivo (Nr) por medio de la nitrificación y/o desnitrificación y finalmente podría perderse del sistema del suelo y la planta, por medio de la lixiviación de nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) o en forma gaseosa particularmente como amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) (Bowatte *et al.*, 2018; Marsden *et al.*, 2019).

La ceniza de madera es un material residual obtenido del proceso de combustión de biomasa para la generación de energía (Maresca *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2020), considerado como un residuo sólido (Silva *et al.*, 2019). Puede devolver nutrientes y oligoelementos importantes al suelo (Hannam *et al.*, 2018; Schönegger *et al.*, 2018), con excepción de nitrógeno y carbono debido a su oxidación durante la combustión (Ondrasek *et al.*, 2021; Petrovský *et al.*, 2018), además de amortiguar su acidificación debido a su pH alcalino de aproximadamente 11-13 en solución acuosa (Bang-Andreasen *et al.*, 2017; Qin *et al.*, 2017; Schönegger *et al.*, 2018).

El uso de la ceniza de madera, como enmienda agrícola, puede reducir las emisiones de óxido nitroso (Bornø *et al.*, 2020; McMillan *et al.*, 2016; Royer-Tardif *et al.*, 2019), mediante la manipulación del pH del suelo y tener efectos sobre las propiedades fisicoquímicas que afectan a los microorganismos edáficos durante la nitrificación y desnitrificación (Holland *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2017). Es por esta razón que presumimos que la ceniza de madera podría ser una estrategia potencial de mitigación para las emisiones de óxido nitroso en suelos agrícolas (Wang *et al.*, 2018). Sin embargo, hasta el momento, solo unos pocos estudios han investigado el efecto de la aplicación de ceniza de madera en las emisiones de óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) del suelo. Por tanto, en esta investigación buscamos estudiar los efectos de la ceniza de madera en las emisiones de óxido nitroso, a fin de contribuir y comprender mejor los procesos de emisión de este gas de interés mundial, para proponer con mayor precisión el desarrollo de opciones de mitigación efectiva para los agroecosistemas ganaderos y agrícolas desde la perspectiva ambiental, calidad de suelo, aire y el uso responsable de los recursos naturales.

## CAPÍTULO I

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 1.1 Marco teórico

##### 1.1.1 Cambio climático y efecto invernadero

El cambio climático es uno de los principales problemas ambientales que en los últimos años ha sido ampliamente analizado y discutido (Skeiryté et al., 2022). Según el IPCC (Intergovernmental Panel of Climatic Change) este fenómeno se define como “la afectación en el estado del clima, que puede ser reconocido por variaciones en la media o variabilidad de sus propiedades que llegan a formar un patrón constante por periodos largos, inclusive llegar a décadas o más” (Garzón & Cárdenas, 2013).

El cambio climático ya es una realidad y está afectando a todos los países de todo el mundo; por lo tanto, se requiere una acción gubernamental urgente y efectiva para sostener nuestra existencia en el planeta. A pesar de la clara evidencia científica, todavía hay una cantidad significativa de poblaciones que niegan la realidad del cambio climático (Mortoja & Yigitcanlar, 2022).

La mitigación del cambio climático y la mejora de la seguridad alimentaria se consideran los principales desafíos a nivel mundial. Se estima que la población mundial aumentará de 9 a 10 millones para el 2050 (Shakoor et al., 2021; Zhang et al., 2018). El constante crecimiento poblacional, la mejora en el nivel de vida mundial y una rápida urbanización, plantea un desafío sin precedentes para los sistemas alimentarios y agrícolas. Sin embargo, los recursos naturales necesarios para la producción mundial de alimentos y productos no alimentarios incluido la

oferta de servicios agroalimentarios no serán suficientes para tal creciente población mundial (FAO, 2018).

El efecto invernadero históricamente ha sido un proceso natural en la Tierra que permite mantener la temperatura terrestre en valores óptimos, promoviendo condiciones ambientales favorables relativamente estables para el progreso de la vida. Sin embargo, la intervención antropogénica ha incrementado las concentraciones atmosféricas de los gases de efecto invernadero (GEI). Los principales gases de efecto invernadero relacionados con el calentamiento global del planeta es el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), metano ( $\text{CH}_4$ ) óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) y el vapor de agua (Mortoja & Yigitcanlar, 2022; Skeiryte et al., 2022).

### **1.1.2 Intensificación de la ganadería lechera**

Los pastizales forman parte de un importante ecosistema terrestre que ocupa aproximadamente una cuarta parte de la superficie de la Tierra, por tanto la instalación de pastos cultivados en los ecosistemas del altiplano peruano se realizó, a fin de incrementar la tasa de carga animal con el propósito de mejorar la producción de leche y carne del ganado al pastoreo, los pastizales juegan un rol esencial y necesario haciendo de soporte nutricional del ganado rumiante en los sistemas modernos de producción lechera (Luo et al., 2019; Rojas-Downing et al., 2017; Simon et al., 2018).

El sector ganadero aporta hasta el 50 % del producto bruto interno de la agricultura mundial y apoya los medios de vida y la seguridad alimentaria a casi 1,300 millones de personas a países con vías en desarrollo (FAO, 2017; Herrero et al., 2016; Tullo et al., 2019). Sin embargo, estos beneficios tienen consecuencia ambiental como la contaminación del aire, suelo y el agua, y en gran medida por la eliminación de grandes cantidades de nitrógeno reactivo (Nr) como urea, que el ganado excreta al ambiente conjuntamente con las heces y orina, a estas deposiciones en el suelo durante el pastoreo se denomina parche de orina o estiércol, respectivamente (Minet et al., 2018; Selbie et al., 2015; Tullo et al., 2019).

La intensificación de la ganadería ha sido fuertemente desarrollada para cubrir la alta demanda alimentaria mundial, a consecuencia de una emergente clase media global con un requerimiento de dietas cada vez más ricas y variadas, donde su atención

estará centrada especialmente en alimentos de origen animal, por tanto, se estima que la demanda de carne y productos lácteos incremente en un 73 % y 58 % respectivamente, para el año 2050, en relación a 2010 (Gerber et al., 2013). Sin embargo, esta intensificación produce contaminantes indirectos como la emisión de GEI. Dentro de los GEI más importantes que se le relación a la ganadería es el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>) y óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), que se generan por procesos de cambio de uso de suelo para la intensificación de pastizales, deforestación (Bowatte et al., 2018), fertilización nitrogenada inadecuada, entre otros que implican la crianza y producción del ganado (Cardoso et al., 2019; Wattiaux et al., 2019).

Las emisiones relacionadas con la producción de pastos, incluida las emisiones procedentes del manejo e instalación de los pastizales (Albanito et al., 2017), representa la segunda categoría más grande en emisión de GEI, aportando con aproximadamente el 37 % de las emisiones procedentes de la producción de lácteos y carne. Esta categoría antropogénica tiene por dominio la emisión de N<sub>2</sub>O, procedente principalmente de la fertilización nitrogenada de los cultivos (Bai et al., 2019).

### **1.1.3 Balance de nitrógeno en el ganado bovino**

El ganado vacuno es relativamente ineficiente en la utilización del nitrógeno (N) disponible en la dieta, en parte debido a la rápida degradación ruminal de la proteína del alimento, que resulta en una mayor absorción de amoníaco, que luego es transformado en urea por el hígado y finalmente excretado en la orina, del total de N consumido por una vaca lechera, aproximadamente el 26 % se secreta en la leche, mientras que el 33 y el 35 % es excretado en la orina y las heces, respectivamente (Angelidis et al., 2019; Cardenas et al., 2019; Kennedy & Milligan, 1980; NRC, 2016). A menudo, más del 80 % de la ingesta de N se excreta a través de la orina (Nichols et al., 2016; Wachendorf et al., 2008; Wu et al., 2020), principalmente como urea y la concentración en parches de orina puede alcanzar de 200 a 2000 kg de N/ha, dependiendo del contenido de proteína en la dieta, tipo de ganado, edad y etapa de lactancia (Chadwick et al., 2018; Selbie et al., 2015). En promedio, las vacas excretan aproximadamente 25 kg de estiércol y 21 L de orina sobre 12.8 parches de estiércol y 10.2 parches de orina, respectivamente, por día (Barros et al., 2019; Maire et al., 2020).

Claramente, las tasas de carga de N en los parches de orina exceden la eficiencia óptima del uso de la planta, lo que aumenta el riesgo de que el exceso de N se pierda en el medio ambiente a través de lixiviación de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Todas estas vías de pérdida de N (excepto las pérdidas de  $\text{N}_2\text{O}$ ) típicamente representan una pérdida agronómica significativa, y todas estas pérdidas con excepción del  $\text{N}_2$  tienen efectos perjudiciales para el medioambiente, como la volatilización de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) la lixiviación de  $\text{NO}_3^-$  a cuerpos acuáticos subterráneos y las emisiones de  $\text{N}_2\text{O}$  (Cameira et al., 2020; Insausti et al., 2020; Sá et al., 2019; Saggar et al., 2015).

#### 1.1.4 Ciclo del nitrógeno

El nitrógeno (N) está ampliamente distribuido en la naturaleza y es el cuarto elemento más abundante de toda la biomasa viva CHON, después del hidrógeno, carbono y oxígeno. Es uno de los nutrientes primarios y esenciales para muchas moléculas como el ácido desoxirribonucleico (ADN) y clorofila, incluyendo proteínas o enzimas. El nitrógeno (N) es un componente clave de la vida y un nutriente fundamental (Aryal et al., 2022; Denk et al., 2017). Su mayor reservorio se encuentra en la atmósfera, como molécula gaseosa dinitrógeno ( $\text{N}_2$ ) en estado de valencia intermedia 0 (cero), por lo tanto, el nitrógeno es el elemento más abundante de la atmósfera terrestre y representa aproximadamente el 78 % de su composición gaseosa (Aryal et al., 2022). Sin embargo, bajo esta forma de  $\text{N}_2$  es demasiado inerte e inaccesible para la mayoría de los organismos vivos, lo que convierte al  $\text{N}_2$  en un recurso escaso limitante para la productividad biológica en diversos ecosistemas marinos, terrestres y de agua dulce (Galloway, 2005; Marcarelli et al., 2022; Soler-Jofra et al., 2021).

En la atmósfera y el suelo ocurren diferentes procesos biogeoquímicos, que desencadenan la formación de múltiples estados de oxidación y formas químicas de nitrógeno, lo que permite que sea más accesible para otros organismos (Aryal et al., 2022). En la naturaleza, el nitrógeno tiene una oxidación-reducción muy activa y está presente en diferentes formas de oxidación que varían desde compuestos reducidos con estado de valencia de -3 a +5 (Figura 1), por ejemplo, -3 en amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), hasta totalmente oxidado, por ejemplo, +5 en nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Philippot et al., 2007).

| Molecule  | Name                  | Oxidation state |
|---|-----------------------|-----------------|
| C-NH <sub>2</sub>                               | Organic-N             | <b>Reduced</b>  |
| NH <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>  | Ammonia, Ammonium     | -3              |
| N <sub>2</sub> H <sub>4</sub>                   | Hydrazine             | -2              |
| NH <sub>2</sub> OH                              | Hydroxylamine         | -1              |
| N <sub>2</sub>                                  | Dinitrogen            | 0               |
| N <sub>2</sub> O                                | Nitrous oxide         | +1              |
| NO  | Nitric oxide          | +2              |
| HNO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | Nitrous acid, Nitrite | +3              |
| NO <sub>2</sub>                                 | Nitrogen dioxide      | +4              |
| HNO <sub>3</sub> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | Nitric acid, Nitrate  | +5              |
|   |                       | <b>Oxidized</b> |

Current Biology

Figura 1. Intermediarios del ciclo del nitrógeno, fuente (Stein & Klotz, 2016)

El ciclo global del nitrógeno, también conocido como Ciclo del Nitrógeno Convencional (CNC), es fundamental para la biogeoquímica de la Tierra. El ciclo implica la transferencia de grandes cantidades de nitrógeno de la atmósfera a los ecosistemas terrestres y marinos, gracias a la acción de microorganismos que tienen la capacidad de sintetizar un pool de enzimas que catalizan todas las conversiones de nitrógeno en los diferentes procesos bioquímicos que conlleva el ciclo de nitrógeno, por ejemplo la fijación biológica de nitrógeno (BNF), nitrificación, desnitrificación y amonificación que son los principales procesos de transformación donde el N<sub>2</sub> no reactivo es transformado y reducido en nitrógeno reactivo (Nr) como compuestos de amonio, que posteriormente son convertidos en aminoácidos y otros compuestos oxidados por los microorganismos, haciendo que el N esté más biodisponible para las plantas y otros microorganismos (Aryal et al., 2022; Fowler et al., 2013; Galloway, 2005). Por lo tanto, la conversión de N<sub>2</sub> en nitrógeno reactivo (Nr) es esencial para la biodiversidad, particularmente en los ensamblajes de microorganismos, incluyendo a hongos, bacterias, algas, etc. (Gruber & Galloway, 2008; Stein & Klotz, 2016), apoyando directa o indirectamente al crecimiento de la biomasa (Denk et al., 2017), la agricultura y la existencia Humana (Aryal et al., 2022).

En un escenario ambiental, los compuestos de nitrógeno reactivo incluyen especies de nitrógeno oxidado, como el óxido nítrico (NO), el dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), así como las especies de nitrógeno reducido, sales de amoníaco (NH<sub>3</sub>), amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y otros compuestos orgánicos de N a través de los pasos iniciales de fijación. así como el N orgánico unido, por ejemplo, en su forma más simple de urea, derivados de aminas o como N

orgánico en proteínas u otras sustancias (Denk et al., 2017). Los principales procesos naturales que crean  $Nr$  biológicamente disponible son los rayos (globalmente aproximadamente 5 Tg N/año) y la fijación biológica de  $N_2$  (BNF) en ecosistemas terrestres y acuáticos (globalmente aproximadamente 198 Tg N/año) (Fowler et al., 2013).

### **1.1.5 Principales procesos del ciclo del nitrógeno.**

Tradicionalmente, las conversiones del ciclo del nitrógeno se han dividido en: fijación de nitrógeno, nitrificación, desnitrificación y oxidación anaeróbica de amonio (anammox). Sin embargo, se han descubierto nuevas conversiones microbianas, ampliando los procesos tradicionales (Soler-Jofra et al., 2021). Históricamente las conversiones microbianas son responsables de la mayor parte de los flujos de nitrógeno entre diferentes depósitos de nitrógeno en la Tierra (Kuypers et al., 2018), etiquetados por su participación específica en uno de estos procesos como, fijadores de nitrógeno, nitrificadores, desnitrificantes. Esta asignación de microbios a grupos eco-fisiológicos específicos en función a su asociación con un solo proceso, fue motivo de investigación cuando los ecologistas encontraron evidencia de reducción disimilatoria (es decir, no asimilatoria) de nitrito a óxido nítrico y óxido nitroso en ambientes óxicos (desnitrificación con nitrificador), así como la reducción disimilatoria de nitrito a amonio (amonificación respiratoria) y la oxidación disimilatoria de amonio en ambientes anóxicos (anammox). Nuestra comprensión previa del ciclo del nitrógeno se vio complicada por los numerosos y diversos enfoques científicos, desde los compuestos que se transformaron hasta los compuestos que se generaron y el estado ambiental de las reacciones que constituyeron los procesos. La reducida comprensión de estos enfoques, empleados durante más de 100 años en la investigación del ciclo del nitrógeno, se han superado en la era posgenómica debido a una instrumentación muy mejorada, una gran cantidad de datos y una mayor colaboración interdisciplinaria e internacional. Por lo tanto, nuestra comprensión del ciclo del nitrógeno ahora consta de cinco flujos de transformación de nitrógeno aceptados: amonificación, incluida la fijación de nitrógeno, y reducción asimilatoria y disimilatoria de nitrito; nitrificación; desnitrificación, incluida la desnitrificación canónica, dependiente de nitrificador y dependiente de oxidación de metano; anammox, como una forma de nitrificación-desnitrificación acoplada; e interconversión nitrito-nitrato (Stein & Klotz, 2016).



Los procesos generales de mineralización de la materia orgánica (frecuentemente mal etiquetados como amonificación) y asimilación (a menudo se afirma incorrectamente que incluyen procesos que regulan la generación de amonio y su absorción) representa la descomposición de moléculas complejas de materia orgánica en compuestos monoméricos de nitrógeno orgánico (despolimerización) y  $\text{NH}_4^+$  inorgánico (Denk et al., 2017; Marcarelli et al., 2022).

### 1.1.6 Amonificación

Uno de los procesos más importantes del ciclo del nitrógeno, es la fijación de nitrógeno y corresponde a una de las dos versiones de la amonificación, consiste en la conversión del  $\text{N}_2$  atmosférico en una forma biodisponible como el amoníaco  $\text{NH}_3$ . Este proceso es realizado por microorganismos (bacterias y las arqueas) fijadoras de nitrógeno que oxidan (queman) los carbohidratos para obtener energía (fijación biológica de nitrógeno, BNF), o mediante procesos abióticos como los rayos o el proceso industrial Haber-Bosch (Lindström & Mousavi, 2020).

La fijación biológica de nitrógeno sigue siendo una actividad realizada únicamente por bacterias y arqueas que codifican los complejos enzimáticos de nitrogenasa, formadas por la proteína dinitrogenasa de molibdeno-hierro y la proteína dinitrogenasa reductasa de vanadio o hierro, que cataliza la reducción de  $\text{N}_2$  a  $\text{NH}_3$  biodisponible en todos los organismos diazotróficos fijadores de  $\text{N}_2$  conocidos, además también cataliza la conversión de  $\text{N}_2$  fijo a  $\text{NH}_4^+$  (Lindström & Mousavi, 2020; Stein & Klotz, 2016).

En el proceso de BNF, el  $\text{N}_2$  se convierte en amoníaco por microorganismos que muestran diferentes características fisiológicas que van desde aerobios obligados hasta anaerobios obligados. La distribución taxonómica de la nitrogenasa se limita a bacterias y arqueas, con expresión de genes fijadores de nitrógeno (*nif*) codificados dentro de los eucariotas. La nitrogenasa es extremadamente lábil al oxígeno, por tanto, los microorganismos aeróbicos y anaeróbicos han desarrollado varios mecanismos de protección, para permitir la fijación de  $\text{N}_2$  en un ambiente óxico, como el desacoplamiento espacial (compartimentación o formación de células especializadas), desacoplamiento temporal, respiración rápida de  $\text{O}_2$  o maximización de la síntesis y el recambio de nitrogenasa. El mecanismo ampliamente aceptado para la fijación de  $\text{N}_2$  en un ambiente óxico probablemente esté asociado con la fijación



simbiótica de nitrógeno, donde las plantas hospederas producen una proteína transportadora de oxígeno de alta afinidad llamada leghemoglobina y proporcionan un nicho en el que las presiones de oxígeno se mantienen a un nivel bajo. Otra vía importante incluye la fijación de nitrógeno inducida por bacterias heterótrofas en suelos y sedimentos. Estas bacterias median la fijación bentónica biológica en la mayoría de los lagos y estuarios mesotróficos y eutróficos (Aryal et al., 2022).

Entre todos los microorganismos, los fijadores más dominantes son las plantas leguminosas, y su mecanismo de fijación de N también es el más conocido. El uso de cultivos de leguminosas como fuente de nitrógeno se ha previsto como una solución para disminuir las reducciones de  $N_2O$ , ya que permite un menor uso de fertilizante nitrogenado. Sin embargo, todavía hay debates sobre si los cultivos de leguminosas pueden producir  $N_2O$  por varias vías: i. durante el propio BNF, ii. Después de la consiguiente entrada de N desde las raíces al suelo debido a la rizodeposición, iii. Desde la descomposición de los residuos después de la cosecha y posible incorporación al suelo (Galloway et al., 2003; Jeuffroy et al., 2013; Stein & Klotz, 2016).

La reducción asimilatoria de nitrito (ANRA) y disimilatoria (DNRA) a amonio es la segunda versión de la amonificación, y básicamente se trata de un proceso de respiración anaeróbica donde el nitrato ( $NO_3^-$ ) se reduce a  $NO_2^-$  y luego a  $NH_4^+$ , generando  $N_2O$  como subproducto durante la etapa de reducción de  $NO_2^-$ , aunque la reacción puede comenzar con el  $NO_2^-$  directamente. El DNRA es principalmente un proceso heterótrofo, pero también puede ser un proceso autótrofo impulsado por compuestos inorgánicos como el sulfuro ( $S^{-2}$ ), el azufre (S) o el óxido de hierro ( $Fe^{+2}$ ). El acrónimo DNRA se propuso originalmente para describir un proceso eco-fisiológico en el cual el nitrógeno en forma de nitrato es eliminado del suelo sin perderse en forma de gases nitrogenados (desnitrificación) ni asimilarse a la biomasa microbiana. Si bien la importancia de la ANRA y DNRA para el ciclo global del nitrógeno facilitada por la fermentación de hongos en los suelos todavía no se comprende completamente, pero la amonificación respiratoria por bacterias y arqueas en diversos hábitats anóxicos está bien establecida. El DNRA puede generar una fuerza motriz de protones, por lo tanto, conservar energía para mejorar el crecimiento celular, aunque esta característica depende de qué enzimas estén acopladas. Un potencial redox negativo (es decir, condiciones reductoras) es el

estimulante más importante para el DNRA. Cabe señalar que el proceso ANRA emplea una química idéntica a la de DNRA, pero es facilitado por nitrato reductasas que no están relacionadas evolutivamente (Denk et al., 2017; Stein & Klotz, 2016).

### 1.1.7 Nitrificación

El proceso de nitrificación involucra tres grupos de microorganismos: grupo I, oxidantes de amoníaco que oxidan el amoníaco a nitrito (nitritación); grupo II, oxidantes de nitrito que oxidan nitrito a nitrato (nitratación); y el grupo III, oxidantes de amoníaco completos que oxidan el amoníaco hasta nitrato (comammox). Aunque los microorganismos comammox se descubrieron solo en 2015, su existencia se predijo aproximadamente 10 años antes. Los grupos II y III incluyen solo microbios quimiolitotróficos que pueden usar nitrito y amoníaco, respectivamente (Denk et al., 2017; Fowler et al., 2013). Estos microorganismos pueden utilizar  $\text{NH}_4^+$  para obtener energía en un proceso de dos pasos llamado nitrificación. En el primer paso, el amoníaco o el amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) se oxidan a nitrito  $\text{NO}_2^-$  por microorganismos llamados oxidantes de amoníaco. Estos oxidantes aeróbicos de amoníaco convierten el amoníaco en nitrito a través de hidroxilamina intermitente ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ), a través de la enzima amonio-monooxigenasa, etiquetada como ruta AMO (Kuypers et al., 2018; Marcarelli et al., 2022; Stein & Klotz, 2016).

Hasta hace unas décadas, se suponía que ciertas *Nitrosomonas*, *Nitrosospira* y *Nitroso coccus*, conocidas como bacterias oxidantes de amoníaco (AOB), realizaban todos los procesos de oxidación del amoníaco. Sin embargo, gracias al avance tecnológico de secuenciación y aislamiento genómica han permitido a los investigadores identificar una variedad de microorganismos diversos en función y filogenia. Por ejemplo, el descubrimiento de una arquea oxidante de amoníaco (AOA) quimioautotrófica, *Nitrosopumilus maritimus*, en 2005 cambió el pensamiento sobre la gama de microorganismos involucrados en la nitrificación, destacando la importancia de la AOA y entendiendo a los microbios como uno de los actores potenciales del ciclo del N en la alteración del medio ambiente global (Monteiro et al., 2014; Sanjuan et al., 2020).

Desde entonces, varias arqueas oxidantes de amoníaco (AOA), incluida *Nitrososphaera*, se han encontrado en muchos hábitats, incluidos océanos, suelos y marismas, aunque el proceso de oxidación se lleva a cabo por vías metabólicas

diferentes en comparación con AOB (Kozłowski et al., 2016; Norton & Ouyang, 2019). Sin embargo, se han reportado numerosos estudios que sugieren que AOB emite más  $N_2O$  que AOA, debido a un mayor rendimiento de  $N_2O$  durante condiciones óxicas y desnitrificación en respuesta al oxígeno limitado ( $O_2$ ) (Aryal et al., 2022; Kozłowski et al., 2016; Sanjuan et al., 2020).

El segundo paso involucra la oxidación de  $NO_2^-$  a  $NO_3^-$  que es facilitada por diferentes procariotas, descritas como bacterias oxidantes de nitrito, incluyendo *Nitrobacter* o *Nitrospira* correspondientes al grupo II y III que incluyen a oxidantes quimiolitotróficos de amonio o nitrito, respectivamente. Sin embargo, también las bacterias heterótrofas, los hongos y las arqueas son capaces de nitrificar, aunque sin obtener energía del proceso, por lo que utilizan compuestos de nitrógeno orgánico monomérico para su crecimiento. Mientras tanto, la suposición en base a una larga data de un proceso de nitrificación convencional en dos pasos ha sido cuestionada por un descubrimiento reciente de oxidantes de amoníaco completos (comammox) en ecosistemas terrestres en 2015 (Stein & Klotz, 2016). El comammox descubierto dentro del género *Nitrospira* puede convertir el amoníaco en nitrato dentro de un solo organismo. Si bien este descubrimiento ha planteado preguntas fundamentales sobre la bioquímica, la fisiología y los microorganismos asociados responsables de la nitrificación, está claro que este proceso desencadena la producción de  $N_2O$ . La hidroxilamina reductasa (HAO) oxida la  $NH_2OH$  a  $NO$ , que se reduce aún más a  $N_2O$  por una óxido nítrico reductasa no descubierta; el citocromo C 554 es un posible candidato (Aryal et al., 2022).

### 1.1.8 Desnitrificación

La desnitrificación es un proceso de respiración anaeróbica, donde el  $NO_3^-$  es utilizado como aceptor alternativo de electrones en lugar del  $O_2$ , por tanto, el nitrato ( $NO_3^-$ ) es reducido paso a paso en nitrito ( $NO_2^-$ ), óxido nítrico ( $NO$ ) y óxido nitroso ( $N_2O$ ) a  $N_2$ . Las reducciones intermedias incluyen la producción de  $NO$  y  $N_2O$  (Pajares & Ramos, 2019). Dicho de otra manera, este proceso elimina las formas biodisponibles de nitrógeno devolviéndolo a la atmósfera como gas  $N_2$  (Aryal et al., 2022).

Los microbios heterótrofos que pueden acoplar directamente estas tres reacciones con la reducción de nitrato a nitrito y realizar la desnitrificación de  $NO_3^-$  a  $N_2$  se

denominan desnitrificantes clásicos o canónicos. Sin embargo, se reconoce que muchas bacterias y arqueas que expresan solo inventarios de desnitrificantes parciales carecen de genes que codifican las enzimas involucradas en estas reacciones bioquímicas. Las vías incompletas pueden conducir a la liberación de gases nitrogenados como NO y N<sub>2</sub>O al medio ambiente, o a una falla en el agotamiento del NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Este grupo también incluye todas las bacterias quimiolitotróficas oxidantes de amoníaco, que reducen el NO<sub>2</sub><sup>-</sup> a N<sub>2</sub>O aeróbicamente. Además, varios eucariotas, incluidos los hongos y los foraminíferos (una clase de protistas), pueden reducir el NO<sub>2</sub><sup>-</sup> o el NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a N<sub>2</sub>O o N<sub>2</sub>, respectivamente. En un giro inusual del proceso de desnitrificación, una bacteria metanotrófica, *Candidatus Methyloirabilis oxyfera*, consume metano como fuente de energía, reduciéndolo a carbono, y reduciendo el NO<sub>2</sub><sup>-</sup> a N<sub>2</sub> mediante la expresión de una enzima óxido nítrico dismutasa. Esta enzima dismuta dos moléculas de NO a O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> sin producir el intermedio N<sub>2</sub>O; el O<sub>2</sub> producido es luego utilizado por esta bacteria para oxidar el metano a metanol mientras reside en un ambiente anóxico, de ahí el nombre de “metanótrofo intra-oxigénico desnitrificante” (Aryal et al., 2022; Lindström & Mousavi, 2020; Marcarelli et al., 2022).

### 1.1.9 Oxidación anaeróbica de amonio (Anammox)

Generalmente, se pensaba que el amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) se oxidaba solo en condiciones aeróbicas. Aun así, el descubrimiento de la oxidación del amonio en condiciones aeróbicas a principios de la década de 1990 condujo a la realización de otras rutas para la conversión del amoníaco en N<sub>2</sub> (Kumar et al., 2017). Este proceso de oxidación de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a N<sub>2</sub> se realiza en condiciones anaeróbicas, donde el oxígeno se agota casi por completo, incluyendo las zonas de oxígeno mínimo (OMZ) y los sedimentos profundos, a esta reducción de nitrito, se denomina oxidación anaeróbica de amonio (anammox) (Pajares & Ramos, 2019). En el proceso anammox, el NO<sub>2</sub><sup>-</sup> es catalizado a compuestos intermedios como NO por microorganismos que codifican el gen *NirS*, y la generación de hidracina (N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) a partir de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y NO es catalizada por la hidracina sintasa (HZS). Posteriormente, la N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> es oxidado a N<sub>2</sub> por la hidracina oxidasa (HZO) (Aryal et al., 2022; Marcarelli et al., 2022).

La literatura reciente también ha sugerido la existencia de una ruta anammox modificada, en la que se usa hidroxilamina (NH<sub>2</sub>OH) en lugar de NO para la

oxidación de  $\text{NH}_4^+$ , pero se requerirá experimentación adicional para validar esta ruta. La quimiolitotrofia de Anammox es realizada únicamente por la bacteria *Brocadiaceae* en el orden *Planctomycetales* dentro de una organela especializada llamada anammoxosoma. Anammox es ecológicamente beneficioso para el tratamiento de aguas residuales, ya que elimina simultáneamente nitrito y amonio sin producir  $\text{N}_2\text{O}$ , y se ha implementado industrialmente a gran escala. Anammox es también un importante proceso de eliminación de nitrógeno en el océano y en las zonas con mínima concentración de oxígeno (Denk et al., 2017; Stein & Klotz, 2016).

#### 1.1.10 Óxido nitroso como gas de efecto invernadero

El óxido nitroso es el segundo gas de efecto invernadero con los niveles de emisión más bajos 6 %, en comparación con el 16 % para el metano y el 76 % para el dióxido de carbono, siendo sus emisiones solo más altas que los gases fluorados que comprenden el 2 % de los valores globales (IPCC, 2014). Sin embargo, el  $\text{N}_2\text{O}$  es un potente gas de efecto invernadero con un potencial de calentamiento global 300 veces mayor que el del dióxido de carbono en términos moleculares durante un período de 100 años. Por lo tanto, tiene una gran contribución al calentamiento global y también juega un papel importante en el agotamiento de la capa de ozono que ocurre en la estratosfera en un 6 % del forzamiento radiactivo antropogénico (Pauleta et al., 2019; Yi et al., 2017).

La concentración atmosférica de  $\text{N}_2\text{O}$  es actualmente de alrededor de 331 ppb, y se ha observado un aumento promedio de 0.25 % cada año. De hecho, su concentración es 123 % más alta que la estimada para la era preindustrial y antes de la introducción de fertilizantes inorgánicos en la agricultura (OMM, 2019). Además, el  $\text{N}_2\text{O}$  tiene una larga vida en la atmósfera, y se estima que lleva alrededor de 120 años eliminar el 63 % de sus emisiones iniciales (IPCC, 2013; Luo et al., 2018; Pauleta et al., 2019).

#### 1.1.11 El pH del suelo y las emisiones de óxido nitroso

Mucho antes de que las emisiones de óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) procedentes de los suelos, lleguen a formar parte de la problemática ambiental (Nömmik, 1956; Wijler & Delwiche, 1954) observaron que la producción de óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) en relación

con el dinitrógeno ( $N_2$ ) durante la desnitrificación es mayor en un suelo ácido que en uno neutro. Este fenómeno fue redescubierto varias veces durante las siguientes cinco décadas (Šimek & Cooper, 2002). Sin embargo, la razón de la mayor proporción de  $N_2O/N_2$  en suelos ácidos permanece incierta (Russenes et al., 2016).

Indistintamente, cuál sea el mecanismo que esté funcionando, podemos asumir que el pH del suelo afecta las tasas de emisión de  $N_2O$ , aumentando su emisión con la disminución del pH, manteniendo constantes todos los demás factores. Aunque existe evidencia circunstancial de esto en los meta-estudios que resumen las observaciones de flujo de campo (Hénault et al., 2019; Tierling & Kuhlmann, 2018), no es sencillo probar esta hipótesis, ya que las emisiones de  $N_2O$  en condiciones de campo varían enormemente en respuesta a la humedad del suelo, la temperatura, el nitrógeno mineral y la disponibilidad de sustrato de carbono fluctuantes.

Es posible que la producción de óxido nitroso esté influenciada por los cambios en el pH del suelo (Dai et al., 2017; Wang et al., 2018). Es más probable que se produzca  $N_2O$  como producto de desnitrificación terminal en suelos ácidos, ya que la  $N_2O$ -reductasa generalmente no es funcional a pH bajo para la reducción de  $N_2O$  a  $N_2$  (Shaaban et al., 2018). Por lo tanto, los suelos ácidos pueden producir más  $N_2O$  por desnitrificación en comparación con los suelos neutros y alcalinos.

Aunque estudios anteriores han revelado que las emisiones de  $N_2O$  de las tierras agrícolas son muy sensibles al pH del suelo (Bakken et al., 2012; Samad et al., 2016), también se han reportado puntos de vista contradictorios para aumentos (Qu et al., 2014) o disminuciones (Shaaban et al., 2018), en las emisiones de  $N_2O$  en respuesta a la manipulación del pH de suelo (Shaaban et al., 2019).

### **1.1.12 Enmiendas naturales del suelo en la agricultura**

Las enmiendas del suelo son sustratos que se utilizan para mejorar las propiedades de los suelos cultivados y afectan positivamente al rendimiento de los cultivos. Su principal efecto es mejorar la fertilidad del suelo, aumentando la disponibilidad de nutrientes, limitando la pérdida de agua, manteniendo una alta actividad microbiológica en el suelo y aumentando la absorción de nutrientes por las plantas (Garbowski et al., 2023).

Las enmiendas naturales del suelo orgánicas y minerales, que se conocen desde hace siglos, pueden ser una opción de solución eficiente a los problemas del suelo. Su aplicación en el suelo está asociada con algunas propiedades benéficas, como mejorar la salud de otros ecosistemas aledaños al reducir la movilidad y toxicidad de los metales pesados, reducir la migración de nutrientes, fertilizantes y sustancias tóxicas del suelo al medio acuático y tejidos vegetales (Garbowski et al., 2023; Manirakiza & Şeker, 2020). Consecuentemente reduce la salinidad y especialmente coadyuva a estabilizar el pH del suelo, permitiendo la fijación de CO<sub>2</sub> en el suelo y reduciendo las emisiones de GEI (Bossolani et al., 2020), no obstante, esta última propiedad mitigante de los GEI todavía no está lo suficientemente establecida debido a la alta variabilidad de los resultados encontrados (Shakoor et al., 2021).

Entre las enmiendas naturales del suelo más frecuentemente utilizadas en la agricultura, se encuentran clasificados en dos grupos: i) enmiendas orgánicas como el estiércol de ganado, compost, residuos vegetales, desechos de camales, lodos de depuradora, biocarbón, residuos de la industria de papel y ii) enmiendas minerales como las rocas volcánicas, piedra caliza, cal, yeso agrícola, minerales arcillosos, limo, cáscaras de huevo, desechos de conchas de ostras, cenizas volantes, cenizas de fondo, cenizas de madera, zeolitas, caolinita (Bossolani et al., 2020; Garbowski et al., 2023), este segundo grupo tiene un reconocido comportamiento que se le atribuye al aumento del pH del suelo, lo que favorece la adsorción de elementos traza en las superficies constituyentes del suelo y su precipitación como hidróxidos, carbonatos o hidroxicarbonato, esta última característica hace que se le llamen también como enmiendas alcalinas o inorgánicas (Álvarez-Ayuso & Abad-Valle, 2021; Huang et al., 2022).

### **1.1.13 La ceniza de madera como enmienda agrícola**

La ceniza de madera es el producto residual de la generación de bioenergía a partir de la quema de residuos de madera u otro tipo de biomasa, la ceniza es la porción mineral no combustible presente en la materia prima. Las propiedades físicas y químicas de la ceniza dependen en gran medida de varios factores, como la composición y forma de la materia prima (cortezas, hojas, astillas de madera, astillas), el tipo de madera (madera dura o blanda), la temperatura de combustión y el tipo de recolección (McTavish et al., 2020; Rehl et al., 2022).



La incineración de madera a escala industrial (plantas electrotérmicas y calderas) producen dos tipos de cenizas de madera: cenizas volantes y cenizas de fondo. Las cenizas volantes son los elementos volátiles más finos ( $\approx 200 \mu\text{m}$ ) y de baja densidad, incluyendo algunos elementos traza de preocupación (metales pesados). Este tipo de ceniza ingresa a la corriente de gases de combustión (chimeneas), donde es secuestrado por los sistemas de control de emisión (separadores de ciclones y precipitadores electrostáticos) y tiende a tener mayor concentración de nutrientes (McTavish et al., 2020; Rehl et al., 2022). La ceniza de fondo es aquella que se colecta por debajo de la parrilla del gasificador o del fondo de las calderas, son de tamaño variable, generalmente más grandes y más densa (Pitman, 2006; Rehl et al., 2021, 2022).

Las cenizas de madera suelen estar dominadas por óxidos e hidróxidos de calcio y otros elementos básicos que son de naturaleza alcalina, con un nivel de pH del rango de 8 a 13 (McTavish et al., 2020). También contiene macronutrientes Ca, Mg, K y P, micronutrientes Fe, Mn, Zn, B, Cu y Mo y oligoelementos esenciales para las plantas, con excepción del nitrógeno que se elimina por volatilización durante la combustión de la madera (Ondrasek et al., 2021; Petrovský et al., 2018).

Se ha recomendado utilizar como enmienda agrícola o fertilizante de bajo grado para ayudar al crecimiento de las plantas y el retorno de los nutrientes a los ecosistemas forestales y agrícolas (Cairns et al., 2021). Si bien su poder de neutralización es casi un 50 % menos que de la cal, varios estudios han demostrado en todo el mundo que la ceniza de madera conduce a cambios sustanciales en el pH del suelo y los niveles de cationes básicos tanto en el suelo como en el tejido foliar (Arseneau et al., 2021). Por tanto, su principal acción de interés es compensar la acidificación del suelo, particularmente en suelos ácidos (Hannam et al., 2018; McTavish et al., 2020).

Por esta razón es que la ceniza de madera fue elegida como enmienda agrícola debido a su fracción mineral (incluyendo Ca, K, Mg, S, P y Si) y su capacidad amortiguadora del pH, pudiendo emplearse como un agente encalante del suelo (Barton et al., 2013; Bornø et al., 2020), para contrarrestar la su acidificación del suelo causada por los diferentes procesos antrópicos (Bornø et al., 2020; Cao et al., 2019; Wang et al., 2018).



#### **1.1.14 Factores que intervienen en las emisiones de óxido nitroso**

Las emisiones de óxido nitroso ( $N_2O$ ) se produce en gran medida como subproducto de los procesos microbiano del suelo que pertenecen al ciclo biológico del nitrógeno, nitrificación y desnitrificación (Thers et al., 2020; Xu et al., 2020). La nitrificación es un proceso aeróbico que oxida el amonio ( $NH_3$ ) a nitrato ( $NO_3^-$ ) con la producción de  $N_2O$  como subproducto, mientras que la desnitrificación es un proceso anaeróbico que reduce el  $NO_3^-$  en formas gaseosas de  $N_2$ , incluido  $N_2O$  (Luo et al., 2018; Pauleta et al., 2019; Simon et al., 2019).

Este proceso del ciclo de vida del nitrógeno en el que los precursores de las emisiones de  $N_2O$  son la urea y las enzimas microbianas del suelo y estas se ven influenciadas por factores climáticos como la temperatura del suelo y la precipitación, tanto características físicas como químicas (Bowatte et al., 2018; Ding et al., 2019; Loick et al., 2016). Otros estudios anteriores también mencionan que la producción de  $N_2O$  está influenciada por múltiples variables factores tales como la temperatura, humedad, disponibilidad de oxígeno y el sustrato N, todos estos factores están regulados por el clima, vegetación, propiedades físicas y condiciones químicas del suelo (densidad aparente, carbono orgánico, pH y contenido en arcilla), espacio poroso lleno de agua y las prácticas de manejo agrícola (Böttner et al., 2020; Marsden et al., 2019; Simon et al., 2019).

#### **1.1.15 Metodologías para medir las emisiones de óxido nitroso del suelo**

En la última década, se han aumentado los esfuerzos por mejorar y plantear alternativas que permitan evaluar con mayor precisión las emisiones procedentes de los sistemas edáficos hacia la atmósfera (Herron et al., 2019). La mayoría de las metodologías para medir los GEI in situ se pueden diferenciar en las dos técnicas más usadas: a) técnicas basadas en cámaras cilíndricas instaladas en la superficie del suelo por períodos o campañas cortas, b) técnicas basadas en herramientas micro meteorológicas o Eddy Covarianza y como complemento modelación ambiental (Hensen et al., 2013; Olf et al., 2018).

Debido a las facilidades técnicas, operacionales, bajo costo, y su utilidad a la hora de evaluar diversos tratamientos en áreas remotas, las técnicas basadas en cámaras son

las más utilizadas para las mediciones de gases de efecto invernadero que se emiten en los ecosistemas terrestres (Pavelka et al., 2018).

En la actualidad se han reportado diferentes modelos y tipos de cámaras, entre ellas se destacan la cámara dinámica y la cámara estática cerrada, la primera integra un analizador de gases y un sofisticado sistema automatizado que minimiza los errores de muestreo, además de reducir los errores de medición este permite obtener una gran cantidad de datos. Sin embargo, su costo de operación la hace menos accesible, mientras que la cámara estática cerrada posee un diseño de bajo costo, más sencillo y práctico para trabajar en campo, pero con algunas limitaciones y sesgos asociados al diseño (de Klein & Harvey, 2015; Hensen et al., 2013; Pavelka et al., 2018; Rochette, 2011).

## 1.2 Antecedentes

El calentamiento global y el incremento de las concentraciones de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera, ha recibido mayor interés por todo el mundo durante los últimos años (Barbera et al., 2018; Vallero, 2019), los impactos ambientales atribuidos a las actividades antrópicas, se encuentran ampliamente descritos y son conocidos por la población en general (Böttner et al., 2020). Tal es así, que actualmente existe un genuino interés por identificar y cuantificar las fuentes de emisión y sumideros de los gases de efecto invernadero (GEI), con el propósito de implementar estrategias de mitigación que permitan reducir su concentración atmosférica o impedir su incremento por las actividades antropogénicas (IPCC, 2013, 2014; OMM, 2019).

La intensificación de la agricultura y el consiguiente aumento en el uso de fertilizantes nitrogenados (Van Eerd et al., 2017), junto con la industrialización de la producción ganadera, en consecuencia, han generado grandes cantidades de estiércol y mezcla de orina más estiércol (lechada) rico en nitrógeno (N). Esto ha generado considerables cantidades excedentes de N y su acumulación en los suelos, lo que contribuye a aumentar las pérdidas de nitrógeno a los diferentes compartimentos ambientales, como la contaminación de los cuerpos de agua con nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y las emisiones de N a la atmósfera, incluida la volatilización de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y emisiones directas e indirectas de óxido nitroso (Bowatte et al., 2018; Marsden et al., 2019).

El sector ganadero representa el 46 % del producto interno bruto agrícola de la región de América Latina y el Caribe (ALC) y crece al 3.7 % anual (OECD, 2019). La expansión de la producción ganadera está impulsada por un rápido aumento de la demanda de carne de ganado (FAO, 2018). Esta mayor demanda de productos animales junto con el desarrollo de opciones mejoradas para producir forraje y mantener los niveles más altos de productividad, aumenta la presión sobre los pastizales y los sistemas dominantes de producción ganadera en ALC, lo que resulta en el pastoreo excesivo y la degradación de los pastos (Chirinda et al., 2019).

Según la literatura disponible, existe un mayor interés para usar la ceniza de madera, como enmienda agrícola para mejorar tierras cultivables degradadas (Adriano et al., 1980; Bera et al., 2016; da Costa et al., 2020; Jambhulkar et al., 2018; McTavish et al., 2020), proporcionando alguna soluciones sostenibles en los sectores agrícola, civil e industrial (Khan & Umar, 2019; McTavish et al., 2020; Mercl et al., 2020).

La ceniza de madera es un material residual obtenido del proceso de combustión de biomasa para la generación de energía (Maresca et al., 2018; Song et al., 2020), considerado como un residuo sólido (Silva et al., 2019). Puede devolver nutrientes y oligoelementos importantes al suelo (Hannam et al., 2018; Schönegger et al., 2018), con excepción del nitrógeno y carbono debido a su oxidación durante la combustión (Ondrasek et al., 2021; Petrovský et al., 2018), además de amortiguar su acidificación debido a su pH alcalino aproximadamente 11-13 en solución acuosa (Bang-Andreasen et al., 2017; Qin et al., 2017; Schönegger et al., 2018).

Sin embargo, el uso de la ceniza de madera como enmienda agrícola, puede afectar las emisiones de óxido nitroso (Bornø et al., 2020; McMillan et al., 2016; Royer-Tardif et al., 2019), mediante la manipulación del pH del suelo y tener efecto en los procesos fisicoquímicos que desarrollan los microorganismos edáficos durante la nitrificación y desnitrificación (Holland et al., 2018; Liu et al., 2017), siendo así una estrategia potencial de mitigación adecuada para las emisiones de N<sub>2</sub>O del suelo agrícolas (Wang et al., 2018).

## CAPÍTULO II

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 2.1 Identificación del problema

El calentamiento global es un fenómeno meteorológico de primera línea que se presenta a nivel mundial, con cambios sin precedentes desde décadas, transformando los ecosistemas de la tierra y amenazando el bienestar de la generación actual y las futuras. El IPCC plantea políticas ambientales para hacer frente al cambio climático y mantener la temperatura mundial por debajo de 2 °C con el propósito de evitar cambios climáticos peligrosos, para alcanzar estos objetivos se requieren con urgencia reducir las emisiones mundiales de gases de efecto invernadero (IPCC, 2014).

El incremento de la temperatura global es una consecuencia del aumento en las concentraciones de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera, entre los principales gases se destacan al dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), el metano ( $\text{CH}_4$ ), el óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), ozono troposférico ( $\text{O}_3$ ) y los clorofluorocarbonos (CFC). Las concentraciones atmosféricas de estos gases han aumentado notablemente por efecto de las actividades antrópicas desde 1750, con 407.8 ppm, 1869 ppb, 331.1 ppb y son actualmente muy superiores a los valores preindustriales 208 ppm, 700 ppb, 270 ppb, para dióxido de carbono, metano y óxido nitroso, respectivamente (Equihua et al., 2016; IPCC, 2013).

Los sistemas de producción ganadera, integran una de las fracciones que contribuyen al calentamiento global, mediante el aporte de GEI como el metano de origen entérico, la emisión de amoníaco y consecuentemente las emisiones de óxido nitroso que se produce en el suelo, por acción enzimática de los microorganismos que utilizan como sustrato el

nitrógeno disponible en forma de urea, presente en las deposiciones fecales y urinarias que el ganado rumiante excreta en los campos de pastoreo.

La falta de un adecuado manejo en los sistemas pastoriles y acompañado de una sobrecarga animal que consecuentemente produce el sobre pastoreo de las praderas nativas y cultivadas, trae efectos negativos al rendimiento de praderas, como la deforestación, aparición de suelo desnudo, extinción de especies nativas y reducción de la superficie de cobertura vegetal. Los pastos degradados por estos efectos negativos presentan limitaciones para utilizar el nitrógeno excretado en las heces y orina de las vacas, en consecuencia, los microorganismos tienen una mayor disponibilidad de nitrógeno para utilizarlo en los procesos bioquímicos que intervienen en el ciclo del nitrógeno a nivel del suelo, propiciando la liberación de óxido nitroso (Chirinda et al., 2019).

Sin embargo, las emisiones de óxido nitroso pueden ser afectadas por las enmiendas alcalinas como la ceniza de madera, que tienen gran importancia en la gestión de suelos mediante la manipulación del pH por medio de la adición de iones alcalinos altamente solubles que se reciclan en la combustión. El uso de ceniza de madera como enmienda alcalina a dosis adecuadas puede estabilizar los suelos ácidos, amortiguando su acidificación a corto y largo plazo, mejorando su fertilidad, maximizando su producción agrícola y también puede intervenir en las emisiones de algunos GEI como el metano y óxido nitroso del suelo. Por tanto, se le ha atribuido poseer un efecto mitigante frente a este gas de efecto invernadero ( $N_2O$ ). Sin embargo, esta capacidad mitigante de la ceniza de madera sigue siendo altamente discutida, debido a la alta virilidad de los resultados en diferentes países (Garbowski et al., 2023; Huang et al., 2022).

Por ello la necesidad de cuantificar las emisiones de óxido nitroso del suelo altiplánico peruano, cubierto de pasto cultivado (alfalfa), realizando un experimento de simulación de la micción de una vaca, donde primeramente al suelo se adicionó ceniza de madera como agente encalante para incrementar el pH del suelo, seguidamente al suelo modificado se le adicionó orina de vaca (parche de orina). Este experimento pretende probar el efecto resultante de la ceniza de madera sobre las emisiones de óxido nitroso, para proporcionar información que permita mejorar las estrategias de mitigación de los GEI y contribuir al inventario nacional de gases de efecto invernadero a nivel nacional, y para lograr lo descrito anteriormente, se plantea las siguientes preguntas.

## 2.2 Enunciados del problema

### 2.2.1 Problema general

- a) ¿Cuál es el efecto de la ceniza de madera en las emisiones de óxido nitroso en suelos con pasto cultivado tratado con parches de orina y qué parámetros fisicoquímicos del suelo intervienen en su emisión?

### 2.2.2 Problemas específicos

- a) ¿Cuál es el efecto de la ceniza de madera en los flujos de emisión diaria y acumulada de óxido nitroso en suelos con pasto cultivado tratado con parches de orina?
- b) ¿Qué parámetros fisicoquímicos del suelo con pasto cultivado tratado con ceniza de madera y parches de orina intervienen en las emisiones de óxido nitroso?

## 2.3 Justificación

El óxido nitroso es un gas de efecto invernadero con un potencial de calentamiento global 300 veces mayor que el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), en un horizonte de 100 años, sus emisiones están asociadas a la agricultura, ganadería y demás actividades humanas, estas emisiones se deben a procesos naturales y antropogénicos que han generado grandes cambios en la naturaleza mediante el uso indiscriminado de los recursos naturales desde la revolución industrial hasta la actualidad.

El desarrollo de la ganadería lechera altoandina es la actividad agropecuaria más importante en zonas donde no prospera la agricultura, se sustenta principalmente de las praderas nativas y cultivadas. Sin embargo, un manejo inadecuado en su alimentación ocasiona desbalances nutricionales, generando grandes pérdidas de nitrógeno no metabolizado por el animal, que son excretados en los campos de pastoreo, contribuyendo de esta forma en las emisiones de los gases de efecto invernadero como el óxido nitroso.

El uso de la ceniza de madera en la agricultura se conoce desde hace siglos y algunos cronistas lo describen como fertilizante e insecticida en los cultivos de los Incas. Se considera que la gestión de suelos mediante la aplicación de enmiendas de ceniza de

madera modifica el pH y consecuentemente los parámetros fisicoquímicos del suelo. Interviniendo en los procesos de nitrificación y desnitrificación que se desarrollan en el suelo por acción de los microorganismos edáficos que utilizan el nitrógeno inorgánico disponible como sustrato metabólico, donde la desnitrificación es el principal proceso biológico que devuelve nitrógeno a la atmósfera como dinitrógeno o óxido nitroso, siendo el óxido nitroso un producto intermediario obligatorio y bajo ciertas condiciones también puede ser producto final. Por tanto, este estudio se realizó a fin de evaluar el efecto resultante de la ceniza de madera en los procesos de emisión de óxido nitroso, para poder comprender con precisión el grado de intervención de esta enmienda y así determinar si posee la capacidad de reducir las emisiones de óxido nitroso en los suelos de pastoreo.

## 2.4 Objetivos

### 2.4.1 Objetivo general

- a) Evaluar el efecto de la ceniza de madera en las emisiones de óxido nitroso en suelos con pasto cultivado tratado con parches de orina y su relación con los parámetros fisicoquímicos del suelo que intervienen en su emisión.

### 2.4.2 Objetivos específicos

- a) Determinar los flujos de emisión diaria y acumulada de óxido nitroso en suelos con pasto cultivado tratado con parches de orina y dosis de ceniza de madera aplicado al suelo.
- b) Determinar los parámetros fisicoquímicos en suelos con pasto cultivado tratado con parches de orina y ceniza de madera que tienen mayor intervención con las emisiones de óxido nitroso.

## 2.5 Hipótesis

### 2.5.1 Hipótesis general

- a) Las emisiones de óxido nitroso en suelos con pasto cultivado tratado con parches de orina dependerán de la dosis de ceniza de madera y la modificación de algunos parámetros fisicoquímicos del suelo que intervienen en su emisión.



### 2.5.2 Hipótesis específicas

- a) Los flujos de emisión diaria y acumulada de óxido nitroso en suelos con pasto cultivado tratado con parches de orina dependerán de la dosis de ceniza de madera aplicada al suelo.
- b) La ceniza de madera en suelos con pasto cultivado tratado con parches de orina tiene efecto directo sobre algunos parámetros fisicoquímicos de mayor intervención con las emisiones de óxido nitroso.



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Lugar de estudio

El experimento se realizó en una parcela con un área de exclusión de 260 m<sup>2</sup> (20 × 13 m) con predominio de pastos cultivados como la alfalfa (*Medicago sativa*) en la Estación Experimental Agraria Illpa-Puno del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), ubicada en el km 22 de la carretera Puno - Juliaca, distrito de Paucarcolla, provincia y departamento de Puno, a 3,815 m de altitud, en las coordenadas 70° 04' 25" de longitud oeste, y 15° 10' 45" de latitud sur, correspondiente a la zona agroecológica Suni, con una temperatura del aire que oscila entre 1.60 – 16.30 °C y una precipitación pluvial promedio anual de 616 mm/año. Las muestras de gases se analizaron por cromatografía de gases, en el laboratorio de Fisicoquímica Ambiental de la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN), Tandil, Argentina. Otros análisis químicos se realizaron en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

Tabla 1

*Parámetros fisicoquímicos de la superficie del suelo en el lugar de estudio*

| Perfil (cm) | Composición mecánica (%) |      |         | Clase Textural | pH H <sub>2</sub> O | CE dS/m | Da g/cm <sup>3</sup> | MO % | P ppm | K ppm | CIC meq/100g |
|-------------|--------------------------|------|---------|----------------|---------------------|---------|----------------------|------|-------|-------|--------------|
|             | Arena                    | Limo | Arcilla |                |                     |         |                      |      |       |       |              |
| 0-10        | 24                       | 42   | 34      | Fr. Ar.        | 5.48                | 0.89    | 1.22                 | 4.46 | 19.50 | 526   | 35.84        |

Fr.Ar: Franco Arcilloso; CE: conductividad eléctrica; Da: densidad aparente; MO: materia orgánica; P: fosforo; K: potasio.

### **3.2 Población**

La población estuvo representada por 12 cámaras estáticas de flujo cerrado para el muestreo de aire y 12 sub parcelas de 1 m<sup>2</sup> para el muestreo de suelos, como unidad experimental, distribuidos en cuatro grupos, con tres repeticiones por tratamiento.

### **3.3 Muestra**

El tamaño muestral se determinó en función al método determinístico (no probabilístico), sujeto a los principios de independencia y aleatoriedad por unidad experimental a fin de tener mayor variabilidad espacial en las emisiones de óxido nitroso.

### **3.4 Método de investigación**

El experimento se realizó en función a las recomendaciones de la Guía Metodológica de cámara de óxido nitroso, publicada por (de Klein & Harvey, 2012, 2015) donde en su capítulo 3 titulado “Protocolo de despliegue” se mencionan las acciones y opciones que se toman en consideración al momento de usar las cámaras para medir las emisiones de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) del suelo, así mismo, también se tuvo la asesoría externa del grupo de Físicoquímica Ambiental del Instituto de Física Arroyo Seco (IFAS), Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN), Argentina. Quien nos brindó el soporte teórico, práctico y analítico en las diferentes etapas de investigación, ya que este equipo de investigadores cuenta con una amplia experiencia en las mediciones de gases de efecto invernadero como CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> y SF<sub>6</sub> por el método de cámara estática y su determinación analítica mediante el método de cromatografía de fase gaseosa.

### **3.5 Descripción detallada de métodos por objetivos específicos**

#### **3.5.1 Fase Pre – experimental**

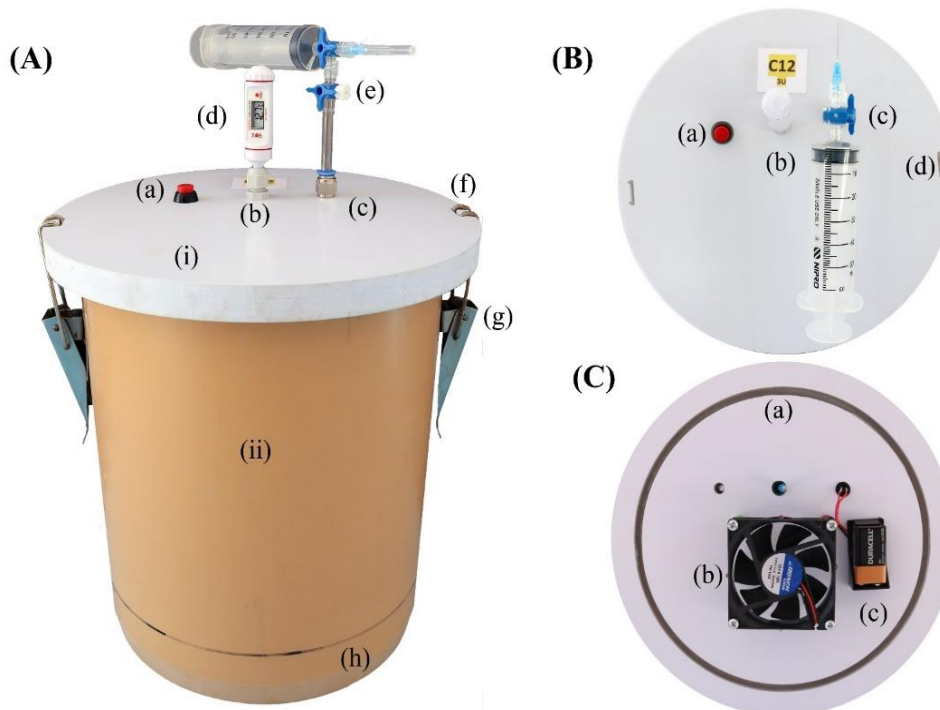
##### **3.5.1.1 Diseño de la cámara estática**

El diseño de la cámara (Anexo 15), así como la metodología de muestreo de gases, se realizaron siguiendo los protocolos sugeridos por (Rochette & Eriksen-Hamel, 2008). La cámara estática cerrada estuvo integrada por dos partes, una llamada base de la cámara, que básicamente es una estructura cilíndrica de 25 cm de diámetro por 30 cm

de altura, construida a partir de tubería de cloruro de polivinilo (PVC) de un espesor de 4.9 mm el mismo que en su porción inferior que va en contacto con el suelo, se le sacó un filo o bisel para facilitar su inserción y evitar la resistencia del suelo a la hora de la instalación, paralelamente con ayuda de un marcador indeleble, se delimitó los 5 cm de altura de la cámara que fue insertado al suelo, además también se le instaló un par de ganchos laterales en forma de cerrojo a presión a fin de garantizar el cierre hermético entre la base y la tapa de la cámara (Figura 2 – A).

La tapa es la segunda parte desplegable de la cámara, construida en material PVC celtex de 20 mm de espesor y consta de dos caras, una externa al cual se le preparó dos ranuras superficiales de 4x12x5 mm para que sirva como punto de agarre para los ganchos laterales de la cámara, consecuentemente también se le realizó tres puertos de comunicación: a) Puerto para interruptor: este es un ducto ciego al cual se le instaló un interruptor pulsador, para controlar el encendido y apagado del ventilador instalado en la cara interna de la tapa, b) Puerto de temperatura: es un conducto libre para la inserción del vástago de un termómetro con el objetivo de monitorear la temperatura interna de la cámara durante la toma de muestras, este puerto fue acondicionado mediante la inserción de una prensaestopa PG-7 de uso eléctrico, c) Puerto de muestreo: es un conducto para la extracción de muestras de aire acumulada en el espacio superior interno de la cámara, fue acondicionada mediante un accesorio de conexión rápida neumática NPT 1/4 x M8, 8 mm  $\varnothing$  rosca macho (Figura 2 – B).

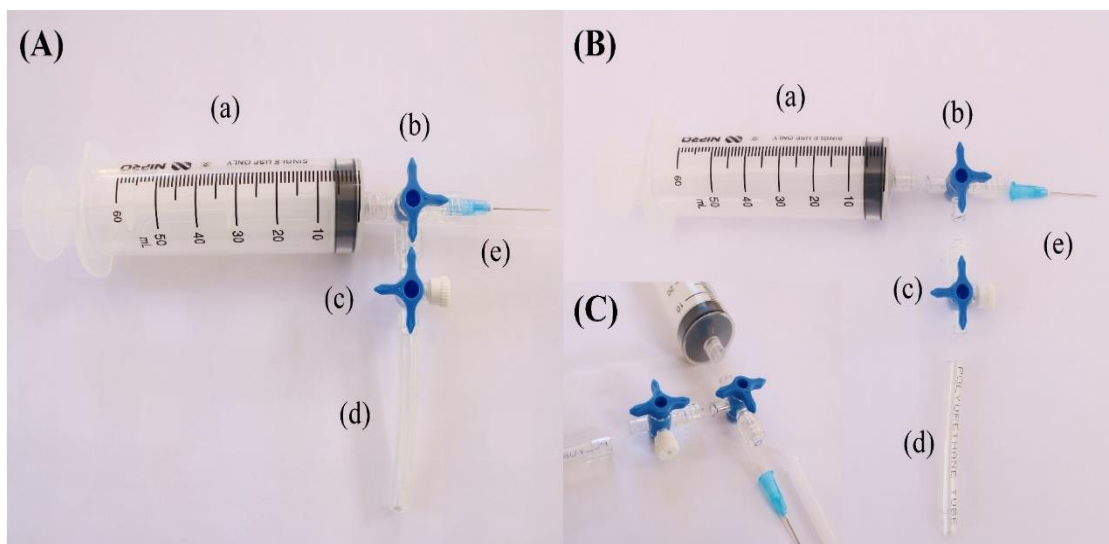
Por otro lado, la cara interna de la tapa, fue equipada con un ventilador de computadora de 80x80x25mm alimentado con una batería de 9 voltios, para homogeneizar los gases en el espacio superior interno de la cámara. Así mismo, para garantizar un cierre hermético y evitar fugas, se realizó un canal circular de 7 mm de ancho por 11 mm de profundidad mediante corte computarizado (CNC), al cual se le rellenó con silicona simulando un anillo que funcionó como empaque para asegurar el correcto sellado de la cámara, de tal modo que el diámetro externo e interno de la cámara encajaba perfectamente en el canal circular de la tapa (Figura 2 – C).



*Figura 2.* Diseño y configuración de la cámara estática utilizada

Configuración de la cámara estática utilizada: (A) vista general de la cámara estática: (i) la tapa; (a) puerto para interruptor, (b) puerto de temperatura, (c) puerto de muestreo, (d) termómetro digital, (e) extractor de muestras, (f) punto de anclaje del cerrojo. (ii) (g) cerrojo a presión tipo clips, (h) base de la cámara; (B) cara externa de la tapa, (a) interruptor, (b) puerto de temperatura, (c) puerto de muestreo y (d) ranura para sujeción del cerrojo; (C) cara interna de la tapa, (a) canal recubierto con silicona para cumplir la función de empaque, (b) ventilador, (c) batería de 9 v para dar poder al ventilador.

Para extraer las muestras de aire del espacio superior interno de la cámara y transferirlo a los viales de vidrio pre-evacuados, se requirió conectar al puerto de muestreo un dispositivo que lo llamamos “extractor de muestras” que cumple la función de bombear la muestra (extrae aire he inyecta aire), y consta del ensamble de un conjunto de materiales del orden siguiente, una manguera neumática de poliuretano 6x8 mm por 5 cm de largo, dos llaves triple vía de uso médico conectado en serie, una jeringa de 60 mL con punta roscable y finalmente una aguja hipodérmica 23 Gx1" (Figura 3).



*Figura 3.* Ensamble del extractor de muestras de aire

(A – B); (a) Jeringa de 60 mL, (b) llave de triple vía principal, (c) llave de triple vía secundaria, (d) manguera de poliuretano, (e) aguja hipodérmica 23 Gx1" (C) Detalle del acople rosca entre las llaves de triple vía, jeringa y aguja del extractor de muestra.

El diseño de la tapa de la cámara estática y la preparación de sus respectivos puertos obedece a un conjunto de funciones que el investigador estima conveniente, como el acoplamiento del extractor de muestra y el termómetro, cuándo se requiere hacer uso de la cámara y desacoplamiento de los mismos, cuando se desea guardar la tapa. Esta función fue alcanzada gracias al conector roscable de acople rápido NPT de 1/4xM8 y prensaestopa PG-7, instalada en el puerto de muestreo y puerto de temperatura de la tapa (cara externa). Esta función permitió guardar las tapas de forma ordenada y en espacios reducidos (cajas de cartón), sin estar conectado al extractor de muestras de aire o al termómetro, otra de las funciones que facilitó este mecanismo fue el mantenimiento, limpieza y remplazo de cualquiera de las piezas del extractor de muestra de aire que sufriera algún desperfecto a consecuencia de su desgaste, teniendo una considerable frecuencia de remplazo que generalmente se dio en las piezas de mayor utilidad como las llaves de triple vía, agujas y jeringas (Figura 4).

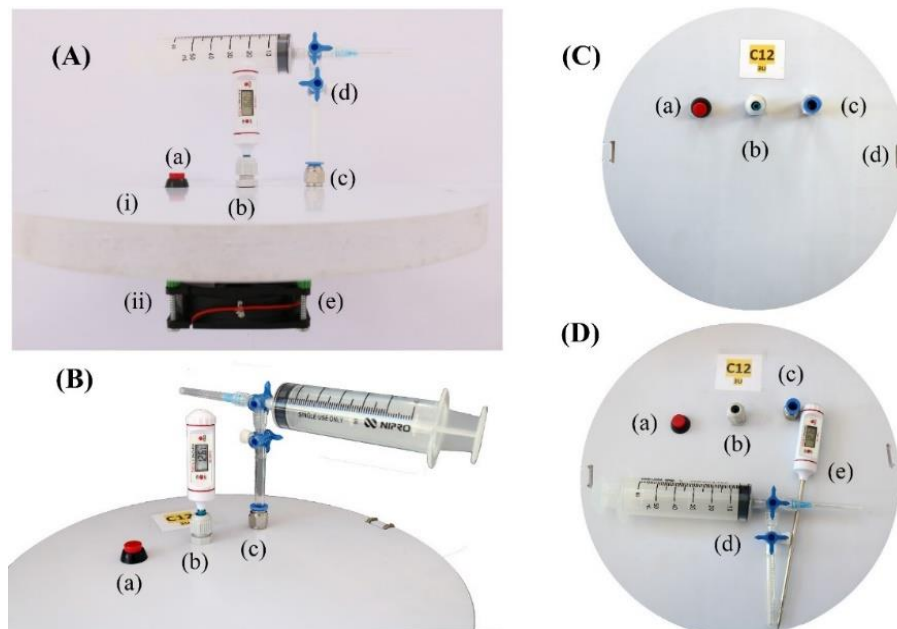


Figura 4. Tapa con extractor de muestras y termómetro acoplado y desacoplado

A) Vista lateral de la tapa con los implementos conectados, B) Vista superior de la tapa con el extractor de muestras y el termómetro acoplado, C – D) Tapa de la cámara con el extractor de muestras y el termómetro desacoplado.

### 3.5.1.2 Diseño del sistema de vacío para viales

El sistema de vacío se instaló previo a la fase experimental y está conformado por un conjunto de accesorios roscables de cobre y PVC, ensamblados con sellante y cinta teflón para garantizar un cierre hermético y libre de fugas entre las conexiones. Este sistema fue diseñado con ocho puertos de conexión que terminan en una aguja hipodérmica número 23 Gx1" que se conecta al sistema mediante una llave triple vía; esta configuración se realizó a fin de generar vacío a ocho viales en simultáneo. Para su funcionamiento se necesitó de una bomba de vacío de 1/2 HP (CPS) conectada mediante una manguera de 1/4 por dos metros. Para poder monitorear el nivel de presión negativa del circuito, se instaló en la parte inicial del sistema un vacuómetro con escala de -1 bar, y este instrumento permitió identificar si el sistema presentaba fallas, como pérdidas de vacío por fuga (Figura 5 – a).

Una vez comprobado el correcto funcionamiento del sistema de vacío, se dio inicio la formación de vacío de los viales, este proceso se dividió en dos etapas, una primera para la preparación de los viales, en esta etapa se realizó el cierre hermético

de los viales agregando una vuelta completa a la tapa rosca de doble septo desde el punto de fábrica, seguidamente se realizó el rotulado respectivo según el siguiente patrón; número de cámara – tiempo de muestreo – día de muestreo o campaña, ejemplo (C1-T1-D1).

Sucesivamente, se continuó con la segunda etapa que es la extracción de aire para la formación de vacío de los viales, para ello se conectó manualmente el septo de los viales con las agujas hipodérmicas (23 Gx1") del sistema de vacío, luego se abrieron las llaves de triple vía para dejar el circuito abierto e inmediatamente se dio marcha a la bomba de vacío. El tiempo necesario para la extracción total de aire fue de un minuto, la presión negativa que alcanzó el sistema de vacío a 3,820 m de altitud fue de -0.7 bares (Figura 5 – a). Finalmente, los viales fueron desconectados rápidamente de las agujas, luego se ordenaron en filas del C1 al C12 en gradillas con capacidad para 24 tubos, dejando listo los viales para ser trasladados al campo. Ambas etapas se realizaron un día antes del muestreo programado, este patrón se repitió para cada una de las campañas de toda la experimentación (Anexo 22).

Para evaluar el nivel adecuado de vacío en los viales, se eligieron aleatoriamente tres viales evacuados para realizar la prueba en agua, esta prueba consiste primeramente en incrustar ligeramente una aguja al septo del vial (fijación de la aguja), luego se sumerge el vial en forma invertida (tapa abajo) en un recipiente con agua, una vez sumergido se aplicó fuerza en el vial para que la aguja 23 Gx1" perfora el septo dejando en comunicación el espacio interno del vial con el agua, de tal manera que el agua ingresa al interior del vial, por la succión que ejerce la presión negativa hasta ocupar su capacidad total, dejando una pequeña burbuja de aire (Anexo 23). Esto es una buena señal para indicar que nuestro vial tiene un nivel adecuado de vacío y se espera que el resto de los viales tengan el mismo comportamiento de succionar y garantizar los 12 mL de muestra de aire en cada campaña. Para ello se adquirieron 700 viales de vidrio con doble septo de PTFE/silicona de 12 mL con tapa rosca sin evacuar (Labco, Exetainer<sup>®</sup>, Reino Unido), estos viales son de uso cromatográfico y cumplen las exigencias técnicas para garantizar el almacenamiento y transporte de las muestras de aire por periodos mucho más prolongados (Figura 5 – b), sobre todo cuando el muestreo se realiza en zonas donde no se cuenta con el equipo necesario para realizar el análisis inmediato de las muestras o en el caso de enviar las muestras a un laboratorio especializado para medir gases (Liimatainen et al., 2014).





a) Sistema de vacío de viales

b) Viales Labco, Exetainer®

Figura 5. Sistema de vacío, sellado y rotulado de viales de vidrio de 12 mL tapa rosca

### 3.5.1.3 Obtención de ceniza de madera

La ceniza de madera fue obtenida a partir de la incineración de madera de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) que se utilizó como leña para calentar un horno de panadería. a fin de obtener una buena muestra de ceniza homogénea se seleccionó cuidadosamente la madera de eucalipto, luego se sometieron al proceso de combustión por aproximadamente una hora, la ceniza caliente resultante fue retirada del horno en un recipiente metálico, para su enfriamiento por unas 24 horas, al día siguiente se procedió a tamizar con una malla de 5 mm de diámetro para separar los fragmentos más gruesos, como el carbón residual que no se llegó a incinerar completamente ( $> 5 \text{ mm } \varnothing$ ). La ceniza de madera presentó un pH de 11.2, con características de color blanco plomizo, polvo fino y sabor amargo (Anexo 16)

### 3.5.1.4 Colección de orina

La orina fue colectada 7 horas antes de ser aplicada en campo, de vacas lecheras Brawm Swiss en producción, con un rango de 3 a 5 años de edad, antes del ordeño matutino (05:30 h), a partir de la micción espontánea o inducida por estimulación manual de la vulva, ambos procedimientos fueron consultados, argumentados y aprobados formalmente por el Comité de Ética Animal de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno. La orina fue recolectada en un recipiente de plástico con 5 litros (L) de capacidad, fijado a una estructura metálica (Anexo 17), con mango de



madera de 2.5 m de largo, para aproximar el recipiente a la parte posterior de la vaca desde una distancia prudente, sin fatigar al animal y así facilitar la colección. Seguidamente, se registró el volumen de la orina colectada independientemente por vaca, utilizando una probeta de 2 litros de capacidad.

Debido a la variabilidad del contenido de nitrógeno en las colectas de orina, estas se depositaron y mezclaron en una cubeta de 20 litros para formar una muestra compuesta o estándar, y de esta se recolectó dos submuestras de 100 mL en un frasco estéril hermético para ponerlo en congelación a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis, donde se determinó la concentración de nitrógeno total (NT) por el método Kjeldahl (AOAC, 1995). Finalmente, la muestra compuesta de orina fue almacenada hasta el momento de su aplicación al suelo, en contenedores con tapa de 20 litros y bajo refrigeración o en sombra a  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  para evitar la hidrólisis de la urea. La orina se retiró del almacenamiento en frío al menos 2 horas antes de la aplicación al suelo, para permitirle alcanzar la temperatura del aire ambiente.

La colección de orina se realizó previa fase de acostumbramiento, a fin de minimizar el estrés a las vacas y perfeccionar el método de colección, para esto se implementó un experimento de colección puntual de orina, con cinco vacas seleccionadas al azar, para monitorear el volumen real de orina excretada en un evento de micción independientemente por vaca durante un periodo de cuatro días. Este reporte permitió conocer y contrastar la tasa de excreción de orina de las vacas durante el experimento de colección puntual y la colección definitiva de orina es decir siete horas antes de aplicar la orina al suelo (Anexo 18).

### **3.5.2 Diseño experimental**

#### **3.5.2.1 Tratamientos**

El experimento se basa en un diseño completo al azar (DCA) con cuatro tratamientos y tres repeticiones ( $n=3$ ), separados por 2 metros (espacio de amortiguamiento). Los tratamientos fueron: (i) control (C), (ii) orina (U), (iii) orina más ceniza de madera 0.5 t/ha (U+A1), (iv) orina más ceniza de madera 1 t/ha (U+A2). Los tratamientos difirieron en la dosis de ceniza de madera (t/ha) mientras que el contenido de nitrógeno (N) en la orina fue igual para todos los tratamientos con excepción del control que no recibió orina ni ceniza (Figura 6).

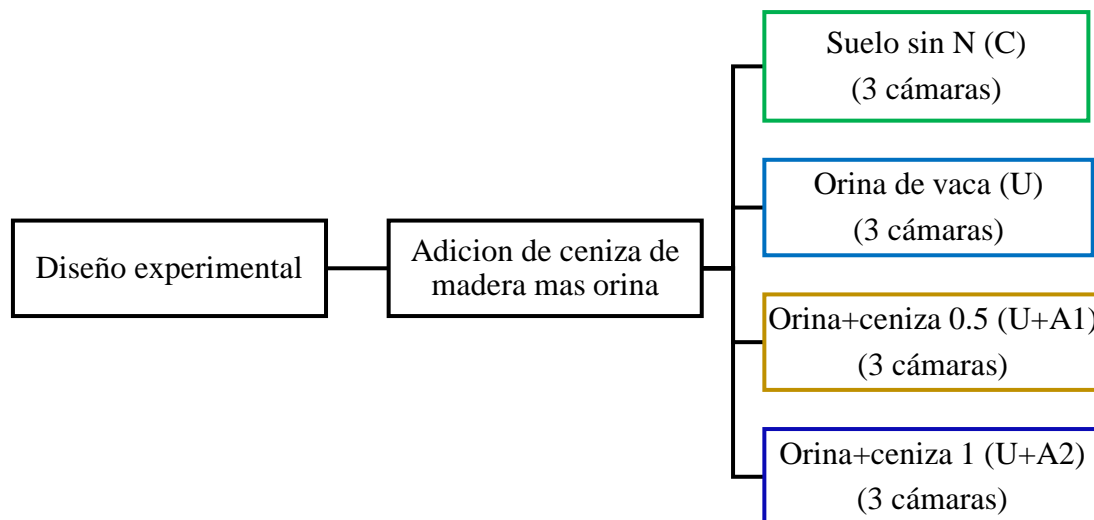


Figura 6. Configuración del diseño de investigación

### 3.5.2.2 Distribución de parcelas e instalación de cámaras

Antes de iniciar el experimento, primeramente, se requirió identificar un área de estudio, con características de superficie plana, sin riesgo de inundación, con cobertura de pasto cultivado alfalfa (*Medicago sativa*) y que se encuentre exenta de pastoreo y fertilización nitrogenada durante los últimos 5 años (Anexo 12). Una vez identificada la parcela, el pasto cultivado de toda el área experimental fue cortado mecánicamente con una sierra de disco rotatorio  $\leq$  a 0.05 m del nivel del suelo, simulando el pastoreo de las vacas (Anexo 13). Esta tarea de corte fue realizada cada mes, para mantener el pasto a la altura deseada (Anexo 25), y los pastos que rebrotaron en el interior de la cámara fueron cortados con una tijera para evitar cambios de volumen en el espacio superior de la cámara estática.

Una vez preparada el suelo, se delimitó un perímetro de 260 m<sup>2</sup> (20 x 13 metros) tomando en cada vértice los datos georreferenciales con GPS, seguidamente se instaló un cerco exclusor con alambre de púas para evitar el ingreso de animales, a fin de minimizar cualquier efecto directo que pueda afectar los resultados, como la deposición de excretas al inicio de las mediciones o durante el desarrollo experimental.

Con la ayuda de una cinta métrica, cordel y estacas, se realizó la distribución del área de estudio en tres filas y cuatro columnas, haciendo un total de 12 parcelas experimentales de 2 m<sup>2</sup> (2 de largo y 1 de ancho), con un espacio de amortiguación

equidistante de dos metros entre filas y columnas, y tres metros en todo el perímetro colindante al cerco exclusor, el propósito de este espacio de amortiguación entre las parcelas experimentales es para evitar la contaminación cruzada entre tratamientos y facilitar el libre tránsito del investigador.

La distribución de las parcelas para la instalación de las cámaras y la aplicación de tratamientos se asignó de forma aleatoria y cada parcela experimental fue dividida en dos subparcelas de un metro cuadrado, donde una fue designada para la instalación de la cámara y la otra para el muestreo destructivo del suelo o también conocida como cámara espejo, ambas sub parcelas recibieron el mismo tratamiento. La instalación de las cámaras se realizó de forma simétrica con la ayuda de un cordel guía, para lograr su inserción a una profundidad de  $\geq 0.05$  m del suelo se utilizó un mazo de hierro, una madera y un nivel (Anexo 20). Una vez instaladas las cámaras permanecieron en el suelo durante toda la fase experimental, estas a su vez dieron origen a una microparcela de  $0.049 \text{ m}^2$  delimitada por el borde circular de la cámara. Finalmente, todas las cámaras fueron rotuladas de la forma siguiente: número de cámara y tratamiento; ejemplos C1-U, C7-U+A1 respectivamente según corresponda hasta la cámara 12 (C12-U), (Figura 7).

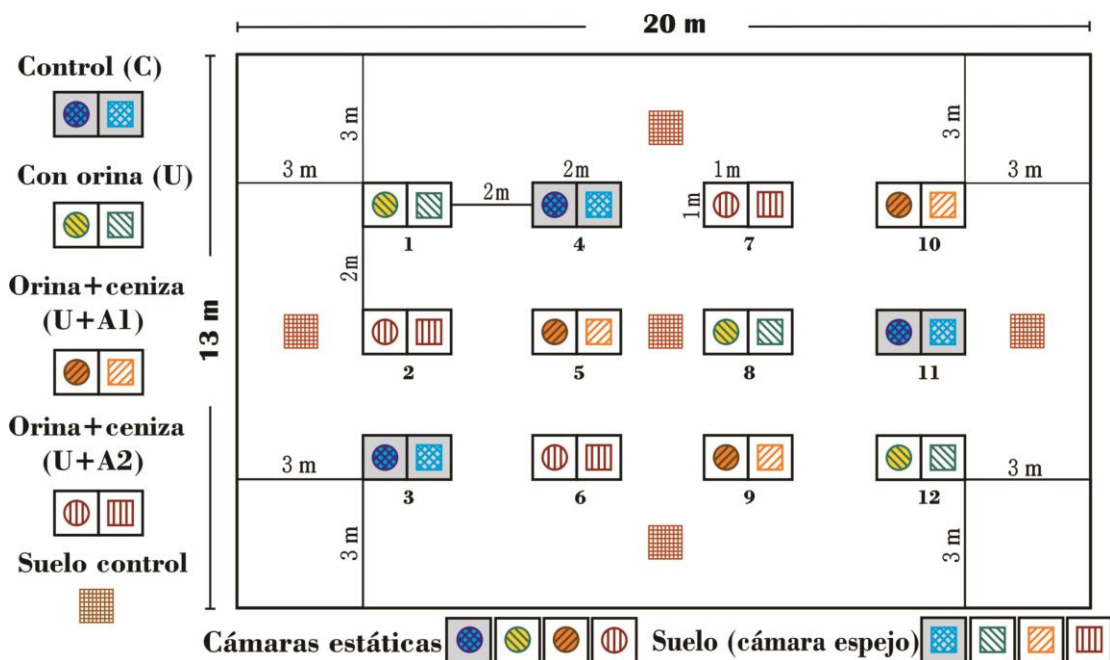


Figura 7. Distribución espacial de tratamientos en las sub parcelas experimentales

### 3.5.3 Aplicación de ceniza de madera

A partir de la ceniza de madera obtenida y tomando en consideración que cada parcela experimental cuenta con dos sub parcelas de un  $1\text{m}^2$ , las dosis de ceniza de madera se calcularon por metro cuadrado, resultando en 50 y 100 gramos de ceniza para los tratamientos U+A1 y U+A2, estas dosis son equivalentes a una tasa de aplicación en campo de 0.1 y 0.2 % respectivamente, calculadas proporcionalmente en base al peso de una hectárea (ha) para un suelo con densidad aparente de  $1.0\text{ t/m}^3$  y una profundidad de infiltración de 0.05 m superficiales.

La aplicación de la ceniza de madera a las parcelas experimentales, se realizó 48 horas antes de aplicar el parche de orina, de forma manual en zigzag, cubriendo toda la superficie de cada subparcela ( $1\text{m}^2$ ), a fin de conservar el principio de independencia de la unidad experimental y garantizar la distribución de la dosis de ceniza de madera en cada subparcela. Después de aplicar la ceniza en las subparcelas, se agregó agua utilizando una regadera de chorro fino y evacuación lenta, sin lugar a formar escorrentía. La adición de agua fue para evitar la pérdida de ceniza por espolvoreo y facilitar la infiltración de los nutrientes, oligoelementos y iones alcalinos de la ceniza de madera en el suelo superficial (Anexo 19).

### 3.5.4 Adición del parche de orina

La orina se adicionó al interior de las cámaras de  $\text{N}_2\text{O}$  (microparcels de  $0.049\text{ m}^2$ ) en una sola oportunidad durante la primera campaña, es decir, 7 horas antes del primer muestreo de aire (28-01-22), en una tasa volumétrica de 1 L, simulando un evento típico de micción de orina al suelo de forma lenta y homogénea para facilitar la infiltración en lugar de la escorrentía usando una regadera. Al grupo control (C) se le adiciono agua en igual volumen (1 L) para suministrar al suelo una humedad equivalente a los otros tratamientos. Es posible que, al aplicar una fuente de nitrógeno en toda el área de la cámara, las emisiones de  $\text{N}_2\text{O}$  se vean afectadas, pero no hay evidencia que sugiera que esto resulte en una subestimación o una sobrestimación de la emisión verdadera (Marsden et al., 2016). Además de los parches de orina que se establecieron para las mediciones de  $\text{N}_2\text{O}$ , paralelamente se trataron áreas más grandes, subparcelas de  $1\text{ m}^2$  conocido como cámara espejo, estas recibieron el mismo volumen de orina y agua para el caso del grupo control, lo que permitió en múltiples oportunidades el muestreo destructivo del suelo para

determinar pH, nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), densidad aparente, espacio poroso lleno de agua y humedad gravimétrica (Anexo 21).

### 3.5.5 Fase de muestreo

#### 3.5.5.1 Determinación del horario de muestreo

Previo a la fase experimental, se requirió determinar el horario óptimo para la toma de muestras, para esto se instaló en el lugar de estudio, con anterioridad de tres días una estación meteorológica (Anexo 14), equipada con dos sensores inalámbricos de temperatura con transferencia de datos vía Bluetooth mediante un aplicativo Android SPARKvue de la marca Pasco (Wireless temperature) modelo PS-3201 y PS-3222, respectivamente, ambos energizados con una pila tipo moneda de 3.0 v (código CR2032).

El primer sensor con vástago metálico de 10 cm se utilizó para el monitoreo de la temperatura del aire y el segundo sensor con sonda cableada de 100 cm equipada con vástago de 15 se utilizó, para el monitoreo de la temperatura del suelo a 10 cm de profundidad, los dos sensores se programaron para registrar los datos cada 15 minutos, (24/7) durante toda la fase experimental, los datos almacenados en la memoria de los sensores fueron descargados cada 24 horas (Figura 8).



a) Termómetros PS-3201 y PS-3222

b) Sonda a 10 cm del suelo

*Figura 8.* Estación meteorológica instalada con sensores inalámbricos de temperatura

A partir de los datos obtenidos de la estación meteorológica que monitoreó la temperatura del aire por 72 horas previas al muestreo, se utilizó como indicador la

temperatura promedio del aire en función a 24 horas, dando como resultado una temperatura promedio del aire de 12 °C que normalmente se alcanzó entre el horario de las 8:00 a 10:00 horas, esta información fue necesaria para determinar el horario óptimo de muestreo que fue a las 09:00 ± 00:30 horas (Figura 9).

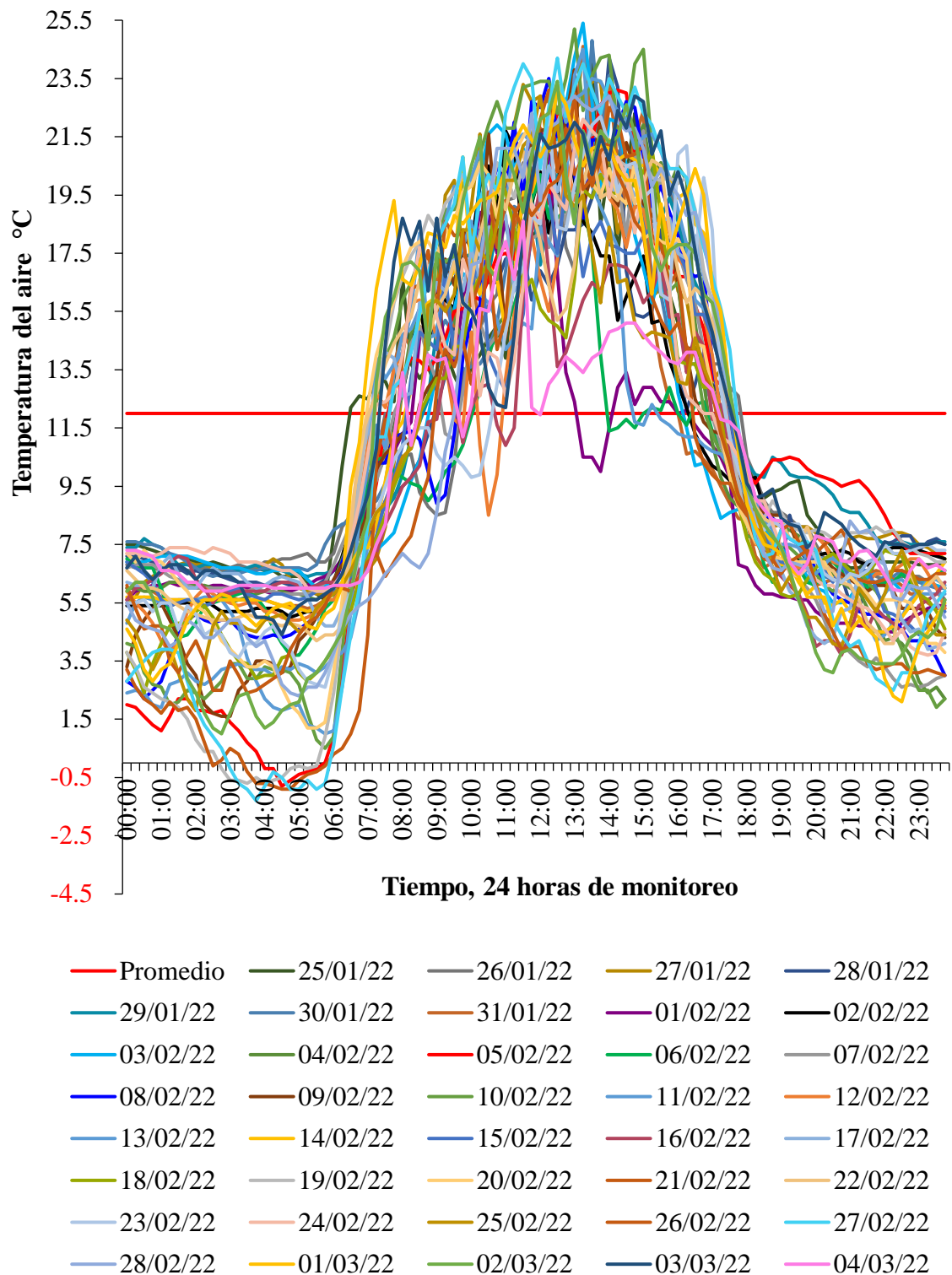


Figura 9. Monitoreo de la temperatura del aire en el área experimental



### 3.5.5.2 Muestreo de aire

Las muestras de aire del espacio superior interno de la cámara estática se colectaron a los 0 (T1), 20 (T2) y 40 (T3) minutos después del sellado de la cámara o fase de despliegue (de Klein & Harvey, 2015), con una jeringa de poliuretano de 60 mL (NIPRO) conectado al puerto de muestreo mediante el extractor de muestras. Previo al muestreo, primeramente, se homogeneizó la muestra prendiendo el ventilador y bombeando el émbolo de la jeringa tres veces, reteniendo 50 mL de aire del tercer bombeo en el interior de la jeringa mediante el cierre de las dos llaves de triple vía del extractor de muestras. Seguidamente, se conectó el vial de vidrio con tapa rosca de doble septo PTFE/silicona de 12 mL de volumen (Labco, Exetainer® Reino Unido) a la aguja (23 Gx1") del extractor de muestras. Una vez conectada el vial, se abrió la llave de triple vía que va conectada a la jeringa, en donde se observó una ligera retracción del émbolo de la jeringa, lo que da a entender que el vial se encontraba completamente pre-evacuado garantizando los 12 mL de muestra. Sin embargo, por el comportamiento de los gases a diferente presión atmosférica se requirió transferir el volumen restante de muestra de la jeringa al interior del vial, empujando el émbolo de la jeringa con algo de resistencia, quedando el vial a sobre presión hasta antes del análisis (Anexo 24).

El muestreo de aire se realizó a intervalos de tiempos secuenciales y equidistantes con una diferencia de 20 minutos entre cada tiempo, a fin de encontrar diferencias en las concentraciones lineales del gas de interés ( $N_2O$ ), durante 34 días, desde el 28 de enero al 02 de marzo de 2022, coincidiendo con la estación de verano y la época de lluvias. Para alcanzar este objetivo se programó realizar en total 10 campañas de muestreo, en los días 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 20, 27 y 34, en un horario establecido entre las 09:00 y 11:00 horas, este período de tiempo permite la extrapolación a un flujo diario sin sesgo (Lombardi et al., 2021; Luo et al., 2013; van der Weerden et al., 2017), utilizando la técnica de cámara estática cerrada (de Klein et al., 2020). Finalmente, todos los viales con muestras gaseosas fueron almacenados en refrigeración a 5 °C hasta ser trasladados al Laboratorio de Físicoquímica Ambiental de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil – Argentina.

### 3.5.6 Fase analítica

#### 3.5.6.1 Análisis de la concentración de N<sub>2</sub>O

Los viales con muestras de aire procedentes de las 10 campañas de muestreo se trasladaron vía aérea en el interior de la cabina para evitar cambios bruscos de presión atmosférica del interior de los viales, y llegando al país de destino fue transportado hasta las instalaciones del Laboratorio de Fisicoquímica Ambiental, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN), Tandil Argentina, para determinar la concentración de N<sub>2</sub>O (ppm) por cromatografía de gases (GC). Una vez con las muestras en el laboratorio se organizaron en una gradilla, según el orden siguiente, número de cámara, tiempo y día de muestreo (C1-T1-D1, C1-T2-D1, C1-T3-D1) de tal forma que por cada cámara (unidad experimental) se tuvieron que analizar tres muestras. Este mismo esquema de organización se replicó en la ficha impresa para registro de los resultados cromatográficos.

Para extraer la muestra del vial se utilizaron jeringas de 25 mL y una aguja hipodérmica 25 Gx1/2" conectada mediante una llave triple vía. Previamente, todas las jeringas fueron sometidos a una doble limpieza con gas nitrógeno (N<sub>2</sub>) de alta pureza (UHP), culminando con la limpieza las jeringas quedaron cargadas con N<sub>2</sub> UHP hasta su utilización, con la finalidad de evitar el ingreso de otros gases contaminantes, y antes de extraer la muestra del vial se eliminó manualmente el N<sub>2</sub> UHP del interior de la jeringa (Anexo 31).

Un detalle muy importante para el éxito de los análisis por cromatografía de gases es que los viales conserven la muestra a sobrepresión, en este trabajo se ha observado que los viales todavía continúan sobre presurizados, resultando en la extracción total de un volumen de muestra de unos  $18 \pm 7$  mL. Esto fue muy conveniente, porque nos permitió conservar un estimado del 55 % de muestra en el interior del vial, para utilizarlo como respaldo en caso de tener que volver a reinyectar la muestra en el cromatógrafo, a consecuencia de algún análisis dudoso o un error en la integración de los picos cromatográficos como producto de una mala inyección de la muestra.

Cómo los viales se encontraban a sobre presión no fue necesario ejercer fuerza en el émbolo para extraer la muestra, más por el contrario se requirió destreza y práctica



en abrir y cerrar rápidamente la llave de triple vía, para cargar la jeringa con muestra en un rango volumétrico de 8 a 15 mL, el volumen de muestra que ingresa a la jeringa estuvo en función a la rapidez con que cierras la llave de triple vía apenas atraviesa el septum del vial. Se debe precisar que el volumen mínimo de muestra para inyectar al cromatógrafo es de 6 mL. Sin embargo, al tener viales con buena cantidad de muestra y a sobrepresión se tomó la decisión de inyectar en promedio 11 mL de muestra, en caso de inyectar más muestra no afecta en los reportes cromatográficos, debido a que el vial se encuentra cargado con una muestra de aire de igual concentración de  $N_2O$  (ppm) en todo su volumen, por tanto, sea el volumen que se inyecte la concentración seguirá siendo la misma.

Luego de extraer la muestra de aire, los viales fueron puestos tapa hacia abajo para diferenciarse del resto de los viales de la gradilla. Para inyectar la muestra de aire al inyector manual del cromatógrafo, primero se retiró la aguja de la llave de triple vía que para entonces estaba cerrado y conectado al extremo roscable de la jeringa, seguidamente la jeringa y su llave cerrada se conectó a una segunda llave de triple vía que estaba fijado al inyector manual del cromatógrafo. Una vez conectada las dos llaves, se abrieron una tras el otro, primero de la jeringa y luego del cromatógrafo, he inmediatamente se realizó la inyección de la muestra (Anexo 32, Anexo 33), este procedimiento requiere algo de práctica como si se tratara de administrar un medicamento vía intramuscular, en forma lenta, continua, sin hacer pausas. De hecho gran parte de los resultados dependen del método de inyección de las muestras (Jha et al., 2020; Žurovec et al., 2021).

El análisis del gas  $N_2O$  se realizó en un cromatógrafo de gases (GC) Agilent 7890A equipado con un detector de captura de electrones (ECD) con una columna Poropak Q 1-8 (malla 80/100), y una temperatura del horno, inyector y detector de 60, 375 y 280 °C, respectivamente. El gas portador ( $Ar/CH_4$ , 5 %) se mantuvo a una presión constante de 2 mL/min. La concentración del GC (C) se determinó a partir de curvas de calibración de 8 puntos ( $R= 0,99$ ) que van desde 0,17 a 1,38 ppm de  $N_2O$ . El tiempo que requirió por análisis fue de 10 minutos, además nos permitió la posibilidad de inyectar una nueva muestra a los 9.5 minutos, es decir 10 segundos antes de que muestre el reporte del análisis de la muestra anterior, el método de análisis que se cargó al software, fue el método de metano y dióxido de carbono alto ( $CH_4$  y  $CO_2$  Alto), este método permite analizar muestras de aire con altas

concentraciones del gas de interés  $N_2O$  (ppm) debido a que proceden de tratamientos con niveles elevados de nitrógeno, como en el caso de las excretas de animales estiércol, orina así como también la fertilización nitrogenada de suelos (Lombardi et al., 2021).

### 3.5.6.2 Cálculo de los flujos de emisión de óxido nitroso

Los reportes del cromatógrafo de gases en unidades de ppm fueron transformado a unidades de masa y extrapolados a un metro cuadrado para informar como  $N-N_2O$   $mg/m^2/h$ , como una forma estándar de expresar los resultados independientemente de las dimensiones de la cámara, lo que permitió la comparación de los flujos dentro de los parches de orina y el control. Los flujos de emisión del gas  $N_2O$  ( $F_{N_2O}$ ) se calcularon a partir de los cambios en la concentración del espacio superior de cabeza durante el periodo de despliegue, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$F_{N_2O} = \frac{\Delta N_2O}{\Delta t} \times \frac{M}{V_m} \times H$$

Donde:

$\Delta N_2O$ : Es el aumento en la concentración del gas  $N_2O$  en el espacio superior de la cámara durante el periodo de cierre.

$\Delta t$ : Es el periodo de cierre de la cámara por 40 minutos

M: Masa molar del elemento gaseoso (28 g/mol para N /44,01 g/mol para  $N_2O$ ).

$V_m$ : Volumen molar del gas a temperatura de muestreo (L/mol)

H: Altura del espacio superior de la cámara (Headspace).

- Ecuación para calcular el volumen molar del gas.

$$V_m = \frac{R \times T}{n \times P}$$

Donde:

R: Constante del gas ideal (L.atm/mol.K) = 0,08206

T: Temperatura del aire en el momento de muestreo en grados kelvin

P: Presión en atmosfera (presión del lugar del de estudio)

n: Número de moles

- La altura de la cámara también se puede calcular con la siguiente ecuación.

$$H = \frac{V}{A}$$

V: Volumen del espacio superior de la cámara,  $V = \pi \cdot r^2 \cdot h$  (m<sup>3</sup>).

A: Área cubierta por la cámara (0.049 m<sup>2</sup>)  $A = \pi \cdot r^2$

Los flujos de emisión de N<sub>2</sub>O en ppm, para cada cámara estática, se verificó su linealidad examinando el valor R<sup>2</sup>, donde las cámaras que alcancen un coeficiente de determinación R<sup>2</sup><0,8 no se consideran aptas para el análisis. Sin embargo, para este experimento no se excluyó a ninguna cámara. Se asumió un flujo cero en las cámaras donde la tasa de cambio en la concentración de gas estaba por debajo del límite de precisión analítica del dispositivo de GC. Este límite se determinó analizando varias muestras cercanas a la concentración ambiental y luego calculando el coeficiente de variación (cambio mínimo de 3 % para N<sub>2</sub>O), como sugirieron (Parkin et al., 2012). Las emisiones acumuladas de N<sub>2</sub>O (mg/m<sup>2</sup>) se estimaron integrando la interpolación lineal de los flujos de emisión diaria para el día 0 hasta el día 34, punto en el que las emisiones de los parches volvieron a niveles cercanos al control, utilizando el Software OriginLab 2018 para estimar el área bajo la curva (Lombardi et al., 2021).

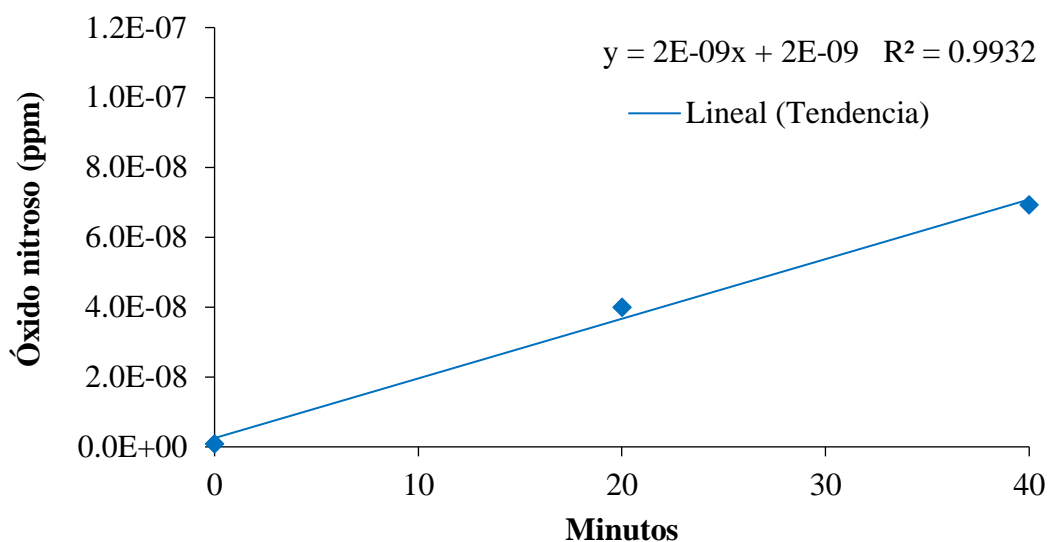


Figura 10. Variación de la concentración de N<sub>2</sub>O en función al tiempo de despliegue

### **3.5.7 Mediciones de variables complementarias**

#### **3.5.7.1 Variables ambientales**

##### **a. Temperatura**

La temperatura del interior de la cámara fue monitoreada mediante un termómetro con vástago de 10 cm de longitud que se instaló en la tapa de la cámara, los datos de temperatura fueron registrados en la libreta de campo durante los tres tiempos de muestreo de aire T1, T2, y T3. Para monitorear la temperatura del aire y el suelo a 10 cm de profundidad, se utilizaron los equipos que se instalaron en la estación meteorológica (Figura 8), este monitoreo permaneció activo 24/7 durante toda la fase experimental y los datos fueron descargados cada 24 horas a fin de obtener el reporte climatológico del día.

##### **b. Precipitación**

La precipitación fue monitoreada mediante una estación meteorológica equipada con un pluviómetro electrónico, instalada en la misma Estación Experimental Agraria Illpa-Puno a unos 500 m del lugar de estudio. El registro de la descarga de lluvia al suelo fue monitoreado antes, durante y después de la experimentación, a fin de poder relacionar esta variable climatológica con el comportamiento del agua en la capa superficial del suelo.

#### **3.5.7.2 Parámetros fisicoquímicos del suelo**

##### **a. Humedad del suelo (Hw, %)**

La humedad del suelo se calculó por el método gravimétrico a partir de las muestras del suelo procedentes de la cámara espejo, este método consistió en coleccionar un volumen de suelo desde una profundidad de 0 a 10 cm mediante un cilindro metálico de 6 cm de largo por 4.5 de diámetro. Previamente, los cilindros fueron rotulados, secados en horno a 60 °C y pesados, y para obtener la muestra se utilizó un mazo metálico para golpear cuidadosamente al cilindro, evitando compactar el suelo, seguidamente con ayuda de un barreno de mayor diámetro se extrajo el cilindro del suelo, cortando los excedentes de suelo con una regla metálica (Anexo 26).

Finalmente, los cilindros con muestra de suelo fueron empacados en bolsas de polietileno, rescribiendo su rótulo. Una vez ya embolsados fueron guardados en una caja de refrigeración hasta llegar al laboratorio, esta forma de manejo se realizó para evitar la pérdida de humedad del suelo, siguiendo las metodologías estandarizadas para toma de muestras de suelo (USDA-NRCS, 2010). En cada campaña de muestreo se obtuvieron 12 muestras de suelo y en 10 campañas se tuvieron un total de 120 muestras de suelo por analizar.

En el laboratorio se registró el peso del suelo húmedo (peso húmedo), seguidamente las muestras se pusieron a secar en una estufa a 105 °C por un periodo de 24 horas, para obtener el peso del suelo seco. Ambos pesos se registraron con una balanza electrónica con sensibilidad de 0.01 g (Anexo 28). A partir de la diferencia entre el peso húmedo y el peso seco se logró determinar el contenido de agua gravimétrica porcentual del suelo (Hw) mediante la siguiente ecuación:

$$Hw, \% = \frac{\text{Peso húmedo} - \text{peso seco}}{\text{peso seco}} \times 100$$

#### **b. Densidad aparente (Da)**

La densidad aparente en g/cm<sup>3</sup> (Da), se determinó a partir de la relación entre el volumen del cilindro metálico (95.43 cm<sup>3</sup>) y el peso seco del suelo, estos datos fueron tomados del anterior análisis para determinar la humedad del suelo. La densidad aparente fue determinada para cada una de las parcelas experimentales utilizando la siguiente ecuación:

$$Da = \frac{\text{Peso seco}}{\text{Volumen del cilindro}}$$

#### **c. Espacio poroso lleno de agua (WFPS, %)**

El espacio poroso lleno de agua del suelo, por sus siglas en inglés WFPS (Water filled pore space), se determinó a partir de los dos parámetros del suelo como humedad del suelo y densidad aparente (Hw y Da) que ya fueron determinados con anterioridad, por tanto, el espacio poroso lleno de agua fue calculado para cada tratamiento utilizando las siguientes fórmulas:

- Contenido volumétrico de agua ( $\text{g/cm}^3$ )

$$H_v = H_w \times D_a$$

Donde:

H<sub>v</sub>: Humedad volumétrica

H<sub>w</sub>: Humedad gravimétrica

D<sub>a</sub>: Densidad aparente

- Determinación de la Porosidad del suelo

$$P = 1 - \left( \frac{D_a}{D_r} \right)$$

Donde:

P: Porosidad del suelo

D<sub>a</sub>: Densidad aparente

D<sub>r</sub>: Densidad real (2.65)

- Determinación de WFPS

$$\text{WFPS, \%} = \left( \frac{H_v}{P} \right) \times 100$$

Donde:

WFPS: Espacio poroso lleno de agua en el suelo (%)

H<sub>v</sub>: Humedad volumétrica

P: Porosidad del suelo

#### d. pH del suelo

El pH del suelo fue medido *in situ*, antes (pH inicial) y después de aplicar la ceniza de madera y adicionar el parche de orina, tales medidas de pH de todas las parcelas experimentales fueron tomadas con un sensor de pH de la marca HANNA (HI81030), durante las 10 campañas de muestreo (Anexo 27).

#### **e. Nitrato y amonio**

El nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) se determinaron a partir de las muestras de suelo que se colectaron de cada tratamiento a 10 cm de profundidad, con ayuda de un barreno o muestreador de suelo (Anexo 26). El método de muestreo consistió en tomar de cada parcela experimental tres porciones aleatorias de suelo, hasta llegar a un peso de 600 gramos (g), luego la muestra se depositó en una bolsa de polietileno, esta acción se repitió durante las 10 campañas de muestreo.

Culminando las 10 campañas de muestreo, todas las muestras de suelo fueron secadas al ambiente y a partir del suelo seco, se empezó a mezclar los suelos procedentes de cada tratamiento ( $n=3$ ) en una sola muestra, obteniendo así para cada campaña 4 muestras compuestas de 500 g correspondiente a los tratamientos C, U, U+A1 y U+A2, respectivamente. Por tanto, en 10 campañas se obtuvo un total de 40 muestras compuestas de suelo, que finalmente fueron enviados al Laboratorio de suelos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria la Molina para realizar los análisis requeridos.

#### **f. Caracterización del Suelo**

Para la caracterización del suelo del lugar de estudio, previa a la fase experimental se muestrearon 5 puntos aleatorios de toda la parcela (260 m<sup>2</sup>), en una bolsa de polietileno llegando a obtener dos réplicas de 1 kg de suelo (muestra compuesta), seguidamente las muestras fueron enviadas al Laboratorio de suelos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria la Molina para el análisis de caracterización agronómica.

#### **3.5.8 Análisis estadístico**

La variabilidad en las concentraciones de los flujos de emisión diaria ( $\text{mg/m}^2/\text{h}$ ) y emisión acumulada ( $\text{mg/m}^2$ ) del gas óxido nitroso, en el espacio superior de la cámara, se analizaron mediante un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro tratamientos y tres repeticiones. Los datos resultantes se procesaron mediante el programa estadístico Rstudio® version 4.0.0, sujeto al siguiente modelo aditivo lineal

fijo, bajo los principios de aleatoriedad, repetición, independencia de las unidades experimentales y control local del error (Kuehl, 2001).

$$Y_{ij} = \mu + T_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y: Variable respuesta

$\mu$ : Media general

$T_j$ : Efecto del tipo de tratamiento (C, U, U+A1 y U+A2)

$\varepsilon_{ij}$ : Error experimental

Los supuestos de normalidad y homocedasticidad se analizaron mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Levene, respectivamente. Para comparar varios tratamientos con un control, se utilizó la prueba Dunnett a un nivel de confianza del 95 % y para contrastar la comparación de medias entre los tratamientos se utilizó la prueba múltiple de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

Para determinar la relación existente entre los parámetros fisicoquímicos del suelo como, contenido de amonio, nitrato, pH, densidad aparente, humedad y espacio poroso lleno de agua (variables  $X_1, X_2, X_3...X_6$ ) y los flujos de emisión diaria de óxido nitroso (variable Y), se utilizó la prueba estadística de coeficiente de correlación múltiple de Pearson.

$$r_{yx_1x_2} = \sqrt{\frac{(r_{yx_1} - r_{yx_2} \cdot r_{x_1x_2})^2}{(1 - r_{yx_2}^2)(1 - r_{x_1x_2}^2)}}$$

A partir de la siguiente hipótesis estadística, cumpliendo los supuestos de normalidad.

$H_0$ : Las variables  $X_1, X_2, X_3...X_6$  y variable Y del estudio no están relacionadas

$H_1$ : Las variables  $X_1, X_2, X_3...X_6$  y variable Y del estudio se encuentran relacionadas

$$0 \leq r_{xy} \leq 1$$



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Determinación de los flujos de emisión de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O)

##### 4.1.1 Flujos de emisión diaria de óxido nitroso

La adición del parche de orina al suelo y al interior de la cámara estática, tuvo por efecto incrementar la emisión del flujo diario de N<sub>2</sub>O en comparación con el grupo control que no recibió orina, de igual forma las emisiones procedentes de suelos tratados con ceniza de madera en las dos dosis U+A1 y U+A2 0.5 y 1 t/ha, respectivamente. Mostraron un efecto estimulador en los flujos de emisión diaria de óxido nitroso. Al análisis estadístico los tratamientos U+A1 y U+A2 no presentan diferencia estadística ( $p > 0.05$ ), pero son estadísticamente diferentes a los flujos del tratamiento con orina U ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, al compararlos con el grupo control, los tratamientos U, U+A1 y U+A2, revelaron diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ). Se debe precisar que los flujos de emisión diaria de óxido nitroso se han expresado en unidades de N-N<sub>2</sub>O mg/m<sup>2</sup>/h y antes de realizar el ANVA fueron sometidos a la prueba de normalidad mediante el estadístico de Kolmogorov-Smirnov (Anexo 1).

Los flujos diarios de óxido nitroso se emitieron de diferente manera, según el tipo de tratamiento y tiempo de exposición del parche de orina (días de muestreo), donde los picos más altos de emisión se presentaron en el primer día de muestreo (campana 1), es decir 7 horas después de aplicar el parche de orina, teniendo como resultado la emisión de un flujo diario de N<sub>2</sub>O promedio de  $6.7 \pm 1.8$ ,  $13.3 \pm 3.1$  y  $12.1 \pm 2.4$ , como N-N<sub>2</sub>O mg/m<sup>2</sup>/h para los tratamientos U, U+A1, U+A2, respectivamente,

donde los tratamientos U+A1 y U+A2 presentaron los niveles de emisión más alto, en comparación con el tratamiento U ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, al realizar la comparación de medias del flujo diario de  $N_2O$  del grupo control  $1.3 \pm 0.3$  con los tratamientos U, U+A1 y U+A2 estas mostraron diferencia estadística ( $p < 0.05$ ), (Anexo 2). Este mismo patrón se pudo observar durante los 34 días que requirió el monitoreo de los flujos de emisión diaria de  $N_2O$  (Figura 11, Anexo 5).

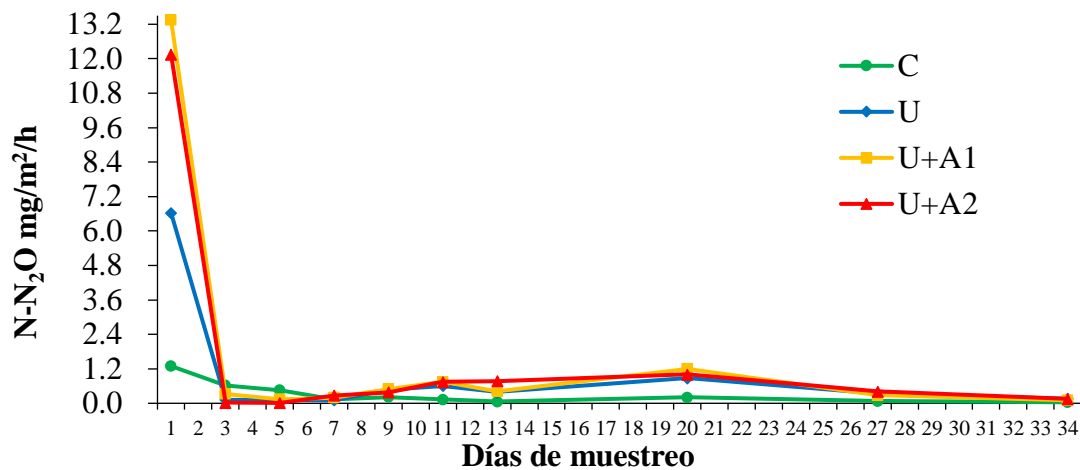


Figura 11. Flujos de emisión diaria de óxido nitroso

Al margen de no existir diferencia estadística entre los tratamientos, U+A1 y U+A2, las emisiones del tratamiento U+A1, fueron las que tuvieron mayor tendencia en la emisión diaria de óxido nitroso, dando a entender que la ceniza de madera aplicada al suelo a una dosis de 0.5 t/ha tendría efecto sinérgico en los flujos de emisión diaria de este gas de interés mundial que es el óxido nitroso. Sin embargo, el tratamiento con U+A2, tuvo un comportamiento particular mostrando una ligera reducción de los flujos de emisión diaria de óxido nitroso en comparación con el tratamiento U+A1, a pesar de este sutil intento de reducir la emisión de  $N_2O$ , estas emisiones fueron superior a las emisiones del tratamiento con solo orina (U). Por tanto, los parches de orina también presentaron flujos de emisión diaria de óxido nitroso a una escala inferior que los tratamientos anteriores, pero no inferior al grupo control. A partir de estos resultados podemos presumir que los parches de orina modifican ampliamente la biología y química del suelo lo que propicia a la formación de un punto crítico para las emisiones de óxido nitroso en suelos donde pastorea el ganado vacuno (Odlare & Pell, 2009; Simon et al., 2018). En cuanto a los tratamientos con orina más ceniza de madera en las dosis planteadas (U+A1 y U+A2), que presentaron mayor

emisión en los flujos de emisión diaria de  $N_2O$ , se puede indicar que este nivel de emisión estuvo mediado por el efecto de la ceniza de madera que al entrar en contacto con el suelo ha generado la formación de un medio alcalino, potenciando este efecto de alcalinidad cuando la urea del parche de orina es depositado al suelo, quedando inmediatamente en contacto con la enzima ureasa, quien hidroliza la urea para formar iones de amonio ( $NH_4^+$ ) y carbonatos ( $CO_3$ )<sup>-2</sup> (Clough et al., 2020), más la hidrólisis adicional del ion carbonato ( $CO_3$ )<sup>-2</sup> que pasa a formar bicarbonato ( $HCO_3^-$ ), tiene como resultado el aumento del pH del suelo a valores de 8 a 9 (Rex et al., 2021). Por tanto, dentro de las primeras 24 a 48 horas posteriores al depósito de orina el entorno del suelo cambia radicalmente a nivel biológico, químico y físico (Žurovec et al., 2021). En consecuencia, la urea tiene el potencial de inducir cambios sustanciales en la química del suelo, donde el aumento rápido y relativamente alto del pH del suelo que se produce después de la deposición del parche de orina puede influir en la dinámica del ciclo del nitrógeno, afectando la relación de carbono nitrógeno y dando origen al dominio del nitrito que es un precursor potencial para las emisiones de óxido nitroso (Bornø et al., 2020).

La variabilidad de los flujos de emisión de  $N_2O$  a partir de parches de orina en suelos con pasturas pueden diferir por la composición de la orina, la cantidad de N excretado, el volumen y la frecuencia de los eventos de micción (Dijkstra et al., 2013; Marsden et al., 2016). Además, los procesos de producción y consumo de  $N_2O$  microbiano para reducirlo a  $N_2$  dependen de varios parámetros ambientales que interactúan (Bouwman et al., 2013), como el suministro de N, la temperatura del suelo (Klemedtsson et al., 2010), la humedad del suelo, el potencial de oxidación-reducción (ORP), la disponibilidad de compuestos orgánicos lábiles, tipo de suelo, pH del suelo, WFPS, nitrato y amonio (Baily et al., 2012; Marsden et al., 2019; Pauleta et al., 2019; Xu et al., 2020).

#### **4.1.2 Flujos de emisión acumulada de óxido nitroso**

A partir de los flujos de emisión diaria de óxido nitroso en  $N-N_2O$   $mg\ m^2/h$  mediante la función integración del área debajo de la curva a través del programa OriginLab 2018 (Lombardi et al., 2021), se calculó los flujos de emisión acumulada de óxido nitroso en  $N-N_2O$   $mg/m^2$  para 34 días de monitoreo. Previamente los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad mediante el estadístico de Kolmogorov-

Smirnov (Anexo 3). Dando como resultado un total de emisión acumulada de  $170.40 \pm 26.60$ ;  $490.0 \pm 96.80$ ;  $718.40 \pm 110.10$  y  $689.30 \pm 139.20$  de  $N-N_2O$   $mg/m^2$  por 34 días de monitoreo, para los tratamientos C, U, U+A1 y U+A2 respectivamente (Anexo 6). Al análisis estadístico de las emisiones acumuladas por 34 días de monitoreo (Anexo 4), no se evidenció diferencia estadística entre los tratamientos U+A1 y U+A2 ( $p>0.05$ ), Sin embargo, superaron las emisiones acumuladas del tratamiento con orina (U) y el grupo control ( $p<0.05$ ). Por tanto, la presentación y cálculo de los resultados expresados en emisiones acumuladas de  $N_2O$  permiten dar a entender la tasa de emisión teórica para el gas óxido nitroso, calculado a un volumen de orina, dosis de ceniza de madera aplicado al suelo, área del suelo mojado y tiempo de monitoreo que para este caso asciende a un total de 34 días (Figura 12).

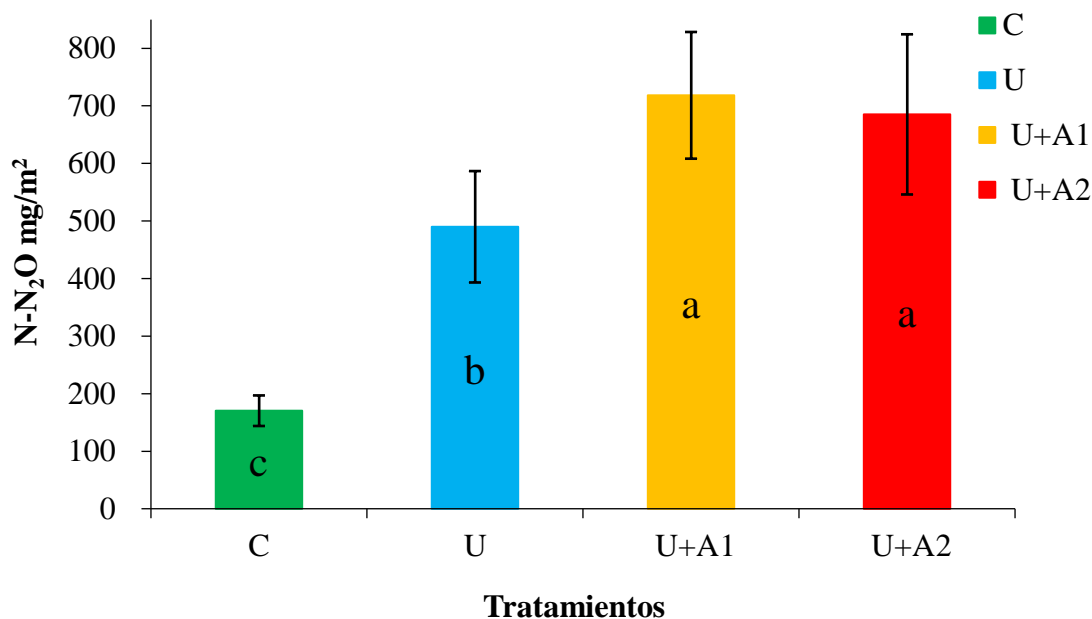


Figura 12. Flujos de emisión acumulada de óxido nitroso en 34 días

Este estudio indica que los flujos de emisión diaria y acumulada de óxido nitroso dependen en gran medida del contenido de nitrógeno que se adiciona al suelo en forma de parches de orina, que normalmente el ganado vacuno excreta al suelo durante el pastoreo (Chadwick et al., 2018; Selbie et al., 2015). Por tanto, el lugar donde se depositan los parches de orina son catalogados como puntos calientes de nitrógeno elevado para la emisión de óxido nitroso (Liu & Zhou, 2014; Wakelin et al., 2013). Es así que, la deposición de orina del ganado vacuno afecta considerablemente a las emisiones de gases de efecto invernadero especialmente en

los flujos de emisión de óxido nitroso (Cardenas et al., 2019), debido a que el ganado vacuno lechero excreta hasta el 80 % del nitrógeno consumido a través de la orina y el estiércol principalmente en forma de urea (Nichols et al., 2016; Wachendorf et al., 2008; Wu et al., 2020).

Una vez que la urea es depositada en el suelo entra en contacto con la ureasa (Marsden et al., 2016), una enzima omnipresente del suelo que hidroliza la urea en amoníaco, amonio y nitrato mediante el proceso de nitrificación o desnitrificación (Clough et al., 2020; Rex et al., 2021), resultando en la producción de los flujos de óxido nitroso, como una vía intermediaria de las pérdidas directas o indirectas del nitrógeno depositado en el suelo a través de los parches de orina excretados por las vacas en horas de pastoreo (Cardenas et al., 2019; Marsden et al., 2019; Saggari et al., 2015).

Por otro lado, se determinó que la ceniza de madera no tiene efecto mitigante sobre las emisiones de óxido nitroso, y al margen de no diferenciarse estadísticamente entre los tratamientos U+A1 y U+A2, se puede denotar que a mayor dosis de ceniza de madera (U+A2) existe una ligera disminución de las emisiones acumuladas de óxido nitroso, pero aún sigue siendo superior a las emisiones acumuladas de N<sub>2</sub>O del tratamiento con orina ( $p < 0.05$ ), lo que conduce a la presunción que la ceniza de madera estimuló las emisiones de óxido nitroso en lugar de mitigar, y debido a este peculiar comportamiento de los flujos de emisión acumulada de N<sub>2</sub>O procedentes del tratamiento con la mayor dosis de ceniza de madera 1 t/ha (U+A2), decrecientan ligeramente en comparación con las emisiones que recibieron ceniza de madera a una dosis de 0.5 t/ha (U+A1). Aunque en este estudio los flujos de emisión diaria y acumulada de N<sub>2</sub>O mostraron una alta variabilidad entre cada tratamiento (C, U, U+A1 y U+A2), todavía se sostiene la idea que a mayor dosis de ceniza se tendría un efecto distinto al reportado, y que probablemente la ceniza de madera como enmienda agrícola pueda reducir la emisión de N<sub>2</sub>O (Garbowski et al., 2023; Huang et al., 2022; Qin et al., 2017).

Sin embargo, hasta ahora solo hay pocos estudios que evaluaron el efecto de la ceniza de madera en las emisiones de óxido nitroso (Maljanen et al., 2006). Por tanto, se requiere mayor comprensión de los procesos involucrados en las emisiones de óxido nitroso, como la nitrificación y desnitrificación de suelos tratados con

enmiendas alcalinas y que días después reciban una carga alta de nitrógeno en forma de urea (parche de orina) o fertilización nitrogenada (Ernfors et al., 2010; Rütting et al., 2014), evidentemente hay un cambio en la biología microbiana del suelo y para su comprensión se requiere realizar estudios más minuciosos para adentrarse a la microbiología del suelo a través de procesos de tipificación e identificación molecular, que puedan dar mayores luces sobre el efecto de la ceniza de madera en las emisiones de óxido nitroso a partir de parches de orina (Klemedtsson et al., 2010; Moilanen et al., 2012).

## 4.2 Determinación de los parámetros fisicoquímicos del suelo

### 4.2.1 Parámetros fisicoquímicos del suelo

#### 4.2.1.1 Densidad aparente (Da)

La densidad aparente de las parcelas experimentales tuvo un comportamiento casi lineal durante toda la experimentación a nivel de todos los tratamientos, con un promedio general por 34 días de  $1.24 \pm 0.03$ ,  $1.25 \pm 0.04$ ,  $1.23 \pm 0.04$  y  $1.24 \pm 0.04$   $\text{g/m}^3$  para los tratamientos C, U, U+A1 y U+A2, respectivamente (Anexo 9, Tabla 16). Este parámetro permite comprender el grado de porosidad del suelo para tener una comprensión del grado de difusividad del gas de interés, además también su determinación fue necesario para determinar el contenido de humedad volumétrica y espacio poroso lleno de agua (WFPS). Por tanto, la linealidad de la Da se debe a que el área experimental estuvo exenta de compactación (Figura 13).

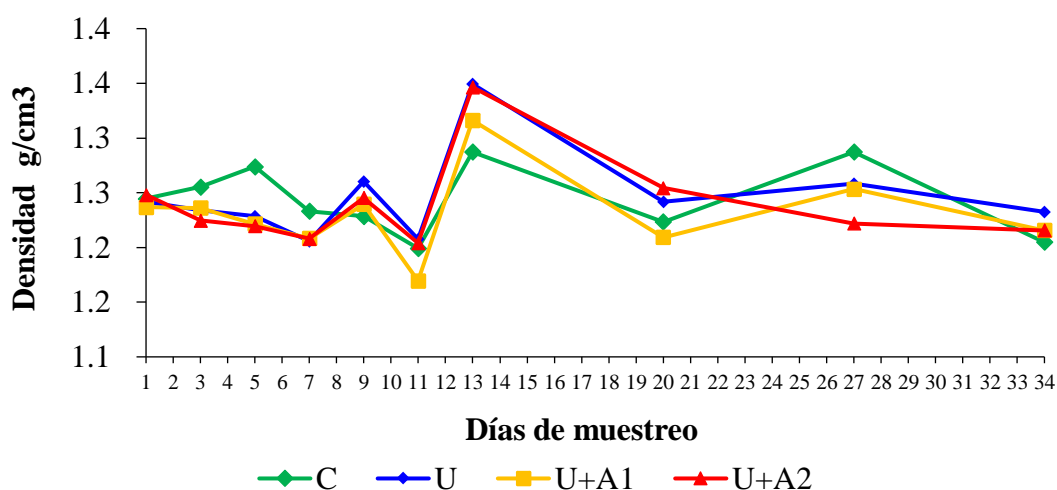


Figura 13. Densidad aparente del suelo  $\text{g/cm}^3$

#### 4.2.1.2 Humedad gravimétrica (Hw, %)

La humedad gravimétrica o contenido de agua del suelo, tuvo una tendencia similar en todos los tratamientos experimentales, su variabilidad temporal estuvo fuertemente marcada por la precipitación pluvial. El cálculo de este parámetro en las diferentes parcelas experimentales durante las 10 campañas, fueron realizadas a fin de correlacionar esta variable de interés con los flujos de emisión diaria de óxido nitroso. Teniendo como resultado un promedio general por 34 días de  $33.38 \pm 3.76$ ,  $33.55 \pm 4.21$ ,  $33.97 \pm 4.04$  y  $33.57 \pm 4.33$  para los tratamientos C, U, U+A1 y U+A2, respectivamente (Anexo 9, Tabla 17) y (Figura 14). Estos valores son propios de la época del año, debido a una alta fluctuación en la precipitación de lluvias (Cardenas et al., 2019).

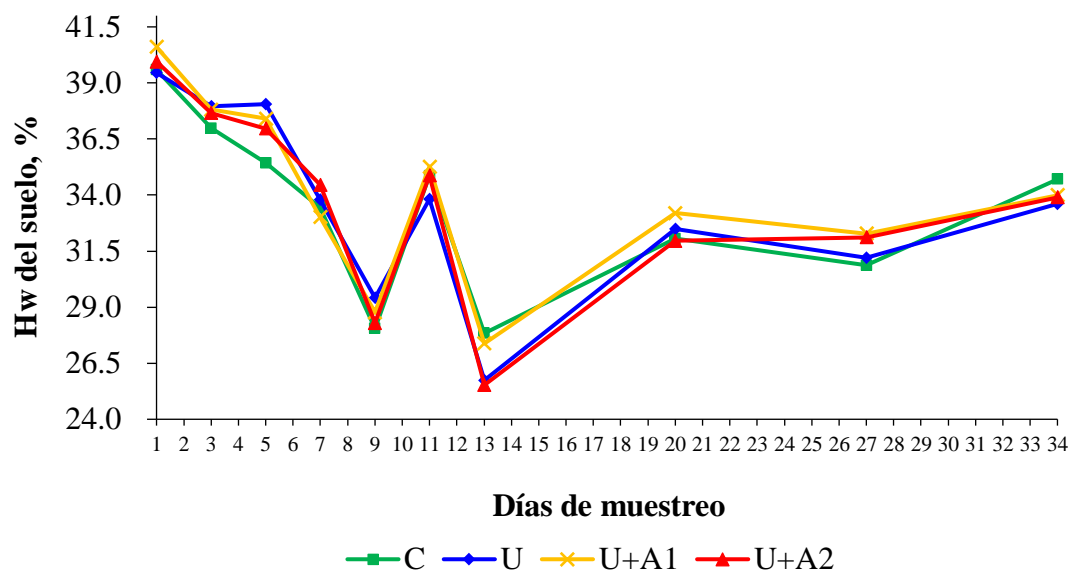


Figura 14. Humedad gravimétrica del suelo (Hw, %)

#### 4.2.1.3 Espacio poroso lleno de agua (WFPS, %)

El WFPS fue similar para todos los tratamientos, sin embargo, el experimento comenzó con un WFPS promedio de 34 días (campaña C1), que fluctúa entre el  $92.96 \pm 4.53$ ,  $92.18 \pm 2.09$ ,  $94.16 \pm 2.47$  y  $94.25 \pm 3.02$  % para los tratamientos C, U, U+A1 y U+A2, respectivamente (Anexo 9, Tabla 18) y (Figura 15). Estos valores altos se asocian al nivel de precipitación pluvial que se descargó en las parcelas experimentales del lugar de estudio (Figura 20).

El WFPS se ha utilizado en gran medida para predecir la potencia de las emisiones de óxido nitroso y la difusividad relativa de los gases que interactúan en la respiración de los suelos, llegando a valores de hasta 95 % en suelos arcillosos (Clough et al., 2020). El grado de WFPS rige el nivel de oxígeno ( $O_2$ ) del suelo y es una de las variables más importantes que determinan el alcance de los procesos de nitrificación y desnitrificación (Rex et al., 2021; Wrage-Mönnig et al., 2018).

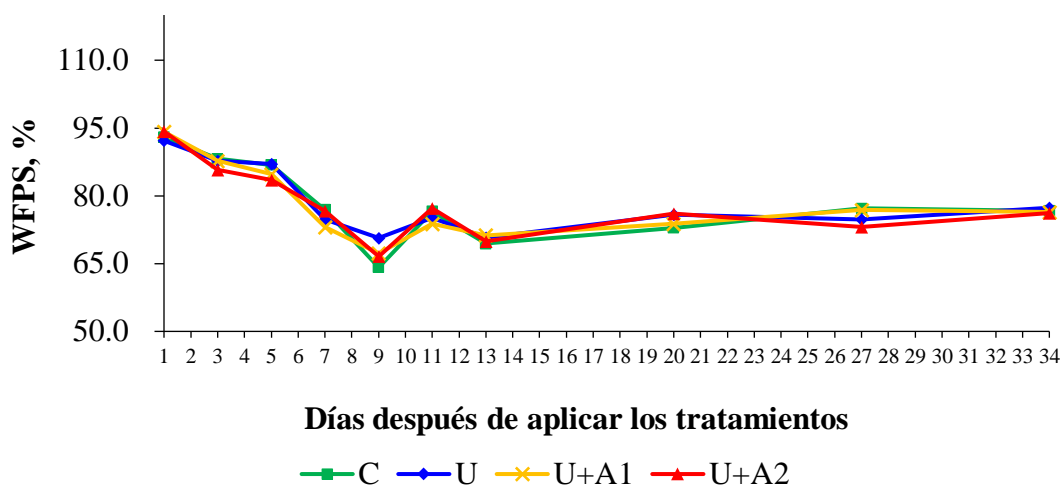


Figura 15. Espacio poroso lleno de agua (WFPS, %)

#### 4.2.1.4 pH del suelo

El pH del suelo fue el parámetro que tuvo una variación directa con los tratamientos, y para evaluar esta variación se midió el pH de todas las parcelas experimentales antes de aplicar los tratamientos, obteniendo un valor promedio de  $5.97 \pm 0.12$  que viene a ser el pH inicial (pre tratamiento C0), que posteriormente después de aplicar la ceniza de madera y el parche de orina, dieron por resultado incrementar el pH del suelo, a un valor promedio general por 34 días de  $6.80 \pm 0.18$ ,  $7.18 \pm 0.13$ ,  $7.55 \pm 0.18$  para los tratamientos U, U+A1, U+A2 respectivamente, mientras que el grupo control no sufrió cambios abruptos, manteniendo un nivel de pH de  $5.87 \pm 0.16$  (Anexo 10, Tabla 19).

El incremento del pH después de la aplicación de los tratamientos, en el caso de la orina puede explicarse por el alto contenido de nitrógeno en forma de urea que es hidrolizado rápidamente por la ureasa una enzima omnipresente en los suelos (Clough et al., 2020), para formar amonio ( $NH_4^+$ ) e iones de carbonato ( $CO_3^{2-}$ ), e



iones de hidroxilo (OH) propiciando el incremento del pH del suelo (Rex et al., 2021). Sumado a este efecto la alcalinidad de la orina con  $8.0 \pm 0.2$  de pH, este valor se debe al alto contenido de urea y otros metabolitos como amoníaco que dan el olor característico a la orina de la vaca y por lo general tiene características alcalinas. Por otro lado, la adición de ceniza de madera por su alta carga de cationes intercambiables de naturaleza alcalina (Hénault et al., 2019; Tierling & Kuhlmann, 2018) ayudo a incrementar sustancialmente el pH del suelo con valores superiores al de la orina (Moilanen et al., 2012), teniendo una tendencia de incrementar el pH del suelo a medida que la dosis de ceniza aumenta (Figura 16).

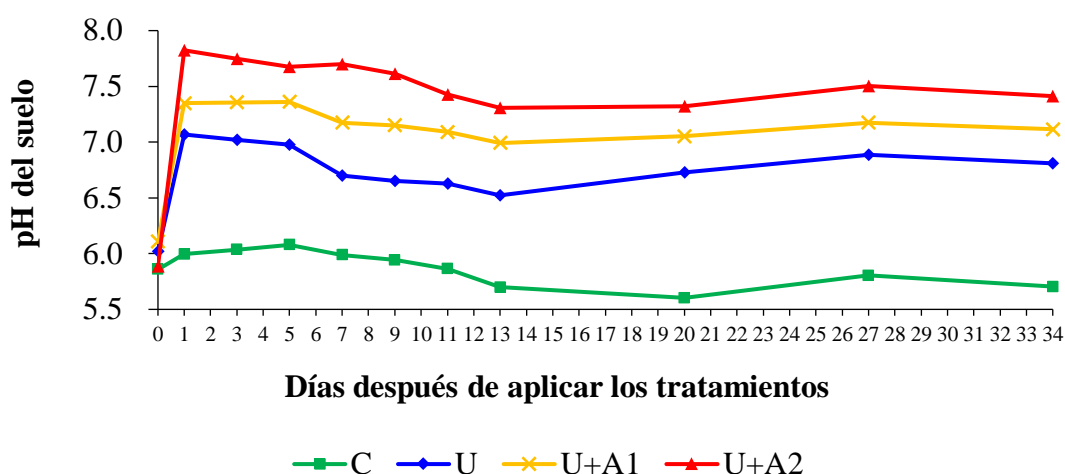


Figura 16. Monitoreo del pH de las parcelas experimentales según tratamiento

#### 4.2.1.5 Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ )

La concentración inicial de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo antes de la aplicación de los tratamientos fue de  $8.10 \pm 0.19$  ppm, este valor inicial permitió diferenciar los cambios en la concentración de  $\text{NO}_3^-$  a partir de la aplicación de los tratamientos, resultando en una concentración promedio general por 34 días para  $\text{NO}_3^-$  de  $7.45 \pm 0.78$ ,  $14.12 \pm 5.60$ ,  $23.96 \pm 12.05$  y  $20.00 \pm 10.24$  ppm, para los tratamientos C, U, U+A1, y U+A2 respectivamente (Anexo 11, Tabla 20). Luego estos valores modifican según el metabolismo microbiano del suelo, pero claramente se puede evidenciar que al adicionar los tratamientos de ceniza más orina los niveles de nitrato incrementan significativamente. Además, se puede denotar que la ceniza de madera tuvo un efecto amplificador en la concentración de  $\text{NO}_3^-$  con mayor disponibilidad de nitrato en los tratamientos con ceniza (Figura 17).

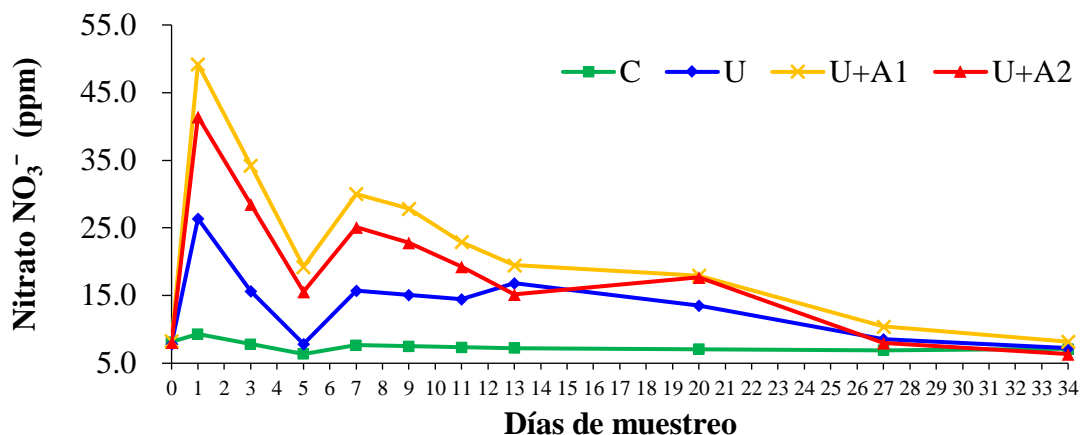


Figura 17. Niveles de nitrato en las parcelas experimentales

#### 4.2.1.6 Amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

La concentración inicial de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en el suelo antes de la aplicación de los tratamientos fue de  $46.91 \pm 4.28$  ppm, este valor inicial permitió diferenciar los cambios en la concentración de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a partir de la aplicación de los tratamientos, resultando en una concentración promedio general por 34 días de  $39.25 \pm 6.20$ ,  $42.76 \pm 18.81$ ,  $47.07 \pm 30.54$  y  $35.27 \pm 17.64$  ppm, para los tratamientos C, U, U+A1, y U+A2 respectivamente (Anexo 11, Tabla 21). Progresivamente estos valores modificaron en función a la reacción microbiana del suelo, pero evidentemente se puede demostrar que al adicionar la orina estos niveles incrementan. Además, también se puede denotar que la ceniza de madera a una dosis de 0.5 t/ha dio lugar a la mayor concentración de amonio, lo que propicio la emisión de N<sub>2</sub>O (Figura 18).

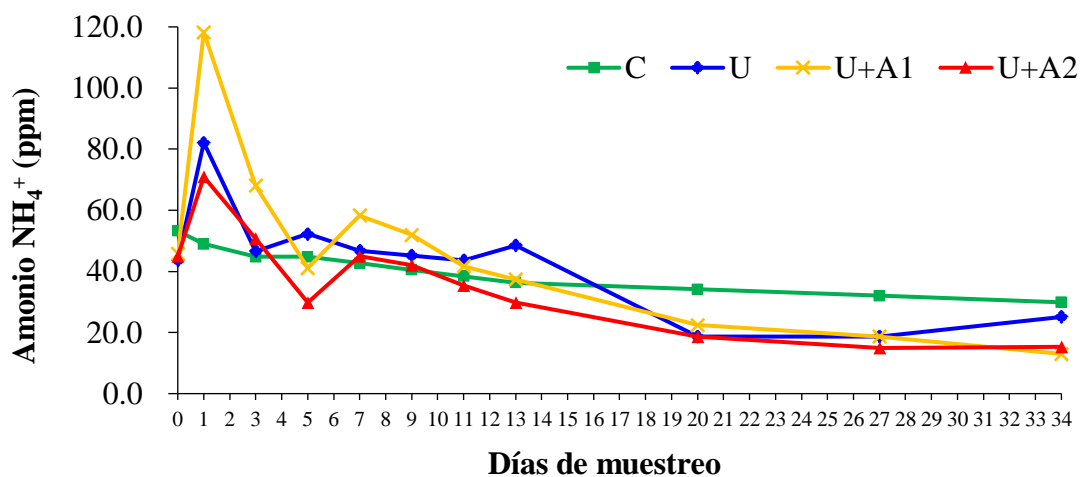


Figura 18. Niveles de amonio en las parcelas experimentales

#### 4.2.2 Correlación de parámetros del suelo con el flujo de emisión diaria de N<sub>2</sub>O

Los flujos de emisión diaria de óxido nitroso fueron correlacionados con los parámetros fisicoquímicos del suelo que se determinaron paralelamente en el experimento a fin de evaluar el grado de correlación con las emisiones de óxido nitroso expresados en unidades de N-N<sub>2</sub>O mg/m<sup>2</sup>/h (nitrógeno como gas óxido nitroso) e identificar a las variables que tienen mayor asociatividad o que mejor explicación tengan con los flujos de emisión diaria de óxido nitroso (Figura 19).

Con relación a los resultados de este estudio, se reporta que los flujos de emisión diaria de óxido nitroso N-N<sub>2</sub>O mg/m<sup>2</sup>/h tienen una alta correlación con las concentraciones de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) del suelo  $r = 0.71$  ( $p < 0.05$ ), que se desprenden de los parches de orina una vez que entra en contacto con enzima ureasa que hidroliza la urea para formar amonio. Secuencialmente la concentración de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) del suelo, fue la segunda variable química del suelo que tuvo una correlación de  $r = 0.69$  ( $p < 0.05$ ), ambos parámetros químicos estuvieron fuertemente correlacionados con los flujos de emisión diaria de óxido nitroso, este índice de correlación se debe principalmente al contenido de nitrógeno depositado en el suelo en forma de parche de orina que al margen de contribuir en la formación de nitrato y amonio, también produjo el incremento del pH mediante la formación de carbonatos (CO<sub>3</sub>)<sup>-2</sup> y bicarbonatos (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Este ambiente de alcalinidad proporcionó las condiciones favorables para que los microorganismos estimulen la hidrólisis de la urea generando la pérdida de nitrógeno del suelo como amoniaco (NH<sub>3</sub>), que se volatiliza al ambiente si no es absorbido por las plantas y microorganismos (Clough et al., 2020), el NH<sub>3</sub> puede sufrir procesos de transformación como la nitrificación para formar NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y si no es aprovechado por las plantas o lixiviado, pasa a desnitrificarse para formar el N<sub>2</sub>O o dinitrógeno (N<sub>2</sub>) (Rex et al., 2021; Wrage-Mönnig et al., 2018). Los parches de orina modifican drásticamente las condiciones químicas y biológicas del suelo, induciendo al incremento del metabolismo microbiano y un aumento hasta 25 veces la actividad de la enzima de desnitrificación, lo que se traduce en una alta emisión de los flujos de óxido nitroso N-N<sub>2</sub>O (Böttner et al., 2020; Saggar et al., 2013; Xu et al., 2020).

El espacio poroso lleno de agua presentó un nivel de correlación de  $r = 0.55$  con las emisiones de óxido nitroso, la importancia de este parámetro del suelo controla

básicamente el estado del oxígeno en el suelo, Propiciando la formación de la nitrificación que es la fuente más importante para la producción de  $N_2O$  con un WFPS < 60 % mientras que en suelo húmedos con WFPS de 60 – 90 % se deriva principalmente de la desnitrificación anaeróbica (Bornø et al., 2020; Garzón & Cárdenas, 2013; Simon et al., 2018).

Estas emisiones estuvieron mediadas por otras variables intervinientes que según el análisis realizado no muestran una alta correlación, pero sin duda fueron importantes para las emisiones de óxido nitroso, estas variables como densidad aparente, humedad, pH y otros factores como la temperatura del suelo, del aire y lluvia fueron condicionantes para la correlación múltiple.

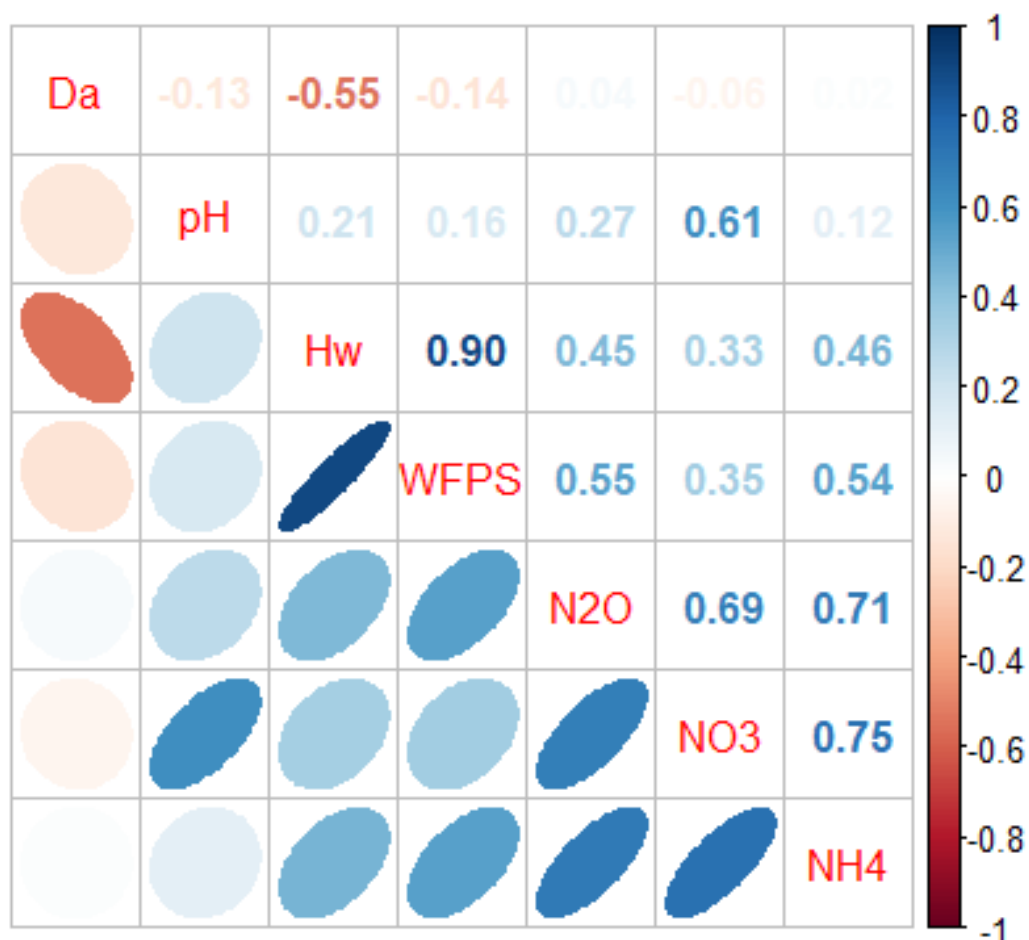


Figura 19. Correlación de parámetros más importantes del suelo en la emisión de  $N_2O$

### 4.2.3 Mediciones complementarias

#### 4.2.3.1 Temperatura y precipitación

Las condiciones meteorológicas del lugar de estudio, como temperatura del aire y nivel de lluvia (precipitación), se monitorearon por 38 días, teniendo como resultado una temperatura del aire promedio de  $10.6 \pm 0.71$  con una máxima de  $22.7 \pm 1.42$  y mínima de  $3.1 \pm 2.09$  °C acompañada de algunas olas de calor y frío alcanzando temperaturas inferiores a los 0 °C. Por lo tanto, a partir de estos resultados podemos precisar que la temperatura del aire, que se registró en todo el experimento (Figura 20), se mantuvo dentro del rango de temperatura media que se utilizó como indicador para determinar la hora adecuada para el muestreo del aire, en efecto se puede asumir que las mediciones de óxido nítrico se realizaron en condiciones óptimas con la temperatura media del día para cada campaña de muestreo programado.

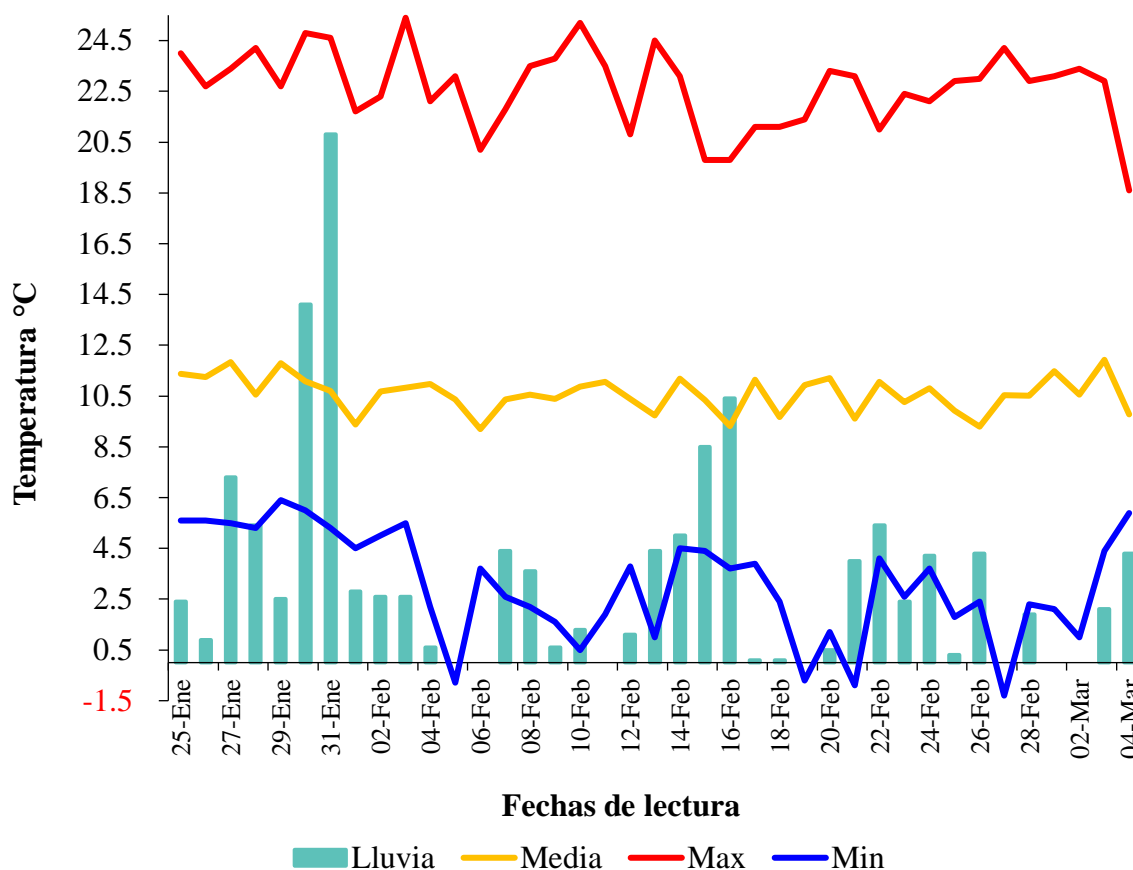


Figura 20. Monitoreo de temperatura del aire (°C) y lluvia (mm)

En cuanto a la precipitación pluvial se logró registrar un total de 130.90 mm, con los picos más altos a finales del mes de enero (28.8 mm), con una tendencia de disminución para el mes de febrero acompañado de una baja frecuencia de lluvias, y con algunos niveles elevados de lluvia para mediados de febrero. A partir de esta información podemos indicar que durante toda la experimentación se presentó una gran variabilidad climática y tuvo un efecto directo en el nivel de humedad del suelo y consecuentemente con el espacio poroso lleno de agua (Figura 20).

A fin de comprender los cambios de temperatura que se dan a nivel de la capa arable superficial del suelo, se registró por 36 días los valores de la temperatura del suelo a una profundidad de 10 cm durante cada 15 minutos, teniendo como resultado un valor promedio de  $14.2 \pm 0.56$  (Figura 21).

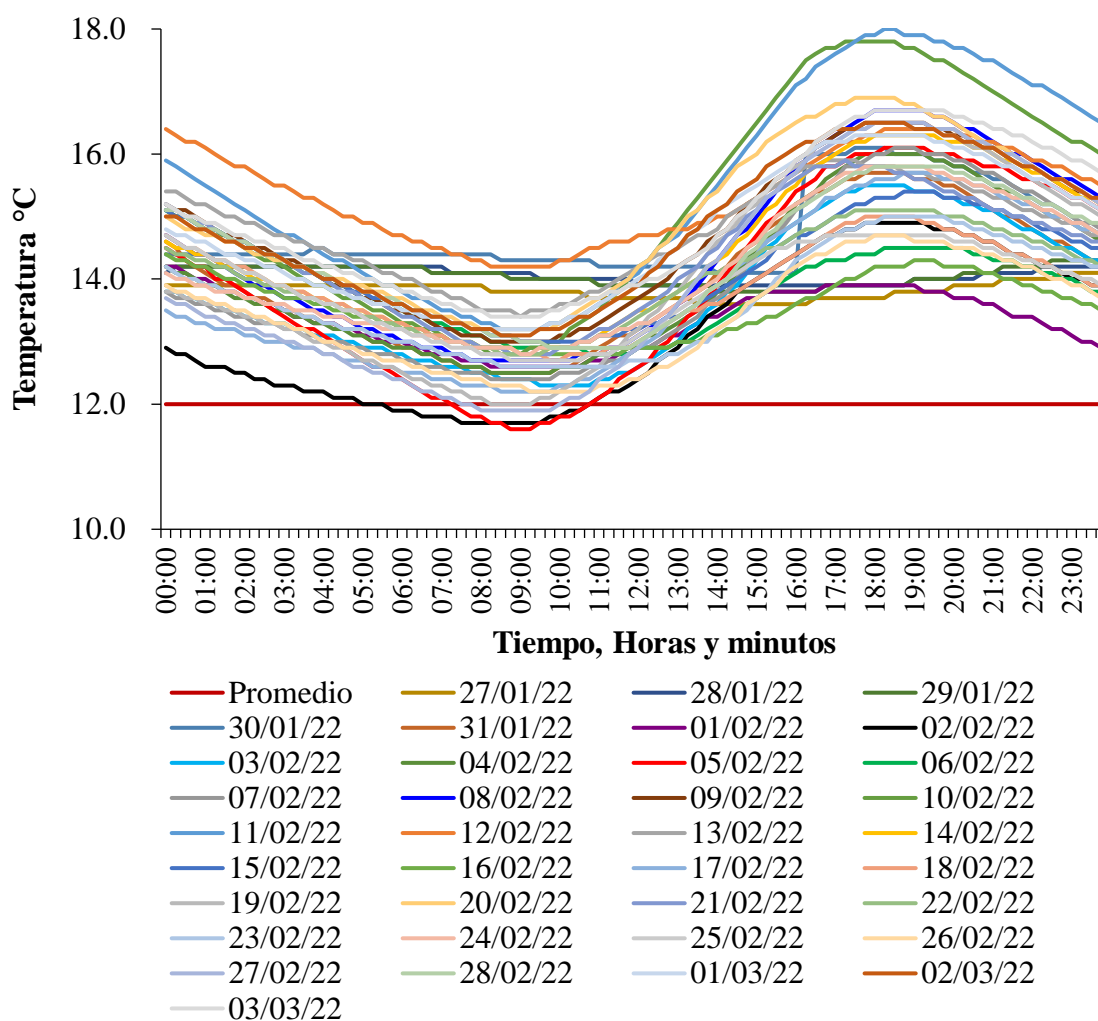


Figura 21. Monitoreo de temperatura del suelo a 10 cm de profundidad con relación a la superficie del suelo

## CONCLUSIONES

La adición de orina sobre los suelos tratados con ceniza de madera tuvo un efecto sinérgico significativo en los flujos de emisión diaria y acumulada de óxido nitroso en suelos con pasto cultivado (alfalfa), en comparación con las emisiones procedentes de suelos que recibieron únicamente el parche de orina. Además, estas emisiones fueron superiores al grupo control. Por tanto, la ceniza de madera estimuló la emisión de óxido nitroso.

La alta carga de nitrógeno en forma de urea que se excreta en la orina de las vacas lecheras durante el pastoreo o su reposo en el establo, tiene un importante efecto en la bioquímica del suelo, haciendo propicio la formación de un ambiente idóneo para la emisión de los flujos de óxido nitroso, llegando a comprobar que el parche de orina representa una fuente localizada para la emisión de óxido nitroso.

La determinación de las emisiones de óxido nitroso ( $N_2O$ ) en suelos con pasto cultivado, tratado con ceniza de madera y parches de orina, es uno de los primeros trabajos realizados en la región sur del Perú, como una de las mejores iniciativas para brindar mayores luces a futuros trabajos de investigación que requieran cuantificar la emisión de gases de efecto invernadero de diferentes fuentes de emisión.

El trabajo de investigación contribuye a la comprensión de los procesos de emisión de este gas de interés mundial, para proponer con mayor precisión el desarrollo de opciones de mitigación efectiva, para los agroecosistemas ganaderos y agrícolas, desde la perspectiva ambiental, calidad de suelo, aire y el uso responsable de los recursos naturales.

## RECOMENDACIONES

Hasta el momento, solo unos pocos estudios han investigado el efecto de la aplicación de ceniza de madera en las emisiones de óxido nítrico del suelo. Por tanto, se recomienda realizar otros trabajos con dosis más altas a nivel de campo o laboratorio.

Las instituciones involucradas en el sector agroalimentario deberían prestar mayor interés en financiar proyectos que permitan realizar vigilancia de las emisiones de gases de efecto invernadero, a fin de precisar el inventario nacional para los gases de efecto invernadero de mayor interés como, el óxido nítrico y metano e identificar sus fuentes de emisión y sumideros para establecer propuestas de mitigación.

Invitamos a realizar trabajos similares a fin de determinar los flujos de emisión de óxido nítrico en los meses de junio y julio (época seca), donde la temperatura alcanza valores de hasta los  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  y según la bibliografía revisada esta caída térmica conlleva a un aumento de nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) que es un precursor de las emisiones de  $\text{N}_2\text{O}$ , como resultado una mayor emisión de  $\text{N}_2\text{O}$ , por tanto, es una muy buena oportunidad para investigar el efecto de las temperaturas bajas de nuestra región altiplánica en las emisiones de óxido nítrico.



## BIBLIOGRAFÍA

- Adriano, D. C., Page, A. L., Elsewi, A. A., Chang, A. C., & Straughan, I. (1980). Utilization and Disposal of Fly Ash and Other Coal Residues in Terrestrial Ecosystems: A Review. *Journal of Environmental Quality*, 9(3), 333–344. <https://doi.org/10.2134/jeq1980.00472425000900030001x>
- Albanito, F., Lebender, U., Cornulier, T., Sapkota, T. B., Brentrup, F., Stirling, C., & Hillier, J. (2017). Direct nitrous oxide emissions from tropical and sub-tropical agricultural systems - A review and modelling of emission factors. *Scientific Reports*, 7(March), 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep44235>
- Álvarez-Ayuso, E., & Abad-Valle, P. (2021). Application of different alkaline materials as polluted soil amendments: A comparative assessment of their impact on trace element mobility and microbial functions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 227, 112927. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112927>
- Angelidis, A., Crompton, L., Misselbrook, T., Yan, T., Reynolds, C. K., & Stergiadis, S. (2019). Evaluation and prediction of nitrogen use efficiency and outputs in faeces and urine in beef cattle. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 280(October 2018), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.04.013>
- Arseneau, J., Bélanger, N., Ouimet, R., Royer-Tardif, S., Bilodeau-Gauthier, S., Gendreau-Berthiaume, B., & Rivest, D. (2021). Wood ash application in sugar maple stands rapidly improves nutritional status and growth at various developmental stages. *Forest Ecology and Management*, 489, 119062. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119062>
- Aryal, B., Gurung, R., Camargo, A. F., Fongaro, G., Treichel, H., Mainali, B., Angove, M. J., Ngo, H. H., Guo, W., & Puadel, S. R. (2022). Nitrous oxide emission in altered nitrogen cycle and implications for climate change. *Environmental Pollution*, 314, 120272. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120272>
- Bai, M., Suter, H., Lam, S. K., Flesch, T. K., & Chen, D. (2019). Comparison of slant open-path flux gradient and static closed chamber techniques to measure soil N<sub>2</sub>O emissions. *Atmospheric Measurement Techniques*, 12(2), 1095–1102. <https://doi.org/10.5194/amt-12-1095-2019>
- Baily, A., Watson, C. J., Laughlin, R., Matthews, D., McGeough, K., & Jordan, P. (2012). Use of the 15 N gas flux method to measure the source and level of N<sub>2</sub>O

- and N<sub>2</sub> emissions from grazed grassland. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 94(2–3), 287–298. <https://doi.org/10.1007/s10705-012-9541-x>
- Bakken, L. R., Bergaust, L., Liu, B., & Frostegård, Å. (2012). Regulation of denitrification at the cellular level: A clue to the understanding of N<sub>2</sub>O emissions from soils. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1593), 1226–1234. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0321>
- Bang-Andreasen, T., Nielsen, J. T., Voriskova, J., Heise, J., Rønn, R., Kjølner, R., Hansen, H. C. B., & Jacobsen, C. S. (2017). Wood Ash Induced pH Changes Strongly Affect Soil Bacterial Numbers and Community Composition. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 8, p. 1400). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.01400>
- Barbera, A. C., Vymazal, J., & Maucieri, C. (2018). Greenhouse gases formation and emission. In B. B. T.-E. of E. (Second E. Fath (Ed.), *Encyclopedia of Ecology* (pp. 329–333). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10895-4>
- Barros, T., Reed, K. F., Olmos Colmenero, J. J., & Wattiaux, M. A. (2019). Short communication: Milk urea nitrogen as a predictor of urinary nitrogen and urea nitrogen excretions of late-lactation dairy cows fed nitrogen-limiting diets. *Journal of Dairy Science*, 102(2), 1601–1607. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14551>
- Barton, L., Gleeson, D. B., Maccarone, L. D., Zúñiga, L. P., & Murphy, D. V. (2013). Soil Biology & Biochemistry Is liming soil a strategy for mitigating nitrous oxide emissions from semi-arid soils? *Soil Biology and Biochemistry*, 62, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.02.014>
- Bera, T., Collins, H. P., Alva, A. K., Purakayastha, T. J., & Patra, A. K. (2016). Biochar and manure effluent effects on soil biochemical properties under corn production. *Applied Soil Ecology*, 107, 360–367. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.07.011>
- Bornø, M. L., Rønn, R., & Ekelund, F. (2020). Is wood ash amendment a suitable mitigation strategy for N<sub>2</sub>O emissions from soil? *Science of the Total Environment*, 713, 136581. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136581>
- Bossolani, J. W., Crusciol, C. A. C., Merloti, L. F., Moretti, L. G., Costa, N. R., Tsai, S. M., & Kuramae, E. E. (2020). Long-term lime and gypsum amendment increase nitrogen fixation and decrease nitrification and denitrification gene abundances in the rhizosphere and soil in a tropical no-till intercropping system. *Geoderma*, 375, 114476. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114476>
- Böttner, C., Haeckel, M., Schmidt, M., Berndt, C., Vielstädte, L., Kutsch, J. A.,

- Karstens, J., Weiß, T., & Helmholtz, G. (2020). International Journal of Greenhouse Gas Control Greenhouse gas emissions from marine decommissioned hydrocarbon wells: leakage detection , monitoring and mitigation strategies. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 100(September 2019), 103119. <https://doi.org/10.1016/j.ijggc.2020.103119>
- Bouwman, A. F., Beusen, A. H. W., Griffioen, J., Van Groenigen, J. W., Hefting, M. M., Oenema, O., Van Puijenbroek, P. J. T. M., Seitzinger, S., Slomp, C. P., & Stehfest, E. (2013). Global trends and uncertainties in terrestrial denitrification and N<sub>2</sub>O emissions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621), 20130112. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0112>
- Bowatte, S., Hoogendoorn, C. J., Newton, P. C. D., Liu, Y., Brock, S. C., & Theobald, P. W. (2018). Grassland plant species and cultivar effects on nitrous oxide emissions after urine application. *Geoderma*, 323, 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.03.001>
- Cairns, S., Chaudhuri, S., Sigmund, G., Robertson, I., Hawkins, N., Dunlop, T., & Hofmann, T. (2021). Wood ash amended biochar for the removal of lead, copper, zinc and cadmium from aqueous solution. *Environmental Technology & Innovation*, 24, 101961. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101961>
- Cameira, M. do R., Li, R., & Fangueiro, D. (2020). Integrated modelling to assess N pollution swapping in slurry amended soils. *Science of the Total Environment*, 713. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136596>
- Cao, Y., Wang, X., Bai, Z., Chadwick, D., Misselbrook, T., G. Sommer, S., Qin, W., & Ma, L. (2019). Mitigation of ammonia, nitrous oxide and methane emissions during solid waste composting with different additives: A meta-analysis. *Journal of Cleaner Production*, 235, 626–635. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.06.288>
- Cardenas, L. M., Bhogal, A., Chadwick, D. R., McGeough, K., Misselbrook, T., Rees, R. M., Thorman, R. E., Watson, C. J., Williams, J. R., Smith, K. A., & Calvet, S. (2019). Nitrogen use efficiency and nitrous oxide emissions from five UK fertilised grasslands. *Science of the Total Environment*, 661, 696–710. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.082>
- Cardoso, A. da S., Oliveira, S. C., Januszkiewicz, E. R., Brito, L. F., Morgado, E. da S., Reis, R. A., & Ruggieri, A. C. (2019). Seasonal effects on ammonia, nitrous oxide, and methane emissions for beef cattle excreta and urea fertilizer applied to a

- tropical pasture. *Soil and Tillage Research*, 194(December 2016), 104341. <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104341>
- Chadwick, D. R., Cardenas, L. M., Dhanoa, M. S., Donovan, N., Misselbrook, T., Williams, J. R., Thorman, R. E., McGeough, K. L., Watson, C. J., Bell, M., Anthony, S. G., & Rees, R. M. (2018). The contribution of cattle urine and dung to nitrous oxide emissions: Quantification of country specific emission factors and implications for national inventories. *Science of the Total Environment*, 635, 607–617. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.152>
- Chirinda, N., Loaiza, S., Arenas, L., Ruiz, V., Faverín, C., Alvarez, C., Savian, J. V., Belfon, R., Zuniga, K., Morales-Rincon, L. A., Trujillo, C., Arango, M., Rao, I., Arango, J., Peters, M., Barahona, R., Costa, C., Rosenstock, T. S., Richards, M., ... Cardenas, L. (2019). Adequate vegetative cover decreases nitrous oxide emissions from cattle urine deposited in grazed pastures under rainy season conditions. *Scientific Reports*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37453-2>
- Clough, T. J., Cardenas, L. M., Friedl, J., & Wolf, B. (2020). Nitrous oxide emissions from ruminant urine: science and mitigation for intensively managed perennial pastures. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 47, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2020.07.001>
- da Costa, T. P., Quinteiro, P., Tarelho, L. A. C., Arroja, L., & Dias, A. C. (2020). Life cycle assessment of woody biomass ash for soil amelioration. *Waste Management*, 101, 126–140. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.006>
- Dai, Z., Zhang, X., Tang, C., Muhammad, N., Wu, J., Brookes, P. C., & Xu, J. (2017). Potential role of biochars in decreasing soil acidification - A critical review. *Science of the Total Environment*, 581–582, 601–611. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.169>
- de Klein, C. A. M., & Eckard, R. J. (2008). Targeted technologies for nitrous oxide abatement from animal agriculture. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(2), 14–20. <https://doi.org/10.1071/EA07217>
- de Klein, C. A. M., & Harvey, M. (2012). Nitrous Oxide Chamber Methodology Guidelines Version 1. In *Global Reserch Alliance on Agricultural Greenhouse Gases* (Issue December).
- de Klein, C. A. M., & Harvey, M. (2015). Nitrous Oxide Chamber Methodology Guidelines Versión 1.1. In *Ministry for Primary Industries; Wellington, New Zealand* (Issue July).

- <https://repository.rothamsted.ac.uk/download/9eb33a8d546ae4927198b47281761556e85601731179faac0144e3f532a8b333/2708707/Chamber-Methodology-Guidelines-Final-V1.1-2015.pdf>
- de Klein, C. A. M., Harvey, M. J., Clough, T. J., Petersen, S. O., Chadwick, D. R., & Venterea, R. T. (2020). Global Research Alliance N2O chamber methodology guidelines: Introduction, with health and safety considerations. *Journal of Environmental Quality*, 49(5), 1073–1080. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jeq2.20131>
- Denk, T. R. A., Mohn, J., Decock, C., Lewicka-Szczebak, D., Harris, E., Butterbach-Bahl, K., Kiese, R., & Wolf, B. (2017). The nitrogen cycle: A review of isotope effects and isotope modeling approaches. *Soil Biology and Biochemistry*, 105, 121–137. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.11.015>
- Dijkstra, J., Oenema, O., van Groenigen, J. W., Spek, J. W., van Vuuren, A. M., & Bannink, A. (2013). Diet effects on urine composition of cattle and N2O emissions. *Animal: An International Journal of Animal Bioscience*, 7 Suppl 2(s2), 292–302. <https://doi.org/10.1017/S1751731113000578>
- Ding, X., Wei, D., Guo, W., Wang, B., Meng, Z., Feng, R., Du, B., & Wei, Q. (2019). Biological denitrification in an anoxic sequencing batch biofilm reactor: Performance evaluation, nitrous oxide emission and microbial community. *Bioresour. Technology*, 285(February). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121359>
- Equihua Zamora, M., Hernández Huerta, A., Pérez Maqueo, O., Benítez Badillo, G., & Ibáñez Bernal, S. (2016). Cambio Global: El Antropoceno. *CIENCIA Ergo-Sum*, 23(1), 67–75.
- Ernfors, M., Sikström, U., Nilsson, M., & Klemedtsson, L. (2010). Effects of wood ash fertilization on forest floor greenhouse gas emissions and tree growth in nutrient poor drained peatland forests. *Science of the Total Environment*, 408(20), 4580–4590. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.06.024>
- FAO. (2017). The State of Food and Agriculture Leveraging Food Systems for Inclusive Rural Transformation. In *Population and Development Review* (Vol. 19, Issue 1). <https://doi.org/10.2307/2938399>
- FAO. (2018). *El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo. Fomentando la resiliencia climática en aras de la seguridad alimentaria y la nutrición*. FAO, Roma. <http://www.fao.org/3/i9553es/i9553es.pdf>

- Fowler, D., Coyle, M., Skiba, U., Sutton, M. A., Cape, J. N., Reis, S., Sheppard, L. J., Jenkins, A., Grizzetti, B., Galloway, J. N., Vitousek, P., Leach, A., Bouwman, A. F., Butterbach-Bahl, K., Dentener, F., Stevenson, D., Amann, M., & Voss, M. (2013). The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621), 20130164. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0164>
- Galloway, J. N. (2005). The global nitrogen cycle: Past, present and future. *Science in China Series C: Life Sciences*, 48(2), 669–678. <https://doi.org/10.1007/BF03187108>
- Galloway, J. N., Aber, J. D., Erisman, J. W., Seitzinger, S. P., Howarth, R. W., Cowling, E. B., & Cosby, B. J. (2003). The Nitrogen Cascade. *BioScience*, 53(4), 341–356. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2003\)053\[0341:TNC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2003)053[0341:TNC]2.0.CO;2)
- Garbowski, T., Bar-Michalczyk, D., Charazińska, S., Grabowska-Polanowska, B., Kowalczyk, A., & Lochyński, P. (2023). An overview of natural soil amendments in agriculture. *Soil and Tillage Research*, 225, 105462. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.still.2022.105462>
- Garzón, J. E., & Cárdenas, E. A. (2013). Emisiones antropogénicas de amoníaco, nitratos y óxido nítrico: compuestos nitrogenados que afectan el medio ambiente en el sector agropecuario Colombiano. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 60(2), 121–138. <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmvz/v60n2/v60n2a06.pdf>
- Gerber, P. J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., Falcucci, A., & Tempio, G. (2013). Enfrentando el cambio climático a través de la ganadería. Una evaluación global de las emisiones y oportunidades de mitigación. In *FAO - e Food and Agriculture Organization of the United Nations*. [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications)
- Gruber, N., & Galloway, J. N. (2008). An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*, 451(7176), 293–296. <https://doi.org/10.1038/nature06592>
- Hannam, K. D., Venier, L., Allen, D., Deschamps, C., Hope, E., Jull, M., Kwiaton, M., McKenney, D., Rutherford, P. M., & Hazlett, P. W. (2018). Wood ash as a soil amendment in Canadian forests: what are the barriers to utilization? *Canadian Journal of Forest Research*, 48(4), 442–450. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2017-0351>
- Hénault, C., Bourennane, H., Ayzac, A., Ratié, C., Saby, N. P. A., Cohan, J. P., Eglin,



- T., & Gall, C. Le. (2019). Management of soil pH promotes nitrous oxide reduction and thus mitigates soil emissions of this greenhouse gas. *Scientific Reports*, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56694-3>
- Hensen, A., Skiba, U., & Famulari, D. (2013). Low cost and state of the art methods to measure nitrous oxide emissions. *Environmental Research Letters*, 8(2), 0–10. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/8/2/025022>
- Herrero, M., Henderson, B., Havlík, P., Thornton, P. K., Conant, R. T., Smith, P., Wirsenius, S., Hristov, A. N., Gerber, P., Gill, M., Butterbach-Bahl, K., Valin, H., Garnett, T., & Stehfest, E. (2016). Greenhouse gas mitigation potentials in the livestock sector. *Nature Climate Change*, 6(5), 452–461. <https://doi.org/10.1038/nclimate2925>
- Herron, J., Curran, T. P., Moloney, A. P., & O'Brien, D. (2019). Whole farm modelling the effect of grass silage harvest date and nitrogen fertiliser rate on nitrous oxide emissions from grass-based suckler to beef farming systems. *Agricultural Systems*, 175(May), 66–78. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.05.013>
- Holland, J. E., Bennett, A. E., Newton, A. C., White, P. J., McKenzie, B. M., George, T. S., Pakeman, R. J., Bailey, J. S., Fornara, D. A., & Hayes, R. C. (2018). Liming impacts on soils, crops and biodiversity in the UK: A review. *Science of the Total Environment*, 610–611, 316–332. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.020>
- Huang, H., Liu, H., Zhang, R., Chen, Y., Lei, L., Qiu, C., & Xu, H. (2022). Effect of slow-released biomass alkaline amendments oyster shell on microecology in acidic heavy metal contaminated paddy soils. *Journal of Environmental Management*, 319, 115683. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115683>
- Insausti, M., Timmis, R., Kinnersley, R., & Rufino, M. C. (2020). Advances in sensing ammonia from agricultural sources. *Science of the Total Environment*, 706, 135124. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135124>
- IPCC. (2013). Preguntas frecuentes Cambio climático 2013 Bases físicas Resumen para responsables de políticas. In *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*.
- IPCC. (2014). Cambio climático 2014: Informe de Síntesis. In *Contribución de los Grupos de trabajo I,II y III al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático*.
- Jambhulkar, H. P., Shaikh, S. M. S., & Kumar, M. S. (2018). Fly ash toxicity, emerging

- issues and possible implications for its exploitation in agriculture; Indian scenario: A review. *Chemosphere*, 213, 333–344. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.045>
- Jeuffroy, M. H. et al, Baranger, E., Carrouée, B., de Chezelles, E., Gosme, M., Hénault, C., Schneider, A., & Cellier, P. (2013). Nitrous oxide emissions from crop rotations including wheat, oilseed rape and dry peas. *Biogeosciences*, 10(3), 1787–1797. <https://doi.org/10.5194/bg-10-1787-2013>
- Jha, N., Palmada, T., Berben, P., Saggar, S., Luo, J., & McMillan, A. M. S. (2020). Influence of liming-induced pH changes on nitrous oxide emission, nirS, nirK and nosZ gene abundance from applied cattle urine in allophanic and fluvial grazed pasture soils. *Biology and Fertility of Soils*, 56(6), 811–824. <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01460-1>
- Kennedy, P. M., & Milligan, L. P. (1980). The degradation and utilization of endogenous urea in the gastrointestinal tract of ruminants: A Review. *Canadian Journal of Animal Science*, 60(2), 205–221. <https://doi.org/10.4141/cjas80-030>
- Khan, I., & Umar, R. (2019). Environmental risk assessment of coal fly ash on soil and groundwater quality, Aligarh, India. *Groundwater for Sustainable Development*, 8(May 2018), 346–357. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2018.12.002>
- Klemetsson, L., Ernfors, M., Björk, R. G., Weslien, P., Rütting, T., Crill, P., & Sikström, U. (2010). Reduction of greenhouse gas emissions by wood ash application to a *Picea abies* (L.) Karst. forest on a drained organic soil. *European Journal of Soil Science*, 61(5), 734–744. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2010.01279.x>
- Kozłowski, J. A., Stieglmeier, M., Schleper, C., Klotz, M. G., & Stein, L. Y. (2016). Pathways and key intermediates required for obligate aerobic ammonia-dependent chemolithotrophy in bacteria and Thaumarchaeota. *The ISME Journal*, 10(8), 1836–1845. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/ismej.2016.2>
- Kuehl, R. (2001). Diseño de Experimentos, Principios Estadísticos de Diseño y Análisis de Investigación. In *SERBIULA (sistema Librum 2.0)*.
- Kuypers, M. M. M., Marchant, H. K., & Kartal, B. (2018). The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews Microbiology*, 16(5), 263–276. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9>
- Liimatainen, M., Martikainen, P. J., & Maljanen, M. (2014). Why granulated wood ash decreases N<sub>2</sub>O production in boreal acidic peat soil? *Soil Biology and*



- Biochemistry*, 79, 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.09.016>
- Lindström, K., & Mousavi, S. A. (2020). Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbial Biotechnology*, 13(5), 1314–1335. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13517>
- Liu, H., & Zhou, D. (2014). Mitigation of ammonia and nitrous oxide emissions from pasture treated with urine of sheep fed diets supplemented with sodium chloride. *Animal Feed Science and Technology*, 192(3), 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.03.006>
- Liu, Q., Liu, B., Zhang, Y., Lin, Z., Zhu, T., Sun, R., Wang, X., Ma, J., Bei, Q., Liu, G., Lin, X., & Xie, Z. (2017). Can biochar alleviate soil compaction stress on wheat growth and mitigate soil N<sub>2</sub>O emissions? *Soil Biology and Biochemistry*, 104, 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.10.006>
- Loick, N., Dixon, E. R., Abalos, D., Vallejo, A., Matthews, G. P., McGeough, K. L., Well, R., Watson, C. J., Laughlin, R. J., & Cardenas, L. M. (2016). Denitrification as a source of nitric oxide emissions from incubated soil cores from a UK grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 95, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.12.009>
- Lombardi, B., Alvarado, P. I., Ricci, P., Guzmán, S. A., Gonda, H. L., & Juliarena, M. P. (2021). Methane and nitrous oxide emissions from dung patches deposited by grazing cattle supplemented with maize grain. *Animal Feed Science and Technology*, 279, 115029. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115029>
- Luo, J., Balvert, S. F., Wise, B., Welten, B., Ledgard, S. F., de Klein, C. A. M., Lindsey, S., & Judge, A. (2018). Using alternative forage species to reduce emissions of the greenhouse gas nitrous oxide from cattle urine deposited onto soil. *Science of the Total Environment*, 610–611, 1271–1280. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.186>
- Luo, J., Hoogendoorn, C., van der Weerden, T., Saggarr, S., de Klein, C., Giltrap, D., Rollo, M., & Rys, G. (2013). Nitrous oxide emissions from grazed hill land in new zealand. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 181, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.09.020>
- Luo, J., Saggarr, S., van der Weerden, T., & de Klein, C. (2019). Quantification of nitrous oxide emissions and emission factors from beef and dairy cattle excreta deposited on grazed pastoral hill lands. *Agriculture, Ecosystems and Environment*,

- 270–271(November 2018), 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.10.020>
- Maire, J., Krol, D., Pasquier, D., Cowan, N., Skiba, U., Rees, R. M., Reay, D., Lanigan, G. J., & Richards, K. G. (2020). Nitrogen fertiliser interactions with urine deposit affect nitrous oxide emissions from grazed grasslands. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 290(December 2019), 106784. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106784>
- Maljanen, M., Jokinen, H., Saari, A., Strömmer, R., & Martikainen, P. J. (2006). Methane and nitrous oxide fluxes, and carbon dioxide production in boreal forest soil fertilized with wood ash and nitrogen. *Soil Use and Management*, 22(2), 151–157. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2006.00029.x>
- Manirakiza, N., & Şeker, C. (2020). Effects of compost and biochar amendments on soil fertility and crop growth in a calcareous soil. *Journal of Plant Nutrition*, 43(20), 3002–3019. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1806307>
- Marcarelli, A. M., Fulweiler, R. W., & Scott, J. T. (2022). Nitrogen fixation: A poorly understood process along the freshwater-marine continuum. *Limnology and Oceanography Letters*, 7(1), 1–10. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/lol2.10220>
- Maresca, A., Hyks, J., & Astrup, T. F. (2018). Long-term leaching of nutrients and contaminants from wood combustion ashes. *Waste Management*, 74, 373–383. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.056>
- Marsden, K. A., Holmberg, J. A., Jones, D. L., Charteris, A. F., Cárdenas, L. M., & Chadwick, D. R. (2019). Nitrification represents the bottle-neck of sheep urine patch N<sub>2</sub>O emissions from extensively grazed organic soils. *Science of the Total Environment*, 695, 133786. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133786>
- Marsden, K. A., Jones, D. L., & Chadwick, D. R. (2016). The urine patch diffusional area: An important N<sub>2</sub>O source? *Soil Biology and Biochemistry*, 92, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.10.011>
- McMillan, A. M. S., Pal, P., Phillips, R. L., Palmada, T., Berben, P. H., Jha, N., Saggari, S., & Luo, J. (2016). Can pH amendments in grazed pastures help reduce N<sub>2</sub>O emissions from denitrification? - The effects of liming and urine addition on the completion of denitrification in fluvial and volcanic soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 93, 90–104. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.10.013>
- McTavish, M. J., Gorgolewski, A., Murphy, S. D., & Basiliko, N. (2020). Field and laboratory responses of earthworms to use of wood ash as a forest soil amendment.

- Forest Ecology and Management*, 474, 118376.  
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118376>
- Mercl, F., García-Sánchez, M., Kulhánek, M., Košnář, Z., Száková, J., & Tlustoš, P. (2020). Improved phosphorus fertilisation efficiency of wood ash by fungal strains *Penicillium* sp. PK112 and *Trichoderma harzianum* OMG08 on acidic soil. *Applied Soil Ecology*, 147(May 2019). <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.09.010>
- Minet, E. P., Ledgard, S. F., Grant, J., Murphy, J. B., Krol, D. J., Lanigan, G. J., Luo, J., & Richards, K. G. (2018). Feeding dicyandiamide (DCD) to cattle: An effective method to reduce N<sub>2</sub>O emissions from urine patches in a heavy-textured soil under temperate climatic conditions. *Science of the Total Environment*, 615, 1319–1331. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.313>
- Moilanen, M., Hytönen, J., & Leppälä, M. (2012). Application of wood ash accelerates soil respiration and tree growth on drained peatland. *European Journal of Soil Science*, 63(4), 467–475. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2012.01467.x>
- Monteiro, M., Séneca, J., & Magalhães, C. (2014). The history of aerobic ammonia oxidizers: from the first discoveries to today. *Journal of Microbiology*, 52(7), 537–547. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4114-0>
- Mortoja, M. G., & Yigitcanlar, T. (2022). Understanding political bias in climate change belief: A public perception study from South East Queensland. *Land Use Policy*, 122, 106350. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2022.106350>
- Nichols, K. L., Del Grosso, S. J., Derner, J. D., Follett, R. F., Archibeque, S. L., Stewart, C. E., & Paustian, K. H. (2016). Nitrous oxide and methane fluxes from cattle excrement on C3 pasture and C4-dominated shortgrass steppe. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 225, 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.03.026>
- Nömmik, H. (1956). Investigations on Denitrification in Soil. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 6(2), 195–228. <https://doi.org/10.1080/00015125609433269>
- Norton, J., & Ouyang, Y. (2019). Controls and adaptive management of nitrification in agricultural soils. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1931. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01931>
- NRC. (2016). Nutrient Requirements of Beef Cattle, 8th Revised Edition. In *Nutrient Requirements of Beef Cattle, 8th Revised Edition* (8th ed.). <https://doi.org/10.17226/19014>

- Odlare, M., & Pell, M. (2009). Effect of wood fly ash and compost on nitrification and denitrification in agricultural soil. *Applied Energy*, 86(1), 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2008.04.004>
- OECD. (2019). *Perspectivas económicas de América Latina 2019: Desarrollo en transición*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1787/20725183>
- Oenema, O., Wrage, N., Velthof, G. L., Van Groenigen, J. W., Dolfing, J., & Kuikman, P. J. (2005). Trends in global nitrous oxide emissions from animal production systems. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 72(1), 51–65. <https://doi.org/10.1007/s10705-004-7354-2>
- Olfs, H. W., Westerschulte, M., Ruoss, N., Federolf, C. P., Zurheide, T., Vergara Hernandez, M. E., Neddermann, N., Trautz, D., Pralle, H., Fuß, R., & Well, R. (2018). A new chamber design for measuring nitrous oxide emissions in maize crops. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 181(1), 69–77. <https://doi.org/10.1002/jpln.201700008>
- OMM. (2019). *Boletín de la omm sobre los gases de efecto invernadero*. [https://library.wmo.int/doc\\_num.php?explnum\\_id=10127](https://library.wmo.int/doc_num.php?explnum_id=10127)
- Ondrasek, G., Kranjčec, F., Filipović, L., Filipović, V., Bubalo Kovačić, M., Badovinac, I. J., Peter, R., Petravić, M., Macan, J., & Rengel, Z. (2021). Biomass bottom ash & dolomite similarly ameliorate an acidic low-nutrient soil, improve phytonutrition and growth, but increase Cd accumulation in radish. *Science of the Total Environment*, 753, 141902. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141902>
- Pajares, S., & Ramos, R. (2019). Processes and microorganisms involved in the marine nitrogen cycle: knowledge and gaps. *Frontiers in Marine Science*, 6, 739. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00739>
- Parkin, T. B., Venterea, R. T., & Hargreaves, S. K. (2012). Calculating the Detection Limits of Chamber-based Soil Greenhouse Gas Flux Measurements. *Journal of Environmental Quality*, 41(3), 705–715. <https://doi.org/https://doi.org/10.2134/jeq2011.0394>
- Pauleta, S. R., Carepo, M. S. P., & Moura, I. (2019). Source and reduction of nitrous oxide. *Coordination Chemistry Reviews*, 387, 436–449. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.02.005>
- Pavelka, M., Acosta, M., Kiese, R., Altimir, N., Brümmer, C., Crill, P., Darenova, E., Fuß, R., Gielen, B., Graf, A., Klemetsson, L., Lohila, A., Longdoz, B., Lindroth, A., Nilsson, M., Jiménez, S. M., Merbold, L., Montagnani, L., Peichl, M., ...

- Kutsch, W. (2018). Standardisation of chamber technique for CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> fluxes measurements from terrestrial ecosystems. *International Agrophysics*, 32(4), 569–587. <https://doi.org/10.1515/intag-2017-0045>
- Petrovský, E., Remeš, J., Kapička, A., Podrázský, V., Grison, H., & Borůvka, L. (2018). Magnetic mapping of distribution of wood ash used for fertilization of forest soil. *Science of the Total Environment*, 626, 228–234. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.095>
- Philippot, L., Hallin, S., & Schloter, M. B. T.-A. in A. (2007). Ecology of Denitrifying Prokaryotes in Agricultural Soil. In *Advances in Agronomy* (Vol. 96, pp. 249–305). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(07\)96003-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-2113(07)96003-4)
- Pitman, R. M. (2006). Wood ash use in forestry – a review of the environmental impacts. *Forestry: An International Journal of Forest Research*, 79(5), 563–588. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpl041>
- Qin, J., Hovmand, M. F., Ekelund, F., Rønn, R., Christensen, S., Groot, G. A. de, Mortensen, L. H., Skov, S., & Krogh, P. H. (2017). Wood ash application increases pH but does not harm the soil mesofauna. *Environmental Pollution*, 224, 581–589. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.02.041>
- Qu, Z., Wang, J., Almøy, T., & Bakken, L. R. (2014). Excessive use of nitrogen in Chinese agriculture results in high N<sub>2</sub>O/(N<sub>2</sub>O+N<sub>2</sub>) product ratio of denitrification, primarily due to acidification of the soils. *Global Change Biology*, 20(5), 1685–1698. <https://doi.org/10.1111/gcb.12461>
- Rehl, E., Reimer, K. B., & Rutherford, P. M. (2021). Mobility of biomass ash constituents as influenced by pretreatment and soil – An artificial weathering study. *Waste Management*, 121, 186–197. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.12.014>
- Rehl, E., Reimer, K. B., & Rutherford, P. M. (2022). pH-dependent release of elements from hardened and non-hardened wood ash. *Waste Management*, 138, 140–147. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.11.046>
- Rex, D., Clough, T. J., Lanigan, G. J., Jansen-Willems, A. B., Condron, L. M., Richards, K. G., & Müller, C. (2021). Gross N transformations vary with soil moisture and time following urea deposition to a pasture soil. *Geoderma*, 386(January), 114904. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114904>
- 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*, 166–167,

- 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.063>
- Rochette, P., & Eriksen-Hamel, N. (2008). Chamber Measurements of Soil Nitrous Oxide Flux: Are Absolute Values Reliable? *Soil Science Society of America Journal - SSSAJ*, 72. <https://doi.org/10.2136/sssaj2007.0215>
- Rojas-Downing, M. M., Nejadhashemi, A. P., Harrigan, T., & Woznicki, S. A. (2017). Climate change and livestock: Impacts, adaptation, and mitigation. *Climate Risk Management*, 16, 145–163. <https://doi.org/10.1016/j.crm.2017.02.001>
- Royer-Tardif, S., Whalen, J., & Rivest, D. (2019). Can alkaline residuals from the pulp and paper industry neutralize acidity in forest soils without increasing greenhouse gas emissions? *Science of the Total Environment*, 663, 537–547. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.337>
- Russenes, A. L., Korsæth, A., Bakken, L. R., & Dörsch, P. (2016). Spatial variation in soil pH controls off-season N<sub>2</sub>O emission in an agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 99, 36–46. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.04.019>
- Rütting, T., Björk, R. G., Meyer, A., Klemetsson, L., & Sikström, U. (2014). Reduced global warming potential after wood ash application in drained Northern peatland forests. *Forest Ecology and Management*, 328, 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.05.033>
- Sá, M. M. F., Schaefer, C. E. G. R., Loureiro, D. C., Simas, F. N. B., Alves, B. J. R., de Sá Mendonça, E., de Figueiredo, E. B., La Scala, N., & Panosso, A. R. (2019). Fluxes of CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, and N<sub>2</sub>O in tundra-covered and Nothofagus forest soils in the Argentinian Patagonia. *Science of the Total Environment*, 659, 401–409. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.328>
- Saggar, S., Giltrap, D. L., Davison, R., Gibson, R., de Klein, C. A. M., Rollo, M., Ettema, P., & Rys, G. (2015). Estimating direct N<sub>2</sub>O emissions from sheep, beef, and deer grazed pastures in New Zealand hill country: Accounting for the effect of land slope on the N<sub>2</sub>O emission factors from urine and dung. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 205, 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.03.005>
- Saggar, S., Jha, N., Deslippe, J., Bolan, N. S., Luo, J., Giltrap, D. L., Kim, D. G., Zaman, M., & Tillman, R. W. (2013). Denitrification and N<sub>2</sub>O: N<sub>2</sub> production in temperate grasslands: Processes, measurements, modelling and mitigating negative impacts. *Science of the Total Environment*, 465, 173–195. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.050>



- Samad, M. S., Bakken, L. R., Nadeem, S., Clough, T. J., de Klein, C. A. M., Richards, K. G., Lanigan, G. J., & Morales, S. E. (2016). High-resolution denitrification kinetics in pasture soils link N<sub>2</sub>O emissions to pH, and denitrification to c mineralization. *PLoS ONE*, *11*(3), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151713>
- Sanjuan, J., Delgado, M. J., & Girard, L. (2020). Microbial Control of the Nitrogen Cycle. *Frontiers in Microbiology*, *11*(May), 10–11. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv021>
- Schönegger, D., Gómez-Brandón, M., Mazzier, T., Insam, H., Hermanns, R., Leijenhurst, E., Bardelli, T., & Fernández-Delgado Juárez, M. (2018). Phosphorus fertilising potential of fly ash and effects on soil microbiota and crop. *Resources, Conservation and Recycling*, *134*(April), 262–270. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2018.03.018>
- Selbie, D. R., Buckthought, L. E., & Shepherd, M. A. (2015). The Challenge of the Urine Patch for Managing Nitrogen in Grazed Pasture Systems. *Advances in Agronomy*, *129*, 229–292. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.09.004>
- Shaaban, M., Peng, Q. an, Bashir, S., Wu, Y., Younas, A., Xu, X., Rashti, M. R., Abid, M., Zafar-ul-Hye, M., Núñez-Delgado, A., Horwath, W. R., Jiang, Y., Lin, S., & Hu, R. (2019). Restoring effect of soil acidity and Cu on N<sub>2</sub>O emissions from an acidic soil. *Journal of Environmental Management*, *250*(September), 109535. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109535>
- Shaaban, M., Wu, Y., Khalid, M. S., Peng, Q. an, Xu, X., Wu, L., Younas, A., Bashir, S., Mo, Y., Lin, S., Zafar-ul-Hye, M., Abid, M., & Hu, R. (2018). Reduction in soil N<sub>2</sub>O emissions by pH manipulation and enhanced nosZ gene transcription under different water regimes. *Environmental Pollution*, *235*, 625–631. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.066>
- Shakoor, A., Shahzad, S. M., Chatterjee, N., Arif, M. S., Farooq, T. H., Altaf, M. M., Tufail, M. A., Dar, A. A., & Mehmood, T. (2021). Nitrous oxide emission from agricultural soils: Application of animal manure or biochar? A global meta-analysis. *Journal of Environmental Management*, *285*, 112170. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112170>
- Silva, F. C., Cruz, N. C., Tarelho, L. A. C., & Rodrigues, S. M. (2019). Use of biomass ash-based materials as soil fertilisers: Critical review of the existing regulatory framework. *Journal of Cleaner Production*, *214*, 112–124.

- <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.268>
- Šimek, M., & Cooper, J. E. (2002). The influence of soil pH on denitrification: Progress towards the understanding of this interaction over the last 50 years. *European Journal of Soil Science*, 53(3), 345–354. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2002.00461.x>
- Simon, P. L., de Klein, C. A. M., Worth, W., Rutherford, A. J., & Dieckow, J. (2019). The efficacy of *Plantago lanceolata* for mitigating nitrous oxide emissions from cattle urine patches. *Science of the Total Environment*, 691, 430–441. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.141>
- Simon, P. L., Dieckow, J., de Klein, C. A. M., Zanatta, J. A., van der Weerden, T. J., Ramalho, B., & Bayer, C. (2018). Nitrous oxide emission factors from cattle urine and dung, and dicyandiamide (DCD) as a mitigation strategy in subtropical pastures. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 267(February), 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.08.013>
- Skeirytė, A., Krikštolaitis, R., & Liobikienė, G. (2022). The differences of climate change perception, responsibility and climate-friendly behavior among generations and the main determinants of youth's climate-friendly actions in the EU. *Journal of Environmental Management*, 323, 116277. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116277>
- Soler-Jofra, A., Pérez, J., & van Loosdrecht, M. C. M. (2021). Hydroxylamine and the nitrogen cycle: A review. *Water Research*, 190, 116723. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116723>
- Song, M., Lin, S., & Takahashi, F. (2020). Coal fly ash amendment to mitigate soil water evaporation in arid/semi-arid area: An approach using simple drying focusing on sieve size and temperature. *Resources, Conservation and Recycling*, 156(July 2019), 104726. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2020.104726>
- Stein, L. Y., & Klotz, M. G. (2016). The nitrogen cycle. *Current Biology*, 26(3), R94–R98. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.12.021>
- Thers, H., Abalos, D., Dörsch, P., & Elsgaard, L. (2020). Nitrous oxide emissions from oilseed rape cultivation were unaffected by flash pyrolysis biochar of different type, rate and field ageing. *Science of the Total Environment*, 724. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138140>
- Tierling, J., & Kuhlmann, H. (2018). Emissions of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) affected by pH-related nitrite accumulation during nitrification of N fertilizers. *Geoderma*,



- 310(June 2017), 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.08.040>
- Tullo, E., Finzi, A., & Guarino, M. (2019). Precision Livestock Farming as a mitigation strategy for livestock farming environmental impact: A review. *Precision Livestock Farming 2019 - Papers Presented at the 9th European Conference on Precision Livestock Farming, ECPLF 2019*, 650, 649–655.
- USDA-NRCS. (2010). USDA-ARS GRACEnet Project Protocols Chapter 3. Chamber-Based Trace Gas Flux Measurements. *Sampling Protocols*.
- Vallero, D. A. (2019). Chapter 8 - Air pollution biogeochemistry. In D. A. B. T.-A. P. C. Vallero (Ed.), *Air Pollution Calculations* (pp. 175–206). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814934-8.00008-9>
- van der Weerden, T. J., Styles, T. M., Rutherford, A. J., de Klein, C. A. M., & Dynes, R. (2017). Nitrous oxide emissions from cattle urine deposited onto soil supporting a winter forage kale crop. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 60(2), 119–130. <https://doi.org/10.1080/00288233.2016.1273838>
- Van Eerd, L. L., Turnbull, J. J. D., Bakker, C. J., Vyn, R. J., McKeown, A. W., & Westerveld, S. M. (2017). Comparing soluble to controlled-release nitrogen fertilizers: storage cabbage yield, profit margins, and N use efficiency. *Canadian Journal of Plant Science*, 98(4), 815–829. <https://doi.org/10.1139/cjps-2017-0277>
- Wachendorf, C., Lampe, C., Taube, F., & Dittert, K. (2008). Nitrous oxide emissions and dynamics of soil nitrogen under 15N-labeled cow urine and dung patches on a sandy grassland soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(2), 171–180. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jpln.200625217>
- Wakelin, S. A., Clough, T. J., Gerard, E. M., & O'Callaghan, M. (2013). Impact of short-interval, repeat application of dicyandiamide on soil N transformation in urine patches. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 167(3), 60–70. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.01.007>
- Wang, Y., Guo, J., Vogt, R. D., Mulder, J., Wang, J., & Zhang, X. (2018). Soil pH as the chief modifier for regional nitrous oxide emissions: New evidence and implications for global estimates and mitigation. *Global Change Biology*, 24(2), e617–e626. <https://doi.org/10.1111/gcb.13966>
- Wattiaux, M. A., Uddin, M. E., Letelier, P., Jackson, R. D., & Larson, R. A. (2019). Invited Review: Emission and mitigation of greenhouse gases from dairy farms: The cow, the manure, and the field. *Applied Animal Science*, 35(2), 238–254. <https://doi.org/10.15232/aas.2018-01803>

- Wijler, J., & Delwiche, C. C. (1954). Investigations on the denitrifying process in soil. *Plant and Soil*, 5(2), 155–169. <https://doi.org/10.1007/BF01343848>
- Wrage-Mönnig, N., Horn, M. A., Well, R., Müller, C., Velthof, G., & Oenema, O. (2018). The role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide revisited. *Soil Biology and Biochemistry*, 123, A3–A16. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.03.020>
- Wu, Q., Kwak, J.-H., Chang, S. X., Han, G., & Gong, X. (2020). Cattle urine and dung additions differently affect nitrification pathways and greenhouse gas emission in a grassland soil. *Biology and Fertility of Soils*, 56(2), 235–247. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01415-1>
- Xu, D., Carswell, A., Zhu, Q., Zhang, F., & de Vries, W. (2020). Modelling long-term impacts of fertilization and liming on soil acidification at Rothamsted experimental station. *Science of the Total Environment*, 713, 136249. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136249>
- Yi, Q., Tang, S., Fan, X., Zhang, M., Pang, Y., Huang, X., & Huang, Q. (2017). Effects of nitrogen application rate, nitrogen synergist and biochar on nitrous oxide emissions from vegetable field in south China. *PLOS ONE*, 12(4), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175325>
- Zhang, T., Liu, H., Luo, J., Wang, H., Zhai, L., Geng, Y., Zhang, Y., Li, J., Lei, Q., Bashir, M. A., Wu, S., & Lindsey, S. (2018). Long-term manure application increased greenhouse gas emissions but had no effect on ammonia volatilization in a Northern China upland field. *Science of The Total Environment*, 633, 230–239. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.069>
- Žurovec, O., Wall, D. P., Brennan, F. P., Krol, D. J., Forrestal, P. J., & Richards, K. G. (2021). Increasing soil pH reduces fertiliser derived N<sub>2</sub>O emissions in intensively managed temperate grassland. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 311, 107319. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107319>

## ANEXOS

Anexo 1. Prueba de normalidad para flujos de emisión diaria de  $N_2O$  mediante el estadístico de Kolmogorov-Smirnov

- One-sample Kolmogorov-Smirnov test  
data: data1\$N2O  
D = 0.14738, p-value = 0.9233
- alternative hypothesis: two-sided  
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test  
data: data1\$N2O  
D = 0.14738, p-value = 0.6692

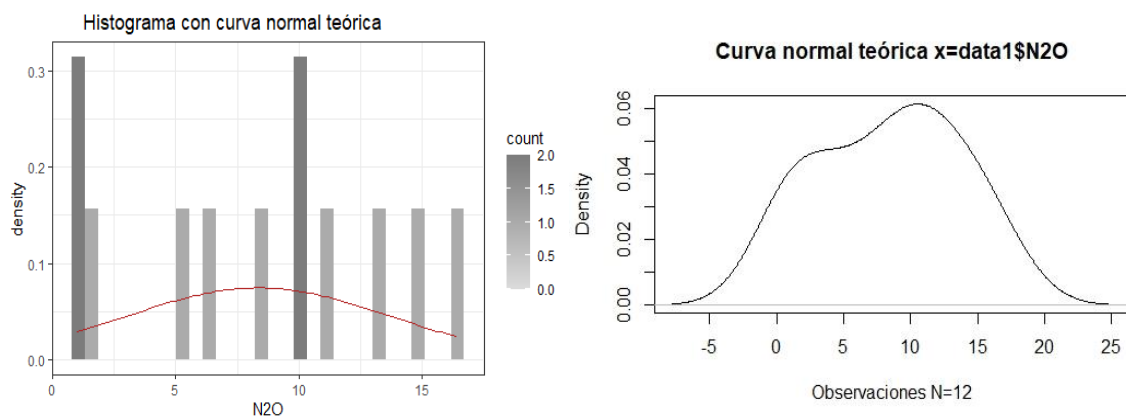


Figura 22. Histograma y curva de distribución normal de flujos de emisión diaria de  $N_2O$

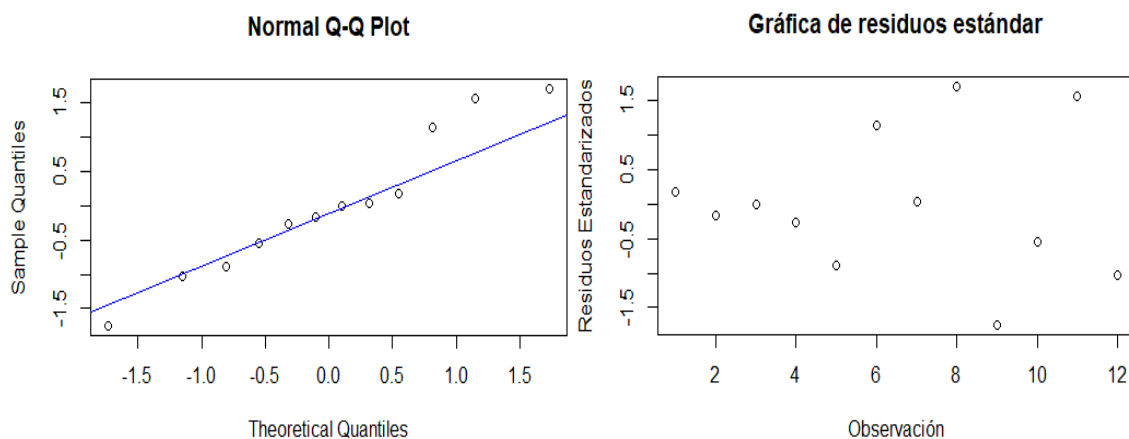


Figura 23. Distribución de normalidad Q-Q Plot y distribución de residuos estándar para flujos de emisión diaria de  $N_2O$

Anexo 2. Análisis estadístico para flujos de emisión diaria de óxido nitroso

Tabla 2

*ANVA para flujos de emisión diaria de óxido nitroso*

| F de V             | GL | SC     | CM     | F <sub>c</sub> | F <sub>t, 0.05</sub> | P Valor   | Sig. |
|--------------------|----|--------|--------|----------------|----------------------|-----------|------|
| Tratamientos       | 3  | 275.98 | 91.993 | 19.394         | 4.066                | 0.0004993 | **   |
| Error experimental | 8  | 37.95  | 4.743  |                |                      |           |      |
| Total              | 11 | 313.93 |        |                |                      |           |      |

\*\*Existe diferencia estadística entre los tratamientos del experimento planteado (p<0.05).

Tabla 3

*Estadísticos descriptivos para flujos de emisión diaria de óxido nitroso*

| Trat. | Media | std  | r | Min   | Max   |
|-------|-------|------|---|-------|-------|
| C     | 1.30  | 0.30 | 3 | 1.0   | 1.6   |
| U     | 6.67  | 1.84 | 3 | 5.10  | 8.70  |
| U+A1  | 13.35 | 3.07 | 3 | 10.24 | 16.39 |
| U+A2  | 12.15 | 2.46 | 3 | 10.32 | 14.94 |

\*Mean Square Error: 4.743413

Tabla 4

*Prueba Dunnett para flujos de emisión diaria de óxido nitroso*

| \$C    | diff  | lwr.ci | upr.ci | p valor |     |
|--------|-------|--------|--------|---------|-----|
| U-C    | 5.37  | 0.24   | 10.49  | 0.04058 | *   |
| U+A1-C | 12.05 | 6.93   | 17.17  | 0.00037 | *** |
| U+A2-C | 10.85 | 5.73   | 15.98  | 0.00076 | *** |

Signif. códigos: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

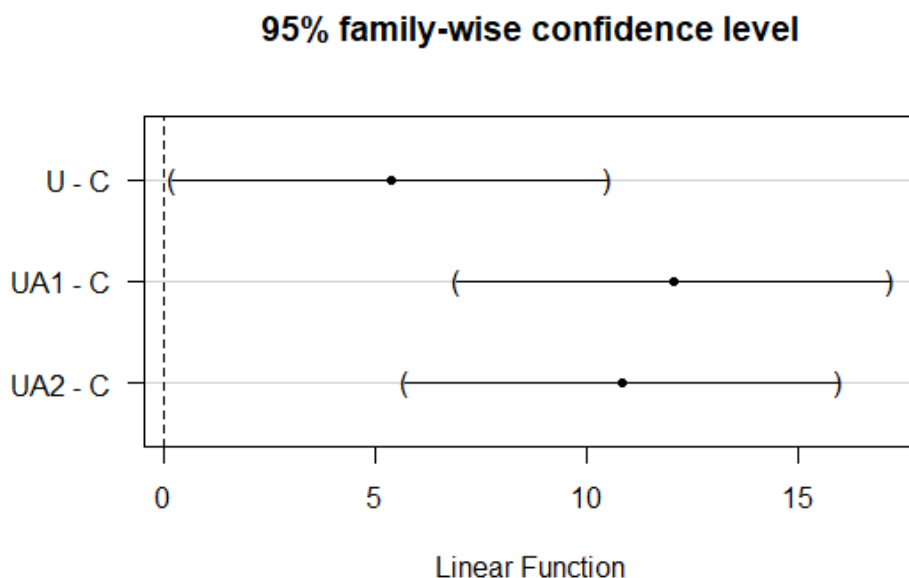


Figura 24. Prueba de comparación Dunnett para flujos de emisión diaria de N<sub>2</sub>O

Tabla 5

Prueba múltiple de Duncan para flujos de emisión diaria de óxido nitroso

| Trat. | N <sub>2</sub> O | Grupos | Critical Range                    |      |      |
|-------|------------------|--------|-----------------------------------|------|------|
| U+A1  | 13.35            | a      | 2                                 | 3    | 4    |
| U+A2  | 12.15            | a      | 4.10                              | 4.27 | 4.37 |
| U     | 6.67             | b      | Alpha: 0.05; Grado de Libertad: 8 |      |      |
| C     | 1.30             | c      |                                   |      |      |

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Anexo 3. Prueba de normalidad para flujos de emisión acumulada de N<sub>2</sub>O mediante el estadístico de Kolmogorov-Smirnov

- One-sample Kolmogorov-Smirnov test  
data: data1\$N2O  
D = 0.18626, p-value = 0.7341
- alternative hypothesis: two-sided  
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test  
data: data1\$N2O  
D = 0.18626, p-value = 0.2985

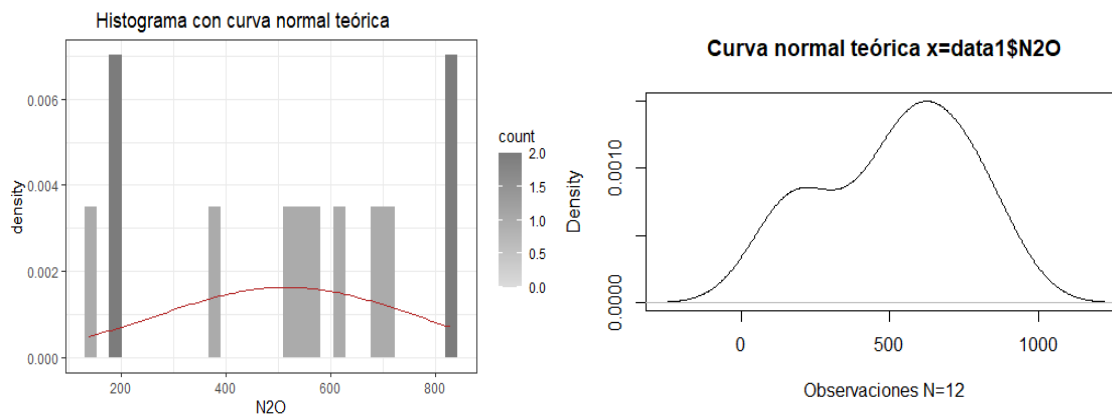


Figura 25. Histograma y curva de distribución normal de flujos de emisión acumulada de N<sub>2</sub>O

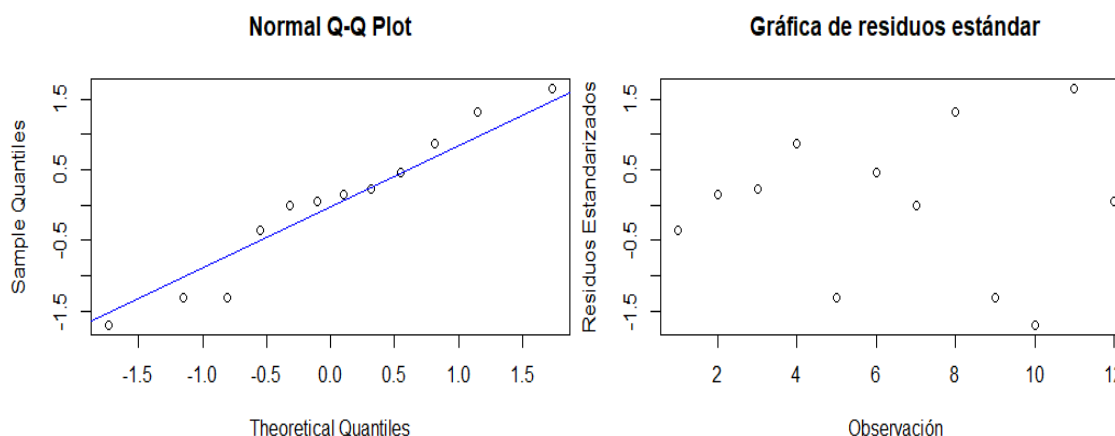


Figura 26. Distribución de normalidad Q-Q Plot y distribución de residuos estándar para flujos de emisión acumulada de N<sub>2</sub>O

#### Anexo 4. Análisis estadístico para flujos de emisión acumulada de óxido nitroso

Tabla 6

ANVA para flujos de emisión acumulada de óxido nitroso

| F de V             | GL | SC     | CM     | F <sub>c</sub> | F <sub>t, 0.05</sub> | P Valor  | Sig. |
|--------------------|----|--------|--------|----------------|----------------------|----------|------|
| Tratamientos       | 3  | 569357 | 189786 | 18.26          | 4,066                | 0.000615 | **   |
| Error experimental | 8  | 83141  | 10393  |                |                      |          |      |
| Total              | 11 | 652498 |        |                |                      |          |      |

\*\*Existe diferencia estadística entre los tratamientos del experimento planteado (p<0.05).

Tabla 7

*Estadísticos descriptivos para flujos de emisión acumulada de óxido nitroso*

| Trat. | Media  | std    | r | Min    | Max    |
|-------|--------|--------|---|--------|--------|
| C     | 170.37 | 26.57  | 3 | 139.91 | 188.74 |
| U     | 489.98 | 96.79  | 3 | 379.95 | 562.01 |
| U+A1  | 718.44 | 110.10 | 3 | 608.33 | 828.52 |
| U+A2  | 685.31 | 139.19 | 3 | 544.00 | 822.28 |

\*Mean Square Error: 10392.58

Tabla 8

*Prueba Dunnett para flujos de emisión acumulada de óxido nitroso*

| \$C    | diff   | lwr.ci | upr.ci | p valor |     |
|--------|--------|--------|--------|---------|-----|
| U-C    | 319.62 | 79.79  | 559.44 | 0.01232 | *   |
| U+A1-C | 548.07 | 308.24 | 787.90 | 0.00044 | *** |
| U+A2-C | 514.94 | 275.11 | 754.77 | 0.00070 | *** |

Signif. códigos: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

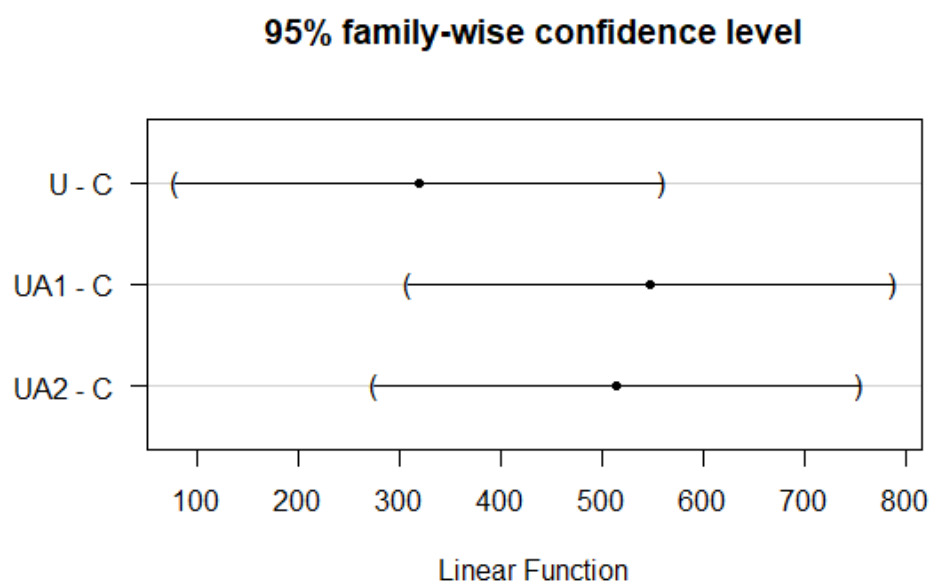


Figura 27. Prueba de comparación Dunnett para flujos de emisión acumulada de N<sub>2</sub>O

Tabla 9

*Prueba múltiple de Duncan para flujos de emisión acumulada de óxido nitroso*

| Trat. | N <sub>2</sub> O | Grupos | Critical Range                    |        |        |
|-------|------------------|--------|-----------------------------------|--------|--------|
| U+A1  | 718.44           | a      | 2                                 | 3      | 4      |
| U+A2  | 685.31           | a      | 191.94                            | 200.02 | 204.54 |
| U     | 489.98           | b      | Alpha: 0.05; Grado de Libertad: 8 |        |        |
| C     | 170.37           | c      |                                   |        |        |

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla 10

*Matriz correlacional de parámetros fisicoquímicos del suelo con mayor influencia en los flujos de emisión diaria de óxido nitroso*

|                              | Flujos-N <sub>2</sub> O | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | pH     | Hw     | Da           | WFPS         |
|------------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|--------|--------|--------------|--------------|
| Flujos-N <sub>2</sub> O      | 1                       | <b>0.688</b>                 | <b>0.709</b>                 | 0.267  | 0.449  | <b>0.039</b> | <b>0.545</b> |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | 0.688                   | 1                            | 0.746                        | 0.614  | 0.331  | -0.056       | 0.346        |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | 0.709                   | 0.746                        | 1                            | 0.116  | 0.464  | 0.015        | 0.544        |
| pH                           | 0.267                   | 0.614                        | 0.116                        | 1      | 0.206  | -0.125       | 0.164        |
| Hw                           | 0.449                   | 0.331                        | 0.464                        | 0.206  | 1      | -0.549       | 0.903        |
| Da                           | 0.039                   | -0.056                       | 0.015                        | -0.125 | -0.549 | 1            | -0.142       |
| WFPS                         | 0.545                   | 0.346                        | 0.544                        | 0.164  | 0.903  | -0.142       | 1            |

Anexo 5. Flujos de emisión diaria de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O)

Tabla 11

*Flujos de emisión diaria de óxido nitroso en N-N<sub>2</sub>O mg/m<sup>2</sup>/h*

| Campañas   | C1  | C2  | C3  | C4  | C5  | C6  | C7  | C8  | C9  | C10 |
|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Trat./días | 1   | 3   | 5   | 7   | 9   | 11  | 13  | 20  | 27  | 34  |
| 1C         | 1.6 | 0.6 | 0.5 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.0 | 0.0 |
| 2C         | 1.0 | 0.3 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.5 | 0.2 | 0.1 |
| 3C         | 1.3 | 1.0 | 0.7 | 0.2 | 0.4 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.0 | 0.0 |
| Promedio   | 1.3 | 0.6 | 0.5 | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.0 |
| SD         | 0.3 | 0.4 | 0.2 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.2 | 0.1 | 0.0 |
| 1C         | 6.2 | 0   | 0.1 | 0.1 | 0.7 | 1   | 0.5 | 1.1 | 0.5 | 0.2 |
| 2C         | 5.1 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.5 | 0.4 | 0.3 | 0.6 | 0.2 | 0.1 |
| 3C         | 8.7 | 0.1 | 0.1 | 0   | 0.3 | 0.5 | 0.4 | 0.9 | 0.3 | 0.2 |
| Promedio   | 6.7 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.5 | 0.6 | 0.4 | 0.9 | 0.3 | 0.2 |
| SD         | 1.8 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.1 | 0.3 | 0.2 | 0.1 |



|          |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|----------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1U+A1    | 13.4 | 0.3 | 0.1 | 0   | 0.5 | 0.5 | 0.3 | 1.5 | 0.2 | 0.1 |
| 2U+A1    | 16.4 | 0.5 | 0.2 | 0.2 | 0.7 | 0.8 | 0.4 | 1.1 | 0.4 | 0.2 |
| 3U+A1    | 10.2 | 0.1 | 0.1 | 0.4 | 0.3 | 0.9 | 0.6 | 1   | 0.3 | 0.1 |
| Promedio | 13.3 | 0.3 | 0.1 | 0.2 | 0.5 | 0.7 | 0.4 | 1.2 | 0.3 | 0.1 |
| SD       | 3.1  | 0.2 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.3 | 0.1 | 0.1 |
| 1U+A2    | 11.2 | 0.1 | 0   | 0.2 | 0.5 | 0.5 | 0.7 | 0.6 | 0.2 | 0.1 |
| 2U+A2    | 14.9 | 0   | 0   | 0.5 | 0.3 | 0.7 | 1   | 0.9 | 0.8 | 0.3 |
| 3U+A2    | 10.3 | 0   | 0   | 0.1 | 0.4 | 1   | 0.6 | 1.5 | 0.3 | 0.1 |
| Promedio | 12.1 | 0.0 | 0.0 | 0.3 | 0.4 | 0.7 | 0.8 | 1.0 | 0.4 | 0.2 |
| SD       | 2.4  | 0.1 | 0.0 | 0.2 | 0.1 | 0.3 | 0.2 | 0.5 | 0.3 | 0.1 |

Anexo 6. Flujos de emisión acumulada de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O)

Tabla 12

*Integración de los flujos de emisión acumulada de óxido nitroso en N-N<sub>2</sub>O mg/m<sup>2</sup> por OriginLab 2018*

| Trat./días | Estimación de emisión acumulada a partir del flujo de N-N <sub>2</sub> O mg/m <sup>2</sup> /h |       |       |       |       |       |       |       |       |       | Día34*24 h<br>mg/m <sup>2</sup> |
|------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------------------------------|
|            | 1   | 3     | 5     | 7     | 9     | 11    | 13    | 20    | 27    | 34    |                                 |
| 1C         | 0   | 2.18  | 3.26  | 3.91  | 4.29  | 4.58  | 4.73  | 5.22  | 5.64  | 5.83  | 139.91                          |
| 2C         | 0   | 1.28  | 1.80  | 2.12  | 2.30  | 2.56  | 2.79  | 4.64  | 6.81  | 7.60  | 182.45                          |
| 3C         | 0   | 2.32  | 3.97  | 5.15  | 6.06  | 6.57  | 6.77  | 7.26  | 7.68  | 7.86  | 188.74                          |
| Promedio   | 0   | 1.9   | 3.0   | 3.7   | 4.2   | 4.6   | 4.8   | 5.7   | 6.7   | 7.1   | 170.4                           |
| SD         | 0   | 0.6   | 1.1   | 1.5   | 1.9   | 2.0   | 2.0   | 1.4   | 1.0   | 1.1   | 26.6                            |
| 1U         | 0   | 6.19  | 6.29  | 6.49  | 7.32  | 8.96  | 10.38 | 15.77 | 21.19 | 23.42 | 562.01                          |
| 2U         | 0   | 5.29  | 5.72  | 6.12  | 6.78  | 7.63  | 8.38  | 11.74 | 14.66 | 15.83 | 379.95                          |
| 3U         | 0   | 8.80  | 9.00  | 9.16  | 9.53  | 10.28 | 11.13 | 15.65 | 20.08 | 22.00 | 527.99                          |
| Promedio   | 0   | 6.8   | 7.0   | 7.3   | 7.9   | 9.0   | 10.0  | 14.4  | 18.6  | 20.4  | 490.0                           |
| SD         | 0   | 1.8   | 1.8   | 1.7   | 1.5   | 1.3   | 1.4   | 2.3   | 3.5   | 4.0   | 96.8                            |
| 1U+A1      | 0   | 13.73 | 14.11 | 14.38 | 15.08 | 16.11 | 16.93 | 23.23 | 29.07 | 29.94 | 718.47                          |
| 2U+A1      | 0   | 16.91 | 17.66 | 18.27 | 19.30 | 20.75 | 21.94 | 27.14 | 32.46 | 34.52 | 828.52                          |
| 3U+A1      | 0   | 10.39 | 10.65 | 10.94 | 11.45 | 12.68 | 14.15 | 19.73 | 24.19 | 25.35 | 608.33                          |
| Promedio   | 0   | 13.7  | 14.1  | 14.5  | 15.3  | 16.5  | 17.7  | 23.4  | 28.6  | 29.9  | 718.4                           |
| SD         | 0   | 3.3   | 3.5   | 3.7   | 3.9   | 4.0   | 3.9   | 3.7   | 4.2   | 4.6   | 110.1                           |
| 1U+A2      | 0   | 11.25 | 11.32 | 11.45 | 12.05 | 13.08 | 14.32 | 19.00 | 21.81 | 22.67 | 544.00                          |
| 2U+A2      | 0   | 14.96 | 14.98 | 15.02 | 15.32 | 16.26 | 17.93 | 24.64 | 30.52 | 34.26 | 822.28                          |
| 3U+A2      | 0   | 10.33 | 10.35 | 10.39 | 10.81 | 12.23 | 13.88 | 21.27 | 27.46 | 28.74 | 689.64                          |
| Promedio   | 0   | 12.2  | 12.2  | 12.3  | 12.7  | 13.9  | 15.4  | 21.6  | 26.6  | 28.6  | 685.3                           |
| SD         | 0   | 2.4   | 2.4   | 2.4   | 2.3   | 2.1   | 2.2   | 2.8   | 4.4   | 5.8   | 139.2                           |

Anexo 7. Registro de temperatura en el suelo, del aire e interior de cámara durante la fase de muestreo

Tabla 13

*Registro de la temperatura del suelo a 10 cm de profundidad, temperatura del aire y temperatura interna de la cámara*

| N°<br>Camp. | T° SUELO (10 CM SUELO) |             |                | T° DEL AIRE   |             |                | T° INTERNA DE LA CÁMARA |             |                      |        |
|-------------|------------------------|-------------|----------------|---------------|-------------|----------------|-------------------------|-------------|----------------------|--------|
|             | Inicial<br>°C          | Final<br>°C | Promedio<br>°C | Inicial<br>°C | Final<br>°C | Promedio<br>°C | Inicial<br>°C           | Final<br>°C | T° Promedio<br>°C °K |        |
| C1          | 13.9                   | 13.9        | 13.9           | 12.2          | 7.9         | 10.0           | 12.5                    | 8.4         | 10.4                 | 283.58 |
| C2          | 14.2                   | 14.2        | 14.2           | 20.4          | 20.9        | 20.6           | 25.7                    | 27.0        | 26.3                 | 299.47 |
| C3          | 11.8                   | 12.2        | 12.0           | 16.2          | 17.1        | 16.6           | 15.0                    | 18.1        | 16.5                 | 289.65 |
| C4          | 11.4                   | 11.9        | 11.6           | 15.0          | 20.8        | 17.9           | 12.5                    | 23.0        | 17.7                 | 290.88 |
| C5          | 10.5                   | 12.1        | 11.3           | 17.9          | 21.0        | 19.4           | 17.4                    | 21.8        | 19.6                 | 292.70 |
| C6          | 12.5                   | 12.7        | 12.6           | 12.5          | 19.1        | 15.8           | 11.5                    | 19.0        | 15.2                 | 288.35 |
| C7          | 12.5                   | 13.4        | 12.9           | 17.3          | 18.0        | 17.7           | 19.3                    | 22.5        | 20.9                 | 294.03 |
| C8          | 12.8                   | 12.9        | 12.9           | 11.4          | 16.8        | 14.1           | 10.5                    | 16.1        | 13.3                 | 286.42 |
| C9          | 11.4                   | 11.4        | 11.4           | 10.6          | 11.4        | 11.0           | 10.3                    | 10.9        | 10.6                 | 283.73 |
| C10         | 11.9                   | 12.4        | 12.2           | 17.5          | 20.5        | 19.0           | 20.3                    | 25.1        | 22.7                 | 298.20 |

Anexo 8. Determinación de las medidas de altura del interior de la cámara estática

Tabla 14

*Primera medición de altura interna de la cámara, registrado el 28-01-2022*

| N°<br>Cámaras | Clave | Tratamiento | h1<br>cm | h 2<br>cm | h 3<br>cm | h 4<br>cm | Promedio<br>cm |
|---------------|-------|-------------|----------|-----------|-----------|-----------|----------------|
| 1             | C3    | 1C          | 25.5     | 25.0      | 26.2      | 25.0      | 25.4           |
| 2             | C4    | 2C          | 25.2     | 25.0      | 24.8      | 25.5      | 25.1           |
| 3             | C11   | 3C          | 24.0     | 24.5      | 24.0      | 25.0      | 24.4           |
| 4             | C1    | 1U          | 24.0     | 24.5      | 24.2      | 24.4      | 24.3           |
| 5             | C8    | 2U          | 25.0     | 25.0      | 25.0      | 24.6      | 24.9           |
| 6             | C12   | 3U          | 25.5     | 26.0      | 24.0      | 26.0      | 25.4           |
| 7             | C5    | 1U+A1       | 25.5     | 25.0      | 25.0      | 27.5      | 25.8           |
| 8             | C9    | 2U+A1       | 25.0     | 25.5      | 26.8      | 26.0      | 25.8           |
| 9             | C10   | 3U+A1       | 25.2     | 26.0      | 25.5      | 24.0      | 25.2           |
| 10            | C2    | 1U+A2       | 25.0     | 25.2      | 25.0      | 24.5      | 24.9           |
| 11            | C6    | 2U+A2       | 25.0     | 24.6      | 26.5      | 25.0      | 25.3           |
| 12            | C7    | 3U+A2       | 25.0     | 25.5      | 25.5      | 25.0      | 25.3           |

Tabla 15

*Ultima medición de altura interna de la cámara, registrado el 04-03-2022*

| N°<br>Cámaras | Clave | Tratamiento | h1<br>cm | h 2<br>cm | h 3<br>cm | h 4<br>cm | Promedio<br>cm |
|---------------|-------|-------------|----------|-----------|-----------|-----------|----------------|
| 1             | C3    | 1C          | 24.9     | 25.3      | 25.50     | 26.1      | 25.5           |
| 2             | C4    | 2C          | 25.9     | 24.8      | 24.30     | 24.6      | 24.9           |
| 3             | C11   | 3C          | 25.5     | 24.1      | 24.90     | 23.9      | 24.6           |
| 4             | C1    | 1U          | 24.4     | 25.0      | 25.10     | 25.0      | 24.9           |
| 5             | C8    | 2U          | 24.8     | 25.0      | 24.50     | 25.0      | 24.8           |
| 6             | C12   | 3U          | 26.0     | 24.8      | 24.90     | 23.2      | 24.7           |
| 7             | C5    | 1U+A1       | 26.0     | 24.8      | 24.90     | 24.9      | 25.2           |
| 8             | C9    | 2U+A1       | 26.0     | 25.2      | 25.50     | 26.4      | 25.8           |
| 9             | C10   | 3U+A1       | 25.3     | 26.1      | 25.30     | 23.8      | 25.1           |
| 10            | C2    | 1U+A2       | 25.4     | 25.9      | 24.50     | 25.3      | 25.3           |
| 11            | C6    | 2U+A2       | 25.2     | 25.2      | 24.70     | 26.2      | 25.3           |
| 12            | C7    | 3U+A2       | 24.3     | 25.0      | 25.20     | 25.5      | 25.0           |

Anexo 9. Determinación de parámetros fisicoquímicos de las parcelas experimentales a partir de muestras de suelo

Tabla 16

*Densidad aparente del suelo de 0-10 cm de profundidad según tratamiento y días de muestreo (10 campañas)*

| Campañas    | C1               | C2               | C3               | C4               | C5               | C6               | C7               | C8               | C9               | C10              | Promedio         |
|-------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Días        | 1                | 3                | 5                | 7                | 9                | 11               | 13               | 20               | 27               | 34               | general          |
| Tratamiento | g/m <sup>3</sup> | g/m <sup>3</sup> | g/m <sup>3</sup> | g/m <sup>3</sup> | g/m <sup>3</sup> | g/m <sup>3</sup> | g/m <sup>3</sup> | g/m <sup>3</sup> | g/m <sup>3</sup> | g/m <sup>3</sup> | g/m <sup>3</sup> |
| 1C          | 1.25             | 1.26             | 1.25             | 1.23             | 1.21             | 1.22             | 1.34             | 1.22             | 1.27             | 1.20             |                  |
| 2C          | 1.26             | 1.23             | 1.27             | 1.30             | 1.23             | 1.21             | 1.25             | 1.21             | 1.30             | 1.21             |                  |
| 3C          | 1.23             | 1.27             | 1.30             | 1.17             | 1.25             | 1.16             | 1.27             | 1.24             | 1.28             | 1.21             |                  |
| Promedio    | 1.24             | 1.26             | 1.27             | 1.23             | 1.23             | 1.20             | 1.29             | 1.22             | 1.29             | 1.20             | 1.24             |
| SD          | 0.01             | 0.02             | 0.03             | 0.07             | 0.02             | 0.03             | 0.05             | 0.01             | 0.02             | 0.01             | 0.03             |
| CV, %       | 0.94             | 1.68             | 2.01             | 5.36             | 1.45             | 2.66             | 3.91             | 1.09             | 1.22             | 0.65             | 2.56             |
| 1U          | 1.27             | 1.26             | 1.24             | 1.21             | 1.27             | 1.25             | 1.35             | 1.24             | 1.30             | 1.22             |                  |
| 2U          | 1.24             | 1.20             | 1.24             | 1.20             | 1.26             | 1.14             | 1.35             | 1.29             | 1.23             | 1.26             |                  |
| 3U          | 1.22             | 1.24             | 1.21             | 1.21             | 1.25             | 1.23             | 1.34             | 1.20             | 1.25             | 1.22             |                  |
| Promedio    | 1.24             | 1.23             | 1.23             | 1.21             | 1.26             | 1.21             | 1.35             | 1.24             | 1.26             | 1.23             | 1.25             |
| SD          | 0.02             | 0.03             | 0.02             | 0.00             | 0.01             | 0.06             | 0.01             | 0.05             | 0.03             | 0.02             | 0.04             |
| CV, %       | 1.89             | 2.33             | 1.68             | 0.31             | 0.85             | 4.81             | 0.59             | 3.68             | 2.63             | 1.78             | 3.26             |
| 1U+A1       | 1.24             | 1.20             | 1.28             | 1.16             | 1.32             | 1.13             | 1.24             | 1.16             | 1.30             | 1.21             |                  |
| 2U+A1       | 1.22             | 1.24             | 1.20             | 1.20             | 1.14             | 1.20             | 1.40             | 1.24             | 1.30             | 1.24             |                  |
| 3U+A1       | 1.25             | 1.27             | 1.18             | 1.26             | 1.26             | 1.18             | 1.31             | 1.23             | 1.16             | 1.20             |                  |

|          |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Promedio | 1.24 | 1.24 | 1.22 | 1.21 | 1.24 | 1.17 | 1.32 | 1.21 | 1.25 | 1.22 | 1.23 |
| SD       | 0.02 | 0.03 | 0.05 | 0.05 | 0.09 | 0.04 | 0.08 | 0.04 | 0.08 | 0.02 | 0.04 |
| CV, %    | 1.39 | 2.53 | 4.18 | 4.17 | 7.13 | 3.25 | 5.85 | 3.42 | 6.66 | 1.64 | 3.09 |
| 1U+A2    | 1.28 | 1.28 | 1.25 | 1.26 | 1.31 | 1.24 | 1.37 | 1.23 | 1.31 | 1.21 |      |
| 2U+A2    | 1.21 | 1.17 | 1.21 | 1.11 | 1.20 | 1.15 | 1.40 | 1.26 | 1.15 | 1.18 |      |
| 3U+A2    | 1.25 | 1.23 | 1.21 | 1.25 | 1.23 | 1.22 | 1.28 | 1.27 | 1.20 | 1.25 |      |
| Promedio | 1.25 | 1.22 | 1.22 | 1.21 | 1.25 | 1.20 | 1.35 | 1.25 | 1.22 | 1.22 | 1.24 |
| SD       | 0.04 | 0.05 | 0.02 | 0.08 | 0.06 | 0.05 | 0.06 | 0.02 | 0.08 | 0.03 | 0.04 |
| CV, %    | 3.04 | 4.36 | 1.96 | 6.81 | 4.88 | 4.23 | 4.71 | 1.52 | 6.60 | 2.85 | 3.35 |

Tabla 17

*Humedad gravimétrica del suelo según tratamiento y días de muestreo (10 campañas)*

| Campañas    | C1    | C2    | C3    | C4    | C5    | C6    | C7    | C8    | C9    | C10   | Promedio |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|
| Días        | 1     | 3     | 5     | 7     | 9     | 11    | 13    | 20    | 27    | 34    | general  |
| Tratamiento | %     | %     | %     | %     | %     | %     | %     | %     | %     | %     | %        |
| 1C          | 40.68 | 38.31 | 37.54 | 33.28 | 30.78 | 35.53 | 24.50 | 31.52 | 31.83 | 34.24 |          |
| 2C          | 39.99 | 37.20 | 36.01 | 30.59 | 26.77 | 36.62 | 29.15 | 31.32 | 29.80 | 34.26 |          |
| 3C          | 38.10 | 35.42 | 32.74 | 36.48 | 26.58 | 32.43 | 29.86 | 33.33 | 30.96 | 35.61 |          |
| Promedio    | 39.59 | 36.98 | 35.43 | 33.45 | 28.04 | 34.86 | 27.84 | 32.06 | 30.86 | 34.70 | 33.38    |
| SD          | 1.34  | 1.46  | 2.45  | 2.95  | 2.37  | 2.17  | 2.91  | 1.11  | 1.02  | 0.79  | 3.76     |
| CV, %       | 3.38  | 3.94  | 6.92  | 8.81  | 8.46  | 6.24  | 10.45 | 3.46  | 3.30  | 2.26  | 11.25    |
| 1U          | 38.90 | 37.46 | 37.62 | 33.62 | 28.93 | 31.77 | 24.35 | 30.80 | 30.83 | 34.51 |          |
| 2U          | 39.12 | 37.11 | 36.69 | 33.39 | 29.41 | 34.68 | 24.94 | 31.22 | 30.98 | 32.67 |          |
| 3U          | 40.34 | 39.28 | 39.83 | 34.40 | 29.89 | 35.01 | 27.94 | 35.43 | 31.82 | 33.62 |          |
| Promedio    | 39.45 | 37.95 | 38.05 | 33.81 | 29.41 | 33.82 | 25.74 | 32.48 | 31.21 | 33.60 | 33.55    |
| SD          | 0.77  | 1.17  | 1.61  | 0.53  | 0.48  | 1.78  | 1.93  | 2.56  | 0.54  | 0.92  | 4.21     |
| CV, %       | 1.96  | 3.08  | 4.23  | 1.57  | 1.64  | 5.27  | 7.49  | 7.89  | 1.72  | 2.74  | 12.54    |
| 1U+A1       | 39.46 | 36.86 | 35.87 | 35.32 | 28.16 | 36.56 | 30.31 | 35.17 | 31.13 | 34.46 |          |
| 2U+A1       | 41.48 | 37.84 | 38.19 | 34.29 | 29.24 | 34.88 | 23.70 | 33.31 | 31.75 | 33.47 |          |
| 3U+A1       | 40.87 | 38.72 | 38.18 | 29.43 | 28.92 | 34.37 | 28.13 | 31.11 | 33.97 | 34.06 |          |
| Promedio    | 40.60 | 37.81 | 37.41 | 33.01 | 28.77 | 35.27 | 27.38 | 33.19 | 32.28 | 34.00 | 33.97    |
| SD          | 1.04  | 0.93  | 1.33  | 3.15  | 0.55  | 1.15  | 3.37  | 2.03  | 1.49  | 0.49  | 4.04     |
| CV, %       | 2.56  | 2.46  | 3.56  | 9.54  | 1.92  | 3.25  | 12.31 | 6.12  | 4.62  | 1.45  | 11.90    |
| 1U+A2       | 39.05 | 36.63 | 35.80 | 34.83 | 28.05 | 35.08 | 23.45 | 33.33 | 32.40 | 34.63 |          |
| 2U+A2       | 41.07 | 38.86 | 38.26 | 35.59 | 29.77 | 33.82 | 26.17 | 30.60 | 33.67 | 34.13 |          |
| 3U+A2       | 39.74 | 37.49 | 36.84 | 32.94 | 27.07 | 35.73 | 26.96 | 31.93 | 30.29 | 32.91 |          |
| Promedio    | 39.96 | 37.66 | 36.97 | 34.46 | 28.30 | 34.88 | 25.53 | 31.95 | 32.12 | 33.89 | 33.57    |
| SD          | 1.02  | 1.13  | 1.24  | 1.36  | 1.37  | 0.97  | 1.84  | 1.37  | 1.71  | 0.88  | 4.33     |
| CV, %       | 2.56  | 3.00  | 3.34  | 3.96  | 4.83  | 2.79  | 7.21  | 4.28  | 5.32  | 2.60  | 12.90    |

Tabla 18

*Espacio poroso lleno de agua (WFPS) del suelo según tratamiento y días de muestreo*

| Campañas    | C1    | C2    | C3    | C4    | C5    | C6    | C7    | C8    | C9    | C10   | Promedio |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|
| Días        | 1     | 3     | 5     | 7     | 9     | 11    | 13    | 20    | 27    | 34    | general  |
| Tratamiento | %     | %     | %     | %     | %     | %     | %     | %     | %     | %     | %        |
| 1C          | 95.77 | 91.97 | 89.28 | 76.90 | 68.58 | 80.82 | 66.87 | 70.91 | 78.12 | 74.72 |          |
| 2C          | 95.37 | 85.69 | 87.28 | 77.87 | 61.37 | 81.60 | 68.99 | 70.23 | 76.58 | 75.73 |          |
| 3C          | 87.73 | 86.87 | 83.88 | 75.99 | 62.51 | 67.24 | 72.48 | 77.53 | 76.97 | 79.59 |          |
| Promedio    | 92.96 | 88.18 | 86.81 | 76.92 | 64.16 | 76.55 | 69.44 | 72.89 | 77.23 | 76.68 | 78.18    |
| SD          | 4.53  | 3.34  | 2.73  | 0.94  | 3.88  | 8.07  | 2.83  | 4.03  | 0.80  | 2.57  | 8.83     |
| CV, %       | 4.87  | 3.78  | 3.14  | 1.22  | 6.04  | 10.55 | 4.08  | 5.53  | 1.03  | 3.35  | 11.29    |
| 1U          | 94.54 | 90.07 | 88.19 | 74.43 | 70.33 | 75.56 | 67.29 | 71.62 | 78.10 | 77.75 |          |
| 2U          | 90.55 | 81.82 | 85.07 | 73.45 | 71.17 | 69.62 | 69.15 | 78.35 | 71.25 | 78.18 |          |
| 3U          | 91.46 | 91.21 | 88.03 | 76.52 | 70.52 | 80.02 | 75.78 | 77.45 | 75.08 | 76.23 |          |
| Promedio    | 92.18 | 87.70 | 87.10 | 74.80 | 70.67 | 75.07 | 70.74 | 75.81 | 74.81 | 77.38 | 78.63    |
| SD          | 2.09  | 5.13  | 1.75  | 1.57  | 0.44  | 5.22  | 4.46  | 3.65  | 3.43  | 1.03  | 7.56     |
| CV, %       | 2.27  | 5.84  | 2.01  | 2.10  | 0.63  | 6.95  | 6.31  | 4.82  | 4.59  | 1.32  | 9.62     |
| 1U+A1       | 92.10 | 81.29 | 88.75 | 72.88 | 73.76 | 71.64 | 71.17 | 72.79 | 79.76 | 77.13 |          |
| 2U+A1       | 93.46 | 88.02 | 84.00 | 75.67 | 58.80 | 76.35 | 70.11 | 77.58 | 81.08 | 77.61 |          |
| 3U+A1       | 96.90 | 93.85 | 81.59 | 70.76 | 69.20 | 73.45 | 72.39 | 70.99 | 69.75 | 74.33 |          |
| Promedio    | 94.16 | 87.72 | 84.78 | 73.10 | 67.25 | 73.82 | 71.23 | 73.79 | 76.86 | 76.36 | 77.91    |
| SD          | 2.47  | 6.29  | 3.64  | 2.46  | 7.67  | 2.38  | 1.14  | 3.41  | 6.20  | 1.77  | 8.34     |
| CV, %       | 2.63  | 7.17  | 4.30  | 3.37  | 11.41 | 3.22  | 1.60  | 4.62  | 8.06  | 2.32  | 10.70    |
| 1U+A2       | 97.14 | 90.40 | 84.32 | 83.36 | 72.99 | 82.10 | 66.27 | 76.79 | 83.93 | 77.52 |          |
| 2U+A2       | 91.11 | 81.55 | 84.57 | 68.29 | 64.86 | 68.34 | 77.31 | 73.92 | 68.58 | 72.83 |          |
| 3U+A2       | 94.49 | 85.41 | 81.55 | 78.34 | 61.87 | 81.15 | 66.28 | 77.51 | 66.84 | 78.02 |          |
| Promedio    | 94.25 | 85.79 | 83.48 | 76.66 | 66.57 | 77.19 | 69.95 | 76.07 | 73.11 | 76.13 | 77.92    |
| SD          | 3.02  | 4.44  | 1.68  | 7.67  | 5.76  | 7.68  | 6.37  | 1.90  | 9.41  | 2.86  | 8.05     |
| CV, %       | 3.20  | 5.17  | 2.01  | 10.01 | 8.65  | 9.96  | 9.11  | 2.49  | 12.86 | 3.76  | 10.33    |

Anexo 10. Determinación de pH del suelo *in situ*

Tabla 19

*Determinación de pH del suelo in situ mediante pH metro HANNA (HI81030), según tratamiento y días de muestreo (10 campañas)*

| Campañas    | C0    | C1    | C2    | C3    | C4    | C5    | C6     | C7     | C8     | C9     | C10    | Promedio general<br>Día 1-34 |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|------------------------------|
| Tratamiento | Día 0 | Día 1 | Día 3 | Día 5 | Día 7 | Día 9 | Día 11 | Día 13 | Día 20 | Día 27 | Día 34 |                              |
| 1C          | 5.80  | 5.90  | 5.98  | 6.07  | 6.07  | 6.23  | 5.88   | 5.64   | 5.99   | 5.95   | 5.97   |                              |
| 2C          | 5.70  | 5.94  | 5.96  | 5.98  | 6.01  | 5.81  | 5.95   | 5.72   | 5.32   | 5.84   | 5.58   |                              |
| 3C          | 6.08  | 6.15  | 6.17  | 6.20  | 5.89  | 5.79  | 5.77   | 5.75   | 5.50   | 5.62   | 5.56   |                              |
| Promedio    | 5.86  | 6.00  | 6.04  | 6.08  | 5.99  | 5.94  | 5.86   | 5.70   | 5.60   | 5.80   | 5.70   | 5.87                         |
| SD          | 0.20  | 0.13  | 0.12  | 0.11  | 0.09  | 0.24  | 0.09   | 0.05   | 0.35   | 0.17   | 0.23   | 0.16                         |
| CV, %       | 3.36  | 2.19  | 1.92  | 1.82  | 1.52  | 4.12  | 1.59   | 0.95   | 6.19   | 2.90   | 4.05   | 2.77                         |
| 1U          | 6.26  | 6.65  | 6.85  | 7.05  | 6.83  | 6.71  | 6.47   | 6.69   | 6.97   | 7.12   | 7.04   |                              |
| 2U          | 6.00  | 7.21  | 7.03  | 6.85  | 6.68  | 6.74  | 6.66   | 6.46   | 6.88   | 6.96   | 6.92   |                              |
| 3U          | 5.80  | 7.35  | 7.19  | 7.04  | 6.59  | 6.51  | 6.76   | 6.43   | 6.35   | 6.58   | 6.46   |                              |
| Promedio    | 6.02  | 7.07  | 7.02  | 6.98  | 6.70  | 6.65  | 6.63   | 6.52   | 6.73   | 6.89   | 6.81   | 6.80                         |
| SD          | 0.23  | 0.37  | 0.17  | 0.11  | 0.12  | 0.13  | 0.15   | 0.14   | 0.33   | 0.28   | 0.31   | 0.18                         |
| CV, %       | 3.83  | 5.23  | 2.46  | 1.57  | 1.82  | 1.88  | 2.26   | 2.15   | 4.94   | 4.07   | 4.48   | 2.70                         |
| 1U+A1       | 6.08  | 7.64  | 7.56  | 7.48  | 7.36  | 7.28  | 7.13   | 7.27   | 7.15   | 7.17   | 7.16   |                              |
| 2U+A1       | 5.92  | 7.81  | 7.64  | 7.46  | 7.05  | 7.07  | 7.07   | 6.92   | 7.06   | 7.17   | 7.12   |                              |
| 3U+A1       | 6.33  | 6.60  | 6.87  | 7.14  | 7.12  | 7.11  | 7.08   | 6.80   | 6.95   | 7.19   | 7.07   |                              |
| Promedio    | 6.11  | 7.35  | 7.36  | 7.36  | 7.18  | 7.15  | 7.09   | 6.99   | 7.05   | 7.18   | 7.11   | 7.18                         |
| SD          | 0.21  | 0.66  | 0.42  | 0.19  | 0.16  | 0.11  | 0.03   | 0.24   | 0.10   | 0.01   | 0.04   | 0.13                         |
| CV, %       | 3.39  | 8.91  | 5.73  | 2.59  | 2.28  | 1.53  | 0.48   | 3.46   | 1.42   | 0.18   | 0.62   | 1.83                         |
| 1U+A2       | 6.21  | 7.78  | 7.76  | 7.74  | 7.56  | 7.53  | 7.51   | 7.54   | 7.22   | 7.47   | 7.34   |                              |
| 2U+A2       | 5.91  | 8.18  | 7.88  | 7.59  | 7.79  | 7.57  | 7.46   | 7.15   | 7.30   | 7.48   | 7.39   |                              |
| 3U+A2       | 5.55  | 7.51  | 7.61  | 7.71  | 7.75  | 7.74  | 7.32   | 7.24   | 7.45   | 7.58   | 7.51   |                              |
| Promedio    | 5.89  | 7.82  | 7.75  | 7.68  | 7.70  | 7.61  | 7.43   | 7.31   | 7.32   | 7.51   | 7.41   | 7.55                         |
| SD          | 0.33  | 0.34  | 0.14  | 0.08  | 0.12  | 0.11  | 0.10   | 0.20   | 0.12   | 0.06   | 0.09   | 0.18                         |
| CV, %       | 5.61  | 4.31  | 1.78  | 1.03  | 1.60  | 1.41  | 1.30   | 2.78   | 1.59   | 0.81   | 1.19   | 2.43                         |

Anexo 11. Determinación de nitrato y amonio de las parcelas experimentales a partir de muestras de suelo

Tabla 20

*Concentración de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) en ppm del suelo según tratamiento y días de muestreo*

| Campañas                               | Días | Tratamientos |      |      |      |
|--|------|--------------|------|------|------|
|  |      | C            | U    | U+A1 | U+A2 |
| Concentración de nitrato inicial (ppm) |      |              |      |      |      |
| Pre. Exp.                              | 0    | 8.16         | 7.84 | 8.31 | 8.10 |
|  |      | Promedio     | 8.10 | SD   | 0.19 |

| Campañas   | Días     | Tratamientos |       |       |       |
|--|----------|--------------|-------|-------|-------|
|  |          | C            | U     | U+A1  | U+A2  |
| Concentración de nitrato después de la orina (ppm) |          |              |       |       |       |
| C1   | 1        | 9.32         | 26.40 | 49.23 | 41.45 |
| C2   | 3        | 7.84         | 15.62 | 34.24 | 28.50 |
| C3   | 5        | 6.37         | 7.84  | 19.25 | 15.55 |
| C4   | 7        | 7.67         | 15.70 | 30.02 | 25.08 |
| C5   | 9        | 7.52         | 15.07 | 27.84 | 22.86 |
| C6   | 11       | 7.38         | 14.44 | 22.94 | 19.28 |
| C7   | 13       | 7.23         | 16.83 | 19.51 | 15.17 |
| C8   | 20       | 7.09         | 13.51 | 17.98 | 17.72 |
| C9   | 27       | 6.94         | 8.53  | 10.45 | 8.02  |
| C10  | 34       | 7.13         | 7.24  | 8.18  | 6.36  |
|  | Promedio | 7.45         | 14.12 | 23.96 | 20.00 |
|  | SD       | 0.78         | 5.60  | 12.05 | 10.24 |
|  | Cv, %    | 10.42        | 39.66 | 50.28 | 51.22 |

Tabla 21

*Concentración de amonio ( $NH_4^+$ ) en ppm del suelo según tratamiento y días de muestreo*

| Campañas  | Días     | Tratamientos |       |        |       |
|---|----------|--------------|-------|--------|-------|
|   |          | C            | U     | U+A1   | U+A2  |
| Concentración de amonio inicial (ppm)             |          |              |       |        |       |
| Pre. Exp.   | 0        | 53.20        | 43.71 | 45.85  | 44.90 |
|   |          | Promedio     | 46.91 | SD     | 4.28  |
| Campañas  | Días     | Tratamientos |       |        |       |
|   |          | C            | U     | U+A1   | U+A2  |
| Concentración de amonio después de la orina (ppm) |          |              |       |        |       |
| C1  | 1        | 49.00        | 82.13 | 118.27 | 70.93 |
| C2  | 3        | 44.80        | 46.61 | 68.08  | 50.76 |
| C3  | 5        | 44.80        | 52.27 | 41.07  | 29.87 |
| C4  | 7        | 42.67        | 46.81 | 58.29  | 45.02 |
| C5  | 9        | 40.53        | 45.21 | 51.95  | 42.04 |
| C6  | 11       | 38.40        | 43.60 | 41.68  | 35.37 |
| C7  | 13       | 36.27        | 48.53 | 37.33  | 29.87 |
| C8  | 20       | 34.14        | 18.67 | 22.40  | 18.67 |
| C9  | 27       | 32.00        | 18.67 | 18.67  | 14.93 |
| C10   | 34       | 29.87        | 25.10 | 13.00  | 15.29 |
|   | Promedio | 39.25        | 42.76 | 47.07  | 35.27 |
|   | SD       | 6.20         | 18.81 | 30.54  | 17.64 |
|   | CV, %    | 15.80        | 43.99 | 64.89  | 50.00 |



## Panel fotográfico para cada procedimiento

### Anexo 12. Determinación del área de estudio en las instalaciones del INIA – Illpa, Puno



*Figura 28.* Delimitación del área de estudio mediante cinta métrica



*Figura 29.* Muestreo de suelo para caracterización del área de estudio

### Anexo 13. Preparación del área de estudio INIA – Illpa, Puno



*Figura 30.* Corte de la alfalfa  $\leq$  a 5 cm de altura con sierra de disco rotatorio



*Figura 31.* Recolección de la alfalfa cortada para retirarlo del área de estudio

### Anexo 14. Instalación de la estación meteorológica para medir temperatura



*Figura 32.* Designación del lugar para instalar la estación meteorológica



*Figura 33.* Instalación de dispositivos para control de temperatura y humedad





*Figura 34.* Instalación de la sonda de temperatura a 10 cm del suelo



*Figura 35.* Estación meteorológica instalada con sensores de temperatura

Anexo 15. Diseño y construcción de la cámara estática cerrada



*Figura 36.* Corte de tubería PVC en cilindros de 30 cm



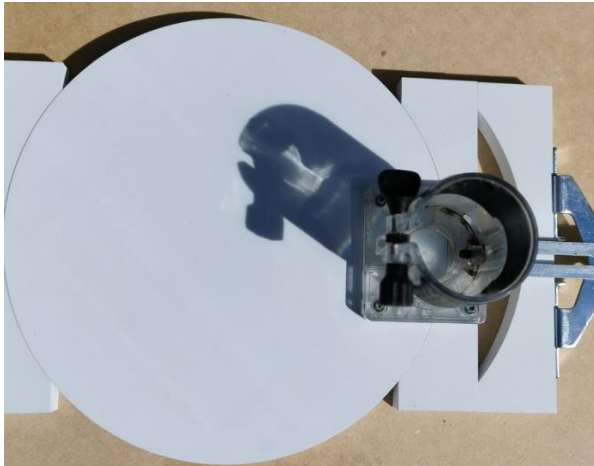
*Figura 37.* Formación de bisel con fresa de corte con inclinación de 11.25°



*Figura 38.* Construcción de cerrojos a presión tipo clips



*Figura 39.* Formación de empaque de silicona en el canal de la tapa (cara interna)



*Figura 40.* Formación de ranuras para fijación de cerrojos a presión (cara externa)



*Figura 41.* Perforación de la tapa mediante taladro de mesa



*Figura 42.* Piezas de sujeción para el ventilador (tornillos de 8x1/4)



*Figura 43.* Vista de perfil de la tapa con todos sus componentes instalados

#### Anexo 16. Obtención de la ceniza de madera



*Figura 44.* Selección de la madera para la obtención de ceniza



*Figura 45.* Ceniza de madera con residuos de carbón no combustionado





*Figura 46.* Tamizado de la ceniza de madera



*Figura 47.* Obtención final de la ceniza de madera (pH: 11.2)

Anexo 17. Construcción del colector de orina

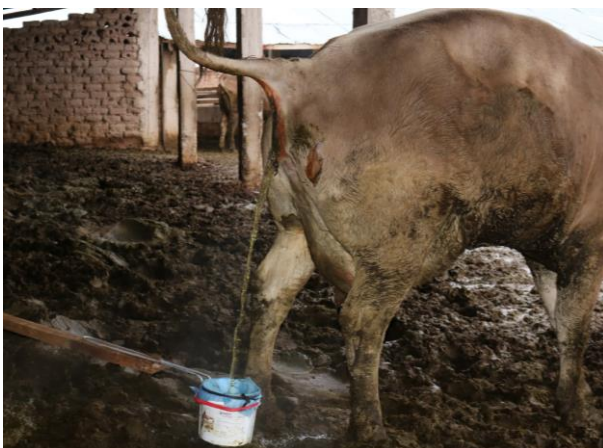


*Figura 48.* Soporte metálico para coleccionar orina



*Figura 49.* Valde de PVC de 5 L sujetado al soporte metálico

Anexo 18. Colección de orina de vacas lecheras Brown Swiss



*Figura 50.* Colección de orina de vaca en horas de la mañana



*Figura 51.* Medición del volumen de orina excretado





*Figura 52.* Muestreo de orina de vacas lecheras en alícuotas de 100 mL



*Figura 53.* Muestras de orina para análisis laboratorial

#### Anexo 19. Aplicación de ceniza de madera antes de la instalación de las cámaras estáticas



*Figura 54.* Aplicación de ceniza de madera en las parcelas experimentales



*Figura 55.* Parcela experimental con ceniza de madera esparcida en la superficie

#### Anexo 20. Instalación de las cámaras estáticas en las parcelas experimentales



*Figura 56.* Inserción de la cámara estática a  $\geq 5$  cm del suelo con ayuda de un combo



*Figura 57.* Nivelación de la cámara estática





*Figura 58.* Cámara estática instalada en el centro de la parcela experimental



*Figura 59.* Distribución e instalación de las cámaras estáticas

Anexo 21. Aplicación de los parches de orina (1L) según el tratamiento correspondiente



*Figura 60.* Medición del volumen de orina de vacas lecheras en probetas



*Figura 61.* Distribución de los parches de orina en probetas (1L) según tratamientos



*Figura 62.* Adición del parche de orina en la cámara espejo



*Figura 63.* Adición del parche de orina en la cámara estática



### Anexo 22. Formación de vacío de los viales mediante sistema de vacío



Figura 64. Sistema de vacío para viales



Figura 65. Bomba de vacío CPS 1/4 HP



Figura 66. Monitoreo de la presión negativa del circuito mediante manómetro

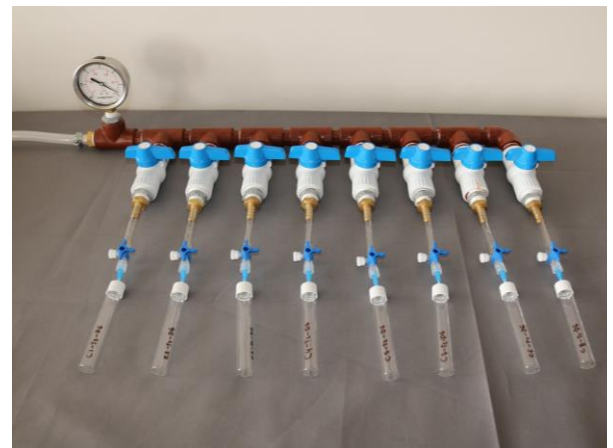


Figura 67. Rotulado de los viales

### Anexo 23. Demostración de vacío de los viales mediante prueba de agua



Figura 68. Demostración de vacío mediante la prueba de agua



Figura 69. Absorción de agua del vial hasta formar una pequeña burbuja de aire



### Anexo 24. Muestreo de aire del interior de las cámaras y almacenamiento en los viales

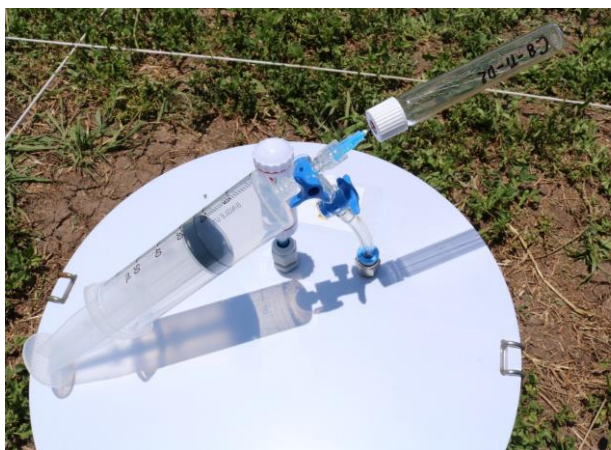


Figura 70. Extractor de muestra de aire conectado al vial



Figura 71. Inyección de la muestra de aire en el interior del vial



Figura 72. Muestreo de aire para inyectar en el interior de los viales



Figura 73. Georreferenciación del lugar de estudio

### Anexo 25. Manteamiento del crecimiento de la alfalfa $\leq$ a 5 cm de la superficie del suelo



Figura 74. Mantenimiento del área experimental  $\leq$  a 5 cm de altura (alfalfa)



Figura 75. Parcela experimental luego del corte de alfalfa  $\leq$  a 5 cm del nivel del suelo



Anexo 26. Muestreo de suelo para determinar los parámetros fisicoquímicos de las parcelas experimentales



Figura 76. Materiales y herramientas para la toma de muestras de suelo



Figura 77. Muestreo de suelo para análisis fisicoquímico

Anexo 27. Medición de pH, conductividad eléctrica (CE) y temperatura del suelo.



Figura 78. Medición de pH y CE del suelo (Pre experimental)



Figura 79. Medición de pH del suelo con pH metro HANNA (HI81030)



Figura 80. Calibración de pH metro antes del monitoreo en campo



Figura 81. Monitoreo de pH de las parcelas experimentales post tratamiento



### Anexo 28. Análisis y procesamiento de muestras de suelo para determinar los parámetros fisicoquímicos



*Figura 82.* Laboratorio de Nutrición Animal, FMVZ – UNA Puno



*Figura 83.* Conservación de muestras de suelo en refrigeración



*Figura 84.* Pesado de muestras de suelo para determinar humedad gravimétrica



*Figura 85.* Preparación de bolsas de papel para determinar la humedad del suelo

### Anexo 29. Determinación de nitrógeno total de la orina por el método micro Kjeldahl



*Figura 86.* Alícuota de 5 mL de orina para determinar nitrógeno total por el método micro Kjeldahl



*Figura 87.* Adición de la solución digestora 3.5 mL (Ácido sulfúrico)



*Figura 88.* Digestor Kjeldahl para digestión de muestras de orina



*Figura 89.* Destilación y titulación de muestras con el equipo Kjeldahl

Anexo 30. Determinación de materia orgánica (MO) a partir de muestras de suelo



*Figura 90.* Crisoles cargados con muestras de suelo seco para determinar MO



*Figura 91.* Crisoles con muestras de suelo en el interior de la mufla para incineración a 650 °C por 3 horas



*Figura 92.* Crisoles con suelo incinerado



*Figura 93.* Suelo incinerado a 650 °C



### Anexo 31. Determinación del gas óxido nitroso (ppm) por cromatografía de gases



*Figura 94.* Organización de los viales con muestras de aire para transporte aéreo



*Figura 95.* Traslado aéreo de las muestras hasta el Laboratorio



*Figura 96.* Vista frontal del cromatógrafo de gases de la marca (Agilent 7890 A)



*Figura 97.* Vista interna del cromatógrafo de gases (Agilent 7890 A)

### Anexo 32. Inyección manual de muestras de aire al cromatógrafo de gases



*Figura 98.* Extracción de 11 mL de muestra de aire para análisis



*Figura 99.* Conexión de la jeringa para inyectar la muestra al cromatógrafo

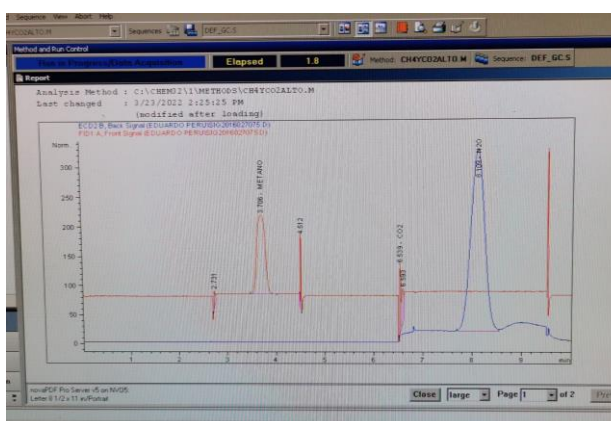


*Figura 100.* Inyección de muestra en el cromatógrafo de gases

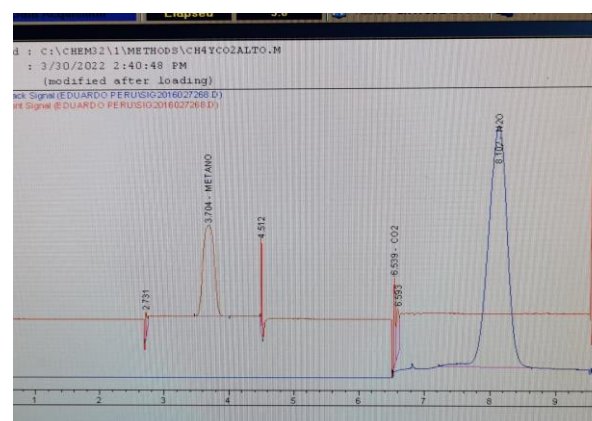


*Figura 101.* Pulsando el botón star del cromatógrafo, para iniciar el análisis

Anexo 33. Supervisión de los picos cromatográficos y registro de resultados



*Figura 102.* Reporte de los picos cromatográficos



*Figura 103.* Supervisión de picos cromatográficos para validar el análisis



*Figura 104.* Registro de resultados del cromatógrafo de gases (N<sub>2</sub>O ppm)



*Figura 105.* Grupo de Físicoquímica Ambiental IFAS, EXA, UNICEN – Tandil, Argentina