



**Universidad de Los Andes  
Facultad de Ciencias  
Departamento de Química  
Laboratorio de Investigaciones en Análisis Químico, Industrial y Agropecuario**

## **Trabajo especial de grado**

**Evaluación de la mineralización del carbono orgánico en un  
suelo cultivado con cacao**

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

**Br.: Moraima Perozo.  
Tutor. Prof. Alexis Zambrano  
Cotutor. Lcdo. Eduylson Hernández**

**Mérida, junio de 2024**

# ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
REVISIÓN DE LA LITERATURA .....	
El suelo .....	4
Perfil de suelo.....	5
Propiedades del suelo .....	5
Propiedades físicas:.....	5
Propiedades químicas: .....	5
Propiedades biológicas.....	6
Materia orgánica del suelo.....	6
El ciclo del carbono .....	6
Fotosíntesis .....	7
Respiración.....	7
Secuestro de carbono. ....	7
Relación entre los bosques de cacao y el secuestro de carbono.....	8
Método empleado para la determinación del COS.....	9
Aspectos cuantitativos de las medidas espectroquímicas.....	13
Curvas o gráficas analíticas. ....	14
Media: .....	15
Desviación estándar .....	15
Coeficiente de variación (CV):.....	16
Tasa de variación acumulada .....	16
HIPÓTESIS.....	23
Objetivo general.....	23
Objetivos específicos.....	23
CARACTERÍSTICAS DEL ÁREA EN ESTUDIO .....	24
DESARROLLO EXPERIMENTAL .....	25
Toma de muestras.....	25
Determinación de textura .....	25
Determinación del pH .....	26

Determinación de la conductividad eléctrica ce ( $\mu\text{S}$ ).....	26
Determinación del tamaño de partículas de los agregados del suelo .....	26
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	30
Determinación de las variables fisicoquímicas del suelo estudiado.....	30
Evaluación de método para la determinación de carbono por el método Walkley-Black modificado (1947). .....	31
Comparación de las concentraciones de carbono al variar el volumen de ácido sulfúrico utilizado en el proceso de digestión de la materia orgánica.....	31
Evaluación de las medidas de absorbancia en una muestra tamizada a diferentes tamaños de partículas para determinar posibles interferencias físicas en las medidas espectrofotométricas. ....	33
Evaluación del carbono almacenado en el suelo en las diferentes parcelas demostrativas del campo experimental San Juan de Lagunillas.....	35
Evaluación de la acumulación de carbono en el suelo en función del tamaño de partícula .....	38
Evaluación de la acumulación de carbono en la fracción de suelo de 2000 $\mu\text{m}$ en el período de 5 años para las parcelas cultivadas con cacao. ....	40
Evaluación de la acumulación de carbono en la fracción de suelo de 53 $\mu\text{m}$ en el período de 5 años para las parcelas cultivadas con cacao. ....	43
Evaluación de la tasa de variación interanual de carbono en la fracción de suelo de 53 $\mu\text{m}$ en el período de 5 años (2014-2018) para el suelo cultivado con cacao.....	44
Evaluación de la tasa de variación acumulada de carbono en la fracción de suelo de 53 $\mu\text{m}$ en el período de 4 años (2015-2018) para el suelo cultivado con cacao.....	44
Evaluación de la tasa de variación interanual de la concentración de carbono en el cultivo de cacao para el período (2014-2018), para la fracción de 2000 $\mu\text{m}$ . ....	45
Evaluación del almacenamiento de carbono ( $\text{tC/ha}$ ) en el suelo cultivado con cacao, respecto a la parcela control o suelo en barbecho, para los diferentes años de estudio, con tamaño de partícula de 2000 $\mu\text{m}$ . ....	46
CONCLUSIONES.....	49
BIBLIOGRAFÍA.....	51
ANEXOS .....	55

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Composición del suelo (adaptado de Plaster, 2009).....	4
Figura 2. Horizontes del suelo, (tomado de Collazo <i>et al.</i> , 2012) .....	5
Figura 3. Ciclo del carbono.....	7
Figura 4. Espectro electromagnético (Escobar, 2019) .....	11
Figura 5. Componentes de un espectrofotómetro (adaptado de Cabrera 2013).....	12
Figura 6. Intervalo lineal de un método analítico (Skoog <i>et al.</i> ; 2001).....	15
Figura 7. Ubicación relativa del Campo Experimental San Juan de Lagunillas del INIA-MÉRIDA.....	24
Figura 8. Procedimiento experimental para determinar la distribución de agregados por tamaños de partículas (adaptado de Márquez <i>et al.</i> , 2004).....	27
Figura 9. Procedimiento para la determinación de carbono, según el método de Walkley y Black modificado (1947) .....	28
Figura 10. Procedimiento para la preparación de la curva de calibración.....	28
Figura 11. Análisis de curvas de calibración a diferentes volúmenes de Ácido sulfúrico concentrado.....	31
Figura 12. Cantidad de carbono (t/ha) en función del tiempo (2014-2018) a diferentes tamaños de partículas (53, 250, 500, 1000 y 2000 $\mu\text{m}$ ) para cada una de las parcelas estudiadas.....	35
Figura 13. Evaluación del contenido de carbono (t/ha) a diferentes tamaños de partícula del suelo.....	39
Figura 14. Cantidad de carbono en las diferentes parcelas cultivadas con cacao del Campo Experimental San Juan de Lagunillas del INIA- Mérida (2014-2018). Con tamaño de partícula de 2000 $\mu\text{m}$ .....	41
Figura 15. Cantidad de carbono en las diferentes parcelas cultivadas con cacao, con tamaño de partícula de 53 $\mu\text{m}$ .....	43
Figura 16. Tasa de variación interanual de carbono en la fracción del suelo de 53 $\mu\text{m}$ , para el periodo de tiempo 2014-2018, en las parcelas cultivadas con cacao.....	44
Figura 17. Tasa de variación acumulada de carbono en la fracción del suelo de 53 $\mu\text{m}$ , para el periodo de tiempo 2015-2018, en las parcelas cultivadas con cacao.....	45
Figura 18. Tasa de variación interanual de carbono en la fracción del suelo de 2000 $\mu\text{m}$ , para el periodo de tiempo 2014-2018, en SAF con cacao del Campo Experimental San Juan de Lagunillas	46

.....  
 Figura 19. Evaluación del almacenamiento de carbono (t/ha) en el suelo cultivado con cacao del Campo Experimental San Juan de Lagunillas - Mérida respecto a la parcela control, para los diferentes años de estudio..... 47

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rango de longitudes de ondas donde absorben los compuestos coloreados en la región visible, adaptado de Millán, 2016.....	12
Tabla 2. Estudios de la textura de las diferentes parcelas.....	30
Tabla 3. Estudios de algunas propiedades químicas de las diferentes parcelas.....	30
Tabla 4. Absorbancias obtenidas para las muestras de suelo al variar el volumen de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	32
Tabla 5. Concentración de carbono (%C) obtenido para las muestras de suelo al variar el volumen de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	32
Tabla 6. LOD y LOQ obtenido para el método al variar el volumen de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	34
Tabla 7. Medidas de absorbancia (Abs) en una muestra de suelo, tamizado a diferentes tamaños de partículas evaluadas sin centrifugar y después de centrifugar.....	34
Tabla 8. Efecto del uso de la centrífuga en la determinación del % C en muestras de suelo.....	

## RESUMEN

El presente estudio evaluó el contenido de carbono orgánico en suelos (COS) cultivados con cacao con sombra permanente, establecido como sistema agroforestal (SAF), y se comparó con un suelo en barbecho, en el Campo Experimental San Juan de Lagunillas, municipio Sucre del Estado Mérida.

Este SAF con cacao es un banco de germoplasma de los cacaos criollos de la zona occidental de Venezuela.

Para este estudio se estableció seis parcelas cultivadas con cacao y una parcela en barbecho, para las cuales se obtuvo la concentración de COS en diferentes fracciones (2000, 1000, 500, 250 y 53  $\mu\text{m}$ ) para un periodo de 5 años. La evaluación del contenido de carbono en el suelo se realizó por el método de Walkley-Black (1947) al cual se le realizaron modificaciones, donde se disminuyó el volumen de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado de 4 mL a 2 mL usado durante el proceso de digestión de la materia orgánica; además se incorporó el uso de una centrifuga antes de la determinación colorimétrica de las muestras de suelo.

Con el objeto de evaluar los cambios temporales que ocurren en la concentración de carbono en las diferentes fracciones de suelo en las parcelas estudiadas, se efectuó un análisis estadístico ANOVA de medidas repetidas, con un nivel de confianza del 95 %. Obteniendo un  $P < 0.05$  que indica que el contenido de carbono difiere entre las parcelas y entre los años de estudio; sin embargo, la interacción año - tamaño de partícula o parcela - tamaño de partícula no presenta diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0.05$ ), esto significa que independientemente de la parcela o del año de muestreo, el contenido de carbono es mayor en las partículas de menor tamaño (53  $\mu\text{m}$ ).

El carbono se almacena en mayor cantidad en las fracciones de suelo de menor tamaño (53  $\mu\text{m}$ ) disminuyendo su concentración a medida que aumenta el tamaño de los agregados.

Se obtuvo una mayor concentración de carbono en los SAF con cacao en comparación con el suelo en barbecho, donde se estimó un valor desde 48,24 tC/ha hasta 59,36 tC/ha para el cultivo de cacao, mientras que el suelo en barbecho se determinó un valor mínimo en 22,56 tC/ha hasta 54,25 tC/ha. Obteniendo una tasa de acumulación de carbono promedio para el campo cultivado con cacao de forma general entre 2 y 5 tC/ha/año. Los SAF con cacao retienen mayor cantidad de C que un suelo en barbecho y pueden funcionar como sumidero de carbono a largo plazo.

## INTRODUCCIÓN

Los últimos informes sobre el cambio climático que sufre nuestro planeta, han dado la voz de alarma sobre las consecuencias del calentamiento global, principalmente por la acumulación de gases de efecto invernadero (GEI). Los principales gases que provocan este efecto son, el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), el metano ( $\text{CH}_4$ ), el ozono ( $\text{O}_3$ ) y los óxidos de nitrógeno ( $\text{NO}_x$ ).

Los (GEI) presentes en la atmósfera, tienen la capacidad de absorber y retener la radiación infrarroja generada por la radiación solar y emitida por las nubes, por la propia atmósfera o por la superficie de la tierra. Así, el aumento de la concentración de estos gases, genera un incremento de la capacidad infrarroja de la atmósfera.

La Organización Meteorológica Mundial y el Programa de Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente crearon en 1988 el Grupo Intergubernamental de expertos sobre el Cambio Climático (IPCC), el cual trata de evaluar de manera integral los conocimientos científicos, técnicos y socioeconómicos sobre el cambio climático. A través de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC), en 2005 entró en vigor el Protocolo de Kioto, el cual es un acuerdo en el que 156 naciones entre ellas Venezuela, se comprometieron a obtener inventarios de sus emisiones de GEI y a reducirlos en un 5,2 % tomando como referencia las emisiones de 1990.

Uno de los gases de efecto invernadero que causa mayor preocupación por su alta concentración en la atmósfera y además por su estabilidad, considerándose un gas de efecto invernadero de vida prolongada es el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), siendo el principal contribuyente al calentamiento global. Es por ello que la mitigación de este gas ha recibido una mayor atención.

Los suelos representan el mayor reservorio de carbono en nuestro planeta, por esta razón ha sido tema de investigación, ya que constituye un elemento clave en el ciclo global del carbono.

El secuestro de carbono en los suelos ha sido una estrategia planteada por el protocolo de Kioto para disminuir la concentración de  $\text{CO}_2$  en la atmósfera.

Dentro del contexto del Protocolo de Kioto y las subsiguientes discusiones de la Conferencia de las Partes (COP), hay un cierto número de características que hacen que los suelos agrícolas y forestales estén entre los mayores depósitos de carbono del planeta y tengan potencial para expandir el secuestro de carbono y de esta manera mitigar la creciente concentración atmosférica de  $\text{CO}_2$ .

Recientemente se realizan estudios de captura de carbono orgánico en el suelo (COS), principalmente en sistemas de uso de la tierra, sistemas forestales y agroforestales. Todas las plantas, en especial los árboles (por su tamaño, por su gran biomasa y su capacidad de crear madera), a través de la fotosíntesis, absorben el CO<sub>2</sub> y lo fijan en las ramas, los troncos o en las hojas, en forma de carbono, que luego pasará al suelo por medio de la descomposición. Pese a que los árboles también emiten CO<sub>2</sub> (en la “respiración”), el balance es positivo, ya que las plantas absorben mucho más CO<sub>2</sub> del que emiten.

Este trabajo tiene como propósito, evaluar el efecto de un suelo cacaotero como alternativa para mitigar el impacto del cambio climático, mediante su capacidad de captura y mineralización del carbono. Para ello se seleccionó el Campo Experimental San Juan de Lagunillas, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) en el municipio Sucre del estado Mérida, donde se encuentra una plantación de cacao bajo sombra, el cual es un banco de germoplasma de cacao de la zona occidental del país.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)



## MARCO TEÓRICO

### El suelo

Los suelos deben considerarse como formaciones geológicas naturales desarrolladas bajo condiciones diversas de clima y material de origen, lo cual justifica su continua evolución y, en consecuencia, su gran variedad (Navarro y Navarro, 2003).

Desde un punto de vista general, el suelo es la cobertura más externa de la superficie terrestre que proporciona nutrientes, agua, oxígeno y sustento mecánico a las plantas a través de las raíces (Munita, 2001). Aunado a ser una fuente de alimento para los seres vivos de forma directa o indirecta (a través de las plantas), también tiene un gran potencial como sumidero o reservorio de carbono.

#### 1.1.1. Composición del suelo

El suelo presenta en su interior tres fases: sólida, líquida y gaseosa (Porta *et al.*, 2008) que interactúan íntimamente entre ellas. Las fases líquida y gaseosa se encuentran en el espacio poroso en una proporción de 25% cada una, mientras la fase sólida, está dividida en compuestos inorgánicos (45%) y materia orgánica (5%), la cual está formada por una mezcla de restos vegetales y animales en diferente grado de descomposición (Casas, 2011); a pesar de que tiene una pequeña contribución en la composición del suelo, tiene gran influencia en sus propiedades y en el almacenamiento de carbono en la biósfera.

La composición del suelo se presenta en la Figura 1.

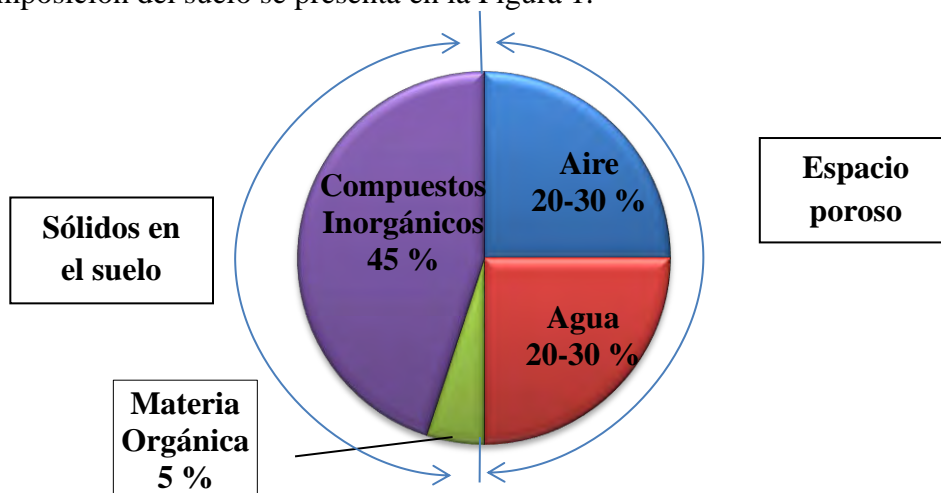


Figura 1. Composición del suelo (adaptado de Plaster, 2009).

La proporción en la que se encuentren estos componentes le confiere al suelo propiedades físicas, químicas y biológicas que marcan la diferencia entre un suelo y otro.

### Perfil de suelo

Según Collazo *et al.* (2012), un perfil de suelo es un corte o sección vertical del mismo y está conformado por seis capas u horizontes que van desde la superficie hasta la roca madre. Estas capas se denominadas de la siguiente manera; horizonte O (superficie o capa orgánica), horizonte A (capa superficial mineral), horizonte E (capa de infiltración), horizonte B (zona de acumulación), horizonte C (material rocoso) y horizonte R (roca madre), tal como se presentan en la Figura 2.

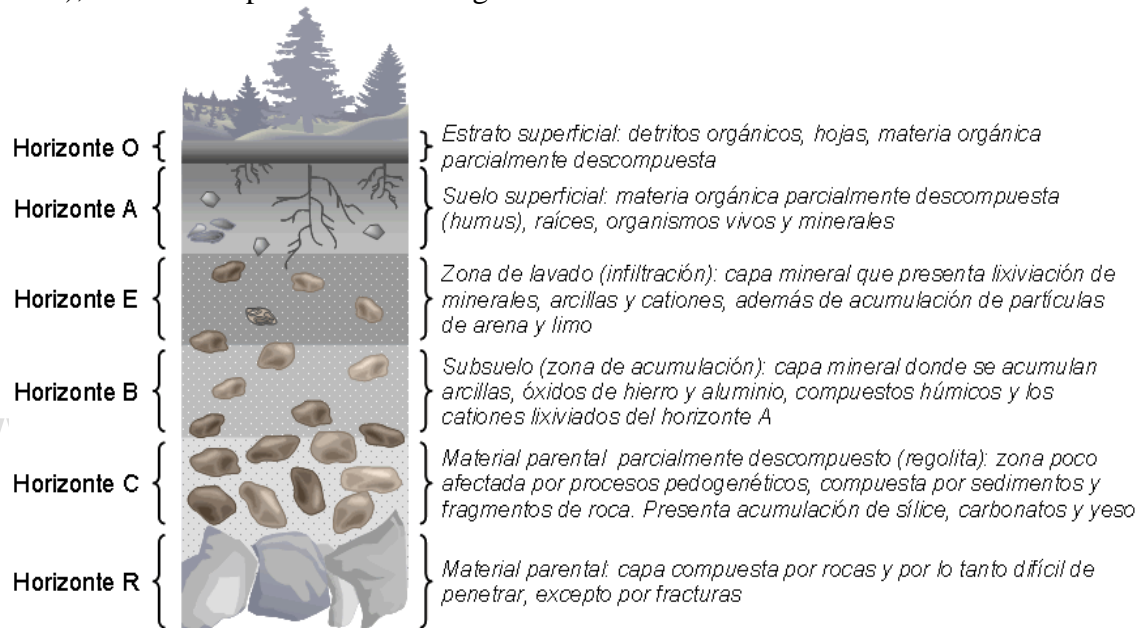


Figura 2. Horizontes del suelo, (tomado de Collazo *et al.*, 2012).

### Propiedades del suelo

➤ **Propiedades físicas:** determinan en gran medida, la capacidad de uso del suelo. La condición física de un suelo, determina la rigidez y la fuerza de sostenimiento, la facilidad para la penetración de las raíces, la aireación, la capacidad de drenaje y de almacenamiento de agua, la plasticidad, y la retención de nutrientes (Rucks *et al.*, 2004). Algunas propiedades de este tipo son: profundidad, textura, porosidad, estructura, color, densidad aparente y real, constante de humedad.

➤ **Propiedades químicas:** según Jaramillo (2002), determinan la dinámica de los nutrientes y el estado de fertilidad del suelo las cuales permiten precisar la existencia,

contenido y disponibilidad de nutrientes y, por ende, establecer si puede desarrollarse o no un determinado cultivo. Dentro de este tipo de propiedades se encuentran: capacidad de intercambio catiónico y aniónico, reacción del suelo (pH), capacidad amortiguadora, conductividad eléctrica (CE).

➤ **Propiedades biológicas:** están asociadas a los procesos de degradación de la materia orgánica y formación de los compuestos orgánicos específicos, de las rocas y minerales, por medio de los microorganismos y vegetales superiores (Seoánez, 2000). Por tanto, las propiedades biológicas están involucradas en el desarrollo de los procesos geoquímicos dentro del ecosistema (Campbell y Reece, 2007). Dentro de las propiedades biológicas se encuentran: la biomasa microbiana, la respiración edáfica y las actividades enzimáticas. El conjunto de las propiedades del suelo determina la dinámica de la materia orgánica y el flujo de C en la biosfera terrestre.

### **Materia orgánica del suelo**

La materia orgánica del suelo está constituida por un conjunto de sustancias que poseen carbono en su composición, donde la producción de las formas más estables, es el resultado de una serie de reacciones físicas, químicas y biológicas que conducen al comúnmente denominado “humus”. Dicha materia orgánica tiene una composición muy compleja, heterogénea y generalmente asociada con los constituyentes minerales del suelo (Zambrano, 2005). A partir de la materia orgánica depositada en el suelo y por acción de los microorganismos que participan en su degradación, se convierte en compuestos de carbono más estables que conllevan a la mineralización del mismo, así el carbono mineralizado pasara más tiempo retenido en el suelo, evitando el flujo de carbono como CO<sub>2</sub> a la atmosfera, siempre y cuando el ecosistema no sea perturbado.

### **El ciclo del carbono**

El flujo del carbono está determinado por un ciclo biogeoquímico por el que se intercambia carbono entre la atmósfera, la hidrosfera (incluyendo, océanos, organismos marítimos, materia no viva y el carbono inorgánico disuelto), la biosfera terrestre (incluyendo agua dulce, carbono del suelo y biomasa) y la litosfera (incluyendo sedimentos y combustibles fósiles). Los movimientos de carbono entre estos cuatro reservorios o depósitos ocurren debido a procesos químicos, biológicos, físicos y geológicos. Dentro de ese único ciclo de carbono, se pueden dividir dos espacios que interactúan: uno geológico o lento y otro, biológico, mucho más rápido. En la figura 3. Se muestra un esquema ilustrativo del ciclo del carbono.

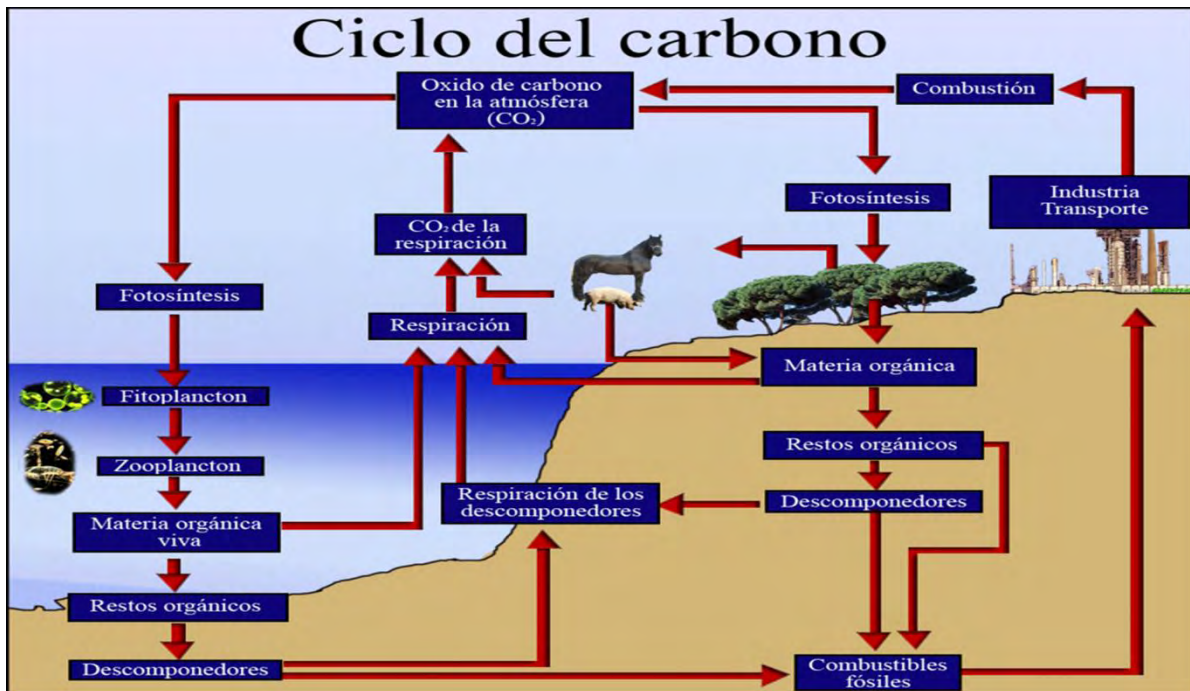


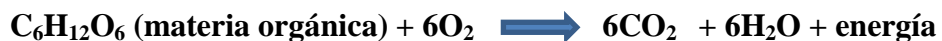
Figura 3. Ciclo del carbono.

En el ciclo biológico, los flujos entre la biosfera terrestre, los océanos y la atmósfera (la litosfera quedaría incluida en el ciclo geológico), ocurren mediante procesos de fotosíntesis y respiración, las cuales se explican mediante las siguientes reacciones:

#### Fotosíntesis



#### Respiración



#### Secuestro de carbono.

El "Secuestro de Carbono" se define como la remoción de CO<sub>2</sub> de la atmósfera y su almacenamiento en sumideros.

Como se mencionó anteriormente, el carbono del planeta fluye en un ciclo que está en equilibrio permanente. Las constantes emisiones de CO<sub>2</sub> han desplazado dicho equilibrio y de ahí provienen los efectos del cambio climático. Pero, el ciclo del carbono, al ser otro equilibrio, no es absoluto e irreversible y, por lo tanto, se puede desplazar el equilibrio del ciclo del carbono para que el exceso de CO<sub>2</sub> presente en la atmósfera pase al suelo, a los

océanos o a algunos seres vivos y que una vez allí, sea retenido. De esta forma se extrae el carbono del ciclo y se disminuyen así los efectos de acumulación del exceso de CO<sub>2</sub> en la atmósfera, puesto que la fuente del carbono que se va a retener proviene del CO<sub>2</sub> atmosférico.

El Protocolo de Kioto acepta el uso de ciertos sumideros de carbono para el cumplimiento de los compromisos obligatorios asumidos por los países. En el Artículo 3.3 se establece que solo aquellos sumideros relacionados con actividades de “forestación, reforestación y deforestación” y que hayan sido inducidos directamente por actividades humanas posteriores a 1990, son elegibles. El Artículo 3.4 permite que se agreguen otras actividades adicionales en el futuro, tales como las tierras de pastoreo. Varios países han solicitado la inclusión de sumideros resultantes de cambios en el uso de la tierra y manejo de bosques no contemplados en el Artículo 3.3 del Protocolo de Kioto (UNFCCC, 1998).

La conversión de los bosques tropicales en tierras de cultivo y pastoreo ha sido una enorme causa de deforestación, ocasionando pérdidas en la biodiversidad y reducción de los ecosistemas del mundo. Para enfrentar el reto de maximizar la conservación de terrenos alterados por la actividad humana, se ha hecho necesario examinar las propiedades de distintas formas de uso de la tierra para minimizar las pérdidas de biodiversidad (Sambuichi *et al.*, 2012).

Respondiendo a este reto se ha propuesto el uso de sistemas agroforestales (SAF). Un SAF es un área donde se combina un cultivo principal con otros cultivos, árboles y en algunas ocasiones animales. El cultivar en SAF ofrece ventajas como mejorar el aprovechamiento del suelo, proteger el suelo, obtener varios productos en la misma parcela y conservar el medio ambiente. Los cultivos, árboles o animales que se establecen en un sistema agroforestal deben ser seleccionados con precisión, de modo que estas especies puedan convivir en simbiosis o mutualismo (Navarro y Mendoza, 2006).

Estos SAF se han utilizado como sumideros de carbono con plantas preferiblemente autóctonas de la región para evitar la introducción de nuevas especies y no afectar el equilibrio ecológico de la zona ni la biodiversidad. Uno de los cultivos más importantes en Venezuela que se puede implementar en cualquier sistema forestal y con gran potencial de secuestro de carbono, es la planta de cacao (*Theobroma cacao L.*).

### **Relación entre los SAF con cacao y el secuestro de carbono**

La planta de cacao es originaria de América y se puede encontrar de forma natural en áreas de bosque, estas plantas por lo general son de tamaño mediano, aunque cuando crecen libremente bajo sombra pueden alcanzar hasta 20 m de altura (Navarro y Mendoza, 2006). El cacao se adapta bien en los bosques tropicales (desde bosque seco tropical hasta bosque

premontaño bajo) con alta humedad; requiere también de suelos profundos y de plantas que le proporcionen sombra que lo proteja del exceso de sol y de fuertes vientos (Ramos *et al.*, 2000).

Como la planta de cacao es un árbol, se puede utilizar para reforestar, bien sea como SAF o como bancos y/o reservas de carbono, ya que los árboles son depósitos significativos de carbono atmosférico debido a su rápido crecimiento y a su alta productividad. Por esta razón, los bosques de cacao al ser cultivos perennes son más útiles como depósitos de carbono (Montagnini y Nair, 2004). Ya que poseen la capacidad de generar grandes cantidades de residuos que la planta de cacao deposita en el suelo, se estiman en 10 tC/ha/año, manteniendo un papel importante en el mantenimiento del ciclo de nutrientes y en la actividad microbiana para sostener la producción del cacao (Sanmartín *et al.*, 2017).

### **Determinación de carbono total en suelos**

Schumacher (2002) propone que el carbono total del suelo (CTS) y sedimentos, puede ser determinado por diferencia, si se conoce la cantidad de carbono orgánico del suelo (COS) y el carbono inorgánico del suelo (CIS), de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{CTS} = \text{COS} + \text{CIS} \quad (\text{Ecu 1})$$

Para los suelos y sedimentos donde no hay presencia de C inorgánico, se elimina el término CIS de la ecuación anterior y el CTS sería equivalente al COS. Este es el caso más común de cuantificación CTS en la mayoría de las muestras ya que produce resultados muy similares. Sin embargo, en suelos formados principalmente por limo, dolomita u otro mineral formado de carbonatos, puede haber presencia de formas de C inorgánico (Schumacher, 2002).

La cuantificación del CTS se basa en destruir la MOS, aunque también se están desarrollando técnicas no destructivas. La destrucción de la MOS se puede lograr químicamente o por calentamiento a altas temperaturas, provocando que todas las formas de C en el suelo se conviertan en CO<sub>2</sub> que luego es medido directa o indirectamente.

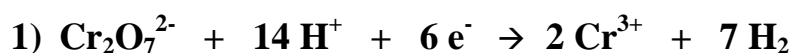
### **Método empleado para la determinación del COS.**

Existe gran variedad de métodos analíticos para la determinación del COS, los cuales se clasifican en cualitativos, semicuantitativos y cuantitativos (Schumacher, 2002).

En este estudio se determinó el COS por el método de Walkley-Black modificado (1947), el cual es un método cuantitativo. Esta técnica por química húmeda se divide en dos fases que son la digestión de la materia orgánica y la cuantificación de la muestra.

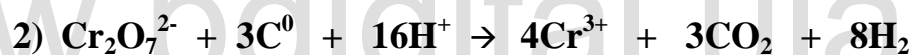
La digestión de la muestra consiste en una oxidación con dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ). En este método el COS es oxidado por la adición de  $K_2Cr_2O_7$  a 0,1 g de suelo en presencia de ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4 \geq 96\%$ ) sin una fuente de calor externa. La cantidad del ión dicromato (anaranjado en solución) reducida a  $Cr^{3+}$  (color verde) es equivalente a la cantidad de carbono oxidada. La cuantificación se realiza en un espectrofotómetro UV-vis para medir la absorbancia del pico a una  $\lambda = 590$  nm.

La oxidación de un compuesto orgánico por el ión dicromato en medio ácido implica la siguiente semireacción:



**Reacción 1.** Semirreacción de reducción del ión dicromato (Schumacher, 2002).

La reacción REDOX completa entre la MO y el dicromato es:

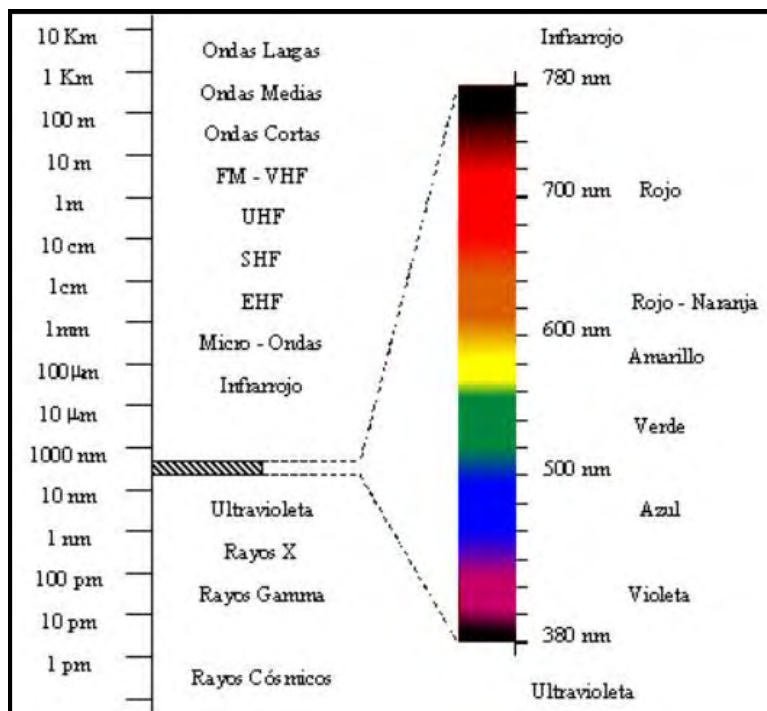


**Reacción 2.** Reacción entre la MO y el anión dicromato (Schumacher, 2002)

### **Principios de la espectroscopia de UV visible.**

Para que una sustancia sea activa en el visible debe ser colorida: el que una sustancia tenga color, es debido a que absorbe ciertas frecuencias o longitudes de onda del espectro visible y transmite otras (Skoog, 2001).

El rango visible se considera desde los 380 a los 750 nm. Tal como se aprecia en la Figura 4. El rango del ultravioleta cercano o del cuarzo es de 190 a 380 nm.



**Figura 4. Espectro electromagnético (Escobar, 2019).**

La base de la espectroscopia visible y ultravioleta consiste en medir la intensidad del color (o de la radiación absorbida en UV) a una longitud de onda específica comparándola con otras soluciones de concentración conocida (soluciones estándar) que contengan la misma especie absorbente. Para tener esta relación se emplea la Ley de Beer, que establece que para una misma especie absorbente en una celda de espesor constante, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración.

La coloración de la solución se debe a la especie absorbente. Esta coloración es la base de la cuantificación para una determinada especie.

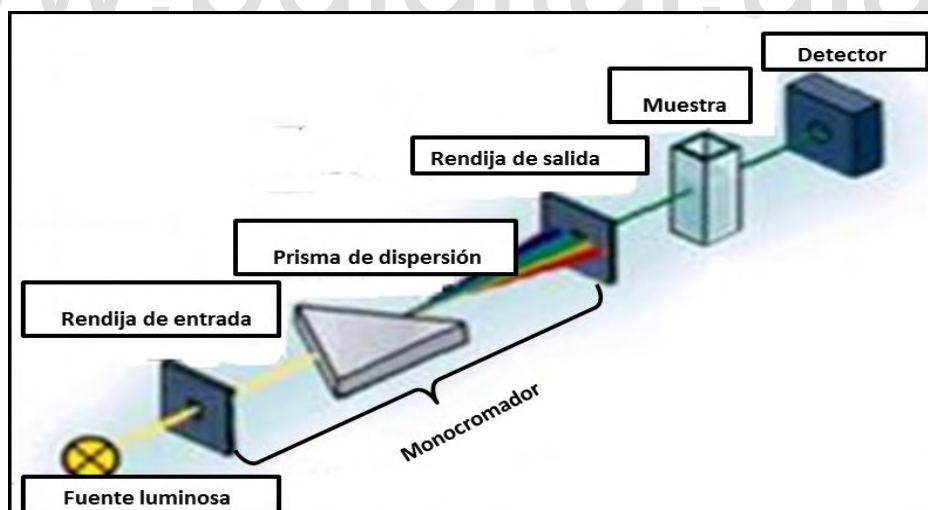
En la Tabla 1 se presenta una relación entre rango de longitudes de onda en que absorbe el compuesto, color absorbido y color observado o transmitido.



**Tabla 1. Rango de longitudes de ondas donde absorben los compuestos coloreados en la región visible, adaptado de Millán, 2016.**

Rango de longitudes de onda (nm)	Color absorbido	Color transmitido (observado)
380 - 435	Violeta	Amarillo – verde
435 - 480	Azul	Amarillo
480 - 500	Verde – azul	Naranja – rojo
500 - 560	Verde	Púrpura
560 - 580	Amarillo – verde	Violeta
580 - 595	Amarillo	Azul
595 - 650	Naranja	Verde – azul
650 - 780	Rojo	Azul – verde

La instrumentación de un espectrofotómetro de UV visible consiste en una fuente de luz (lámpara), un sistema óptico de lentes y espejos para la colimación y dirección del haz luminoso, un dispositivo seleccionador de la longitud de la onda (monocromador), un porta muestra (celda de cuarzo o vidrio, dependiendo del tipo de radiación), el detector de la radiación (detector fotónico) y procesador de la señal. A continuación, en la Figura 5 se muestra un esquema representativo de los componentes básicos de un espectrofotómetro de UV visible.



**Figura 5. Componentes de un espectrofotómetro, (adaptado de Cabrera, 2013)**

### Componentes básicos de un espectrofotómetro de UV visible.

#### Fuente luminosa

La fuente luminosa más usada en espectrofotometría de UV visible es la lámpara de Wolframio-halógeno ya que se usa para el caso del rango visible ( $\lambda > 350$  nm) mientras que

para el rango ultravioleta ( $190 \text{ nm} < \lambda < 400 \text{ nm}$ ), se utiliza una lámpara de deuterio o de hidrógeno. Muchos espectrofotómetros están dotados de ambos tipos de lámparas a fin de cubrir todo el rango útil de la porción ultravioleta y visible del espectro (Millán, 2016).

### **El monocromador**

Es parte fundamental de un espectrofotómetro ya que su tarea es la de seleccionar un haz de radiación con un ancho de banda y potencia definidos, por lo tanto, su característica primordial es su “*Poder de Resolución R*”. El monocromador es un dispositivo óptico contentivo de diversos componentes como rendijas de entrada y salida (regulables o fijas), espejos colimadores y focalizadores y un elemento dispersor puede ser un prisma, que refracta la luz o una red de difracción plana que difracta la luz (Millán, 2016).

### **Porta muestra**

Las cubetas porta muestras son en general de base cuadrada de un cm de lado y paredes perfectamente paralelas y perpendiculares entre sí, éste representa el camino óptico ( $b$ ). Dos paredes paralelas funcionan como ventanas y las mismas deben ser transparentes en el rango espectral de trabajo, para el rango visible son confeccionadas de vidrio o plástico y de cuarzo para el rango ultravioleta (Millán, 2016).

### **Detector fotónico**

El detector fotónico es un traductor óptico electrónico que convierte el impulso lumínico en un impulso eléctrico, cuya intensidad debe ser proporcional a la intensidad luminosa que incide sobre él. El mismo debe poseer alta sensibilidad, debe tener una respuesta lineal en un amplio rango espectral, producir una señal que se pueda amplificar y tener bajo nivel de ruido. Para aplicaciones espectroscópicas se utilizan diversos dispositivos ópticos electrónicos como el fototubo (FT), el tubo fotomultiplicador (TFM), diodos de silicio, así como dispositivos ópticos electrónicos de detección multicanal como el arreglo de diodos, AD, y los dispositivos de transferencia de carga (DTC) (Millán, 2016).

### **Fototubo**

Consiste en un tubo evacuado (vacío) con dos electrodos entre los cuales se mantiene un potencial de trabajo de 90 V. El cátodo es una superficie fotosensible (Ag-O-Cs) donde al incidir los fotones, por efecto fotoeléctrico, se generan electrones que son acelerados por el potencial hacia el ánodo, generando una corriente de intensidad proporcional al número de fotones (Millán, 2016).

### **Aspectos cuantitativos de las medidas espectroquímicas.**

**Absorbancia:** es la cantidad de luz que absorbe una muestra

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{P_0}{P} \quad (\text{Ecu 2})$$

Dónde:

$P_0$  es la medida de la potencia antes de que el haz de luz haya pasado a través del medio que contiene el analito.

P es la medida de la potencia después que el haz de luz paso a través del medio que contiene el analito.

T es la transmitancia del analito

Este comportamiento se rige por la Ley de Lambert-Beer la cual expresa que para una radiación monocromática, la absorbancia es directamente proporcional al camino óptico  $b$  a través del medio y la concentración  $c$  de la especie absorbente (Skoog, 2001). Esta relación viene dada por la siguiente expresión:

$$A = abc \quad (\text{Ecu 3})$$

Dónde:

$a$  = es una constante de proporcionalidad denominada absorptividad.

$b$  = se da en centímetros y es el camino óptico.

$c$  = es la concentración del analito

### **Curvas o gráficas analíticas.**

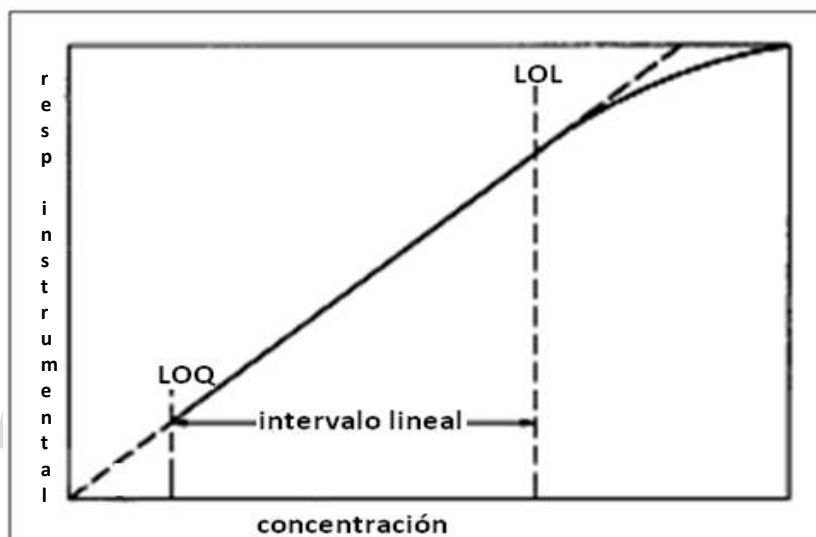
Para la construcción de curvas analíticas (o de trabajo), se preparan varias soluciones estándares que contienen concentraciones conocidas del analito. Dichas soluciones deben cubrir el intervalo de concentraciones de interés, así como tener una composición matricial tan parecida como se pueda a las de las soluciones de la muestra; también se analiza una solución de fondo (blanco) que contiene solo la matriz del disolvente y las lecturas netas (de cada solución menos la de fondo) se grafican en función de las concentraciones de las soluciones estándares a fin de obtener la gráfica de calibrado representado en la Figura 6. (Hobart, 1991), estas curvas tienen un intervalo de linealidad que va desde la concentración más pequeña a la que se puede realizar en medidas cuantitativas (límite de cuantificación LOQ) hasta la concentración a la que la curva de calibrado se desvía de la linealidad (límite de linealidad LOL).

**Límite de detección (LOD):** Se define como la concentración de una especie que produce una señal analítica igual al doble de la desviación estándar de la señal de fondo. Es la menor cantidad de un analito en una muestra la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Según Skoog, (2001) como el cociente de tres veces la desviación del blanco ( $S$ ) de una muestra y la pendiente de la curva de calibración ( $m$ ):

$$LOD = \frac{3S_{blanco}}{m_{curva\ de\ calibración}} \quad (\text{Ecu 4})$$

**Límite de cuantificación (LOQ):** Es la concentración mínima que puede ser determinada con un nivel aceptable de exactitud y precisión. Es un parámetro para ensayos cuantitativos de bajos niveles de compuestos en matrices de muestras. Se emplea cuando se determina analitos a niveles de trazas (Chukiwanka, 2018). Se determina midiendo la señal del blanco, luego calcular su respectiva desviación estándar y seguidamente se aplica la siguiente expresión:

$$LOQ = \frac{10S_{blanco}}{m_{curva\ de\ calibración}} \quad (\text{Ecu 5})$$



**Figura 6. Intervalo lineal de un método analítico (tomado de Skoog *et al.*, 2001).**

Los gráficos de calibración para determinar COS son realizados preparando una serie de soluciones de concentración conocida a partir de una solución estándar certificada de Glucosa.

**Atributos del método a evaluar.**

**Media:** consiste en la suma de todas las medidas divididas por el número de medidas como lo representa Miller y Miller (2002).

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (\text{Ecu 6})$$

**Desviación estándar:** es una medida del grado de dispersión de los datos con respecto al valor promedio. Dicho de otra manera, la desviación estándar es simplemente el promedio o variación esperada con respecto a la media aritmética, se representa de la siguiente manera en la ecuación 7.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (\text{Ecu 7})$$

**Coefficiente de variación (CV):** también conocida como la desviación estándar relativa (DER), representada en la ecuación 8 es una estimación del error (s) dividido por una estimación del valor absoluto de la cantidad medida ( $\bar{x}$ ) (Miller y Miller, 2002).

$$CV = 100 \frac{s}{\bar{x}} \quad (\text{Ecu 8})$$

### Cálculos de porcentajes de carbono

Graficar la absorbancia de los estándares contra las concentraciones conocidas de carbono. Determinar la cantidad de carbono en mg para cada una de las muestras desconocidas. Sustraer el valor del blanco para las muestras desconocidas. Determinar la concentración de carbono corregida de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% C = \text{mg C} \times 1 \quad (\text{para } 0,1 \text{ g de suelo}) \quad (\text{Ecu 9})$$

Finalmente, el porcentaje de materia orgánica se puede determinar por medio de la siguiente ecuación:

$$\% MO = 1,724 \times \% \quad (\text{Ecu 10})$$

### Tasa de variación acumulada

La tasa de variación acumulada es la variación promedio por subperiodo de una variable entre dos fechas

$$TVA = \left( \left( \frac{\text{Periodo } n}{\text{Periodo base}} \right)^{1/n} - 1 \right) \times 100$$

(Ecu 11)

Donde:

- TVA: Tasa de variación acumulada
- Periodo n: Último valor del periodo con el que se quiere comparar
- Periodo base: Valor del periodo de referencia

## Tasa de variación interanual

La tasa de variación interanual es la variación por subperiodo de una variable con respecto al año anterior

$$TVI = \left[ \left( \frac{\textit{Periodo final}}{\textit{Periodo inicial}} \right) - 1 \right] \times 100 \quad (\text{Ecu 12})$$

Donde:

- TVI: Tasa de variación interanual
- Periodo final: valor del periodo o año evaluado
- Periodo inicial: valor del periodo o año anterior con el que se quiere comparar

www.bdigital.ula.ve

## ANTECEDENTES

La necesidad de disminuir las emisiones de CO<sub>2</sub> a la atmósfera ha promovido diversas medidas tendientes a utilizar el suelo como un reservorio de carbono. Si se piensa que aproximadamente 81% del C involucrado activamente en el ciclo está almacenado en el suelo, (Wattel-Koekkoek *et al.*, 2001). El suelo puede ser visualizado como un reservorio, que desde la perspectiva del secuestro de C se presenta como uno de los más importantes. Es considerado el mayor reservorio de C terrestre del planeta, ya que corresponde a 3,3 veces el C almacenado en la atmósfera ( $760 \times 10^9$ t) y 4,5 veces el tamaño del reservorio biótico ( $560 \times 10^9$ t). Sin embargo, la conversión de ecosistemas naturales a sistemas agrícolas y la labranza de inversión, han disminuido el COS, aumentando las concentraciones de CO<sub>2</sub> en la atmósfera (Lal, 2004). Por lo tanto, la aplicación de medidas para disminuir las emisiones debe ir dirigidas a mantener las prácticas que promuevan la protección física del C y aumenten los niveles de MOS.

Somarriba *et al.*, (2013) realizaron una investigación en cinco países de Centroamérica donde el cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*) es típico en sistemas agroforestales en estrecha asociación con una variedad de especies de árboles y otras plantas útiles en la misma parcela. Sistemas agroforestales basados en cacao, se les acredita por almacenar grandes cantidades de carbono y, por lo tanto, tienen el potencial de mitigar el cambio climático. Dado que los rendimientos de cacao disminuyen de forma no lineal con el aumento de la sombra, es necesario diseñar sistemas agroforestales óptimos con cacao con alto rendimiento y alto almacenamiento de carbono. Se estimó el carbono almacenado en 229 parcelas de muestreo permanentes en sistemas agroforestales a base de cacao y bosques naturales en cinco Países centroamericanos. La mayoría de las plantaciones de cacao de América Central, tenía árboles de sombra, mixtos o productivos. Solo el 4 % de las plantaciones de cacao estaban a pleno sol (cacao bajo bosque natural). La densidad de árboles de cacao fue baja ( $548 \pm 192$  árboles/ ha). El carbono total (suelo + biomasa + biomasa muerta) fue de 117 tC/ha, con 51 tC/ha en el suelo y 49 tC/ ha (42 % de carbono total) en biomasa aérea (cacao y árboles de sombra). Los árboles de cacao acumularon 9 tC/ha (18% de carbono en biomasa aérea). La madera y los árboles frutales almacenan el 65% del carbono sobre el suelo. La tasa anual de acumulación de carbono en la biomasa aérea osciló entre 1,3 y 2,6 tC/ha, las compensaciones entre los niveles de carbono y los rendimientos se exploraron de forma cualitativa utilizando relaciones funcionales documentado en la literatura científica y técnica, y en el conocimiento experto. Argumentando que es posible diseñar SAF a base de cacao con buenos rendimientos (cacao y árboles de sombra) con altos niveles de secuestro de carbono.

Sanmartín y Barrezueta (2017). Cuantificaron la captura de carbono en suelos del orden Inceptisol cultivados con cacao, tipo Nacional a diferentes profundidades y comparar con

un suelo en Barbecho. Se delimitaron en la parroquia Progreso, cantón Pasaje-Ecuador 3 parcelas, 2 con cultivos de cacao y una en barbecho. Las muestras se tomaron sobre un transepto de 30 metros a 0-15-30 m, extrayendo el suelo a tres profundidades (0-10, 10-20 y 20-40 centímetros) proceso que se repitió en las tres parcelas. Las determinaciones analíticas fueron: proporciones de arcilla, limo y arena por Bouyoucos, pH (relación 1:25) y materia orgánica (MO) por Walkey-Black. Los resultados mostraron un predominio de arena (50-65% en las tres parcelas), con las clases texturales franco arenoso para cacao y franco arcillo arenoso para el suelo en barbecho. El pH en suelo fue prácticamente neutro (pH 6,73) en cacao y ácida (pH 4,77) para el uso en barbecho. El nivel de MO del suelo fue > 4,67% de 0 a 10 cm para uso cacao que descendieron en el perfil sin llegar a obtener registros inferiores a  $\leq 0,75\%$  como el suelo en barbecho. El mayor registro de C almacenado fue de 36,78 tC/ha, en el primer sustrato del cacao, seguido de 18,75 tC/ha y 28,66 tC/ha, en la segunda y tercera profundidad, mientras que en barbecho el valor más alto fue de 8,39 de tC/ha, en el estrato 20-40 cm, resultados que demuestran diferencias significativas entre los dos usos de suelo y las profundidades a las que se tomaron las muestras, incidiendo la biomasa generada por el cultivo de cacao en los niveles de carbono.

Barrera *et al.*, (2017). Estimaron la variabilidad de carbono secuestrado en suelos cultivados de cacao en la parte baja de la provincia El Oro. Fueron seleccionadas al azar 30 parcelas cultivadas con cacao, para lo cual se conformaron transectos de 30 x 15 metros en cada parcela donde se tomaron muestras de suelo a una profundidad de 0-30 cm a las que realizaron análisis de arena, limo y arcilla, densidad aparente (Da), Capacidad de intercambio catiónico (CIC), nitrógeno (N) y carbono (C). Para cuantificar la cantidad de C almacenado se empleó la profundidad del muestreo, la Da para determinar el volumen del suelo, el cual se multiplica por el C orgánico. Los resultados mostraron un predominio de la arena (> 39 %) y el limo (> 30 %), con poca variabilidad en la Da. El C orgánico (2,2 %) y N (0,20 %). Los niveles de C fueron 33,096 tC/ha.

Madountsap *et al.*, (2018). Realizaron un estudio en Camerún, sobre el secuestro de carbono en dos sistemas agroforestales de cacao uno tradicional y otro innovador, el sistema tradicional estaba acompañado de las siguientes especies; *citrussinensis* y *dacryodesedulis*, mientras que el sistema innovador estaba cultivado con *Elaeisguineensis* y *Carica papaya*, donde se obtuvo como resultados 138,1 tC/ha en el tradicional mientras que en el innovador fue de 46,9 tC/ha. Este último sistema mejoro con la edad mientras que el sistema tradicional no mostro diferencias significativas, se concluyó que el sistema innovador es menos preferido.

Bhagya y Suresh (2018). Evaluaron el secuestro de carbono en una plantación de palma aceitera adulta (*Elaeisguineensis*) intercalada con cacao (*Theobroma cacao*) cultivado en suelo franco arenoso para estudiar el efecto del cultivo. Sistema de secuestro de carbono



por encima del suelo. Método no destructivo para el cálculo. Se utilizó biomasa en pie de palma aceitera y cacao. Basados en estos datos de biomasa de carbono, se estimó la existencia y el CO<sub>2</sub> secuestrado del sistema. La biomasa en pie de palma, el cacao y la palma de aceite con cacao fueron 95.33 tC/ha, 59,96 tC/ha, y 155,29 tC/ha, respectivamente, mientras que el stock de carbono de la palma de aceite, el cacao y la palma de aceite con cacao se encontraban orden de 47,66 tC/ha, 29,98 tC/ha y 77,64 tC/ha, y el secuestro de CO<sub>2</sub> de la palma aceitera, El sistema intercalado de cacao y palma de aceite + cacao fueron 174.93 tC/ha, 110,02 tC/ha, y 284,95 tC/ha respectivamente. Con base en estos resultados, el cacao podría ser un cultivo ideal en plantación de palma aceitera adulta para un mejor secuestro de CO<sub>2</sub> en el sistema.

Zavala *et al.*, (2018). Con el fin de desarrollar actividades productivas económicas y ambientalmente sostenibles, evaluaron el efecto de tres sistemas agroforestales (SAF) del cultivo de cacao. Las variables respuestas fueron la captura y almacenamiento de carbono, en la biomasa arbustiva, arbórea, y suelo. Los SAF de cacao fueron de diferentes unidades fisiográficas con edades, menores de 8 años, entre 8 a 16 años y mayores de 16 años. Se utilizó el diseño estadístico completamente al azar, el método alométrico; la estimación del carbono orgánico se determinó por el método de Walkley y Black. El mayor almacenamiento de carbono total lo alcanzó el SAF mayor de 16 años con 344,24 tC/ha, el SAF entre 8 y 16 años con 178,61 tC/ha y el SAF menor de 8 años con 154,91 tC/ha. Se encontró mayor carbono orgánico en el suelo en el SAF con cacao menor de 8 años, con 66,16 tC/ha entre la capa del suelo de 0 a 10 cm

Benbi (2018). Propone un método de determinación de carbono orgánico total (COT) en suelo por digestión húmeda (Walkley y Black) que involucra una mezcla de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + suelo en un horno de microondas comercial seguido de un análisis espectrofotométrico, en el cual se evaluó la absorbancia del Cr (III). El método fue comparado con combustión automática en seco y otras dos digestiones húmedas, mostrando resultados semejantes con la combustión seca. El COT medido con los dos métodos no difirió para un rango de suelos extraídos de tierras bajas y altas, diferentes usos de la tierra y variando en pH (6,2 – 9,3). La recuperación del C orgánico por el método de microondas fue de 98,6 ± 4,2%. Los resultados sugirieron que el método espectrofotométrico de microondas podría ser fácilmente adoptado en la rutina del análisis del suelo, ya que no solo es preciso, rápido y rentable, sino también produce un pequeño volumen de residuos de los reactivos

Estrada (2023). Estudió y evaluó el carbono orgánico del suelo en cinco sistemas de uso de tierras (SUT) en el Centro de Investigación y Producción Tulamayo. Los SUT fueron plantaciones de Arroz (*Oryza Sativa* L.), Capirona (*Calycophyllum Spruceanum* Benth), Teca (*Tectona grandis* L.f), Cacao (*Theobroma cacao* L.) y Pasto kikuyo (*Pennisetum*

*Clandestinum* Hoschst) los cuales presentaron edades de 4 meses, 18, 10, 7 y 30 años respectivamente. Ella estimó carbono orgánico en suelo, hojarasca y raíces consiguiendo que el carbono orgánico del suelo se almacena en mayor cantidad en el cultivo de capirona (26,55 tC/ha) seguido de la teca (26,16 tC/ha) y por último el cacao con (25,32 tC/ha), mientras que el carbono orgánico en hojarasca se almacenó mayoritariamente en el cultivo de teca (62,71 tC/ha) y en raíces destacó el pasto kikuyo (9,92 tC/ha).

El COS se encuentra en mayor cantidad en SUT con especies forestales de mayor tamaño (capirona y teca), seguida de la especie agroforestal (cacao). Estos SUT no están sometidos a la constante labranza, sin embargo, los cultivos de arroz y pasto kikuyo que denotan los valores mínimos de C en el suelo, están sometidos no solo a labranza sino a pastoreo y compactación. El CO del suelo manifestó diferencia significativa entre los tratamientos del uso de la tierra y resalto que las especies forestales y agroforestales son las que secuestran mayor cantidad de carbono.

Jiménez (2019). Realizó un estudio en un agroecosistema con plantaciones de cacao y otras especies forestales, considerando que estos agroecosistemas tienen la misma función ambiental que los bosques manejados en cuanto a su capacidad de almacenamiento y captura de carbono. Él estimó la cantidad de carbono orgánico en todos los componentes del agroecosistema (cultivo de cacao, otras especies arbóreas, hojarasca, herbáceas y el suelo). Encontrando que la concentración de carbono que más destaca es la del suelo con 15,75 tC/ha. Obteniendo una mayor concentración de carbono a una profundidad de entre 20 y 30 cm; en el cultivo de cacao 4,34 tC/ha; otras especies arbóreas 3,30 tC/ha; hojarasca 2,16 tC/ha y en la biomasa herbáceas 0,06 tC/ha, haciendo un total de 25,51 tC/ha de carbono orgánico en todo el ecosistema.

Rodríguez *et al.*, (2020). Desarrollaron una investigación con el objetivo de evidenciar la influencia del manejo del sistema agrícola en propiedades físicas y químicas del suelo a diferentes profundidades (0-15 y 15-30 cm) en diferentes agroecosistemas. Se seleccionaron cultivos de banano (ciclo corto), pastos, cacao y bosque, donde se establecieron puntos permanentes de muestreo. Obteniendo que en cacao y bosque se registraron los mayores valores de materia orgánica del suelo, atribuido a la gran cantidad de hojas, ramas y tallos que se generan, los que se incorporan al suelo por la actividad de los microorganismos. Se demostró que la explotación del suelo de forma continua e intensiva provoca una disminución del secuestro del carbono en el suelo e incremento de la compactación, así como escasa incorporación de residuos orgánicos y baja fertilidad.

Ortiz *et al.*, (2008). Modelaron el almacenamiento de carbono en sistemas agroforestales de cacao (*Teobroma Cacao* L) y laurel (*Cordia alliodora*). Plantados entre 1989-1990 en Changuinola, Panamá, para estimar el potencial de captura de carbono. El carbono

almacenado en 25 años varió entre (43 – 62 tC/ha), con tasas de acumulación de entre (1,7 y 2,5 tC/ha/año). Además, las mayores tasas de acumulación de carbono ocurrieron durante los primeros 7 años.

Vara (2021) realizó una investigación que tuvo por objetivo general comparar la cantidad de carbono orgánico almacenado en dos sistemas agroforestales (SAF) de cacao y naranja (*Citrus sinensis*), en ciudad de Tingo María, departamento de Huánuco, Perú; identificando cuál es el sistema agroforestal que almacena mayor carbono con el fin de que dichos datos sean utilizados para gestionar proyectos que contribuyan al ambiente y se lleguen a valorizar en el mercado mundial de carbono. El autor obtuvo como resultados en relación al carbono almacenado, en el SAF cacao tiene un total de 147,79 t/ha (suelo 143,99 t/ha, hojarasca 1,65 t/ha y raíces 2.15 t/ha) y el SAF naranja hace un total de 80,89 t/ha (suelo 72,73 t/ha, hojarasca 0,82 t/ha y raíces 7,34 t/ha). Concluyéndose así que el SAF cacao almacena mayor cantidad de carbono orgánico en comparación al SAF naranja.

Acosta *et al.*, (2020) realizaron un estudio donde se estimó el almacenamiento de carbono en 50 sistemas agroforestales de cacao en Waslala, Nicaragua, los SAF-cacao almacenaron 91,45 ( $\pm$  31,44) tC/ha con una tasa de fijación de carbono total de 5,4 tC /ha/año y 2 tC/ha/año en biomasa aérea. Los compartimentos del SAF-cacao que más carbono almacenaron en orden descendente fueron: suelo (52,61%), biomasa aérea (plantas de cacao y árboles de sombra) (35,86%), raíces gruesas (7,52%), raíces finas (4,15%), necromasa (0,32%) y hojarasca (0,32%). El 56% de los SAF-cacao registraron niveles de carbono medio y alto y el 44% niveles bajo y muy bajo, el suelo fue el componente que tuvo un mayor aporte de carbono más del 50% del carbono total fijado.

## **HIPÓTESIS**

Dado que las plantaciones de cacao en Venezuela están establecidas como rubro perenne y bajo un ambiente de bosque y/o sistemas agroforestales. Se podrá determinar si el cultivo de cacao contribuye con la captura y almacenamiento del carbono orgánico, para la mitigación del efecto invernadero.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

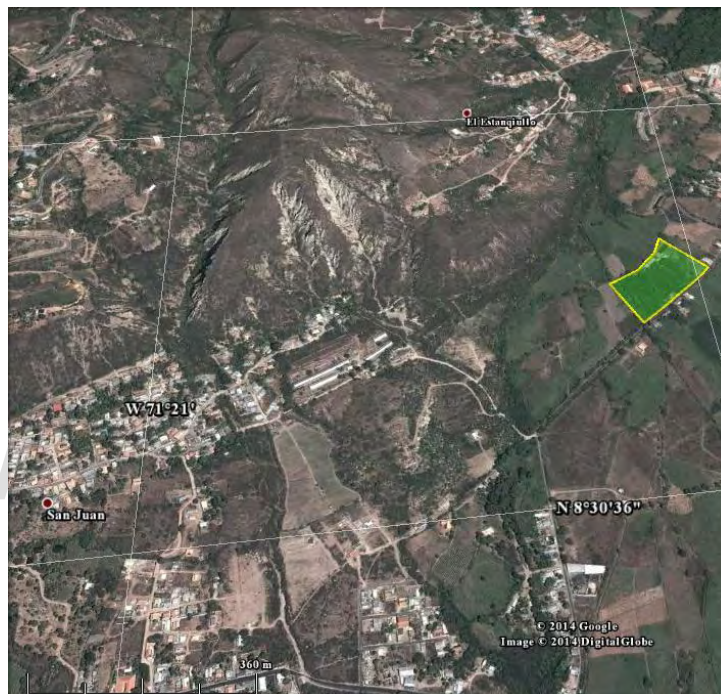
Evaluar a través de la determinación de carbono orgánico en el suelo, la capacidad del cultivo de cacao como sumidero de carbono, en el Campo Experimental San Juan de Lagunillas del Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas (INIA-Mérida).

### **Objetivos específicos**

- Evaluar la captura del carbono orgánico en un suelo cultivado con cacao, bajo sombra permanente.
- Determinar el contenido de carbono orgánico en diferentes fracciones del suelo.
- Estimar el almacenamiento del carbono orgánico del suelo durante un periodo de cinco años (2014-2018).

## CARACTERÍSTICAS DEL ÁREA EN ESTUDIO

El área de estudio se encuentra localizada geográficamente en Los Andes venezolanos, formando parte de la cuenca media inferior del río Chama. En la población de San Juan de Lagunillas, municipio Sucre del estado Mérida. Su ubicación geográfica queda determinada por las coordenadas: Latitud  $08^{\circ}30'55,7''$  N, Longitud  $71^{\circ}20'24,8''$  W. Altitud 1077 msnm, en la Figura 7 se observa la ubicación relativa.



**Figura 7. Ubicación relativa del Campo Experimental San Juan de Lagunillas del INIA-MÉRIDA.**

El Campo Experimental San Juan de Lagunillas, tiene una extensión superficial de dos hectáreas dividido en 7 parcelas, seis de las cuales contienen plantaciones de cacao (*Theobroma cacao*) bajo sombra de bucare (*Erythrina poeppigiana*). Cabe destacar que en estas parcelas no hay un solo tipo de cacao; sino que es un banco de germoplasma de cacao de la zona occidental de Venezuela (colección selecta de cacaos criollos). La parcela restante es un suelo en barbecho; sin ningún cultivo.

## **DESARROLLO EXPERIMENTAL**

Esta investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Investigaciones en Análisis Químico, Industrial y Agropecuario (LIAQIA) en conjunto con el Campo Experimental San Juan de Lagunillas y el Laboratorio de Suelos del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-MÉRIDA) en tres etapas, descritas a continuación.

### **Toma de muestras.**

La toma de muestras se llevó a cabo en el campo experimental San Juan de Lagunillas, en 7 áreas denominadas: parcela 1, parcela 2, parcela 3, parcela 4, parcela 5, parcela 6 (cultivadas con cacao) y parcela control (suelo en barbecho).

Para la toma de la muestra se aplicó el método de zig-zag, tal como sugiere Vidal (2002). Cada vez que se tomó una muestra se procedió como indica Rodríguez y Rodríguez (2002): se limpió la superficie de restos vegetales, se realizó un corte en “V” hasta una profundidad de 30 cm, del cual se tomó una porción aproximadamente 1000 g de suelo.

Para cada parcela, se tomaron 6 porciones que se mezclaron hasta homogenizar (muestra compuesta), de la cual se tomó una porción de aproximadamente 1000 g. Estas muestras compuestas, se colocaron en bolsas plásticas previamente etiquetadas, para luego ser trasladadas al Laboratorio de Investigación en Análisis Químico, Industrial y Agropecuario (LIAQIA) donde se colocaron en bandejas hasta secar bajo sombra. Una vez secas las muestras, se tamizaron a 2000  $\mu\text{m}$  y se almacenaron en recipientes limpios y secos previamente etiquetados, para su posterior análisis.

### **Determinación de textura**

Fue determinada a través del análisis granulométrico de la muestra de suelo mediante el método de Bouyoucos (1962), que consiste en colocar una suspensión del suelo (50 g) en un cilindro graduado, previamente disuelto en solución de hexametáfosfato sódico (50 g/L) y agitado, luego se mide la densidad a medida que van sedimentándose las partículas a intervalos de tiempo determinados.

### **Equipos y materiales**

- Cilindro graduado de 1000 mL
- Hidrómetro
- Termómetro 100 °C ( $\pm 1$  °C)
- Gotero
- Piceta con agua
- Balanza digital marca Mettler. Modelo PM 400 ( $\pm 0,001$ )

- Agitador de vidrio
- Agitador mecánico

### **Reactivos**

- Hexametáfosfato sódico ( $\text{NaPO}_3$ )<sub>6</sub>
- Alcohol etílico 70 % (dispersante)

### **Determinación del pH**

Este método consiste en la dispersión de la muestra de suelo en agua y su posterior medida con el pH-metro.

El pH se determinó por técnica potenciométrica en una relación 1:2,5 suelo/agua siguiendo la metodología propuesta por Gilabert *et al.* (1990), de acuerdo a ello, se mezcló 10 g de suelo y 25 mL de agua destilada y desionizada 18  $\Omega$ , se agitó esta mezcla por 30 minutos y se dejó reposar, para su posterior medida con el pH-metro previamente calibrado.

### **Equipos y materiales**

- Balanza digital marca Mettler. Modelo PM 400 ( $\pm 0,001$ ).
- pH-metro marca Oakton. Modelo pH 510 ( $\pm 0,01$ ).
- Agitador recíproco
- Recipientes plásticos con tapa de 50 mL de capacidad

### **Reactivos**

- Agua desionizada (18  $\Omega$ )

### **Determinación de la conductividad eléctrica ce ( $\mu\text{S}$ )**

Para determinar la CE se dispersa 10 g de suelo en 50 mL de agua desionizada, luego se agita por 30 min y se deja reposar por 24 horas antes de realizar las medidas directamente con el conductímetro.

### **Materiales y reactivos**

- Envases plásticos con tapa
- Balanza
- Agitador recíproco
- Conductímetro
- Agua desionizada (18  $\Omega$ )

### **Determinación del tamaño de partículas de los agregados del suelo**

Para determinar la distribución de los agregados del suelo por tamaño, se utilizaron diferentes tamices que permiten separar los agregados del suelo a distintos tamaños de

partícula con el fin de estudiar como varía la concentración de C en la MOS a diferentes tamaños de agregados, tal como se muestra en la Figura 8.

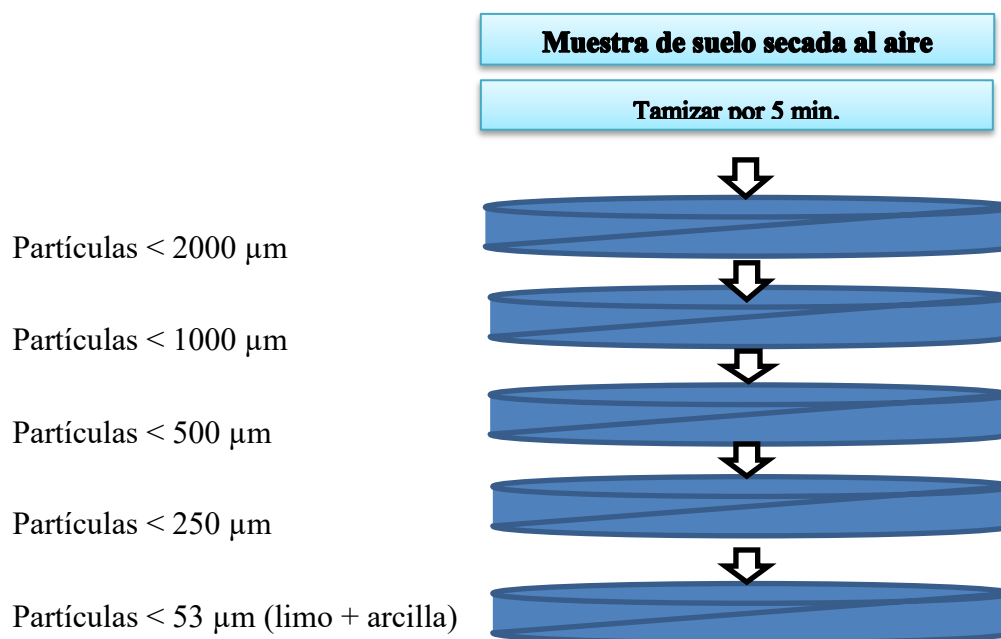


Figura 8. Procedimiento experimental para determinar la distribución de agregados por tamaño de partículas (adaptado de Márquez *et al.*, 2004).

#### Materiales

- Envases plásticos con tapa de 50 mL de capacidad
- Tamices de tamaño de malla de 2000, 1000, 500, 250 y 53  $\mu\text{m}$ , respectivamente



## Metodología para la determinación de carbono, según el método de Walkley y Black modificado (1947).

Colocar en tubos de ensayo, de la siguiente manera (Figura 9)

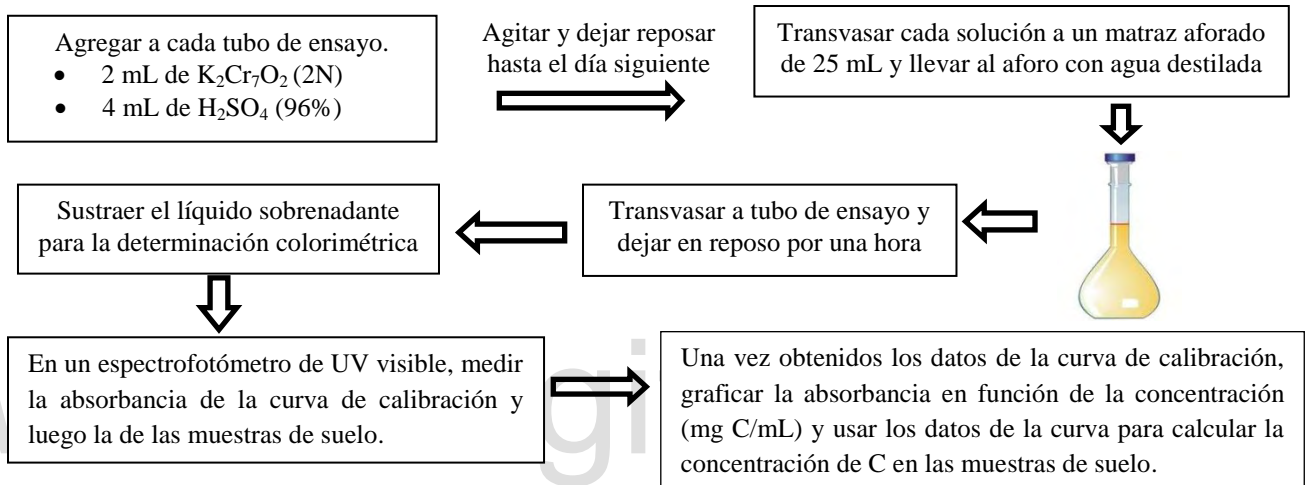


Figura 9. Procedimiento para la determinación de carbono, según el método de Walkley y Black modificado (1947).

La curva de calibración utilizada durante el procedimiento para la determinación del carbono.

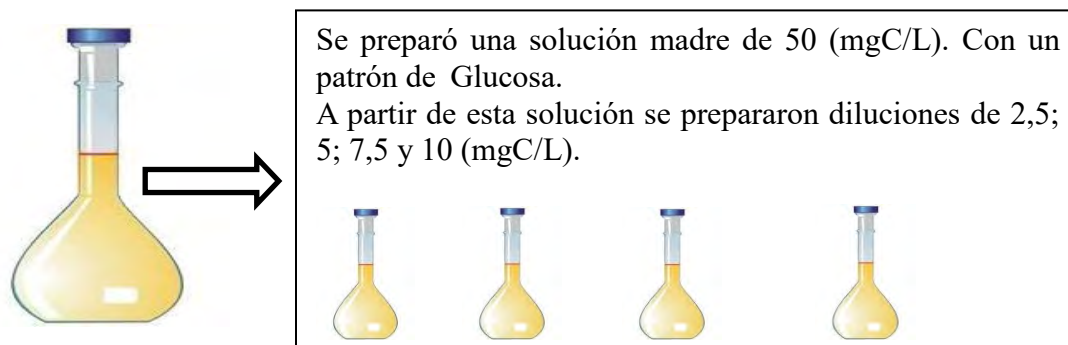


Figura 10. Procedimiento para la preparación de la curva de calibración.

**Materiales y equipos**

- Balones aforados de 100, 50 y 25 mL
- Tubos de ensayo Pyrex
- Pipetas graduadas de 1, 2, 3, 5, 10, 15 y 20 mL
- Pipeta volumétrica de 10 mL, propipeta
- Piceta con agua destilada
- Embudo
- Centrífuga marca Gemmy
- Balanza analítica digital marca Ohaus. Modelo Explorer Pro ( $\pm 0,0001$ ).
- Espectrofotómetro marca Shimadzu. Modelo UV-1601.

**Reactivos**

- Dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ). Prolabo venezolana, grado analítico 99,5 % de pureza.
- Ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado, 96% de pureza.
- D-Glucosa monohidrato. Proanálisis, grado analítico 99,9% de pureza.
- Agua destilada.

www.bdigital.ula.ve

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### Determinación de las variables fisicoquímicas del suelo estudiado

Esta experiencia, se realizó con el fin de conocer las características fisicoquímicas del suelo estudiado, ya que éstas están estrechamente vinculadas con los procesos que contribuyen con la transformación y mineralización del carbono. En las Tablas 2 y 3 se presentan los resultados obtenidos.

**Tabla 2. Estudios de la textura de las diferentes parcelas**

Parcelas	% arena	% limo	% arcilla	Textura	Grupo
Pc	41,6	26	32,4	FA	M
P1	29,6	30	40,4	A	F
P2	31,6	30	38,4	FA	M
P3	27,6	34	38,4	FA	M
P4	39,6	24	36,4	FA	M
P5	17,6	38	44,4	A	F
P6	33,6	26	40,4	A	F

FA= franco arcilloso; A= Arcilloso; M= medio; F= fino;

Pc= parcela control; P1= parcela 1; P2= parcela 2; P3= parcela 3; P4= parcela 4; P5= parcela 5; P6= parcela 6

El análisis granulométrico determinó que el Jardín Clonal del Campo Experimental de San Juan de Lagunillas del INIA – Mérida, presenta texturas finas y medias (F y M). Dentro de las finas observamos las A, en las medias solo hay FA. Los contenidos de arcilla, comprenden entre 33,6 - 41,6%; el contenido de limo, entre 26 - 38% y de arena, entre 32,4 - 44,4%. Esta característica permite a los suelos estudiados presentar alta capacidad de retención de humedad, lo que es favorable debido a las bajas precipitaciones de la zona.

**Tabla 3. Estudios de algunas de las propiedades químicas de las diferentes parcelas**

Muestras	pH	CE ( $\mu\text{S/cm}$ )
Pc	7,82	0,41
P1	8,05	0,20
P2	8,12	0,28
P3	8,18	0,19
P4	8,32	0,16
P5	8,28	0,15
P6	7,92	0,16

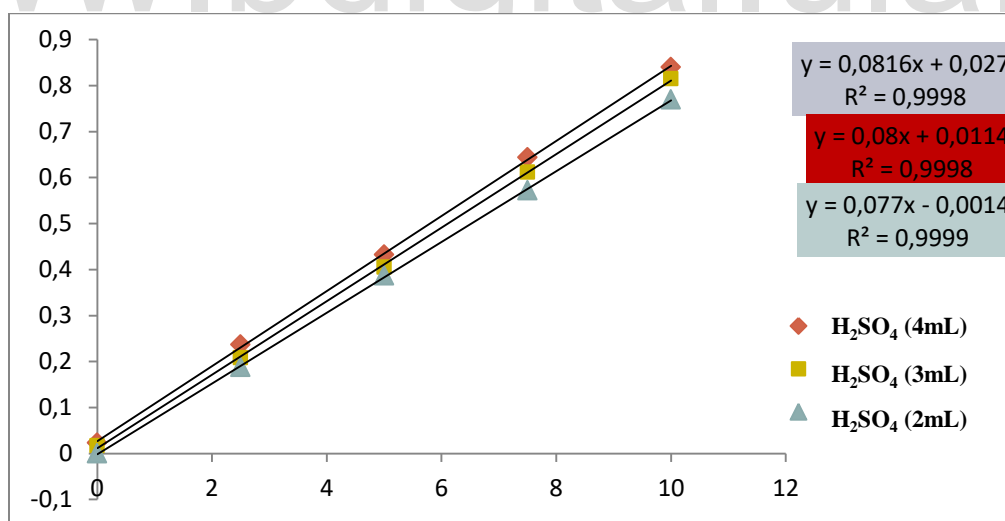
CE= Conductividad eléctrica

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 2, el suelo evaluado es levemente alcalino con pH entre 7,82 y 8,32. El pH del suelo, es una de las propiedades químicas más relevantes ya que controla la movilidad de iones, el recipiente y disolución de minerales, las reacciones redox, el intercambio iónico, la actividad microbiana y la disponibilidad de nutrientes (Sainz *et al.*, 2011). De acuerdo con Aguirre *et al.* (2021) Los pH alcalinos son propicios para dar lugar a la formación de compuestos insolubles como por ejemplo el carbonato de calcio. Esto implica que este nivel de pH favorece la mineralización del carbono, y por ende, su secuestro en el suelo.

### **Evaluación de método para la determinación de carbono por el método Walkley-Black modificado (1947).**

#### **Comparación de las concentraciones de carbono al variar el volumen de ácido sulfúrico utilizado en el proceso de digestión de la materia orgánica.**

Este experimento se realizó a fin de determinar si existe diferencias en el contenido de carbono obtenido al variar la cantidad de ácido sulfúrico concentrado utilizada en el proceso de digestión de la materia orgánica, para ello se realizaron tres curvas de calibrado, variando la cantidad de ácido sulfúrico, cuyas variaciones fueron de 2; 3 y 4 mL, cabe destacar que el método original emplea 4 mL. En la Figura 11 se presentan los resultados obtenidos para este ensayo.



**Figura 11. Análisis de curvas de calibración a diferentes volúmenes de ácido sulfúrico concentrado.**

En la Figura 4, se presentan las diferentes curvas de calibración realizadas, utilizando los volúmenes ácido sulfúrico concentrado antes mencionado en el proceso de digestión de las muestras.

Para determinar si al variar el volumen de ácido sulfúrico afecta o no las concentraciones de carbono en las muestras de suelo, se evaluaron tres muestras al azar de suelo del Campo experimental San Juan de Lagunillas con cada volumen utilizado en esta evaluación, obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4. Absorbancias obtenidas para las muestras de suelo al variar el volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.**

Muestras	4 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
1	0,156	0,144	0,151
2	0,148	0,139	0,141
3	0,173	0,167	0,156

Con los datos de las curvas correspondientes a cada volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y los resultados de las absorbancias para cada muestra de suelo, se calculó la concentración de carbono en (mgC/L), obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5. Concentración de carbono (mgC/L) obtenido para las muestras de suelo al variar el volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.**

Muestras	(mgC/L) 4 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	(mgC/L) 3 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	(mgC/L) 2 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
1	1,9	1,7	1,9
2	1,8	1,6	1,8
3	2,1	1,9	2,0

Al realizar un estudio estadístico con un nivel de significancia del 95% se obtuvo un  $p > 0,05$  lo que indica que no existen diferencias significativas entre las curvas.

Se evaluó el límite de detección LOD y el límite de cuantificación LOQ para el método cuando se usa un volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 4 mL y 2 mL. Los resultados se muestran en la tabla 6.

**Tabla 6. LOD y LOQ obtenido para el método al variar el volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.**

Vol de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mL)	S	m	LOD (mgC/L)	LOQ (mgC/L)
4	0.00591	0.0816	0.22	0.72
2	0.00572	0.0770	0.22	0.74

Los límites de detección y cuantificación coinciden al variar el volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en el método de Walkley-Black (1947). De acuerdo a estos resultados, cualquiera de los volúmenes utilizados funciona para el proceso de digestión de la materia orgánica. Sin embargo, en términos de costos, es más rentable utilizar la menor cantidad posible del

ácido, por esta razón, para realizar la evaluación de esta investigación se utilizó 2 mL de ácido sulfúrico concentrado.

El método de Walkley y Black ha sufrido diversas modificaciones a través del tiempo, con el fin de mejorar la precisión de los valores obtenidos. Inicialmente Walkley y Black (1934), utilizaron una titulación con  $\text{FeSO}_4$  para determinar el exceso de oxidante ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) y por diferencia se obtiene el contenido de MO. Graham (1947), fue el primero en sustituir la valoración por la técnica colorimétrica para los análisis rutinarios, usando el verde del ion  $\text{Cr}^{+3}$  reducido como una medida directa de la cantidad de carbono oxidado. Este método determina el color verde del ácido crómico reducido a 590 nm, el cual es proporcional a la MO que reacciona (Arriechi *et al.*, 1998). Además, en esta metodología minimiza la cantidad de material utilizado, así como la cantidad de reactivos, generando menor cantidad de residuos. Otra ventaja del método es que es más rápido en comparación al original.

En este trabajo de investigación, también se realizó una mejora al método de Walkley y Black, al disminuir la cantidad de ácido sulfúrico que se utiliza para la digestión de la MO. Como se mencionó anteriormente, el volumen de ácido sulfúrico utilizado es de 4 mL y se logró disminuir en un 50%; es decir, que se puede realizar el proceso de digestión de las muestras con tan solo 2 mL del reactivo, sin afectar los resultados obtenidos. Además, de esta mejora, también se le añade al método, el uso de la técnica de centrifugación, para separar el material en la solución final, con la finalidad de eliminar interferencias físicas de partículas en suspensión que pudieran afectar las medidas espectrofotométricas

A continuación, se presenta el estudio realizado para la determinación del carbono orgánico, adicionando al método comúnmente utilizado, la separación del material en suspensión utilizando la centrifuga.

#### **Evaluación de las medidas de absorbancia en una muestra tamizada a diferentes tamaños de partículas para determinar posibles interferencias físicas en las medidas espectrofotométricas.**

Se realizó un ensayo con una muestra tamizada a 2000, 500 y 53  $\mu\text{m}$ , usando el método modificado de Walkley-Black (1947), con 2 mL de ácido sulfúrico durante el proceso de digestión y se obtuvieron sus respectivas medidas de absorbancia. Las mismas muestras fueron sometidas a la acción de una centrifuga a 4000 rpm durante 10 minutos, antes de realizar nuevamente las medidas espectrofotométricas. Los resultados se muestran en la (Tabla 7).

**Tabla 7. Medidas de absorbancia (Abs) en una muestra de suelo, tamizado a diferentes tamaños de partículas evaluadas sin centrifugar y después de centrifugar.**

Tamaño de partícula ( $\mu\text{m}$ )	Absorbancia sin centrifugación	Absorbancia con centrifugación
53	0,245	0,151
500	0,238	0,141
2000	0,288	0,156

Los resultados obtenidos en el ensayo, muestran una disminución del valor de la absorbancia entre ambas medidas (con y sin centrifugación); lo que implica una sobreestimación de la concentración del COS.

Para determinar en qué medida se ven afectados los cálculos para determinar el contenido de carbono en la MOS, se calculó la concentración de carbono en cada muestra y además se obtuvo el error % entre los valores antes de centrifugar y luego de centrifugar para cada muestra. (Tabla 8).

**Tabla 8. Efecto del uso de la centrifuga en la determinación del % C en muestras de suelo.**

Tamaño de partícula ( $\mu\text{m}$ )	Estimación % C (antes de centrifugar)	Concentración % C (luego de centrifugar)	Error %
53	2,79	1,60	74,38
500	2,70	1,47	83,67
2000	2,07	1,66	24,70

El error % para la concentración de COS obtenida excede al error permitido (5%).

Las absorbancias registradas cuando no se usa centrifuga son mucho más elevadas, esto se debe a que existen partículas en suspensión que interfieren cuando el haz de luz pasa a través de la solución, causando interferencias físicas, por esta razón se plantea incorporar el uso de la centrifuga en el procedimiento, antes de medir la absorbancia de las muestras de suelo con el objetivo de eliminar este tipo de interferentes y dar un resultado más preciso y exacto.

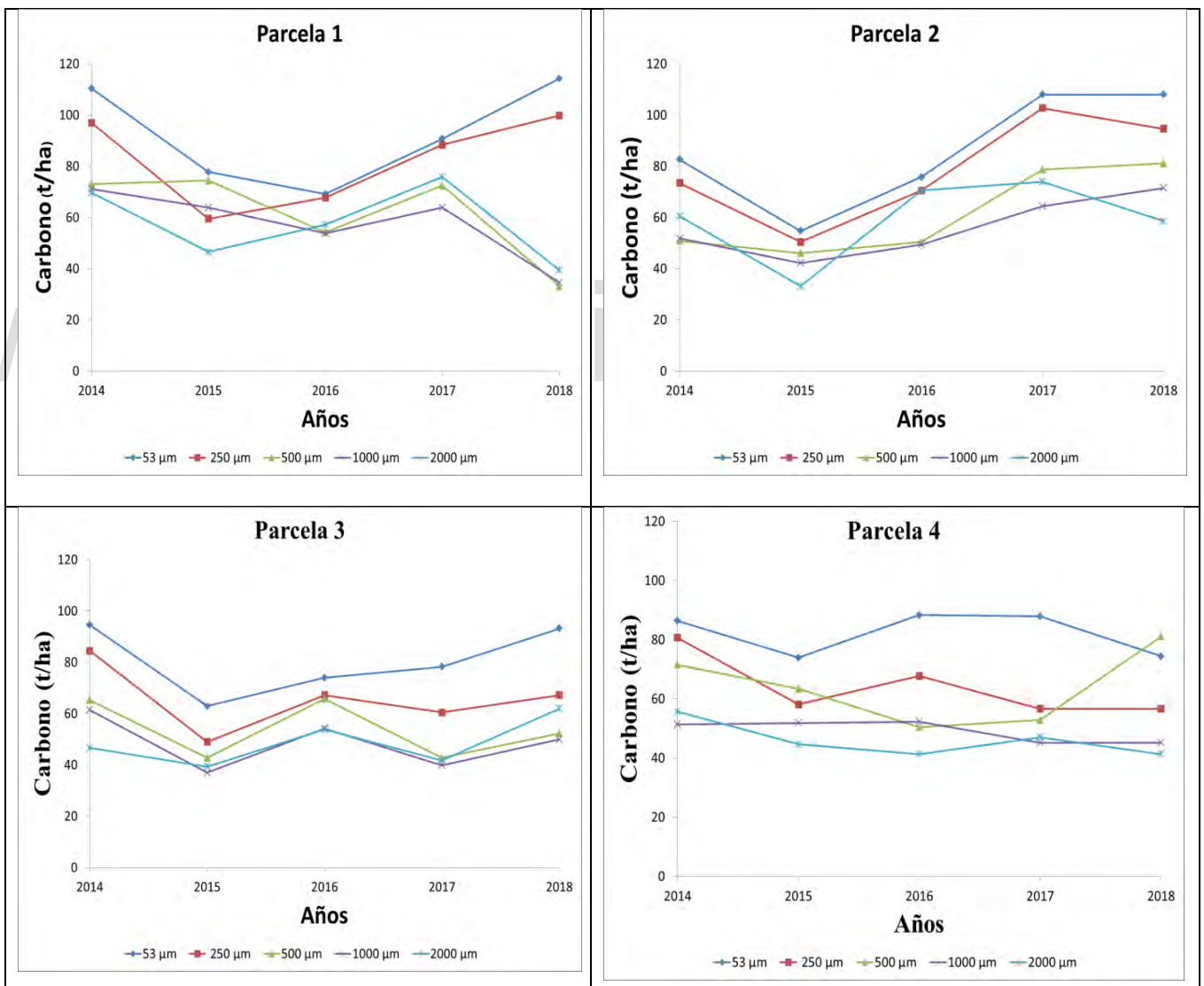
Con los ajustes y mejoras realizadas al método de Walkley-Black, se realizó la evaluación del carbono orgánico almacenado en las diferentes fracciones del suelo de las parcelas del

Campo Experimental San Juan de Lagunillas del INIA - Mérida. Para el período de tiempo de 5 años (2014-2015)

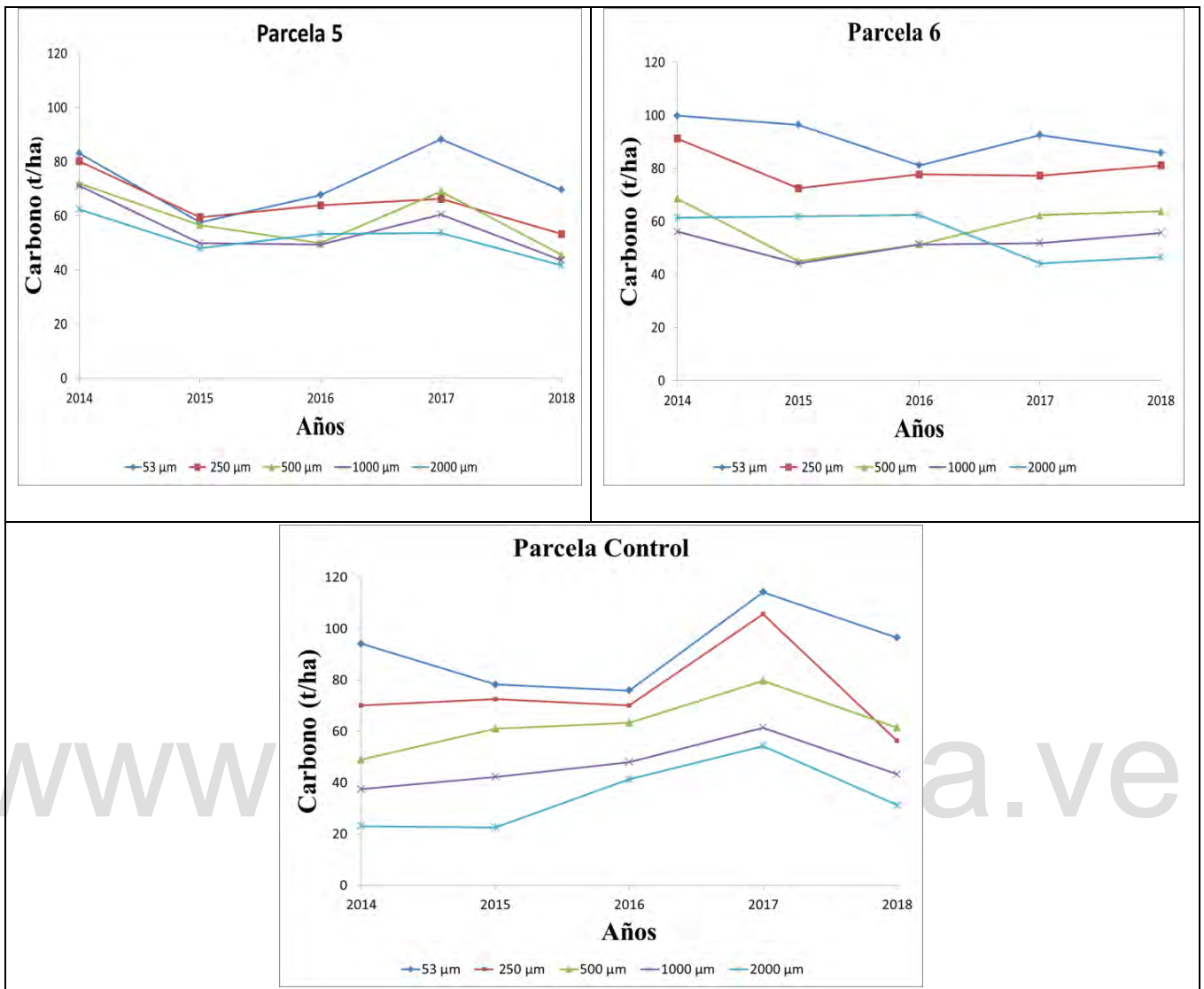
**Evaluación del carbono almacenado en el suelo en las diferentes parcelas demostrativas del campo experimental San Juan de Lagunillas.**

El siguiente experimento se realizó para determinar en qué medida se deposita el carbono orgánico en las siete parcelas evaluadas a diferentes tamaños de partículas (2000, 1000, 500, 250 y 53  $\mu\text{m}$ ) con el fin de estudiar el efecto del tamaño de los agregados, en el almacenamiento del COS.

A continuación (Figura 12), se presentan los resultados obtenidos para esta evaluación.







**Figura 12.** Cantidad de carbono (t/ha) en función del tiempo (2014-2018) a diferentes tamaños de partículas (53, 250, 500, 1000 y 2000 μm) para cada una de las parcelas estudiadas.

Con el objeto de evaluar los cambios temporales que ocurren en la concentración de carbono en las diferentes fracciones de suelo en las parcelas estudiadas, se procedió a efectuar un análisis estadístico ANOVA de medidas repetidas, con un nivel de confianza del 95 %. Para Obteniendo un  $P=0.002 < 0.05$  y por tanto existen diferencias estadísticamente significativas entre las varianzas de los pares de medias. Lo que indica que el contenido de carbono almacenado en las parcelas estudiadas difiere entre los años estudiados y entre parcelas.

Sin embargo, la interacción año - tamaño de partícula y parcela - tamaño de partícula, no es significativa,  $p = 0,062 > 0,05$ . Esto significa, que independientemente del año de muestreo, la concentración de carbono es mayor en las partículas de menor tamaño. De igual manera,

en la correlación de la concentración de carbono para cada parcela y por tamaño de partícula, independiente de la parcela estudiada, la concentración de carbono es mayor en las partículas de menor tamaño.

Se puede observar que al comparar los resultados de la parcela control con las parcelas en estudio. En la parcela control, las cantidades de carbono almacenado fueron de 22,56 toneladas de carbono por hectárea (t C/ha) hasta 110,24 t C/h, mientras que en las parcelas en estudio fueron desde 33,12 hasta 114,24 t C/h. Se estima que el suelo agroforestal con cacao, almacena mayor cantidad de carbono que el suelo en barbecho (parcela control).

Rodríguez *et al.*, (2020). Desarrollaron una investigación con el objetivo de evidenciar la influencia del manejo del sistema agrícola en propiedades físicas y químicas del suelo a diferentes profundidades (0-15 y 15-30 cm) en diferentes agroecosistemas. Entre ellos, bosque, agroforestales con cacao, banano y pastos. Obteniendo que en cacao y bosque se registraron los mayores valores de materia orgánica del suelo, atribuido a la gran cantidad de hojas, ramas y tallos que se generan, y que luego se incorporan al suelo por la actividad de los microorganismos.

Por otro lado, Ortiz *et al.*, (2008). Modelaron el almacenamiento de carbono en sistemas agroforestales de cacao (*Teobroma Cacao* L) y laurel (*Cordia alliodora*). Plantados entre 1989-1990, para estimar el potencial de captura de carbono. El carbono almacenado en 25 años varió entre (43 – 62 t C/ha), con tasas de acumulación de entre (1,7 y 2,5 tC/ha/año). Además, las mayores tasas de acumulación de carbono ocurrieron durante los primeros 7 años. En comparación con la plantación de cacao en el campo experimental San Juan de Lagunillas donde la edad del cultivo para el momento del muestreo va desde 14-19 años, y registra acumulación de C entre 33,12-114,24 (t C/h). Considerando que este sistema agroforestal, es una plantación de mediana edad y que la data se realizó solo para 5 años consecutivos, se puede afirmar que este sistema tiene potencial para capturar y almacenar carbono.

En otro estudio realizado por Estrada (2023). Quien evaluó el carbono orgánico del suelo en cinco sistemas de uso de tierras (SUT) en el Centro de Investigación y Producción Tulamayo. Los SUT fueron plantaciones de Arroz (*Oryza Sativa* L.), Capirona (*Calycophyllum Spruceanum* Benth), Teca (*Tectona grandis* L.f), Cacao (*Theobroma cacao* L.) y Pasto kikuyo (*Pennisetum Clandestinum* Hoschst) los cuales presentaron edades de 4 meses, 18, 10, 7 y 30 años respectivamente. Ella estimó carbono orgánico en suelo, hojarasca y raíces consiguiendo que el carbono orgánico del suelo se almacena en mayor cantidad en el cultivo de capirona (26,55 tC/ha) seguido de la teca (26,16 tC/ha) y por último el cacao con (25,32 tC/ha), mientras que el carbono orgánico en hojarasca se

almacenó mayoritariamente en el cultivo de teca (62,71 tC/ha) y en raíces destacó el pasto kikuyo (9,92 tC/ha).

Estrada determinó que el COS se encuentra en mayor cantidad en SUT con especies foréstaes de mayor tamaño (capirona y teca), seguida de la especie agroforestal (cacao). Estos SUT no están sometidos a la constante labranza, sin embargo, los cultivos de arroz y pasto kikuyo que denotan los valores mínimos de C en el suelo, están sometidos no solo a labranza sino a pastoreo y compactación. El CO del suelo manifestó diferencia significativa entre los tratamientos del uso de la tierra y resaltó que las especies forestales y agroforestales son las que secuestran mayor cantidad de carbono. Observando los resultados de este estudio, se puede afirmar que los sistemas de uso de tierras son claves para definir un sistema que pueda usarse como sumidero de carbono y que los sistemas forestales y agroforestales están dentro de las principales alternativas por su capacidad de captura y almacenamiento de carbono. Comparando con nuestro estudio, el suelo en barbecho (parcela control) registra el menor contenido de carbono mientras que los suelos agroforestales cultivados con cacao tienen el mayor registro de carbono almacenado en el suelo.

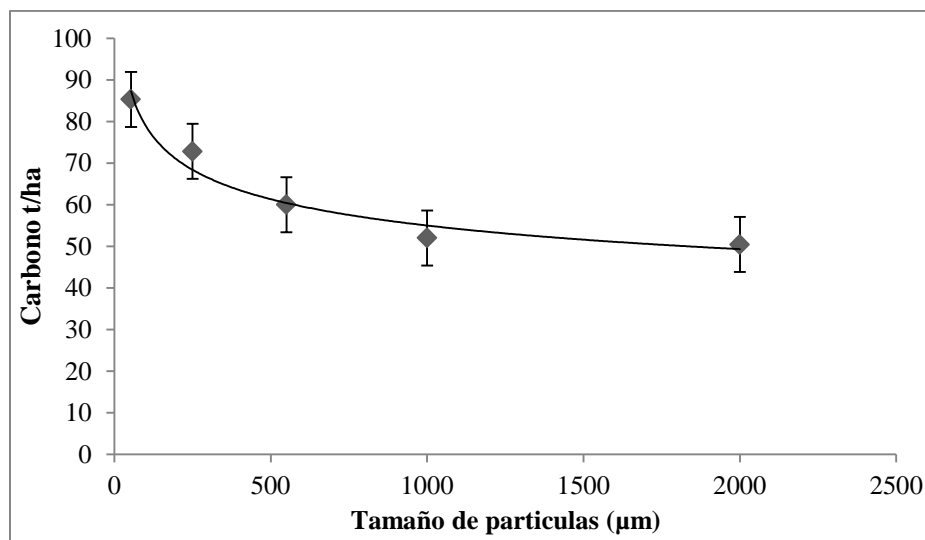
Del mismo modo Vara (2021) realizó una investigación que tuvo por objetivo general comparar la cantidad de carbono orgánico almacenado en dos sistemas agroforestales (SAF) de cacao y naranja (*Citrus sinensis*). El autor obtuvo como resultados en relación al carbono almacenado, en el SAF cacao obtuvo un total de 147,79 tC/ha (suelo 143,99 tC/ha, hojarasca 1,65 tC/ha y raíces 2,15 tC/ha) y el SAF naranja hace un total de 80,89 tC/ha (suelo 72,73 tC/ha, hojarasca 0,82 tC/ha y raíces 7,34 tC/ha). Concluyéndose así que el SAF con cacao almacena mayor cantidad de carbono orgánico en comparación al SAF naranja. Esta conclusión nos conduce a resumir que los SAF con cacao pueden ser considerados como una de las mejores alternativas para secuestrar carbono. Aunque nuestro estudio no incluye la determinación de carbono en la hojarasca, ni en las raíces y solo podemos comparar con el contenido de carbono en suelos, los resultados concuerdan con lo reportado por este autor para el caso de SAF con cacao (143,99 tC/ha), ya que nuestro registro máximo estuvo en 114,24 tC /ha.

A continuación, se presentan el contenido promedio de carbono (tC/ha) de todas las parcelas para los tamaños de partícula estudiados ( $\mu\text{m}$ ).

### **Evaluación de la acumulación de carbono en el suelo en función del tamaño de partícula**

El siguiente estudio se realizó con el fin de evidenciar la concentración de carbono en las diferentes fracciones del suelo, para ello se realizó un promedio de todo el campo cultivado con cacao, para cada fracción y se graficó la concentración de carbono promedio (tC/ha) en

función del tamaño de partícula (53, 250, 500, 1000 y 2000  $\mu\text{m}$ ) como se muestra en la figura 13.



**Figura 13. Evaluación del contenido de carbono (t/ha) en los diferentes tamaños de partícula.**

Al observar la Figura 6 y basándose en el análisis estadístico con un nivel de confianza del 95% para la concentración de carbono en los diferentes tamaños de partículas, se obtuvo un  $p < 0,05$  lo que indica que existen diferencias significativas en la concentración de carbono promedio entre los diferentes tamaños de partículas estudiados (Anexo 5), dejando en evidencia que a menores tamaños de partículas se consigue mayor cantidad de carbono y que la concentración de carbono disminuye a medida que aumenta el tamaño de los agregados.

De acuerdo a Matús y Maire, (2000). Cada suelo posee una capacidad limitada de proteger físicoquímicamente la materia orgánica contra la biodegradación en sus partículas de arcilla y limo. Las tasas de mineralización de carbono (C) de los suelos estarían relacionadas al grado de saturación de C en estas partículas. La materia orgánica del suelo puede quedar retenida en la superficie de las partículas de arcilla y también puede recubrirse y/o quedar atrapada dentro de los espacios entre capas y/o microagregados, lo que permite protegerla de la degradación por microorganismos. Los autores señalan que más del 80% del COS estaba asociado con fracciones de arcilla y limo. Considerando que las partículas de tamaños  $\geq 50 \mu\text{m}$  están asociadas a arena y  $< 50 \mu\text{m}$  pertenecen al limo y arcillas. Por esta razón las partículas de menor tamaño muestran un mayor contenido de carbono, ya que en estas fracciones el contenido de limo y arcilla es mucho mayor.

Las parcelas estudiadas del campo experimental San Juan de Lagunillas del INIA – Mérida, presenta texturas arcillosas y franco arcillosas, con un contenido de limo entre 26 - 38% y arcilla entre 33,6 - 41,6%. Estos resultados se correlacionan con la capacidad de este suelo

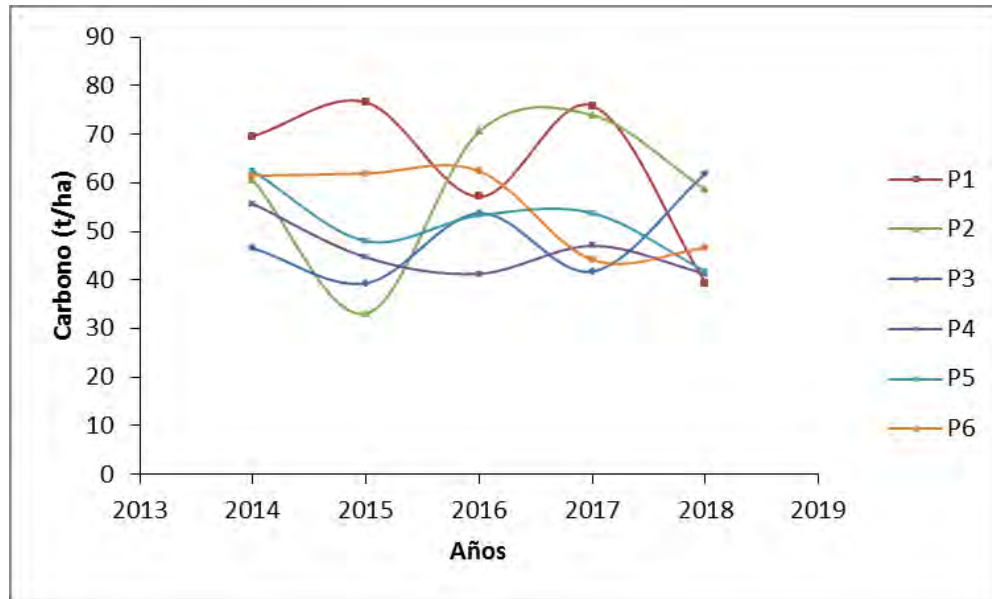
de almacenar carbono en las fracciones de menor tamaño, ya que están asociadas al contenido de limo y arcilla.

Según Matús (2021) quien realizó un estudio en diferentes tipos de suelo en fracciones de tamaño de partícula  $< 63 \mu\text{m}$ ; entre  $20 - 63 \mu\text{m}$  y  $< 20 \mu\text{m}$ . Él considera que el contenido de limo fino y arcilla es el principal factor que define las acumulaciones máximas de C en los suelos. El autor confirma que, a diferencia de la arcilla, las partículas de limo son fracciones parcialmente reactivas, en las que el C no se adsorbe por completo. El limo comprende microagregados con volúmenes de huecos relativamente altos, en los que el COS está físicamente protegido (estabilizado) de los ataques microbianos.

Por otro lado, Allauca y Ayala (2021) evaluaron la cantidad de carbono orgánico que se encuentran en las diferentes fracciones compuestas del suelo de páramo estimando la cantidad de carbono a diferentes tamaños de partículas en zonas intervenidas y no intervenidas de Chambo y Pungalá, provincia de Chimborazo. Los tamaños de partícula usado fueron de 2000, 250, 180, 63 y 53  $\mu\text{m}$ , y sus resultados indican que, la zona no intervenida presenta mayor porcentaje de carbono orgánico en la fracción compuesta de 2000  $\mu\text{m}$ , en comparación con la zona intervenida en la cual la fracción compuesta que mejor estima el carbono orgánico es la de 53  $\mu\text{m}$ ; esto implica que mientras no exista intervención antropogénica en el suelo, este va a retener mayor cantidad de carbono incluso en las partículas de mayor tamaño, no obstante cuando ya existe intervención antropogénica, aunque tenga un manejo agronómico de conservación, el carbono más lábil contenido en las fracciones de mayor tamaño que no están protegidas física o químicamente, vuelven a la atmósfera. En general, la transformación de los ecosistemas naturales en agroecosistemas está asociada a una descarbonización de los suelos. Los usos y manejos intensivos hacen variar el carbono orgánico del suelo (COS) y su liberación en forma de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) hacia la atmósfera (Digüero, 2023). Por esta razón, es importante conservar los ecosistemas agroforestales, donde la intervención antropogénica sea mínima para evitar la liberación de  $\text{CO}_2$ .

#### **Evaluación de la acumulación de carbono en la fracción de suelo de 2000 $\mu\text{m}$ en el período de 5 años para las parcelas cultivadas con cacao.**

La mayoría de los trabajos de investigación registrados, utilizan tamaño de partícula o tamiz de 2000  $\mu\text{m}$ , esto se debe a que la metodología estandarizada para determinar carbono en suelo sugiere que el tamiz utilizado sea de 2000  $\mu\text{m}$ . (Bazán, R. 2017). Por ello, se presenta a continuación en la Figura 14, el contenido de carbono (tC/ha) en tamaño de partícula de 2000  $\mu\text{m}$ , obtenidos en cada año de análisis (2014-2018) para las diferentes parcelas cultivadas con cacao. De esta manera comparar datos con otros estudios similares.



**Figura 14.** Cantidad de carbono en las diferentes parcelas cultivadas con cacao en el Campo Experimental San Juan de Lagunillas del INIA- Mérida (2014-2018). Con tamaño de partícula de 2000  $\mu\text{m}$ .

Al realizar un análisis estadístico con un nivel de confianza del 95% se obtuvo un  $p < 0,05$  lo que indica que existen diferencias significativas entre la cantidad de carbono obtenido en las diferentes parcelas para cada año de estudio. Al igual que en el estudio estadístico en función del tiempo para cada parcela con diferentes tamaños de partícula, acá solo se hace referencia a un solo tamaño de partícula, donde se observa que el comportamiento estadístico es igual, lo que infiere que el almacenamiento de carbono en las parcelas de cacao estudiadas no ha sido de forma progresiva, sino que se registran tanto pérdidas como ganancias en la acumulación de carbono, no obstante podemos asegurar que el suelo ha venido almacenando carbono, pero también es cierto que, para que el carbono quede completamente retenido en suelo, es necesario que sea mineralizado y de esta manera quede almacenado por largo tiempo, evitando que vuelva a la atmósfera.

La cantidad de carbono registrado en este estudio, varía entre 33,12 y 75,84 tC/ha. Con estos datos se realizaron algunas comparaciones con estudios semejantes a fin de establecer una concordancia con datos reportados en condiciones similares.

Mondragón (2019), evaluó el carbono total almacenado en una plantación de cacao en una hectárea de cacaotal establecida en sistema de monocultivo, en condiciones de Ceja de Selva en el Centro Poblado de Santa Cruz del Distrito de Bellavista perteneciente a la provincia de Jaén, cuya altitud es 480 msnm, Para dar respuesta a los objetivos de la investigación se calculó la biomasa aérea y biomasa muerta (hojarasca y necromasa), para los análisis de suelo se trabajó con el método del cilindro de volumen conocido para

calcular la densidad aparente y el método de titulación de Walkley y Black para determinar el porcentaje de carbono fijado en el suelo. Los resultados mostraron que la cantidad de reserva de carbono en la biomasa son 22,68 t C/ha; 13,6 t C/ha en la necromasa y 17,73 t C/ha almacenado en el suelo, haciendo un total acumulado de 54,02 t C/ha. El flujo de fijación de carbono del sistema monocultivo es de 6,04 t C/ha/año.

En su trabajo Mondragón reporta una cantidad de carbono en suelos de 17,73 t C/ha, utilizando la metodología de Walkley y Black que comparando con los valores obtenidos en nuestro estudio (33,12 y 75,84 tC/ha), están un poco por debajo, sin embargo, cabe destacar que su estudio fue realizado en un monocultivo, es decir que no se trata de un ecosistema agroforestal.

Por otro lado, Acosta *et al.*, (2020) realizaron un estudio donde se estimó el almacenamiento de carbono en 50 sistemas agroforestales de cacao en Waslala, Nicaragua, los SAF-cacao almacenaron 91,45 ( $\pm$  31,44) tC/ha. Los compartimentos del SAF-cacao que más carbono almacenaron en orden descendente fueron: suelo (52,61%), biomasa aérea (plantas de cacao y árboles de sombra) (35,86%), raíces gruesas (7,52%), raíces finas (4,15%), necromasa (0,32%) y hojarasca (0,32%). El 56% de los SAF-cacao registraron niveles de carbono medio y alto y el 44% niveles bajo y muy bajo, el suelo fue el componente que tuvo un mayor aporte de carbono más del 50% del carbono total fijado. El 52,61 % de carbono en suelo, significa que obtuvieron 48,11 tC/ha.

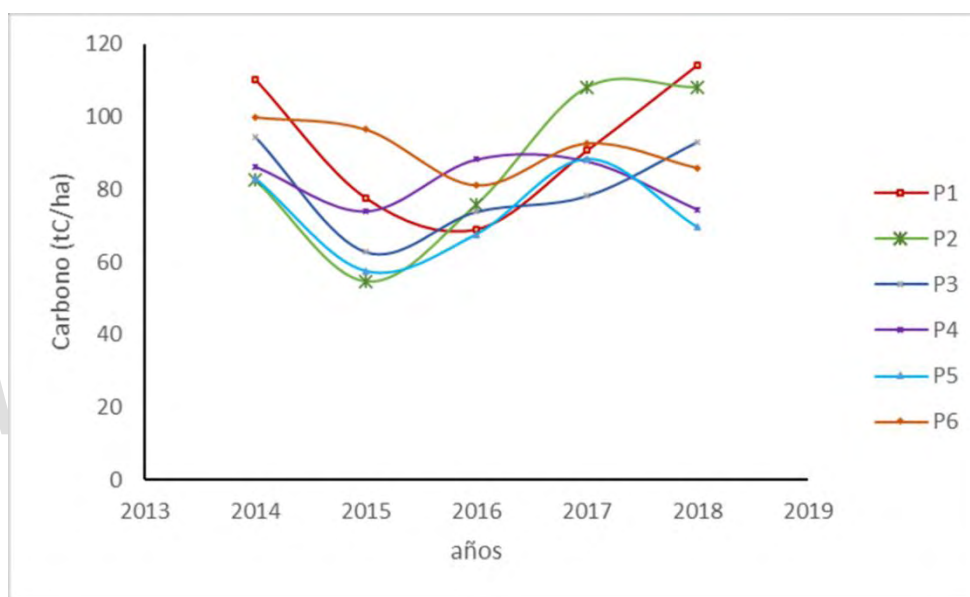
En otro estudio realizado por Zavala *et al.* (2018). Evaluaron el efecto de tres sistemas agroforestales (SAF) del cultivo de cacao. Las variables respuestas fueron la captura y almacenamiento de carbono, en la biomasa arbustiva, arbórea, y suelo. Los SAF de cacao fueron de diferentes unidades fisiográficas con edades, menores de 8 años, entre 8 a 16 años y mayores de 16 años. La estimación del carbono orgánico fue determinada por el método de Walkley y Black. Reportando que el mayor almacenamiento de carbono total lo alcanzó el SAF mayor de 16 años con 344,24 t C/ha, el SAF entre 8 y 16 años con 178,61 t C/ha y el SAF menor de 8 años con 154,91 t C/ha. Los autores refieren el mayor contenido de carbono orgánico en el suelo en el SAF con cacao menor de 8 años, con 66,16 t C/ha en la capa del suelo de 0 a 10 cm.

De acuerdo a los resultados reportados por los autores ya mencionados y comparando con los datos obtenidos en la determinación de carbono en el Campo Experimental San Juan de Lagunillas (33,12 – 75,84 t C/ha). Se observa que Mondragón (2019), reporta 17,33 t C/ha en suelo, así mismo Acosta *et al.*, (2020) obtuvieron 48,11 tC/ha y Zavala *et al.* (2018) obtienen un valor máximo de secuestro de carbono en el suelo con un valor de 66,16 t C/ha. Estos datos reflejan que la estimación de carbono en nuestro estudio está dentro del promedio para el sistema agroforestal con cacao.

### Evaluación de la acumulación de carbono en la fracción de suelo de 53 $\mu\text{m}$ en el período de 5 años para las parcelas cultivadas con cacao.

Del mismo modo se realizó una evaluación del carbono almacenado en los agregados de suelo de menor tamaño (53  $\mu\text{m}$ ) ya que son estas fracciones que estiman una mayor cantidad de carbono es este estudio.

A continuación, se presenta en la Figura 15, la gráfica obtenida para esta evaluación donde se relaciona el contenido de carbono (tC/ha) en tamaño de partícula de 53  $\mu\text{m}$ , obtenidos en cada año de análisis (2014-2018) para las parcelas cultivadas con cacao.



**Figura 15. Cantidad de carbono almacenado en las diferentes parcelas cultivadas con cacao (2014-2018). Con tamaño de partícula de 53  $\mu\text{m}$ .**

En la Figura 8. Se observa una tendencia a aumentar el contenido de carbono en estas fracciones de suelo (53  $\mu\text{m}$ ) a partir del año 2015, esto indica que existe una acumulación de carbono en este periodo de tiempo en estos agregados de suelo, que están vinculados al contenido de limo y arcilla, lo que concuerda con Matus (2021) quien afirma que el contenido de limo y arcilla definen las acumulaciones máximas de carbono en el suelo.

Para evidenciar en qué forma se está acumulando el carbono en esta fracción de suelo (53  $\mu\text{m}$ ), durante el periodo de tiempo en estudio, se propone calcular la tasa de variación interanual y la tasa de variación acumulada.



### **Evaluación de la tasa de variación interanual de carbono en la fracción de suelo de 53 $\mu\text{m}$ en el período de 5 años (2014-2018) para el suelo cultivado con cacao.**

Para esta evaluación se tomaron los valores promedios del contenido de carbono en las parcelas en las fracciones de 53  $\mu\text{m}$ , para cada año y se utilizó la ecuación 10 para los cálculos. Los resultados se muestran en la Figura 16.

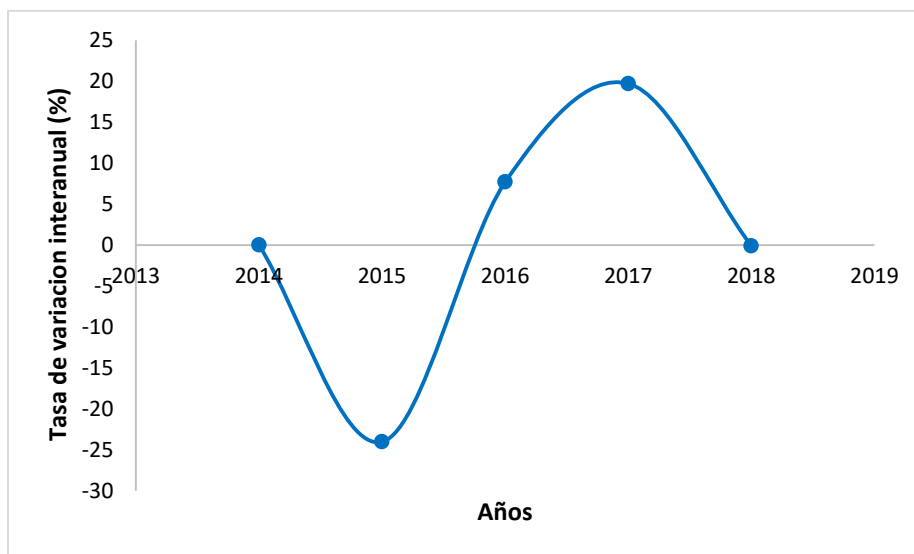


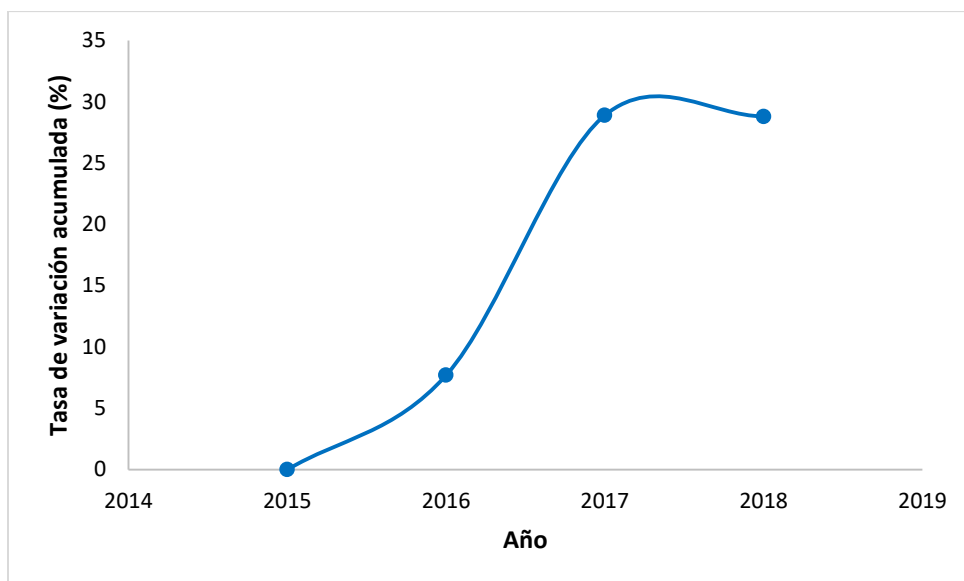
Figura 16. Tasa de variación interanual de carbono en la fracción del suelo de 53  $\mu\text{m}$ , para el periodo de tiempo 2015-2018. En las parcelas cultivadas con cacao.

Esta fracción del suelo, es la que presenta mayor capacidad de secuestro de carbono, se observa una disminución de la concentración de carbono en el año 2015 con respecto al año 2014, seguida de una rápida recuperación en el 2016 y 2017, con incrementos de 7,7% y 19,7%, y se mantiene relativamente constante hasta 2018.

El patrón de variación observado en la concentración de carbono, en la fracción de suelo correspondiente a 53, nos permite estudiar el secuestro de carbono en la plantación de cacao, a partir de un valor basal de 70,56 t/ha. Una alternativa razonable para evaluar este fenómeno consiste en estudiar la tasa de variación acumulada en el periodo 2015-2018.

### **Evaluación de la tasa de variación acumulada de carbono en la fracción de suelo de 53 $\mu\text{m}$ en el período de 4 años (2015-2018) para el suelo cultivado con cacao.**

Para esta evaluación se tomó en consideración el periodo de tiempo 2015-2018 ya que se estableció en el estudio anterior que es el periodo donde se aprecia un incremento considerable de carbono acumulado en el suelo para esta fracción de 53  $\mu\text{m}$ . Los cálculos fueron realizados usando la ecuación 9, y los resultados se muestran en la Figura 17.

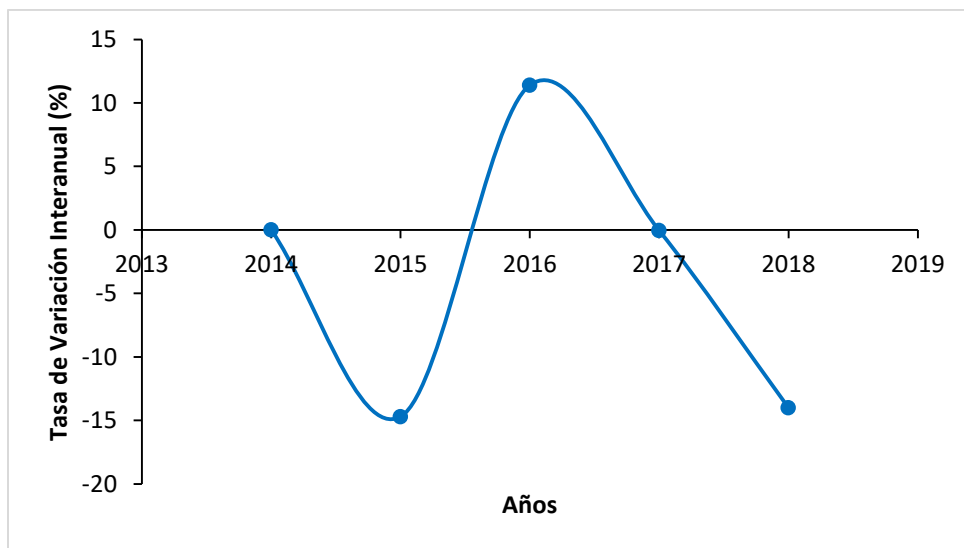


**Figura 17. Tasa de variación acumulada de carbono en la fracción del suelo de 53 µm, con respecto al año 2015, para el periodo de tiempo 2015-2018. En las parcelas cultivadas con cacao.**

El primer año (2016) hubo un incremento de 7,7% de la concentración de carbono en esta fracción del suelo, con respecto al año base (2015). El segundo año (2017) se observó un aumento del 28,8% de dicha concentración, con respecto al año base, valor que se mantuvo constante hasta el 2018. Se evidencia que el carbono almacenado en estas fracciones de suelo permanece en el tiempo, esto se atribuye a una mejor interacción de estos agregados con el carbono, donde el contenido de limo y arcilla es mayor, lo que se favoreció por la textura del suelo (arcilloso y franco arcilloso).

**Evaluación de la tasa de variación interanual de la concentración de carbono en el cultivo de cacao para el período (2014-2018), para la fracción de 2000 µm.**

Del mismo modo que se realizó la evaluación para la fracción de menor tamaño, se evaluó la tasa de variación interanual de la concentración de carbono, expresada en porcentajes, para la fracción correspondiente a 2000 µm, los resultados se observan en la Figura 18.



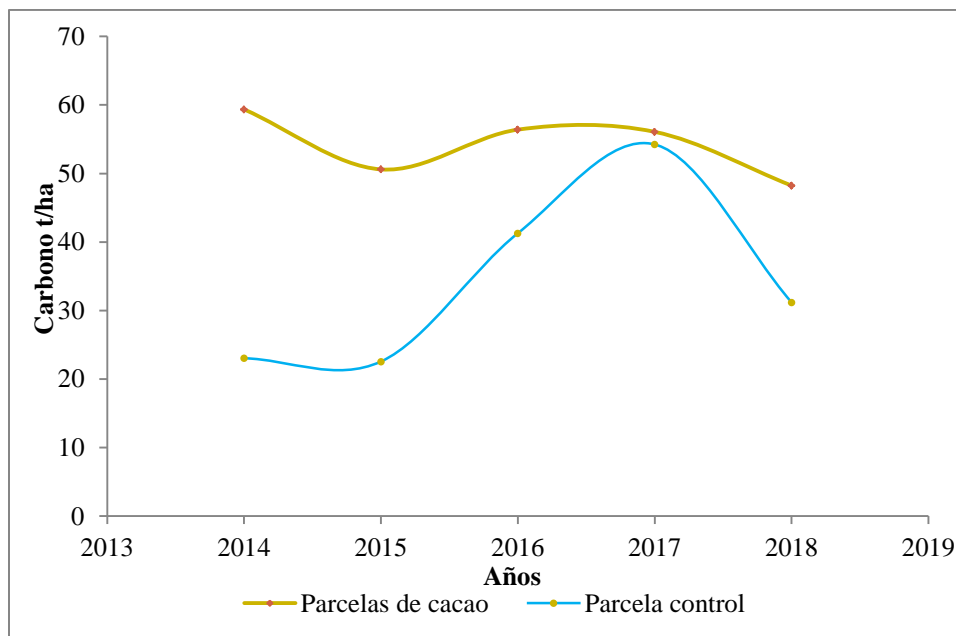
**Figura 18. Tasa de variación interanual de carbono en la fracción de 2000  $\mu\text{m}$ , para el periodo de tiempo (2014-2018) en el SAF con cacao del Campo Experimental San Juan de Lagunillas.**

Se observa una disminución de la cantidad de carbono acumulada en esta fracción del suelo en el año 2015 con respecto al año 2014, seguida de una rápida recuperación en el 2016, con una acumulación de 11,4%. Entre 2016 y 2017 la concentración de carbono se mantuvo constante, para luego disminuir un 14% en el 2018, con respecto a la concentración observada en 2017. Se evidencia que estas fracciones de suelo mantienen una dinámica de flujo carbono, donde naturalmente hay tanto pérdidas como ganancias, lo que indica mayor susceptibilidad a cambios en la acumulación de carbono.

Otra manera de evidenciar en qué medida se acumula carbono en un suelo es comparar con otro sistema de uso de tierra, en este caso se compara el contenido de carbono para un SAF cacao en comparación a un suelo en barbecho (sin cultivo).

**Evaluación del almacenamiento de carbono (tC/ha) en el suelo cultivado con cacao, respecto a la parcela control o suelo en barbecho, para los diferentes años de estudio, con tamaño de partícula de 2000  $\mu\text{m}$ .**

En la Figura 19, se muestra el contenido de carbono promedio (tC/ha) proveniente del suelo cultivado con cacao y la parcela control, para cada año de muestreo.



**Figura 19. Evaluación del almacenamiento de carbono (t/ha) en el suelo cultivado con cacao del Campo Experimental San Juan de Lagunillas - Mérida respecto a la parcela control para los diferentes años de estudio.**

Al realizar el análisis estadístico con un nivel de confianza del 95% se observa que existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre el suelo de la parcela control y el suelo cultivado con cacao.

Observando la Figura 18, se aprecia que el contenido de carbono en el suelo en barbecho es mucho más susceptible a cambios en la acumulación de carbono, con valores que fluctúan entre 22,56 y 54,25 tC/ha, esto implica que el carbono allí almacenado no es estable y puede perderse con mayor facilidad por diferentes factores. Sin embargo, se puede evidenciar, que el carbono almacenado en las parcelas con cacao presenta valores más estables, que fluctúan entre 48,24 y 59,36 tC/ha. La diferencia entre ambos suelos es evidente lo que indica que los suelos agroforestales con cacao retienen mayor cantidad de carbono y puede funcionar como sumidero de carbono a largo plazo.

Este estudio puede compararse con el realizado por Sanmartín y Barrezueta (2017). Quienes cuantificaron la captura de carbono en suelos cultivados con cacao, a diferentes profundidades y compararon con un suelo en barbecho. Para ello tomaron tres parcelas, dos con cultivos de cacao y una en barbecho. Las muestras de suelo se tomaron a tres profundidades (0-10, 10-20 y 20-40 centímetros) proceso que se repitió en las tres parcelas. El nivel de MO del suelo fue  $> 4,67\%$  de 0 a 10 cm para uso cacao que descendieron en el perfil sin llegar a obtener registros inferiores a  $\leq 0,75\%$  como el suelo en barbecho. El mayor registro de C almacenado fue de 36,78 tC/ha, en el primer sustrato del cacao,

seguido de 18,75 tC/ha y 28,66 tC/ha, en la segunda y tercera profundidad, mientras que en barbecho el valor más alto fue de 8,39 de tC/ha, en el estrato 20-40 cm, resultados que demuestran diferencias significativas entre los dos usos de suelo y las profundidades a las que se tomaron las muestras, incidiendo la biomasa generada por el cultivo de cacao en los niveles de carbono.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos al evaluar el contenido de carbono en diferentes fracciones de suelo, se determinó que la fracción que mejor estima la concentración de COS es la fracción de 53  $\mu\text{m}$  y que la concentración de C disminuye a medida que aumenta el tamaño de los agregados.
- La captura de CO en las parcelas cultivadas con cacao, bajo sombra permanente, fue superior a la parcela control (suelo en barbecho), donde se obtuvo un valor desde 48,24 tC/ha hasta 59,36 tC/ha para el cultivo de cacao, mientras que el suelo en barbecho estimó un valor mínimo en 22,56 tC/ha. hasta 54,25 tC/ha. el suelo cultivado con cacao mantiene una acumulación de carbono constante en el tiempo, debido a la incorporación continua de materia orgánica por la plantación de cacao y de los árboles de sombra del SAF; por lo tanto, pueden funcionar como sumidero de carbono a largo plazo.
- El carbono almacenado en el suelo cultivado con cacao bajo un SAF en el periodo de cinco años (2014-2018) en las fracciones de menor tamaño (53  $\mu\text{m}$ ) reflejan una tasa de variación interanual de 7,7% hasta 19,7%. Donde se evidencia que el periodo donde más se acumuló carbono es en el periodo del 2015-2018, para el que se obtuvo una tasa de variación acumulada de 7,7% hasta 28,8%.
- El carbono almacenado en el suelo cultivado con cacao, para las fracciones de suelo de 2000  $\mu\text{m}$ , reflejan una tasa de variación interanual de 11,4 % entre el 2015-2016, y se mantiene constante par el 2017, sin embargo; entre el 2014-2015 y 2017-2018 se registra una disminución de 14,7 % y 14% respectivamente, evidenciando que estas fracciones de suelo mantienen una dinámica de flujo de carbono, donde naturalmente hay tanto pérdidas como ganancias, lo que indica mayor susceptibilidad a cambios en la acumulación de carbono en estas fracciones de suelo.
- El procedimiento de Walkley-Black modificado en 1947 está diseñado para cubrir un amplio rango de concentraciones de MOS, por esta razón se puede ajustar ya que es posible digerir la cantidad de MOS con un volumen de 2 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado, en muestras de suelo, sin alterar los resultados obtenidos. Además, se genera menor cantidad de residuos tóxicos y se disminuyen los costos.

- Es necesario incorporar la centrifugación al procedimiento de Walkley-Black, antes de realizar las medidas de absorbancia en el espectrofotómetro de UV visible, para eliminar interferencias físicas de las muestras de suelo y así evitar una sobreestimación del carbono. Las medidas más afectadas por estas interferencias son las correspondientes a las fracciones de menor tamaño (53 y 500  $\mu\text{m}$ ) con un error % entre 74,38 y 83,67%, respectivamente, no obstante, las fracciones de mayor tamaño (2000  $\mu\text{m}$ ) también registran un error% elevado de 24,7 %. Superior en todos los casos al 5 % permitido.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## BIBLIOGRAFÍA

Acosta, M.; Carrillo, F; Buendía, E; Benavides, J; Flores, E y González, L. (2020). Carbono en suelo, hierbas y arbustos en una plantación forestal en Jalisco, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(6), 1377-1387.

Aguirre, S; Piraneque, N. y Cruz, R. (2022). Relación entre nutrientes con carbono, nitrógeno y materia orgánica en suelos de la zona bananera de Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13(2), 93-111.

Allauca, L; Ayala, J. (2021) Evaluación de carbono orgánico en diferentes fracciones compuestas del suelo de páramo, chambo y pungalá.(Tesis de pregrado). Facultad de Ciencias. Escuela superior politécnica de Chimborazo Ecuador.

Arrieche, I; Pacheco, Y. (1998). Determinación de carbono orgánico en muestras de suelos mediante dos procedimientos analíticos. *Venesuelos*, 6(1 y 2), 9-13.

Barrera, J.; Pacheco, O.; Domínguez, C. y Barrezueta, S. (2017). Variabilidad del almacenamiento del carbono en suelos cultivados con cacao en la provincia El Oro. Ecuador. Conference Proceedings. UTMACH. 2:1.

Bazán Tapia, R. (2017). Manual de procedimientos de los análisis de suelos y agua con fines de riego.

Benbi, K. (2018). Evaluation of a rapid microwave digestion method for determination of total organic carbon in soil, *Group Taylor y Francis*. 1532-2416.

Bhagya, H.; Suresh, K. (2018). Carbon sequestration potential in oil palm-cocoa cropping system grown in Andhra pradesh under irrigated conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(5): 358-362.

Campbell, N.; Reece, J. (2007). Biología. 7ma. Ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España, 141 p.

Casa, R. (2011). El suelo de cultivo y las condiciones climáticas. Ediciones Paraninfo. España, 11 p.

Collazo, M. (2012). Efecto de dos abonos orgánicos sobre propiedades físicas y químicas del suelo y rendimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. *crispa* var. *Brisa*), en un haplustol étnico, Santa Rosa, La Pampa.

Digüero, N. (2023). Variación en el carbono orgánico del suelo en distintos sistemas productivos: consecuencias ambientales y productivas para el SO bonaerense (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de Rio Negro. Argentina.

Estrada, Y. (2023) Carbono orgánico del suelo en cinco sistemas de uso en el centro de investigación y producción Tulumayo anexo la Divisoria (Ciptald), Pueblo Nuevo. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María – Perú.

Gilabert, A. (1990). Interacción entre la luz y los superconductores. En *Annales De Physique* (Vol. 15, N° 3, págs. 255-283). Ciencias EDP.



- Jaramillo, D. (2002) Introducción a la ciencia del Suelo. Medellín - Colombia. 2º Edición. Universidad Nacional de Colombia.
- Jiménez, E. (2019). Estimación de la cantidad de Carbono almacenado en un agroecosistema de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el sector Shupishiña – San Martín. Universidad Nacional de San Martín. Tarapoto – Perú.
- Lal, R. 2008. Carbon sequestration. *Philosophical Transaction of The Royal Society B*. 363: 815-830.
- Madountsap, T.; Zapfack, L.; Chimi, D. C.; Kabelong, P.; Forbi, F.; Tsopmejo, I.; Tajeukem, C.; Ntonmen, A.; Tabue, R. y Malagón, C. (1977). Modelo y caracterización de la Génesis de los suelos en dos ecosistemas tropicales (sabanas y selvas fluviales) de Colombia. CIDIAT. Mérida - Venezuela. 84 p.
- Matus, F (2021). El contenido de limo fino y arcilla es el factor principal que define las acumulaciones máximas de C y N en los suelos. *Informes científicos*, 11 (1), 6438.
- Matus, F. y Maire, C. (2000). Interaction between soil organic matter and texture and the mineralization rates of carbon and nitrogen. *Agric Tecnica*. Chile. 60(2); 112-126.
- Márquez, C.; García, V.; Cambardella, C.; Scultz, R y Isenhardt, T. (2004). Aggregate-size stability distribution and soil stability. *Soil Science Society of America Journal*. 68: pp: 725-735.
- Mondragón, G. (2019). Carbono Total Almacenado en una Plantación de *Theobroma cacao* L. en Condiciones de Ceja de Selva-Bellavista-Jaén. (Tesis de pregrado) Universidad Nacional de Jaén-Perú.
- Millán, F. (2016). Métodos espectroscópicos UV visible para análisis molecular y elemental. Instituto Universitario Politécnico Santiago de Mariño. Merida – Venezuela. Págs. 8, pp: 57-63.
- Miller, J. & Miller, J. (2002). Métodos de calibración en análisis instrumental: regresión y correlación. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*, 4, 111-155.
- Montagnini, F. y Nair, P. (2004). Carbon Sequestration An under exploited environmental benefit of agroforestry systems. *Agroforestry Sysatems*. 61, pp: 281-295.
- Munita, J. (2001). Capítulo 2. Características y clasificación de los Suelos. Chile. 11º Edición. *Soquimch Comercial*: 27-45.
- Navarro, S. y Navarro, G. (2003). Química Agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. Madrid. 2da. ed. *Mundi-Prensa*. 133 p.
- Navarro, M., & Mendoza, I. (2006). Cultivo del cacao en sistemas agroforestales. *Guía técnica para promotores*. Río San Juan, NI.
- Ortiz, A; Riascos, L. y Somarriba, E. (2008). Almacenamiento y tasas de fijación de biomasa y carbono en sistemas agroforestales de cacao (*Theobroma cacao* L.) y laurel (*Cordia alliodora*). Talamanca, Nariño, CO. Universidad de Nariño. Costa Rica. *Agroforestería en las Américas*. 46. 111 p.
- Porta, J.; López, M. y Roquero, C. (2008) Edafología: para la agricultura y el medio ambiente, 3a. edición, Mundi-Prensa, Madrid-España.

- Ramos, G.; Ramos, P. y Azocar, A. (2000). Manual del productor de cacao. Mérida, Venezuela: FONAIAP y FUNDACITE, 78.
- Rodríguez, D.; Pérez, H.; García, R. y Quezada, A. (2020). Efecto del manejo agrícola en propiedades físicas y químicas del suelo en diferentes agroecosistemas. Universidad Técnica de Machala - Ecuador. *Revista Universidad y Sociedad*, 12(5), 389-398.
- Rodríguez, H., Rodríguez, J. (2002). Métodos de análisis de suelos y plantas. Criterios de interpretación. Trillas. México. 196 p.
- Rucks, L.; García, F.; Kaplán, A.; Ponce, J. y Hill, M. (2004). Propiedades físicas del suelo. Universidad de la República. Montevideo – Uruguay. 68 p.
- Sainz, H.; Echeverría, H. y Angelini, H. (2011). Niveles de carbono orgánico y pH en suelos agrícolas de la Pampa y regiones extrapampeanas de Argentina. Buenos Aires-Argentina. *Revista Ciencia del suelo*, 29 (1).
- Sambuichi, R.; Vidal, D.; Piasentin, F.; Jardim, J.; Viana, T.; Menezes, A.; Mello, D.; Ahnert, D. y Baligar, V. (2012). Tree component, management practices and tree species conservation. Cabruca agroforests in Southern Bahia, Brazil. *Biodiversity Conservation* 21: 1055-1077.
- Sanmartín, S. y Barrezueta, S. (2017). Secuestro de Carbono en suelos cultivados con cacao nacional en la parroquia Progreso. Ecuador. Conference Proceedings. UTMACH. 2 (1).
- Schumacher, B. (2002). Methods for the determination of total organic carbon (TOC) in soils and sediments. Las Vegas, U.S.A.: Ecological Risk Assessment Support Center – Office of research and development. U.S. *Environmental Protection Agency*, 23
- Seoáñez, M. (2000). Tratado de reciclado y recuperación de productos de los residuos. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa. 169 p.
- Skoog, D. A; Holler, F. J y. Nieman, T. A. (2001). Principios de Análisis Instrumental. 5ta. Ed. Mc Graw Hill, Madrid: pp: 15, 322-346.
- Somarriba, E.; Cerda, R.; Orozco, L.; Cifuentes, M.; Dávila, H., Espin, T.; Mavisoy, H.; Ávila, G.; Alvarado, E.; Poveda, V.; Astorga, C.; Say, E. y Deheuvels, O. (2013). Carbon stocks and cocoa yields in agroforestry systems of Central America. Costa Rica. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 173: 46– 57.
- UNFCCC. (1998). Protocolo de Kioto de la convención marco de las Naciones Unidas sobre el cambio climático. Naciones Unidas. Kioto, Japón, 3-4.
- Vidal, M. (2002). Toma de muestra. En: Cámara, C. Toma y tratamiento de muestras. España: *Síntesis*: pp: 92-116.
- Vara, K. (2023). Comparación de la cantidad de carbono orgánico almacenado en dos sistemas agroforestales de cacao (*Theobroma Cacao* L.) y naranja (*Citrus Sinensis*), Caserío de Puerto Nuevo, Distrito de Luyando, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco, 2021. (Tesis de Pregrado). Universidad de Huánuco. Perú. 107 p.
- Vidal, M. (2002). Toma de muestra. En: Cámara, C. Toma y tratamiento de muestras. España: *Síntesis*: pp: 92-116.

Wattel, E.; Van, P.; Buurman, P. y Van, B. (2001). Amount and composition of clay-associated soil organic matter in a range of kaolinitic and smectitic soils. *Geoderma* 99(1-2): 27-49.

Zambrano, A. 2005. Caracterización química de enmiendas orgánicas. (Tesis de Maestría) Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela.

Zavala, W.; Merino, E. y Peláez, P. (2018). Influencia de tres sistemas agroforestales del cultivo de cacao en la captura y almacenamiento de carbono. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Huánuco, Perú. *Scientia Agropecuaria*. 9(4): 493 – 501.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## ANEXOS

### Anexo 1. Carbono (tC/ha) en las muestras de suelo analizadas.

Año	Parcela	Tamaño de partícula					Media	CV%
		53 $\mu m$	250 $\mu m$	500 $\mu m$	1000 $\mu m$	2000 $\mu m$		
2014	Control	94,08	70,08	48,96	37,44	23,04	54,72	51,04
	P1	110,4	96,96	72,96	71,04	69,60	84,19	21,92
	P2	82,56	73,44	50,88	51,84	60,48	63,84	21,67
	P3	94,56	84,48	65,28	61,44	46,56	70,46	27,08
	P4	86,4	80,64	71,52	51,36	55,68	69,12	22,10
	P5	83,04	80,16	72,00	71,04	62,40	73,73	11,07
	P6	99,84	91,20	68,64	56,16	61,44	75,46	25,30
2015	Control	78,24	72,48	60,96	42,24	22,56	55,30	41,40
	P1	77,76	59,52	74,40	63,84	46,56	64,42	19,34
	P2	54,72	50,40	46,08	42,24	33,12	45,31	18,23
	P3	62,88	48,96	42,72	36,96	39,36	46,18	22,46
	P4	73,92	58,08	63,36	51,84	44,64	58,37	19,12
	P5	57,6	59,52	56,64	49,92	48,00	54,34	9,32
	P6	96,48	72,48	45,12	44,16	61,92	64,03	33,87
2016	Control	75,84	70,08	63,36	48,00	41,28	59,71	24,52
	P1	69,12	67,68	54,24	53,76	57,12	60,38	12,33
	P2	75,84	70,56	50,4	49,44	70,56	63,36	19,67
	P3	73,92	67,20	65,76	54,24	53,76	62,98	13,90
	P4	88,32	67,68	50,40	52,32	41,28	60,00	30,76
	P5	67,68	63,84	49,92	49,44	53,28	56,83	14,77
	P6	81,12	77,76	51,36	51,36	62,40	64,80	21,84
2017	Control	110,24	105,60	79,68	61,44	54,24	83,04	31,80
	P1	90,72	88,32	72,48	63,84	75,84	78,24	14,34
	P2	108	102,72	78,72	64,32	73,92	85,54	22,12
	P3	78,24	60,48	42,72	39,84	41,76	52,61	31,49
	P4	87,84	56,64	52,80	45,12	47,04	57,89	29,99
	P5	88,32	66,24	69,12	60,48	53,76	67,58	19,23
	P6	92,64	77,28	62,40	51,84	44,16	65,66	29,75
2018	Control	96,48	56,16	61,44	43,20	31,20	57,70	42,74
	P1	114,24	99,84	33,12	34,56	39,36	64,22	61,48
	P2	108,00	94,56	81,12	71,52	58,56	82,75	23,33
	P3	93,12	67,20	52,32	49,92	61,92	64,90	26,61
	P4	74,40	56,64	81,12	45,12	41,28	59,71	29,44
	P5	69,60	53,28	45,60	43,68	41,76	50,78	22,43
	P6	85,92	81,12	63,84	55,68	46,56	66,62	25,03

### Anexo 2. Prueba de esfericidad de Mauchly<sup>b</sup>

Efecto intra-sujetos	W de Mauchly	Chi-cuadrado aprox.	Gl	Sig.
Año	0,303	26,735	9	0,002

### Prueba de esfericidad de Mauchly<sup>b</sup>

Efecto intra-sujetos	Epsilon <sup>a</sup>		
	Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Límite-inferior
Año	0,582	0,916	0,250

Contrasta la hipótesis nula de que la matriz de covarianza error de las variables dependientes transformadas es proporcional a una matriz identidad.

a. Puede usarse para corregir los grados de libertad en las pruebas de significación promediadas. Las pruebas corregidas se muestran en la tabla Pruebas de los efectos inter-sujetos.

b. Diseño: Intersección + Parcelas + Partículas. Diseño intra-sujetos: Año

### Anexo 3. Pruebas de efectos intra-sujetos.

Origen		Suma de Cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada
Año	Esfericidad asumida	5505,462	4	1376,365	19,079	0,000	1,000
	Greenhouse-Geisser	5505,462	2,327	2365,905	19,079	0,000	1,000
	Huynh-Feldt	5505,462	3,666	1501,918	19,079	0,000	1,000
	Límite-inferior	5505,462	1,000	5505,462	19,079	0,000	0,987
Año Parcelas	* Esfericidad asumida	9484,104	24	395,171	5,478	0,000	1,000
	Greenhouse-Geisser	9484,104	13,962	679,280	5,478	0,000	1,000
	Huynh-Feldt	9484,104	21,994	431,218	5,478	0,000	1,000
	Límite-inferior	9484,104	6,000	1580,684	5,478	0,000	0,981

Año Partículas	* Esfericidad asumida	1976,284	16	123,518	1,712	0,057	0,899
	Greenhouse-Geisser	1976,284	9,308	212,321	1,712	1,06	0,727
	Huynh-Feldt	1976,284	14,662	134,785	1,712	0,064	0,876
	Límite-inferior	1976,284	4,000	494,071	1,712	-----	
Error(Año)	Esfericidad asumida	6925,340	96	72,139			
	Greenhouse-Geisser	6925,340	55,848	124,003			
	Huynh-Feldt	6925,340	87,975	78,719			
	Límite-inferior	6925,340	24,000	288,556			

El análisis de varianza de medidas repetidas muestra

#### Anexo 4. Contrastes multivariados

Efecto		Valor	F	Gl de la hipótesis	Gl del error	Sig.
Año	Traza de Pillai	0,856	31,303 <sup>a</sup>	4,000	21,000	0,000
	Lambda de Wilks	0,144	31,303 <sup>a</sup>	4,000	21,000	0,000
	Traza de Hotelling	5,963	31,303 <sup>a</sup>	4,000	21,000	0,000
	Raíz mayor de Roy	5,963	31,303 <sup>a</sup>	4,000	21,000	0,000
Año * Parcelas	Traza de Pillai	2,064	4,264	24,000	96,000	0,000
	Lambda de Wilks	0,024	5,964	24,000	74,470	0,000
	Traza de Hotelling	9,078	7,376	24,000	78,000	0,000
	Raíz mayor de Roy	6,271	25,083 <sup>c</sup>	6,000	24,000	0,000
Año * Partículas	Traza de Pillai	0,850	1,618	16,000	96,000	0,078
	Lambda de Wilks	0,336	1,739	16,000	64,794	0,061
	Traza de Hotelling	1,460	1,779	16,000	78,000	0,049
	Raíz mayor de Roy	1,014	6,085 <sup>c</sup>	4,000	24,000	0,002

#### Anexo 5. Concentración de carbono en función del tamaño de partícula

	Tamaño de partícula	N	Subconjunto			
			1	2	3	4
DHS de Tukey <sup>a,b,c</sup>	2000	7	50,4686			
	1000	7	52,0183	52,0183		
	500	7		60,0411		

	250	7			72,8366	
	53	7				85,3166
	Sig.		,984	,080	1,000	1,000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 30,424.

- Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7,000
- Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.
- Alfa = ,05.

www.bdigital.ula.ve