

**Efecto del biocarbón y el nitrógeno sobre el crecimiento del cultivo de café (*Coffea arabica*) en macetas divididas**

**Kenneth Rafael Picado Ordoñez**

**TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFECIONAL DE:  
INGENIERO AGRÓNOMO CON EL GRADO DE LINCENCIADO EN  
AGRONOMÍA**

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS  
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

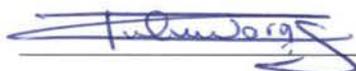
**TURRIALBA, COSTA RICA**

**2023**

**Efecto del biocarbón y el nitrógeno sobre el crecimiento del cultivo de café (*Coffea arabica*) en macetas divididas**

**Tesis aprobada por el Tribunal del estudiante como requisito parcial para optar por el grado de Licenciado en Agronomía.**

FIRMANTES:



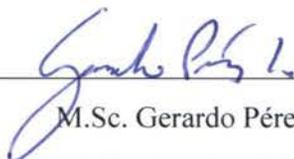
Dra. Rosibel Orozco Vargas

Presidenta del Tribunal



Dr. Werner Rodríguez Montero

Director del Trabajo Final de Graduación



M.Sc. Gerardo Pérez León

Miembro del Tribunal



Licda. Marialurdes Madrigal González

Miembro del Tribunal



Dr. Eduardo Granados Brenes

Miembro del Tribunal



Kenneth Rafael Picado Ordoñez

Sustentante

## **Dedicatoria**

A mi amada madre Mercedes Ordoñez Ruíz por su gran apoyo incondicional durante todos estos años de carrera, a la memoria de mi padre Rafael Ángel Picado Picado por todas las enseñanzas brindadas, a mis hermanas Andreina Picado Ordoñez y Lisseth Picado Ordoñez por el apoyo y la paciencia que me han brindado.

## **Agradecimientos**

Primeramente, a Dios, porque siempre ha estado conmigo ayudándome a salir adelante, al profesor Werner Rodríguez Montero por brindarme la mano para iniciar el proceso de tesis y por todo el apoyo ofrecido durante este proceso, al profesor Gerardo Pérez León, por estar siempre anuente a atenderme y darme su guía, a la ingeniera Maríalurdes Madrigal González por su ayuda y apoyo ofrecido, al profesor Kenneth Largaespada Zelaya por estar siempre anuente a atender mis consultas, a la Universidad de Costa Rica por darme la oportunidad de realizar la tesis, a mi amigo Gabriel Solano Maroto por su gran apoyo y palabras de aliento, a los estudiantes asistentes Keyshell Cole Hodgson, Joshua Mora Zúñiga, Daniel Áreas Leandro, Moisés Barrientos Cordoba, a los asistentes de laboratorio Juan José Pereira Araya y Jorge Alvares Casasola por su valiosa ayuda en todo el proceso.

# Índice General

Dedicatoria.....	III
Agradecimientos.....	IV
Resumen .....	XVI
1. Introducción.....	18
2. Justificación .....	20
3. Objetivos.....	23
4. Hipótesis nula (Ho).....	23
5. Revisión de literatura .....	24
5.1 Antecedentes .....	24
5.2 Importancia del café en Costa Rica.....	25
5.3 Manejo de la fertilización química del café en Costa Rica.....	27
5.4 Ciclo del nitrógeno .....	27
5.5 Fijación y Amonificación, Nitrificación o Mineralización .....	28
5.5.1 Asimilación e Inmovilización.....	28
5.5.2 Desnitrificación .....	28
5.5.3 Fijación biológica de nitrógeno .....	28
5.6 Importancia y efecto del nitrógeno sobre las plantas .....	29
5.7 Importancia del biocarbón en la agricultura.....	29
5.8 El uso del biocarbón también puede inducir efectos adversos.....	30
5.9 Características del biocarbón .....	31
5.9.1 Características físicas .....	32
5.9.2 Características químicas .....	33
5.10 Materia prima que permite la fabricación de biocarbón .....	34
5.11 Procesos para fabricar de biocarbón .....	34

5.11.1	Pirólisis lenta .....	34
5.11.2	Pirólisis rápida .....	34
5.11.3	Pirólisis ultrarrápida .....	34
5.11.4	Gasificación .....	35
5.11.5	Carbonización térmica .....	35
6.	Metodología .....	35
6.1	Duración y ubicación de la investigación .....	35
6.2	Tratamientos .....	35
6.3	Descripción de la unidad experimental .....	36
6.4	Diseño experimental .....	36
6.5	Material experimental .....	37
7.	Procedimiento general .....	37
7.1	Adquisición del suelo, nitrógeno y fabricación del biocarbón .....	37
7.2	Inoculación de biocarbón (BC) con té de vermicompost .....	38
7.3	Adquisición del Material experimental .....	38
7.4	Elaboración de los recipientes .....	39
7.5	Dosis de biocarbón y nitrógeno .....	40
7.6	Manejo de plagas y enfermedades .....	41
8.	Evaluaciones realizadas y metodologías aplicadas .....	41
8.1	Caracterización del suelo de la finca Salmebre .....	41
8.2	Retención de Humedad .....	41
8.3	Densidad aparente .....	42
8.4	Densidad real o de partículas .....	43
8.5	Porosidad total, microporos, mesoporos y macroporos .....	43
8.6	Propiedades químicas del suelo .....	44

8.7	Propiedades microbiológicas del suelo .....	44
9.	Respuesta del suelo al biocarbón y al nitrógeno mineral .....	46
9.1	Propiedades físicas .....	46
9.2	Retención de humedad del suelo y densidad aparente .....	46
9.3	Densidad real o de partículas. ....	47
9.4	Porosidad total, macroporos, mesoporos y microporos .....	47
9.5	Propiedades químicas del suelo .....	47
9.6	Propiedades microbiológicas del suelo .....	48
9.7	Población microbiana en la rizosfera .....	49
10.	Respuestas de las plantas de café al biocarbón y al nitrógeno mineral .....	50
10.1	Altura de plantas .....	50
10.2	Contenido de clorofila.....	51
10.3	Área foliar .....	51
10.4	Análisis morfológico del sistema radical .....	51
10.5	Peso seco de raíz .....	52
11.	Análisis de datos .....	52
12.	Resultados.....	54
12.1	Caracterización del suelo de la finca Salmebre.....	54
12.2	Retención de Humedad .....	54
12.3	Densidad aparente y densidad de partículas.....	54
12.4	Porosidad total, macroporos, mesoporos y microporos .....	55
12.5	Propiedades químicas.....	55
12.6	Propiedades microbiológicas del suelo .....	56
13.	Respuesta del suelo al biocarbón y al nitrógeno mineral .....	57

13.1	Retención de humedad .....	57
13.2	Densidad aparente, densidad partículas y porosidad total .....	58
13.3	Macroporos, mesoporos y microporos .....	59
13.4	Propiedades químicas del suelo .....	59
13.5	Propiedades microbiológicas del suelo .....	60
13.6	Propiedades microbiológicas de la rizosfera .....	62
14.	Respuesta de las plantas de café al biocarbón y al nitrógeno mineral .....	64
14.1	Altura de planta .....	64
14.2	Contenido de clorofila .....	65
14.3	Área foliar .....	67
14.4	Análisis morfológico del sistema radical .....	68
15.	Discusión .....	68
15.1	Caracterización del suelo finca Salmebre .....	68
16.	Respuestas del suelo al biocarbón y al nitrógeno mineral .....	70
16.1	Retención de humedad .....	70
16.2	Densidad aparente .....	71
16.3	Densidad real o de partículas .....	72
16.4	Porosidad del suelo. ....	72
16.5	Propiedades químicas .....	74
16.6	Propiedades microbiológicas del suelo y rizosfera .....	75
17.	Respuestas de las plantas de café al biocarbón y al nitrógeno mineral .....	77
17.1	Altura de planta .....	77
17.2	Contenido de clorofila .....	78
17.3	Área foliar .....	80

17.4	Morfología del sistema radical.....	80
18.	Visión de conjunto.....	81
19.	Conclusiones.....	84
20.	Recomendaciones .....	85
21.	Revisión de Literatura.....	87
22.	Anexos .....	96

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Representación esquemática del biocarbón y sus componentes. ....	32
<b>Figura 2.</b> Establecimiento de la unidad experimental en el pote dividido.....	36
<b>Figura 3.</b> Procesamiento de la materia prima para la fabricación de biocarbón a partir de pasto Transvala.....	38
<b>Figura 4.</b> Recipiente base que se implementó en el sistema de raíces divididas en el cultivo de café. Elaboración propia.....	40
<b>Figura 5.</b> Diseño del contenedor prototipo para el sistema de raíces divididas en el cultivo de café. Elaboración propia. ....	40
<b>Figura 6.</b> Muestreo de densidad aparente en finca Salmebre a una profundidad de 0 a 20 cm. ....	43
<b>Figura 7.</b> Cámara de flujo laminar modelo 6HC-24 utilizada para el recuento de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en placas. ....	45
<b>Figura 8.</b> Muestreo utilizado para determinar la retención de humedad del suelo en un hemipote. Obsérvese el anillo de acero utilizado para estimar esta variable en el hemipote derecho de la fotografía. ....	47
<b>Figura 9.</b> Disoluciones madre preparadas para el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC), de bacterias, actinomicetos y hongos.....	50
<b>Figura 10.</b> Valores promedio de las curvas de retención de humedad para el suelo con carbón y sin carbón, a una profundidad de muestreo 0-20 cm. ....	54
<b>Figura 11.</b> Curvas de retención de humedad para cada fuente de variación (BC, N y S) que conforma el respectivo tratamiento a una profundidad de muestreo de 0-20 cm en cada hemipote: <b>A)</b> BCS, <b>B)</b> BCN y <b>C)</b> NS. ....	57
<b>Figura 12.</b> Efecto de las fuentes de variación debidas a BC, N, BC*N, S en las unidades formadoras de colonias (UFC) de: A) bacterias, B) actinomicetos y C) hongos del suelo, a una profundidad de muestreo de 0-10 cm en cada hemipote. La ausencia de asteriscos indica la falta de diferencias estadísticas significativas. BC= efecto	

principal del BC; N= efecto principal de N; BC\*N= efecto de la interacción que se deriva de los tratamientos BCN y; S= Efecto del suelo. .... 61

**Figura 13.** Efecto de las fuentes de variación debidas a BC, N, BC\*N, S sobre las unidades formadoras de colonias (UFC) de: A) bacterias, B) actinomicetos y C) hongos de la rizosfera, a una profundidad de muestreo de 0-10 cm en cada hemipote. Asteriscos sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas a un nivel de significancia de 0.05. La ausencia de asteriscos indica la falta de diferencias estadísticas significativas. BC= efecto principal del BC; N= efecto principal de N; BC\*N= efecto de la interacción que se deriva de los tratamientos BCN y S= efecto del suelo. .... 62

**Figura 14.** Modelos de regresión lineal con respecto al valor promedio (n= 36) de la altura de plantas de café debidas a los tratamientos BCS, BCN, NS y SS a los 8, 36, 70, 98, 133 y 161 días después del trasplante (DDT). Las líneas y puntos de color azul representan el efecto del tratamiento BCS; líneas y puntos de color rojo representan el efecto del tratamiento BCN; líneas y puntos de color verde representan el efecto del tratamiento NS y; líneas y puntos morados representan el efecto del tratamiento testigo SS. .... 65

**Figura 15.** Efecto de los tratamientos BCS, BCN, NS y SS en el área foliar de las plantas de café a los 161 días de haber terminado el ensayo. Letras comunes sobre las barras denotan medias que no difieren estadísticamente entre sí, a un nivel de significancia del 0,05, las barras de error representan el error estándar. BCS = Biocarbón/Suelo, BCN= Biocarbón/Nitrógeno, NS= Nitrógeno/ Suelo, SS= Suelo/Suelo. .... 67

**Figura 16.** Análisis de conglomerado del diámetro, volumen y peso seco de raíz, basado en el método de Ward (distancia Euclídea) para evaluar el efecto de los tratamientos BCS, BCN, NS y SS en la morfología radical de las plantas de café. La codificación 1:1= BCN (aporte de BC en un hemipote y N en el hemipote contiguo), 0:1= BCS (aporte de BC en un hemipote y un hemipote testigo conteniendo suelo), 0:1= NS (aporte de nitrógeno en un hemipote y un hemipote testigo conteniendo suelo) y 0:0= SS (ambos hemipotes compuestos por suelo). Las líneas de color negro representan el grupo de datos en su conjunto, que conforme se desplaza al 0,00 particiona los valores en umbrales: líneas azules y

rojas mostrado el efecto causado por los tratamientos representado por la distancia  
Euclidea en las variables de interés. .... 68

## Índice de cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Recomendación general de fertilización de suelos cafetaleros costarricense en el contexto del cambio climático. ....	27
<b>Cuadro 2.</b> Distribución aleatoria de los tratamientos. ....	36
<b>Cuadro 3.</b> Análisis químico del biocarbón inoculado producido a partir de pasto Transvala.....	38
<b>Cuadro 4.</b> Ecuaciones aplicadas para el cálculo de la porosidad del suelo. $D_a$ = densidad aparente, $D_p$ = densidad de partículas, P. Total= porosidad total, %Hv= porcentaje humedad volumétrica, CC= capacidad de campo, PMP= punto de marchitez permanente.....	44
<b>Cuadro 5.</b> Análisis químico de suelo obtenido de los hemipotes bajo el efecto de las fuentes de variación BC, N, S que componen los tratamientos BCS, NS y SS. CICE= capacidad de intercambio catiónico efectiva, % SA= porcentaje de saturación de acidez. Líneas de color gris indican el promedio y la desviación estándar. ....	48
<b>Cuadro 6.</b> Valores promedios de densidad aparente y densidad de partículas resultados de prueba “t student” en las áreas con carbón y sin carbón de la finca Salmebre a una profundidad de muestreo de 0-20 cm. Los asteriscos al lado del valor de la prueba “t student” indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia de 0.05. ....	55
<b>Cuadro 7.</b> Análisis de prueba “t student” para los porcentajes promedios de porosidad del suelo en las áreas con aplicación de carbón y sin él en la finca Salmebre a una profundidad de muestreo de 0-20 cm. ....	55
<b>Cuadro 8.</b> Análisis químico de suelo de la finca Salmebre a partir de muestras extraídas del área con carbón y sin él. Muestreo llevado a cabo el 28 de abril 2021. CICE= capacidad de intercambio catiónico efectiva, % SA = porcentaje de saturación de acidez. ....	56
<b>Cuadro 9.</b> Prueba “t student” y valores promedios de las unidades formadoras de colonias (UFC) del área con carbón y sin él en la finca Salmebre a una profundidad de muestreo de 0-10 cm.....	56

- Cuadro 10.** Prueba “t student” para densidad aparente, densidad de partículas y porcentaje de porosidad total entre fuentes de variación de un mismo tratamiento, a una profundidad de muestreo de 0-20 cm. Asteriscos al lado del valor de la prueba “t student” indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia del 0.05. BCS = Biocarbón/Suelo; BCN= Biocarbón/Nitrógeno; NS= Nitrógeno/Suelo; SS= Suelo/Suelo. .... 58
- Cuadro 11.** Prueba “t student” para macroporos, mesoporos y microporos del suelo, entre fuentes de variación de un mismo tratamiento a una profundidad de muestreo de 0-20 cm. Asteriscos al lado del valor de la prueba “t student” indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia de 0.05. BCS = Biocarbón/Suelo; BCN= Biocarbón/Nitrógeno; NS= Nitrógeno/Suelo; SS= Suelo/Suelo. .... 59
- Cuadro 12.** Valores promedio, análisis químico del suelo para las fuentes de variación BC, N, S. .... 60
- Cuadro 13.** Análisis de varianza univariado efecto de las fuentes de variación BC, BC\*N y N en las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de bacterias, actinomicetos y hongos del suelo. .... 62
- Cuadro 14.** Análisis de varianza univariado efecto de las fuentes de variación BC, BC\*N y N en las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de bacterias, actinomicetos y hongos de la rizosfera. .... 63
- Cuadro 15.** Análisis de varianza univariado referente al efecto de las fuentes de variación BC, N y BC\*N sobre la altura de las plantas de café a los 8, 36, 70, 98, 133 y 161 DDT. .... 64
- Cuadro 16.** Criterio de prueba del análisis de varianza multivariado y estadístico Wilks’ Lamda para la prueba de hipótesis de no efecto del tiempo y no efecto del tiempo en el N, BC y BC\*N. La presencia de asteriscos, acompañando la  $Pr > F$  indican la presencia de diferencias estadísticas significativas al 0,05. .... 64
- Cuadro 17.** Comparación de medias de las unidades de lectura SPAD (contenido de clorofila) obtenidas con el estadístico LSD Fisher para todos los tratamientos en el tercer par de hojas del estrato superior, medio e inferior de plantas de café, evaluadas a los 17, 36, 50, 64, 78, 92, 106, 120, 134 y 161 días después del trasplante (DDT). Medias seguidas por letras iguales de una fecha y estrato no son

significativamente diferentes. BCS=Biocarbón/Suelo;  
BCN=Biocarbón/Nitrógeno; NS= Nitrógeno/ Suelo; SS= Suelo/Suelo..... 66

## Resumen

El café (*Coffea arabica*) se ubica en el tercer puesto de las exportaciones de Costa Rica. Este cultivo es una actividad demandante en cuanto a recurso humano se trata, ya que genera 150,000 empleos durante la cosecha, además genera beneficio económico para las regiones dedicadas a su producción. El nitrógeno es un elemento de importancia en el crecimiento, desarrollo y producción de las plantas de café, pero el manejo inadecuado de los fertilizantes nitrogenados puede llegar a perjudicar al ambiente. El biocarbón (BC) material que se obtiene producto de la pirólisis de residuos orgánicos con escasa o nula presencia de oxígeno ayuda a contrarrestar los efectos negativos que pueden inducir los fertilizantes nitrogenados. El objetivo de esta investigación consiste en determinar el efecto individual y combinado del biocarbón y el nitrógeno mineral sobre el crecimiento del cultivo de café (*Coffea arabica*) variedad Obatá y las características fisicoquímicas y biológicas del suelo. Esta investigación se llevó a cabo en el área de invernaderos de la Universidad de Costa Rica Sede del Atlántico. Se hizo una caracterización física y química del suelo experimental. Para la evaluación del efecto del biocarbón derivado de pasto Transvala (*Digitaria decumbens Stent*) y el fertilizante nitrogenado ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) se estableció un sistema de macetas divididas en hemipotes, de acuerdo con el planteamiento de los tratamientos: BCS= Biocarbón/Suelo, BCN= Biocarbón/Nitrógeno, NS= Nitrógeno/Suelo y SS= Suelo /Suelo. Se establecieron cuatro tratamientos con seis repeticiones y se evaluó la respuesta obtenida en: retención de humedad, densidad aparente (da), densidad de partículas (dp), porosidad del suelo, propiedades químicas (pH, acidez y contenido nutricional), propiedades microbiológicas (Unidades Formadoras de Colonias, UFC), altura de planta, contenido de clorofila, área foliar, volumen, diámetro y peso seco de raíz. Los resultados obtenidos determinan que la fuente de variación BC en los tratamientos BCS y BCN aumentó la retención de humedad del suelo, la densidad aparente disminuyó en el hemipote con BC del tratamiento BCS alcanzando un promedio de  $0,81 \text{ Mg m}^{-3}$ , en el tratamiento BCN la menor densidad aparente se registró en el hemipote con N igual a  $0,81 \text{ Mg m}^{-3}$ , en general la densidad aparente del suelo en todos los tratamientos fue baja. La densidad de partículas en promedio disminuyó en los hemipotes con BC. El porcentaje de porosidad total y macroporos del suelo de 69,14 y 26,53 %, respectivamente se incrementó en el hemipote con BC del tratamiento BCS, al igual que en el hemipote con N en el tratamiento del BCN, en general la porosidad total del suelo en todos los tratamientos fue alta. En este tratamiento, el efecto del BC presentó

el porcentaje más alto microporos, con un promedio de 45,85 %. En cuanto a las propiedades químicas del suelo, el biocarbón moduló favorablemente la acidez de suelo, el contenido de bases intercambiables del suelo, el porcentaje de saturación de acidez y la disponibilidad de fósforo en el suelo. El contenido microbiano del suelo y la rizosfera no fueron afectados significativamente por causa de las fuentes de variación BC, BC\*N, N y S. Sin embargo, en promedio el contenido de actinomicetos en el suelo y la rizosfera se favoreció por influencia de las fuentes de variación N y BC\*N. Las bacterias en la rizosfera alcanzaron el mayor promedio ( $4,0 \times 10^6$  UFC g<sup>-1</sup>). La población de hongos pudo ser afectada por la temperatura a la que se produjo el biocarbón, temperaturas bajas de pirólisis favorecen la proporción de hongos a bacterias. El tratamiento BCN por efecto del tiempo determinado con el estadístico Wilks' Lambda alcanzó la mayor altura en las plantas de café a los 161 DDT igual a 67 cm. El contenido de clorofila se incrementó en los estratos inferior, medio y superior por efecto de los tratamientos BCN y NS al final de ensayo a los 134 y 161 DDT, respectivamente. El área foliar se incrementó significativamente por el efecto de los tratamientos con N (BCN y NS) en 6726 cm<sup>2</sup> y 6917 cm<sup>2</sup> respectivamente. El volumen, diámetro y peso seco de raíz se incrementó por causa de los tratamientos BCS y BCN.

## 1. Introducción

El café (*Coffea arabica*) se ubica en el tercer puesto en las exportaciones de productos agrícolas en Costa Rica superado únicamente por la piña y el banano con un ingreso de divisas al país de USD 285 101 630 durante el periodo 2018-2019 (Oct-Set) (ICAFFE, 2019). Al ser esta actividad demandante en recurso humano genera 150,000 empleos durante la cosecha y beneficio económico para las regiones dedicadas a su producción. También beneficia directamente a las familias productoras dueñas de sus fincas y recolectores e indirectamente, al comercio y a los transportistas.

Con el fin de mejorar la producción agrícola, la demanda de fertilizantes ha aumentado significativamente impulsada por el crecimiento económico global. En algunos casos la aplicación de fertilizantes al café podría ser excesiva. Lo cual no provoca un efecto paralelo entre el volumen de fertilizante aplicado y el aumento de las cosechas, debido a que el aumento en la aplicación de fertilizantes podría conducir a baja eficiencia y rendimiento productivo (Rodríguez et al., 2019).

El nitrógeno es un elemento de importancia para los cafetos por sus funciones en el crecimiento, desarrollo y producción. Sin embargo, las plantas absorben únicamente el 50 % del nitrógeno aplicado. El resto se pierde por causa de la desnitrificación, lixiviación y volatilización (Montero, 2017).

El manejo inadecuado de los fertilizantes nitrogenados daña al medio ambiente. La lixiviación de nitratos hacia fuentes de agua subterráneas produce contaminación, el arrastre de nitratos hacia aguas superficiales y la volatilización de gases de efecto invernadero como el  $N_2O$ ,  $CH_4$  y  $CO_2$  constituyen efectos negativos (FAO, 2019). Otro aspecto por tomar en cuenta son los problemas por acidez que se presentan en los suelos agrícolas por el empleo intensivo de fertilizantes nitrogenados lo que conlleva una pérdida de fertilidad (Sandeghian, 2016).

El alto costo de inversión que representa el empleo de fertilizantes a base de nitrógeno es un factor relevante por considerar en el manejo del cultivo de café (Daza Torres et al., 2018).

Recursos como el biocarbón contrarrestan los efectos negativos de los fertilizantes nitrogenados, lo que ha justificado su estudio como medio para mejorar la eficiencia en

los sistemas agrícolas. El uso del biocarbón como enmienda en la agricultura es relativamente reciente, al ser redescubiertas las tierras negras de los indígenas del amazonas de Brasil, descritas como Terra Preta (tierra negra) hacia finales del periodo precolombino (Escalante Rebolledo et al., 2016). Según Tenesaca Martínez (2019) durante este periodo los nativos brasileños depositaron en el suelo materiales como ramas, malezas, huesos de animales terrestres, acuáticos y el carbón de las cocinas como aporte de materia orgánica (MO) para mejorar la fertilidad e incrementar la disponibilidad de nutrientes.

Se determinó que estos suelos negros tienen un alto contenido de carbono cercano a 150 g de carbono  $\text{kg}^{-1}$  de suelo en comparación con suelos que se encuentran a su alrededor en los que se registran concentraciones de 20 a 30 g de carbono  $\text{kg}^{-1}$  de suelo.

El alto contenido de carbono se ha conservado por cientos de años incluso después de encontrarse en sitios deshabitados. A pesar de estar constituidos por nitrógeno, calcio y fósforo en concentraciones menores, también se ha cuantificado que la capacidad de intercambio catiónico (CIC), pH y saturación de bases es más elevada en estos suelos de tierra negra que en los suelos que se encuentran a su alrededor (Sik et al., 2016).

La aplicación de fertilizantes químicos no brinda la posibilidad de mantener los rendimientos de los cultivos durante una tercera fase de crecimiento consecutiva, sin embargo, la “terra petra” ha tenido la capacidad de mantener la fertilidad del suelo durante siglos. Por tal motivo, las investigaciones se han centrado en el estudio de las propiedades físicas, químicas y en el origen de estos suelos. Así mismo, se ha identificado que el material orgánico que conforma la “terra petra” es consecuencia de una combustión incompleta y está constituida por material vegetal carbonizado que se clasifica como biocarbón (Sik et al., 2016).

El biocarbón es un tipo de material orgánico que surge a partir de un proceso térmico conocido como pirólisis en el cual la materia prima (madera, estiércol, hojas u otro tipo de biomasa) se calienta en un recipiente o instrumento cerrado a temperaturas de 300 a 700 °C bajo un ambiente con escasa o nula presencia de oxígeno, el material resultante presenta propiedades fisicoquímicas adecuadas para su almacenamiento a largo plazo en la estructura del suelo. El biocarbón mejora las funciones presentes y futuras del sistema edáfico sin efectos perjudiciales para el medio ambiente, la salud humana y animal (Lehmann y Joseph 2009; Verheijen et al., 2010).

## 2. Justificación

La transformación de residuos orgánicos en biocarbón a través de la pirólisis, es una alternativa que permitiría optimizar las tasas naturales de captura de carbono en el suelo, reducir la acumulación de residuos agrícolas y mejorar la calidad del suelo.

La producción de biocarbón constituye una alternativa sustentable para obtener productos con un mayor valor agregado, así como disminuir los daños que se producen en el ambiente por la acumulación, mal manejo de los residuos, uso de fertilizantes inorgánicos su impacto ambiental y sobre la salud humana. Por lo tanto, las prácticas agrícolas productivas y sostenibles deben priorizar el mantenimiento del carbono orgánico del suelo, lo cual es crucial para la constitución de un suelo sano.

La producción agrícola contribuye a la generación de gases de efecto invernadero (GEI), principalmente por el uso irracional de fertilizantes, maquinaria agrícola pesada y excesiva preparación del terreno.

Durante el ciclo de carbono las plantas toman el  $\text{CO}_2$  de la atmósfera para la fotosíntesis y al morir contribuyen al acúmulo de carbono en el suelo. Sin embargo, por los procesos de mineralización y respiración las plantas liberan de vuelta el  $\text{CO}_2$  a la atmósfera.

Entre los beneficios que se espera alcanzar con la producción y adición de biocarbón es capturar el carbono del suelo, a partir de la transformación de los residuos agrícolas en biocarbón o, eventualmente, por su potencial de adsorción que permita retener en el suelo el carbono procedente de la materia orgánica. Además, de contribuir a mitigar la emisión de gases como el  $\text{CH}_4$  por la oxidación del gas metano, así como la disminución de las emisiones de óxido nitroso por cambios atribuidos a la aeración del suelo, cambios en la relación C:N y procesos microbianos (nitrificación/desnitrificación) (Wang et al., 2019).

Otro aspecto por tomar en consideración es el aumento en la disponibilidad de nutrientes para las plantas por la mejora en la capacidad de intercambio catiónico del suelo (CIC). Lo anterior conlleva a la adsorción de macronutrientes (P, K, Na, y Mg) y micronutrientes (Cu, Zn, Fe y Mn) lo cual se atribuye a la elevada superficie específica, alta carga superficial negativa y elevada densidad de carga del biocarbón (Soria Martínez, 2016).

El biocarbón permite obtener igual rendimiento de cosecha con dosis bajas de fertilización que aquellos cultivos en los que se aplica la dosis óptima de fertilización y cuya finalidad no es aumentar la producción, sino más bien asegurar el rendimiento de las cosechas ante condiciones adversas como sequías. Además, el biocarbón es considerado un facilitador de recursos más que una fuente primaria de nutrientes (Herrera Culebro, 2018) y por la capacidad de adsorción que presenta el biocarbón se ha considerado como una alternativa de bajo costo para la inmovilización de contaminantes como metales pesados, herbicidas, pesticidas (Soria Martínez, 2016).

Gracias al biocarbón, el peligro de que los nutrientes disponibles para las plantas se diluyan en el agua del suelo se reduce. El biocarbón contrarresta la lixiviación de nitratos. Los suelos que contienen biocarbón en su estructura, al contener más agua por efecto del mismo, reducen la infiltración de nutrientes hacia zonas más profundas, con esto conservan el nitrato disuelto dentro de los poros de biocarbón (Sanford et al., 2019).

Otro aspecto por tomar en cuenta es que en términos económicos la implementación de esta enmienda en los sistemas productivos, le permite a los pequeños y grandes productores reducir los costos de operación en su agroecosistemas, ya que se disminuyen pérdidas en la fase de producción, se puede reducir costos por irrigación debido a su capacidad de retención de agua, puede disminuir el uso de fertilizantes, enmiendas químicas y la mecanización del suelo por efecto de reducción de la densidad aparente y el aumento de la materia orgánica (Olmo 2016; Escalante Rebolledo et al., 2016).

Entre los principales inconvenientes que enfrenta el caficultor nacional en la actualidad se encuentran los bajos precios que se fijan como referencia en la bolsa de valores de Nueva York. En el año 2019 el kilogramo de café se cotizó en \$2,67 (Garza, 2019). Esta situación afecta negativamente la economía del caficultor turrialbeño, ya que tiene que adaptarse a los precios establecidos por este mercado de referencia, pues la diferenciación del grano es mínima por la escasa presencia de microbeneficios en la zona.

Adicionalmente, está el hecho que el mercado costarricense compite por calidad, lo cual afecta a la industria cafetalera del cantón de Turrialba. A pesar del conocimiento sobre mercados asiáticos que son atraídos por el aroma del café turrialbeño, la escasa diferenciación provoca que la competencia por calidad no sea de referencia en el mercado internacional.

Las nuevas variedades (arábica) ofrecen mayor rendimiento, sin embargo, son muy exigentes en fertilización. El productor de la zona no cuenta con el recurso económico o financiamiento para aportar los insumos requeridos, entre ellos la fertilización a base de nitrógeno. A esto se une otro gran reto el cambio climático que es inducido por la emisión de gases de efecto invernadero que surgen al volatilizarse los fertilizantes nitrogenados (Casanave Ponti et al., 2020) e influye en la severidad del Fenómeno del Niño. Consecuentemente, son requeridas variedades de café resistentes a la sequía y a enfermedades como la roya (*Hemileia vastatrix*). Todo ello ha provocado el desplazamiento de las plantaciones cafetaleras hacia áreas de mayor altitud.

Por los beneficios que el biocarbón aporta es conveniente echar mano de estas nuevas herramientas, pues le permitirá al caficultor turrialbeño reducir sus costos de operación, ya que, como alternativa agroecológica, se podría producir a partir de materiales de su propia finca como broza de café, bandolas y hojarasca. Además, la mejora en las propiedades físicas, químicas y microbiológicas le ofrecería al caficultor turrialbeño reducir su inversión en mano de obra y uso de insumos para el manejo de la plantación, a la vez, retribuir al suelo el componente orgánico que es extraído del mismo con el pasar de los ciclos productivos y ofrecer la posibilidad al productor comercializar un producto más amigable con el ambiente de valor agregado.

### **3. Objetivos**

#### **Objetivo general**

Determinar el efecto individual y combinado del biocarbón y el nitrógeno mineral sobre el crecimiento del cultivo de café (*Coffea arabica*) variedad Obatá y las características fisicoquímicas y biológicas del suelo.

#### **Objetivos específicos**

Describir el efecto de la aplicación de biocarbón y nitrógeno sobre el diámetro de raíz, volumen radical, peso seco de raíz, área foliar, contenido de clorofila y altura de planta.

Analizar el efecto de la adición de biocarbón y nitrógeno sobre la población microbiana presente en la rizosfera de plantas de café jóvenes.

Evaluar la aplicación del biocarbón en el sistema edáfico, para así conocer sus efectos sobre las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo.

### **4. Hipótesis nula (H<sub>0</sub>)**

El biocarbón y el nitrógeno no tendrán efecto individual ni combinado sobre el crecimiento de las plantas de café ni afectarán las características fisicoquímicas y biológicas del suelo.

## 5. Revisión de literatura

### 5.1 Antecedentes

Quiñonez y Bryan (2020) evaluaron el efecto sinérgico de la aplicación combinada de biocarbón y YaraMila complex (formula completa) en tres variedades de café: Conilón, Sarchimor y Lojana. Se probaron los siguientes tratamientos: T0 (0 g biocarbón + 0 g YaraMila complex), T1 (5 g biocarbón + 20 g YaraMila complex), T2 (10 g biocarbón + 20 g YaraMila complex), T3 (15 g biocarbón + 20 g YaraMila complex). Las variables de respuesta consideradas fueron: altura de planta, largo de raíz, perímetro de raíz, largo y ancho de hojas. Estos autores determinaron que la variedad Sarchimor alcanzó una mayor altura (75 cm) con la aplicación de los tratamientos T3 y T1 y hubo mayor sinergia con las aplicaciones de 5 y 15 g de biocarbón. Con respecto al largo de raíz, la variedad Conilón no mostró efecto positivo debido al tratamiento T2 con solo 23 cm. La variedad Sarchimor con el tratamiento T3 mostró la mayor longitud radical de 54 cm. Con respecto al perímetro de la raíz, la variedad Lojana con el tratamiento T1 alcanzó el mayor perímetro de raíz. Con respecto al largo y ancho de la hoja, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos.

Liao et al. (2020) mencionaron que a partir del biocarbón producido con tallos de algodón se incrementó de forma significativa en el suelo la presencia de bacterias oxidantes de amoníaco, lo que contribuyó a la mejora del proceso de nitrificación.

La aplicación de biocarbón sobre el desarrollo y la productividad en plantas de chile y tomate ha sido exitosa. El índice de área foliar, peso seco del dosel, número de nudos y recolección de capullos, flores y frutos aumentaron (Sik et al., 2016). En pepino (*Cucumis sativus*) se determinó que al mezclar el biocarbón con algún otro tipo de fertilizante ya sea orgánico o químico se mejoró el crecimiento de las plantas. La combinación de biocarbón con lombricompost incrementó la altura de la planta en 28 cm, pero su mezcla con fertilizantes químicos tan solo 9 cm. Además, la mezcla del biocarbón y lombricompost produjo los mejores resultados en el crecimiento y número de hojas debido a que las condiciones del suelo como densidad aparente, aumento de la porosidad, retención de agua y conductividad eléctrica fueron mejoradas (Madriz Martínez, 2019).

Sisalima Morales y Barrezueta (2020) evaluaron el efecto que tiene el biocarbón en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*). Los investigadores analizaron las variables

altura de la planta, número de brotes, peso, largo y diámetro de la mazorca y propiedades químicas del suelo. El experimento consideró tres tratamientos: testigo, 75 g y 150 g de biocarbón por planta, respectivamente. Se determinó que el tratamiento con 150 g de biocarbón fue el que mostró la mayor altura de planta (2,56 m), superando al testigo (2,50 m). El tratamiento de 75 g de biocarbón alcanzó una altura de planta de 2,40 m. En cuanto al número de brotes el tratamiento con 75 g de biocarbón alcanzó el mayor número. El biocarbón influyó en la actividad microbiana del suelo con beneficios sobre el desarrollo vegetativo y la producción de biomasa. No hubo diferencias significativas con respecto al testigo en cuanto a las variables de diámetro y peso del fruto. El peso de la almendra del tratamiento con 75 g de biocarbón fue el más alto, debido a que se obtuvo un mejor llenado del fruto. Este mismo tratamiento alcanzó los valores de 6,97 y 6,51, así como de 3,34 y 3,24 % en pH y porcentaje de materia orgánica, respectivamente, con respecto al testigo.

Blanco-Canqui (2017) señalan que el biocarbón redujo la densidad aparente entre un 3 y un 31 % en 19 de 22 suelos evaluados, determinando que la densidad aparente generalmente disminuye tras la aplicación de biocarbón. En promedio, la densidad aparente puede disminuir hasta en un 12 %. Además, menciona que el aumento de carbono en el suelo con la aplicación de biocarbón puede incidir directamente en la disminución de la densidad de partículas del suelo, pues biocarbones con contenido de carbono mayor a 60 % reduce la densidad de partículas. Omondi et al. (2016) encontró que la adición de biocarbón aumentó la porosidad del suelo en un 8,4 %.

Middelani (2019) evaluó el impacto del BC en suelos experimentales del Departamento de Cochabamba Bolivia, obteniendo que el biocarbón acercó el pH a la accesibilidad de nutrientes como el fósforo, pues la ceniza en las estructuras orgánicas aumentó la basicidad del suelo al disolverse el óxido de calcio y como resultado se incrementó la biomasa microbiana al disminuir la acidez del suelo. El incremento de la CIC se debió a la densidad de electrones de carga negativa en las partículas de BC, lo que causa la adsorción reversible de cationes como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  o  $\text{NH}_4^+$ .

## **5.2 Importancia del café en Costa Rica**

La obtención de la independencia de España y la incorporación del café vinieron de la mano. Su llegada al país transformó la geografía de Costa Rica y propició la construcción del ferrocarril al Atlántico y al Pacífico. Si bien, el auge cafetalero benefició

a los oligarcas, el resto de la población también aprovechó los aportes en construcción de caminos, carreteras de lastre, calles empedradas, empleo y construcción de escuelas (Gamboa et al., 2016).

El establecimiento del café en Costa Rica modeló la nacionalidad costarricense, así como la economía, ya que, se pasó de un sistema agrícola basado en la subsistencia a un sistema de exportación, con mejora de la economía de pequeñas comunidades a partir del cooperativismo que hasta el presente sigue vigente (Granados Montero 2015).

La producción intensiva de este cultivo desde la siembra de la planta hasta la recolección del fruto, con alta demanda de mano de obra durante la cosecha, ha hecho del café una actividad generadora de empleo en las ocho regiones cafetaleras de Costa Rica, con el logro de una mejor calidad de vida para pequeñas y medianas familias productoras y sus colaboradores (ICAFE 2019).

Según Díaz-Gutiérrez (2019), de acuerdo con el Plan Nacional de Renovación de Cafetales el área cafetalera cuenta con 98 681 ha, distribuidas en ocho regiones cafetaleras (Zona de los Santos, Valle occidental, Valle Central, Brunca, Turrialba, Guanacaste, Tres Ríos y Orosi). En el periodo de 2018-2019 (Oct-Set), la industria cafetalera produjo un ingreso de divisas al país por exportaciones de USD 285 101 630, equivalentes al 2.5 % del total de exportaciones del país, así como un 9.30 % del total de divisas que genera el sector agropecuario (ICAFE 2019).

La caficultura costarricense ha experimentado reducción en los rendimientos. La cosecha (2018-2019) fue de 1 717 658.74 fanegas que, en comparación con la cosecha anterior (2017-2018) representó una reducción del 14,8 %. Esta cosecha ha sido la más baja desde la que se presentó entre 1975 y 1976 de tan solo 1 700 179 fanegas (ICAFE 2019).

De acuerdo con Díaz-Gutiérrez (2019) de 98 681 ha que representan la totalidad de café en producción, 34 754 ha presentaron edades de plantación superiores a los 20 años. El envejecimiento del agroecosistema ha reducido la productividad nacional, problemática que se ha evidenciado desde la cosecha 2000-2001. Las plantaciones envejecidas tienden a presentar mayor susceptibilidad a la Roya del cafeto (*Hemileia vastratrix*) y a condiciones climáticas como el fenómeno del niño (Ministerio de Comercio Exterior [COMEX], 2019). También existe desgaste de los suelos cafetaleros

por causa de la extracción nutricional y el bajo aporte que se efectúa de nutrientes y materia orgánica.

### 5.3 Manejo de la fertilización química del café en Costa Rica

En busca de mejorar la fertilización del café en Costa Rica, se ha determinado el orden de importancia de los nutrientes para la fertilización del cultivo, observándose que el nitrógeno encabeza la lista: N>K>Mg>Ca>S>Zn=B>P. Se ha elaborado una recomendación de rangos de fertilización general para el país, en donde el nitrógeno representa el nutriente de mayor requerimiento para el cultivo, de acuerdo con el cuadro 1. A pesar de lo propuesto, las autoridades recomiendan ajustar la fertilización de acuerdo con los contenidos nutricionales del suelo durante el ciclo de producción (Vignola et al., 2018).

**Cuadro 1.** Recomendación general de fertilización de suelos cafetaleros costarricense en el contexto del cambio climático.

Elemento	Dosis (Kg ha <sup>-1</sup> )
Nitrógeno	150 a 300
Fósforo	30 a 50
Potasio	100 a 200
Magnesio	40 a 80
Azufre	30 a 60
Boro	3 a kg
Zinc	5 a 10

Adaptado de: Vignola et al., (2018).

### 5.4 Ciclo del nitrógeno

El nitrógeno se encuentra presente en todos los seres vivos en forma de proteínas, material genético y clorofila. El nitrógeno constituye el 78 % de la atmósfera terrestre. La importancia del nitrógeno radica en que la vida en la Tierra continúe con normalidad, sin embargo, la flora, fauna y seres humanos no pueden echar mano del nitrógeno que se

encuentra en la atmósfera. Para ello requieren de bacterias que convierten el nitrógeno en formas utilizables como  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3$  (Benimeli et al., 2019).

Durante el ciclo de nitrógeno ocurren una serie de procesos impulsados por microorganismos:

## **5.5 Fijación y Amonificación, Nitrificación o Mineralización**

Este proceso se lleva a cabo en dos etapas. Primero, las bacterias Nitrosomonas y Nitrococcus convierten el amonio en nitrito ( $\text{NO}_2$ ). Posteriormente, Nitrobacter oxida el nitrito a nitrato. La nitrificación es consecuencia de la acción de bacterias oxidantes del amoníaco y las bacterias oxidantes de nitritos. En la segunda etapa, la enzima amoníaco monooxigenasa oxida el  $\text{NH}_3$  en hidroxilamina ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) y posteriormente se oxida a nitrito por medio de la acción de la hidroxilamina oxidoreductasa. Las bacterias oxidantes de nitritos utilizan la enzima nitritooxidoreductasa para oxidar el nitrito a nitrato (Lamprea et al., 2015).

### **5.5.1 Asimilación e Inmovilización**

La asimilación, es el proceso a través del cual las formas de nitrógeno oxidado ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ) son incorporadas a biomoléculas de microorganismos y plantas como proteínas y ácidos nucleicos. De igual forma, los animales herbívoros pueden incorporar estas formas de nitrógeno a su organismo. En la inmovilización, las moléculas inorgánicas ( $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$ ) son convertidas a nitratos orgánicos (Aramayo, 2007).

### **5.5.2 Desnitrificación**

Procariontes heterotróficos utilizan el nitrógeno oxidado y carbono orgánico como aceptor y donador de electrones, respectivamente. Posteriormente, el nitrógeno resultante es transferido a la atmósfera y por ende se pierde para ser utilizado en posteriores transformaciones biológicas (Aramayo, 2007).

### **5.5.3 Fijación biológica de nitrógeno**

Este proceso consiste en reducir el  $\text{N}_2$  a  $\text{NH}_4$  por acción de la enzima nitrogenasa. Entre las bacterias encargadas de llevar a cabo este proceso se encuentran las familias Rhodospirillaceae, Chlorobiaceae y Cyanobacteriae, quimioautótrofos como bacterias de los géneros *Thiobacillus*, *Xanthobacter* y *Desulfovibrio* y organismos heterótrofos como las bacterias pertenecientes a la familia Frankiaceae, además de Rhizobiaceae y a los géneros *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Clostridium* (Lamprea et al., 2015).

## **5.6 Importancia y efecto del nitrógeno sobre las plantas**

El nitrógeno es uno de los elementos de mayor importancia en las plantas y en el agroecosistema dado que participa en numerosos procesos bioquímicos que influyen sobre el crecimiento, desarrollo y producción (Sosa y García 2018). Su importancia en la nutrición de las plantas radica en que toma parte en la síntesis de proteínas, hormonas, ácidos nucleicos y pigmentos por lo que es de importancia para el proceso de fotosíntesis y acúmulo de fotoasimilados en la planta (Sierra-Alarcón et al., 2019).

Según Terán y Izquierdo (2005) este nutriente es esencial para la síntesis de la clorofila y si existe deficiencia de nitrógeno la planta no podrá utilizar la luz solar como fuente de energía para poder obtener otros nutrientes necesarios. Además, es un constituyente de las vitaminas, sistema de energía de las plantas y funge de base para el desarrollo de las proteínas de las plantas. Además, participa en procesos de crecimiento de las hojas, senescencia, estructura del sistema radical y tiempo de floración (Vega Contreras, 2015).

## **5.7 Importancia del biocarbón en la agricultura**

La incorporación de materiales orgánicos al suelo tiende a mejorar la productividad de los cultivos. El biocarbón beneficia tanto al suelo como a los cultivos (Concilco et al. 2018). La producción de biocarbón a partir de diferentes tipos de desechos es una manera sostenible de gestionar los desechos durante el proceso productivo con mejores resultados económicos y ambientales. Ejemplo de ello es que el biocarbón es un sustituto económicamente más rentable que el carbón activado para eliminar contaminantes orgánicos e inorgánicos del suelo y el agua (Sik et al., 2016).

El uso de biocarbón en los sistemas agrícolas mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Uno de sus efectos inmediatos es el aumento en la disponibilidad de nutrientes como K, P, y Zn. Sin embargo, el biocarbón funciona más como un facilitador de nutrientes que como una fuente primaria. Este material posee alta porosidad y superficie específica y cuenta con elevada capacidad de adsorción, por ende, los suelos que lo contienen muestran mayor retención de agua y nutrientes (Stadler & Hernando, 2018).

Estos mismos autores señalaron que el biocarbón retarda el proceso de mineralización de la materia orgánica, provoca su acúmulo y aumenta la CIC del suelo, disminuye los niveles de metales pesados y aumenta su pH.

Con respecto a las propiedades biológicas existe evidencia de que esta enmienda funciona como un portador de microorganismos, que logran alojarse en su estructura porosa, por lo que su incorporación al suelo podría incrementar la población de hongos micorrízicos, bacterias, actinomicetos y bacterias del género *Rhizobium*, de importancia en la bioremediación de suelos (Escalante Rebolledo et al., 2016; Lehmann et al., 2011).

La producción de un determinado cultivo al cual se le ha aplicado biocarbón suele mostrar un mayor rendimiento, en comparación con cultivos de su misma especie que han sido tratados con abonos orgánicos como el compost o el humus (Huerta de la Cruz, 2019).

Puesto que estos aspectos de mejoras del suelo tienen repercusiones sobre las plantas, el empleo de biocarbón produce condiciones físicas y químicas que propician mejoras en la fertilidad y calidad del sistema edáfico, con beneficios en el crecimiento, desarrollo, productividad y salud de los cultivos (Stadler & Hernando, 2018).

## **5.8 El uso del biocarbón también puede inducir efectos adversos**

Según Huerta de la Cruz (2019) cuando el biocarbón es aplicado al suelo recién producido sin ser activado o sin la posibilidad de madurar y complementarse con los nutrientes del suelo, puede causar que la disponibilidad de los nutrientes para los cultivos se vea limitada, consecuencia de su unión e inmovilización y, por ende, podría ocasionar bajos rendimientos de las plantaciones.

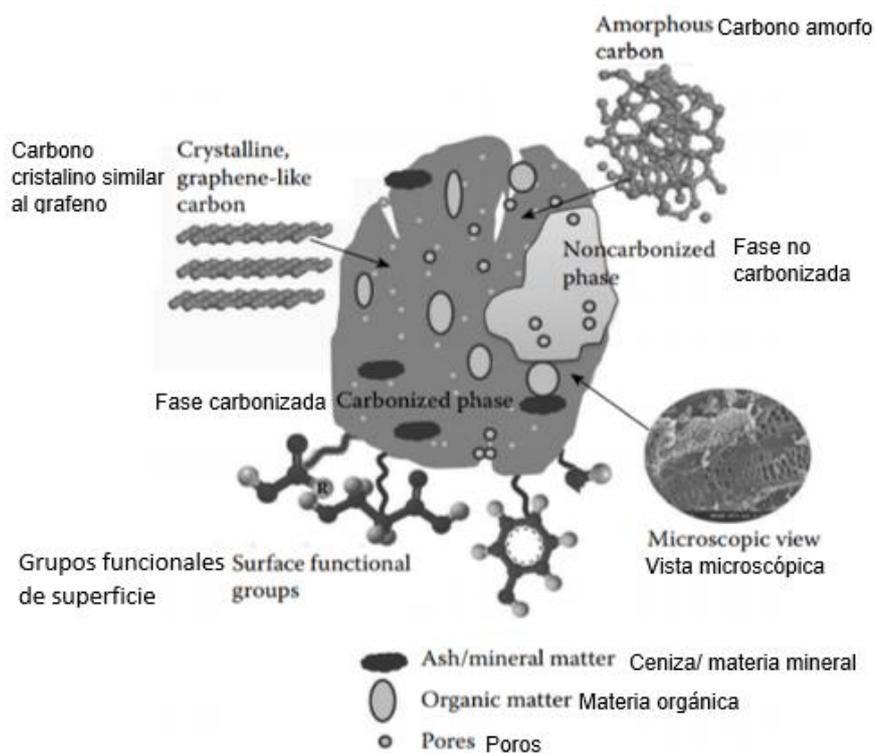
Este mismo autor plantea que al presentarse la formación de carbono lábil (fase gaseosa que se genera cuando el biocarbón es calentado) y al precipitar en el suelo, existe la posibilidad de que provea una fuente de carbono soluble que tiende a causar deficiencia de nutrientes como nitrógeno durante periodos cortos, pues impulsa la proliferación de microorganismos que se alimentan del nitrógeno del suelo y por ende reduce su disponibilidad nutricional para las plantas. Este problema se puede solucionar activando el biocarbón con compuestos como ácido fosfórico o materiales orgánicos como compost. Una vez que la fracción de carbono lábil es agotada, el biocarbón seguirá estable durante muchos años.

El aporte de nutrientes que se obtienen del biocarbón es reducido. Solo de un 1 y 15 % de nitrógeno y fósforo, respectivamente, resultan disponibles para las plantas. Por lo tanto, su aporte como fertilizante es mínimo. El aumento de biomasa que se evidencia al aplicar biocarbón al suelo se atribuye a mejoras físicas y químicas (Herrera Culebro, 2018).

El uso de biocarbones extremadamente alcalinos con valores de pH mayores a 11, así como altos valores en sus cenizas, provoca que el aumento en la basicidad del suelo traiga consigo que poblaciones de microorganismos que influyen en el ciclo y disponibilidad de nutrientes como el hierro sean afectadas. También ocurre contaminación del sistema edáfico al aplicar biocarbón que contiene materiales pesados en su estructura, como por ejemplo el cadmio (Segura Chavarría, 2018).

## **5.9 Características del biocarbón**

La conformación estructural del biocarbón va a depender tanto de la materia prima que se utilice como del proceso térmico al que se someta. En términos generales, se determina que este material presenta forma rígida, coloración negra y estructura amorfa. Cualquier partícula de biocarbón se encuentra compuesta por dos fracciones estructurales conocidas como láminas alineadas de grafeno cristalino y esturas aromáticas amorfas, asociadas con enlaces de carbono en forma de anillos de tipo benceno con oxígeno e hidrógeno (C-O, C-H). Sin embargo, la temperatura de pirólisis utilizada para la fabricación del biocarbón no forma láminas alineadas de grafeno de forma significativa, por ende, se producen principalmente compuestos aromáticos irregulares. Los anillos aromáticos están constituidos por átomos de nitrógeno, oxígeno, hidrógeno, fósforo y azufre (Escalante Rebolledo et al., 2016).



**Figura 1.** Representación esquemática del biocarbón y sus componentes.

Adaptado de: Sik et al. (2016).

### 5.9.1 Características físicas

Según Escalante Rebolledo et al. (2016) el biocarbón posee una alta porosidad, con micro, meso y macroporos, representados por poros que son menores a 2 nm, de entre 2 a 50 nm y mayores a 50 nm, respectivamente. Los macroporos se originan de los espacios constituyentes de la materia prima y facilitan el transporte de sorbatos (iones metálicos) por difusión en los microporos lo que beneficia el transporte de moléculas concentradas. Los microporos se forman directamente durante la pirólisis. Hay una relación directa entre el aumento de la temperatura y la microporosidad lo que beneficia la adsorción de productos líquidos, sólidos y gases. El biocarbón presenta una baja densidad aparente que oscila entre 0,30 a 0,45 g cm<sup>3</sup> según el tipo de materia prima y el proceso de pirólisis. Además, presenta una alta superficie específica que va desde 200 a 400 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> que depende del material que se esté utilizando para su elaboración. Se han registrado valores de 2.9 a 114,0 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>.

## 5.9.2 Características químicas

La composición química del biocarbón depende de la materia prima y el proceso de pirólisis utilizado para su fabricación. Por lo tanto, no todos los biocarbones son iguales lo que dificulta definir su composición química. La fracción orgánica del biocarbón presenta un elevado contenido de carbono, mientras que la parte inorgánica se encuentra constituida por calcio, magnesio, potasio y carbonatos inorgánicos, lo cual depende del tipo de materia prima utilizada para su elaboración (Sik et al., 2016).

La materia volátil o móvil (fase gaseosa) es un componente que se produce del biocarbón cuando es calentado y su proporción es de cuidado cuando se aplica biocarbón al suelo, ya que al ser una fuente de carbono soluble precipita en el suelo y provoca deficiencias de nutrientes a corto plazo. La materia volátil desaparece durante el primer ciclo de un cultivo y no contribuye en las mejoras de las propiedades del suelo a largo plazo (Escalante Rebolledo et al. 2016).

Con respecto a la relación C:N se plantea que el biocarbón tiene una relación carbono nitrógeno alta donde la mayor parte del carbono no estará disponible para los microorganismos, plantas y debido a su característica recalcitrante, no provoca aumento del carbono lábil del suelo ni de la relación C:N. Por lo tanto, el biocarbón no afecta la disponibilidad de nitrógeno para las plantas (Segura Chavarría, 2018).

La elevada CIC en el biocarbón es consecuencia de la presencia de grupos carboxilos en su superficie. Por consiguiente, el biocarbón recién fabricado cuenta con menor capacidad de retener cationes, por lo que presenta una baja CIC. Sin embargo, con el paso del tiempo, al incorporarse a la estructura del suelo, las superficies de las partículas se oxidan y aumentan los grupos funcionales y la CIC (Huerta de la Cruz, 2019).

Con respecto al pH se establece que este puede variar de ácido a alcalino entre rangos de 6.2 a 13 y con pH 8.1 en promedio al aumentar la temperatura debido a los cambios que sufre la fracción orgánica por pérdida de grupos ácidos, separación de minerales y sales alcalinas. El biocarbón puede aumentar de 0.6 a 1 unidad el pH del suelo, lo que beneficia la productividad en suelos con problemas de acidez. Finalmente, la conductividad eléctrica hace referencia al contenido de sales presentes en el biocarbón, abarcando los nutrientes y sales neutras que componen el material de origen (Segura Chavarría, 2018).

## **5.10 Materia prima que permite la fabricación de biocarbón**

La materia prima implementada para la fabricación del biocarbón determina sus propiedades físicas y químicas. Debido a la gran diversidad de materiales utilizados como materia prima, los biocarbones pueden ser muy heterogéneos. Sus propiedades deseadas se establecen en función del material seleccionado, así como del método de producción empleado. El material utilizado para su fabricación va desde residuos agrícolas, forestales, estiércol, desechos domésticos, urbanos de tipo orgánico y lodos residuales de plantas de tratamiento de aguas (Huerta de la Cruz, 2019). Una condición que debe tomarse en cuenta en la elección de los desechos utilizados es que no deben competir con otros usos de mayor valor económico que el biocarbón o bien que se utilicen en la fabricación de alimentos, bienes o servicios ambientales. Además, para que el biocarbón sea económicamente rentable debe obtenerse como subproducto de un proceso industrial o agrícola (Sisalima Morales y Barrezueta Unda, 2020).

## **5.11 Procesos para fabricar de biocarbón**

### **5.11.1 Pirólisis lenta**

La pirólisis lenta, también conocida como pirólisis convencional, se caracteriza porque el calentamiento de la biomasa se efectúa entre lapsos de calentamiento que oscilan entre 0.1 a 2 °C/s, prevaleciendo temperaturas de 500 °C, así como largos periodos de residencia de los sólidos y el gas. El tiempo de residencia del gas y la biomasa puede superar los 5 segundos y lapsos de minutos a días. La ventaja de la pirólisis lenta es que es el proceso es el más efectivo en cuanto a rendimiento en la producción de biocarbón (Escalante Rebolledo et al., 2016).

### **5.11.2 Pirólisis rápida**

Con este procedimiento la biomasa se calienta a temperaturas entre 850 y 1250 °C, con una velocidad de calentamiento de 10 a 200 °C, por lapsos de tiempo que van desde 1 segundo a 10 segundos. De este proceso se obtiene como producto principal biocombustible. Durante su desarrollo se produce 60 a 75 % de producto líquido, 15 a 25 % de biocarbón y el 10 a 20 % corresponde a productos gaseosos (Herrera Culebro, 2018).

### **5.11.3 Pirólisis ultrarrápida**

En este proceso las temperaturas son moderadas de entre 400 a 600 °C, pero las tasas de calentamiento tienden a ser muy rápidas, mayores a 2 °C s<sup>-1</sup>. Los tiempos de

residencia del vapor son menores a 2 segundos. Durante este proceso rápido los productos aceitosos son los que tiene el mayor rendimiento con un 75 a 80 % (Escalante Rebolledo et al., 2016).

#### **5.11.4 Gasificación**

Este proceso ocurre por medio de dos reacciones: primeramente, ocurre la conversión de madera a carbón y en la segunda reacción con mayor temperatura se provoca la transformación del carbón en cenizas, lo que se conoce como gasificación del carbón (Escalante Rebolledo, 2013).

#### **5.11.5 Carbonización térmica**

Esta técnica se lleva a cabo en material orgánico con alto contenido de agua como los lodos residuales, pulpas de café, estiércol y algas. El proceso consiste en sumergir estos residuos en agua a temperatura elevada, pero sin llevar al punto de ebullición. Por medio de este método se hace posible la carbonización de productos que contienen lignina, celulosa y polisacáridos diluidos en agua obteniéndose productos carbonosos nano-estructurados. De igual forma es posible producir biocarbón a temperaturas bajas que oscilan los 200 °C durante tiempos cortos (Tenesaca Martínez, 2019).

## **6. Metodología**

### **6.1 Duración y ubicación de la investigación**

El desarrollo del ensayo tuvo una duración de 161 días y se llevó a cabo en el área de invernaderos de la Universidad de Costa Rica Sede del Atlántico, cantón de Turrialba, provincia de Cartago, cuyas coordenadas geográficas son: 9°54'22" N y 83°40'48" W. El desarrollo del experimento se llevó a cabo por medio de dos fases: fase 1 (caracterización física, química y biológica del área con carbón y sin él en la finca Salmebre de donde se extrajo el suelo para llenar los potes divididos) y la fase 2 (respuestas del suelo y la planta al efecto del biocarbón y el nitrógeno).

### **6.2 Tratamientos**

En el cuadro 2 se muestra la distribución aleatoria de cada unidad experimental de acuerdo con el tratamiento empleado. Las abreviaturas mostradas indican lo siguiente: BCN= Biocarbón/Nitrógeno, BCS= Biocarbón/Suelo, NS= Nitrógeno/Suelo SS= Suelo/Suelo (control absoluto).

La barra inclinada (/) indica que el pote está dividido con dos secciones, es decir, está compuesto por hemipotes. Cada hemipote fue llenado con una mezcla de suelo con biocarbón, nitrógeno o solo suelo de acuerdo con el respectivo tratamiento.

**Cuadro 2.** Distribución aleatoria de los tratamientos.

BCS	SS	NS	BCS	BCN	SS
NS	SS	BCN	BCN	BCN	BCN
BCS	NS	BCN	BCS	SS	NS
BCS	NS	SS	SS	BCS	NS

### 6.3 Descripción de la unidad experimental

La unidad experimental fue una planta de café de la variedad Obatá en estado de almácigo de un año. Las plantas se sembraron en el centro de cada recipiente de 38 cm de altura y 24 cm de ancho, divididos en el centro por una lámina plástica de 30 cm de altura y 26 cm de ancho.



**Figura 2.** Establecimiento de la unidad experimental en el pote dividido.

### 6.4 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos y seis repeticiones para un total de 24 unidades experimentales. El modelo estadístico general fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = variable de respuesta

$\mu$  = media poblacional de la variable respuesta

$T_i$  = efecto de  $i$ -ésimo tratamiento que es consecuencia del efecto principal del N, el BC y la ausencia de ambos insumos. La estructura de los tratamientos fue factorial, es decir, permitió separar la fuente de variación debida al N, al BC y a su interacción BC\*N.

$E_{ij}$  = error aleatorio de debido al tratamiento.

## 6.5 Material experimental

El material experimental correspondió a plantas de café de la variedad Obatá derivada del cruce entre el cultivar Villa Sarchí y el híbrido de Timor (CIFC 832/2). Este cruce dio origen al H 361/4 (F1). Su descendencia F2 se cruzó con la variedad Catuaí de fruto rojo que originó a la variedad Obatá. Esta variedad, muestra alta resistencia a la roya, es de porte bajo, alto vigor, entrenudos cortos, hojas grandes, anchas y brotes de color verde. Tiene alta capacidad de emitir ramas secundarias, sus frutos son grandes, rojos y de maduración tardía. Las dimensiones de altura y diámetro de copa se asemejan a la variedad Catuaí y alcanza una buena calidad de bebida (Asociación Nacional del Café [ANACAFÉ], 2019).

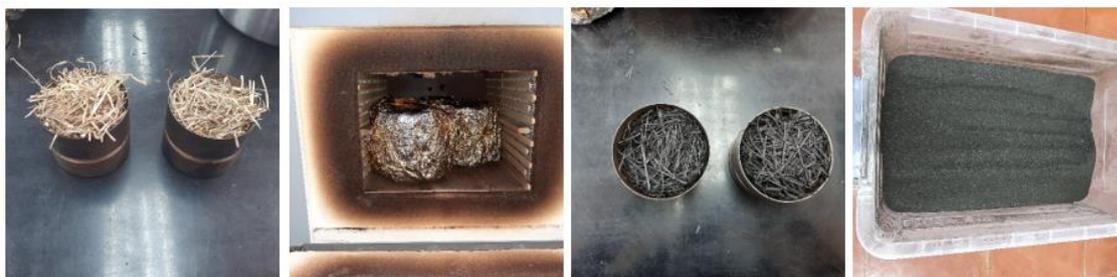
## 7. Procedimiento general

### 7.1 Adquisición del suelo, nitrógeno y fabricación del biocarbón

El suelo se obtuvo de la finca cafetalera Salmebre, ubicada en el poblado de Las Colonias de la Suiza, a  $9^{\circ}50'25''N$  y  $83^{\circ}33'53''W$ , cantón de Turrialba, provincia de Cartago. La finca es propiedad del señor Víctor Salmerón Camacho.

La fuente de nitrógeno utilizada fue nitrato de amonio  $NH_4NO_3$ . Para la fabricación del biocarbón se realizó una prueba preliminar de producción en las muflas del laboratorio de química de la Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico. El proceso de fabricación se realizó a través de pirólisis lenta, conforme a la metodología desarrollada por Song et al. (2020). Se utilizó como materia prima heno de pasto Transvala (*Digitaria decumbens* Stent). El heno se cortó en trozos de 7 a 12 cm, se colocó en recipientes de aluminio cubiertos con tres capas de papel aluminio, con el fin de restringir el paso de oxígeno. Posteriormente, los recipientes se colocaron en la mufla Thermo Scientific Thermolyne modelo M30A-1C por dos horas a una temperatura de 300

a 350 °C. Una vez fabricado el BC se molió en el molino Laboratory Mill modelo 4 y se obtuvo un tamaño de partícula de 2 mm (Figura 3).



**Figura 3.** Procesamiento de la materia prima para la fabricación de biocarbón a partir de pasto Transvala.

## 7.2 Inoculación de biocarbón (BC) con té de vermicompost

Para producir el té de vermicompost se colocaron 500 g de vermicompost obtenido del módulo lechero de la Universidad de Costa Rica Sede del Atlántico en una bolsa de tela que se sujetó de un soporte dentro de un balde con 15 litros de agua y melaza al 2 %. El agua junto con el vermicompost se sometió a aireación con ayuda de un compresor ABAC modelo B2800-100SM2 durante 15 horas consecutivas. Trascorridas las 15 horas se sustituyó la bolsa de vermicompost por otra bolsa con el biocarbón, que se sumergió en el té de vermicompost y aireó con el compresor por otras dos horas más (Living Wep Farms, 2018). Se tomó una muestra de 170 g de BC seco y se sumergió en agua durante dos horas para así conocer el peso húmedo adquirido por el biocarbón el cual fue de 572,58 g después de ser inoculado. Con ayuda del laboratorio del Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA), se realizó la caracterización química del BC inoculado (cuadro 3).

**Cuadro 3.** Análisis químico del biocarbón inoculado producido a partir de pasto Transvala.

Análisis químico biocarbón											
Material	% masa						mg/kg				
	N	P	Ca	Mg	K	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
Biocarbón	1,20	0,28	0,80	0,34	1,92	0,21	1318	17	98	206	6

## 7.3 Adquisición del Material experimental

Las plantas de café de almácigo (variedad Obatá) de un año de edad fueron compradas al productor Juan Carlos Martínez Ocampo propietario de la finca Sicapa ubicada en el poblado de San Juan Norte, cantón de Turrialba, provincia de Cartago. En total fueron 24 plantas con altura de alrededor de los 40 cm. Posterior al traslado a la Sede

se les redujo la longitud de la raíz pivotante a 3,5 cm, para provocar la proliferación de raíces secundarias.

#### **7.4 Elaboración de los recipientes**

Se utilizaron 24 recipientes plásticos a los cuales se les añadió una pared plástica de 8 cm de altura en el extremo superior en los cuatro costados. Esta pared se adhirió al pote con ocho remaches distribuidos en cada uno de los costados del recipiente. Por ende, la altura de los recipientes alcanzó los 38 cm de alto (ver Figura 4). La finalidad de añadir esta pared a los contenedores fue proporcionar espacio para un montículo de suelo de 8 cm (libre de la aplicación de tratamientos) que brindara mayor sostén a la planta en su base.

Para obtener el volumen del recipiente no se tomó en cuenta los 8 cm de la pared añadida. Por lo tanto, se definió que la altura real de los recipientes en donde se extendían las raíces era de 30 cm, con 24 cm de ancho y 24 cm de lado lo que sumó un volumen de 17,28 L (ver Figura 4).

Se obtuvo el peso del suelo que podía contener un recipiente excluyendo los 8 cm añadidos con la pared. Para ello se llenó con suelo y se pesó por triplicado tres recipientes. El peso de suelo en promedio correspondió a 16,95 kg. Por lo tanto, puesto que cada recipiente se dividió a la mitad, el contenido de suelo por hemipote correspondió a 8,48 kg.

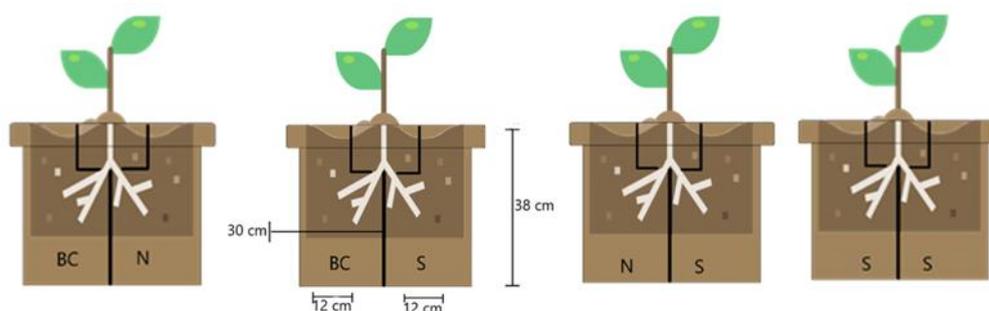
La división de los potes se construyó con tablilla de PVC de 12 cm de ancho. Para fijar la división de tablilla al pote se realizó un corte longitudinal en ambos lados del recipiente. En su parte inferior y costados se aplicó pegamento comercial a base de poliuretano (duretán) para fijar la lámina al recipiente. Posteriormente se selló con poliuretano cualquier espacio que quedara en la parte inferior o costados para evitar el intercambio de agua y demás sustancias entre los dos espacios radicales de cada hemipote (Figura 4).

En la parte superior de la lámina divisoria se hizo un corte rectangular en forma de boquete de 5 cm de ancho por 3,5 cm de profundidad que permite dividir el sistema radical en dos mitades (Figura 4). Posteriormente, se procedió a llenar ambas mitades del pote (hemipotes) con suelo, previamente desmenuzado a mano para así proporcionar homogeneidad al tamaño de los terrones. Seguidamente, a uno de los espacios se le añadió

biocarbón o nitrógeno quedando la otra mitad solo con suelo. Los tratamientos testigo únicamente recibieron suelo en ambas mitades.



**Figura 4.** Recipiente base que se implementó en el sistema de raíces divididas en el cultivo de café. Elaboración propia.



**Figura 5.** Diseño del contenedor prototipo para el sistema de raíces divididas en el cultivo de café. Elaboración propia.

## 7.5 Dosis de biocarbón y nitrógeno

Conforme a Song et al. (2020) la dosis de biocarbón utilizada correspondió a 20 g por cada kilogramo de suelo, es decir, 170 g por hemipote, equivalente a 41 t ha<sup>-1</sup>. Para realizar la mezcla biocarbón/suelo se tomaron 170 g de biocarbón y se revolvió de forma manual con 8,48 kg de suelo en un carretillo. Este procedimiento se repitió hasta completar las 12 hemipotes del experimento que debían recibir biocarbón.

La dosis de nitrógeno utilizada correspondió a 9 g según lo señalado por Frois de Andrade et al. (2015) de nitrato de amonio equivalente a 45 kg ha<sup>-1</sup> por hectárea, la cual se fraccionó en cinco aplicaciones durante los 161 días de duración del experimento, con el objetivo de evitar fitotoxicidad en las plantas.

Para aplicar 9 g de nitrato de amonio por planta se hizo a un lado el suelo superficial del hemipote que da soporte a la planta excavando de 8 cm profundidad hasta el borde de la lámina divisoria. Se distribuyó el nitrato de amonio en la superficie de suelo expuesto, cubriéndose nuevamente con la capa de suelo extraído.

## **7.6 Manejo de plagas y enfermedades**

Se utilizó Diazinon 60 EC en proporción de 5 ml por litro de agua para el combate de áfidos (*Aphis gossypii*) a los 52 DDT y a los 85 DDT. Para el manejo de la chasparria (*Cercospora coffeicola*) se utilizaron 10 g de Ferbam 76 WG en un litro de agua a los 8 DDT y los 37 DDT.

## **8. Evaluaciones realizadas y metodologías aplicadas**

### **8.1 Caracterización del suelo de la finca Salmebre**

Estas evaluaciones, se llevaron a cabo previo al establecimiento del ensayo en el área de invernadero, las evaluaciones realizadas son: densidad aparente, densidad de partículas, porosidad total, microporos, mesoporos, macroporos y retención de humedad. Así como las propiedades químicas y microbiológicas.

Se eligió esta finca a inicios del año 2021 por ser propiedad de un caficultor del cantón de Turrialba y a la vez ser representativa de las demás fincas productoras de café de la zona. El carbón que se utilizó procede de raíces de café, bandolas y diversa madera propia de los árboles de la finca, se produjo utilizando una carbonera artesanal, la primera aplicación de carbón se realizó en el año 2011 y la última aplicación de carbón fue realizada en el año 2018. El material tenía una combinación entre partículas gruesas y finas, la aplicación fue superficial sin ser homogénea, se aplicaron aproximadamente entre 8 a 9 sacaos ha<sup>-1</sup> de 45 kg. El área de la finca con carbón aplicado representa aproximadamente una hectárea y el área sin carbón representa aproximadamente dos hectáreas (V. Salmerón, comunicación personal, 17 de octubre 2022).

El muestreo de estas variables se llevó a cabo en dos zonas de la finca (área con carbón y área sin carbón). Esto con la finalidad de caracterizar la condición del suelo en la finca Salmebre en su estado natural.

### **8.2 Retención de Humedad**

Se tomaron muestras indisturbadas entre los 0 a 20 cm superficiales fueron extraídas en seis puntos de muestreo por área (con biocarbón y sin él) con anillos metálicos de acero (5 cm de diámetro, 1 cm de alto). Se eliminó el exceso de suelo en los extremos de cada anillo, se conservó la muestra en el anillo envuelta en papel aluminio.

Cada una de las muestras se obtuvo para dos puntos de interés: capacidad de campo (CC) y punto de marchitez permanente (PMP).

En el laboratorio de suelos de la Sede del Atlántico se saturaron las muestras por 48 horas en un recipiente con agua, procurando que el nivel del agua sobrepasara la mitad de anillo. Transcurridas las 48 horas, se colocaron las muestras en platos porosos, dentro de las ollas de presión de Richards, se utilizaron platos de porcelana de 1 bar para las succiones de 0,33, 0,5, 0,8 en la olla de 5 bares y los platos de porcelana de 15 bares para las succiones de 5 y 12 bares en la olla de 15 bares. Se cerraron las ollas y se conectó la fuente de presión (tanque de aire comprimido a 250 libras/pulgada). Se dejaron las muestras hasta estabilizar sus presiones por 48 horas.

Conforme las muestras se estabilizaron en cada succión requerida para CC y PMP, se obtuvo el peso húmedo asociado a cada succión en la balanza de precisión ADAM modelo N13L-460Re. Completado el proceso, se colocaron los anillos en canastas de papel aluminio en la estufa modelo LE-509RD a 110 °C por 48 horas. Se obtuvo el peso seco. Se calculó la humedad gravimétrica y se graficó las curvas de absorción en seis puntos observados (0,33, 0,5, 0,8, 1, 5 y 12 bares) para ambas áreas de la finca con la siguiente formula:

$$\Theta = a \mu b \text{ (Henríquez \& Cabalceta 2012).}$$

### **8.3 Densidad aparente**

Se tomaron seis muestras de suelo de 0 a 20 cm de profundidad (área con y sin carbón). Se introdujo el cilindro de acero (4,8 cm diámetro y 5 cm de alto) en el suelo, con golpes de mazo similares en fuerza y frecuencia (Figura 6). Cuando se completó el volumen requerido se sacó el cilindro, se eliminó el exceso de suelo en ambos extremos y se colocó en una bolsa plástica sellada. En el laboratorio, el suelo se secó a 110 °C en la estufa modelo LE-509RD durante 48 horas. Posteriormente, se dejó enfriar y pesó en la balanza de precisión ADAM modelo N13L-460R. Se obtuvo la densidad aparente como la razón del peso seco del suelo entre el volumen del cilindro (Henríquez & Cabalceta 2012).



**Figura 6.** Muestreo de densidad aparente en finca Salmebre a una profundidad de 0 a 20 cm.

#### **8.4 Densidad real o de partículas**

Para la medición de la densidad real se aplicó la metodología propuesta por Henríquez y Cabalceta (2012). Para ello se secó una muestra de suelo a 110 °C por 48 horas. Se tamizó y pesó 100 g de suelo ( $M_s$ ) en una balanza de precisión ADAM modelo N13L-460Re. Se colocó el suelo en un balón aforado de 250 ml ( $V_s$ ) limpio, seco y previamente calibrado. Se agregó 100 ml de agua hervida. Se colocó el balón con su contenido en la plantilla y se dejó hervir por unos minutos, moviendo el contenido con la finalidad de sacar el aire de las partículas de suelo. Se dejó enfriar, se aforó, se pesó el balón y tomó la temperatura. Se realizarán dos análisis, uno para cada área de la finca (suelo con carbón y suelo sin carbón).

La densidad real o de partículas ( $d_p$ ) es igual a:

$$d_p = M_s / V_s.$$

#### **8.5 Porosidad total, microporos, mesoporos y macroporos**

La determinación de estas variables se efectuó a partir de los resultados obtenidos referentes a densidad aparente, retención de humedad y humedad gravimétrica.

**Cuadro 4.** Ecuaciones aplicadas para el cálculo de la porosidad del suelo. Da= densidad aparente, Dp= densidad de partículas, P. Total= porosidad total, %Hv= porcentaje humedad volumétrica, CC= capacidad de campo, PMP= punto de marchitez permanente.

Porosidad total	$[1(Da/Dp)]*100$
Macroporos	P. Total - %Hv CC
Mesoporos	% Hv CC - %Hv PMP
Microporos	%Hv PMP
Porcentaje de humedad volumétrica a capacidad de campo	%Hv CC
Porcentaje de humedad volumétrica a punto de marchitez permanente	%Hv PMP

## 8.6 Propiedades químicas del suelo

Se tomó una muestra representativa de la finca cafetalera Salmebre tanto del área con y sin carbón. Para ello se establecieron seis puntos de muestreo en cada área distribuidos en 30 m<sup>2</sup>. Las muestras se enviaron al Laboratorio de Suelos y Foliaves (CIA) de la Universidad de Costa Rica para un análisis químico completo KCL-OLSEN modificado.

## 8.7 Propiedades microbiológicas del suelo

Las muestras de suelo se tomaron de 0 a 10 cm de profundidad en las mismas áreas de la finca cafetalera destinada para la toma de muestras químicas y físicas. Por lo tanto, se respetaron las indicaciones previstas en cuanto a la homogeneidad del terreno, variedad del cultivo y manejo de la plantación.

Se ajustó el contenido de humedad del suelo. Para ello, se tomó una muestra de suelo de 100 g para cada área de la finca (suelo con carbón y suelo sin carbón) y se colocaron en la estufa de convección interna a 110°C durante 48 horas: Se calculó el contenido de humedad del suelo, el cual representó un 42 y 46 % de humedad para el área con carbón y sin carbón, respectivamente.

Una vez conocido el contenido de humedad, se preparó una solución madre para cada área de la finca con 90 ml de agua destilada estéril (diluyente inicial) y de este se

eliminó un volumen equivalente al porcentaje de humedad. Completado este proceso, se colocó 10 g de suelo en un Erlenmeyer de 125 ml con 45 ml de agua estéril y se procedió a agitar la dilución madre a 150 rpm por 25 minutos en el Agitador Orbital modelo 721-2T para obtener la disolución  $10^{-1}$  (Weaver et al., 1994).

Posteriormente en la cámara de flujo laminar modelo 6HC-24 se realizaron disoluciones seriadas. Para ello se tomó un tubo de ensayo de 15 ml, se le colocaron 9 ml de agua destilada estéril y 1 ml de la disolución madre, para obtener una disolución  $10^{-2}$ . Se agitó para homogenizar. Se tomó 1 ml de esta disolución  $10^{-2}$  y se colocó en un nuevo tubo de ensayo de la misma capacidad con 9 ml de agua destilada estéril para obtener una disolución  $10^{-3}$ . Se repitió el procedimiento sucesivamente hasta obtener la disolución  $10^{-6}$  (Ostía Méndez, 2011).

Se utilizó papa-dextrosa-agar (PDA) como medio de cultivo para el desarrollo de hongos y agar nutritivo para el desarrollo de bacterias y actinomicetos. Con una micropipeta, se colocó 0,1 ml de cada una de las disoluciones sobre los medios de cultivo. Se repitieron tres veces cada una de las disoluciones por cultivar para un total de 24 análisis. Posteriormente, los platos Petri se colocaron de forma invertida en la cámara de crecimiento modelo Hetatherm OGS100 a 27°C. Se efectuó el conteo de unidades formadoras de colonias para bacterias a las 48 horas y hongos a las 96 horas (Ostía Méndez, 2011).

Las unidades formadoras de colonias (UFC) se estimaron a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/g} = \text{media de colonias contadas} \times (\text{por la dilución de interés})$$
 (Weaver et al., 1994).



**Figura 7.** Cámara de flujo laminar modelo 6HC-24 utilizada para el recuento de la Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en placas.

## **9. Respuesta del suelo al biocarbón y al nitrógeno mineral**

En las evaluaciones realizadas en el área de invernadero referentes a las propiedades físicas: retención de humedad, densidad aparente, densidad real o de partículas, porosidad total (macroporos, mesoporos y microporos) se utilizó un procedimiento de muestreo apropiado a la condición dividida de los potes. Nuevamente se aplicaron los procedimientos descritos por Henríquez y Cabalceta 2012. Las variables de respuesta fueron: propiedades químicas y microbiológicas del suelo, mediciones asociadas con el crecimiento del cultivo de café y población microbiana presente en la rizosfera.

### **9.1 Propiedades físicas**

#### **9.2 Retención de humedad del suelo y densidad aparente**

La retención de humedad del suelo se llevó al final del ensayo a los 161 DDT en los tratamientos: BCS, BCN, NS y SS en cinco repeticiones por tratamiento. Para cada hemipote, se tomó una muestra conformada por dos anillos de 5 cm de diámetro y 1 cm de altura (capacidad de campo CC y punto de marchitez permanente PMP). Se eliminó el exceso de suelo de los dos extremos de los anillos y cada muestra se cubrió con papel aluminio y resguardó en bolsas herméticas. En el tratamiento SS se tomó una muestra de un único hemipote por repetición. Esto constituyó un error metodológico ya que, para el tratamiento SS al muestrear solo un hemipote los datos quedaron incompletos por lo que solo se obtendría una curva y no dos como en los demás tratamientos.

Para los tres tratamientos se obtuvo en total de 30 muestras. En todos los casos el muestreo se realizó entre los 0 a 20 cm de profundidad (Figura 8). Al completarse el volumen de suelo requerido, los anillos se retiraron con la ayuda de una espátula. Se trabajó con curvas de dos puntos (0.33 y 15 bares).

Para la determinación de la densidad aparente se llevó a cabo el mismo proceso de muestreo descrito previamente para la misma variable, con la excepción que una muestra fue conformada por únicamente por un cilindro de 4,6 cm de diámetro y 5 cm de alto. Se eliminó el exceso de suelo del cilindro en sus extremos. Se extrajo el suelo del cilindro y guardó en bolsas plásticas herméticas. Se obtuvo un total de 30 muestras, a la profundidad de muestreo ya descrita. En este punto se destaca el error metodológico de muestreo provocado en el tratamiento SS.



**Figura 8.** Muestreo utilizado para determinar la retención de humedad del suelo en un hemipote. Obsérvese el anillo de acero utilizado para estimar esta variable en el hemipote derecho de la fotografía.

### **9.3 Densidad real o de partículas.**

La determinación de la densidad real o de partículas se efectuó a los 161 DDT, al final del ensayo en los tratamientos (BCS, BCN, NS y SS) a partir de cinco repeticiones. Se extrajo una muestra de 100 g de cada hemipote, obteniéndose dos muestras por repetición, para los tratamientos BCS, BCN y NS a excepción del tratamiento SS, del cual se obtuvo una única muestra independientemente del lado muestreado con la consecuencia metodológica ya señalada previamente. Para los tres tratamientos evaluados se dispuso de 30 muestras en total. En todos los casos el muestreo se llevó a cabo entre los 0 a 20 cm de profundidad.

### **9.4 Porosidad total, macroporos, mesoporos y microporos**

Estas variables fueron determinadas a partir de las variables densidad aparente, densidad de partículas, porcentaje de humedad gravimétrica derivadas de los datos de retención de humedad y porcentaje de humedad volumétrica, conforme a las ecuaciones planteadas en el cuadro 4.

### **9.5 Propiedades químicas del suelo**

El proceso de muestreo se llevó a cabo en los tratamientos BCS, NS y SS al término del ensayo. Se tomaron seis repeticiones por tratamiento y se conformaron parejas entre las mismas para así generar una muestra compuesta de cada pareja. Al ser un recipiente dividido, la submuestra se tomó del factor de variación de interés (BC, N y S) que deriva de los tratamientos BCS NS y SS. En el caso del testigo absoluto (SS) el muestreo fue aplicado a cualquiera de los dos hemipotes. Cada pareja de submuestras se

colocó en un recipiente, se homogenizaron y cuartearon con eliminación de los lados opuestos, hasta obtener una muestra compuesta de 0,5 kg. Por cada tratamiento se produjeron tres muestras, obteniéndose nueve en total.

**Cuadro 5.** Análisis químico de suelo obtenido de los hemipotes bajo el efecto de las fuentes de variación BC, N, S que componen los tratamientos BCS, NS y SS. CICE= capacidad de intercambio catiónico efectiva, % SA= porcentaje de saturación de acidez. Líneas de color gris indican el promedio y la desviación estandar.

ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS												
Solución Extractora:	pH	cmol(+)/L					%	mg/L				
KCl-Olsen	H <sub>2</sub> O	ACIDEZ	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn
Tratamiento	5,5	0,5	4	1	0,2	5		10	3	1	10	5
Biocarbón	5,0	0,5	3,4	2,3	0,4	6,6	8	22	2,0	18	176	34
Biocarbón	5,3	0,2	4,3	3,1	0,4	8,0	3	15	2,8	20	136	28
Biocarbón	5,3	0,2	4,7	2,4	0,5	7,8	2	14	2,0	21	132	32
Promedio	5,2	0,3	4,1	2,6	0,5	7,5	4,4	17,0	2,3	19,7	148,0	31,3
D. Estandar	0,2	0,2	0,6	0,4	0,1	0,7	3,2	4,4	0,5	1,5	24,3	3,1
Nitrógeno	4,7	1,5	2,5	1,2	0,2	5,4	28	10	1,6	22	189	41
Nitrógeno	4,7	1,3	2,5	1,5	0,2	5,4	23	9	1,6	25	183	45
Nitrógeno	4,7	1,3	2,8	1,9	0,2	6,2	22	13	1,7	24	182	46
Promedio	4,7	1,4	2,6	1,5	0,2	5,7	24,2	10,7	1,6	23,7	184,7	44,0
D. Estandar	0,0	0,1	0,2	0,4	0,0	0,5	3,4	2,1	0,1	1,5	3,8	2,6
Suelo	5,0	0,5	4,2	2,1	0,2	6,9	7	11	1,9	21	146	66
Suelo	5,2	0,4	3,9	3,1	0,3	7,7	5	18	2,5	24	191	32
Suelo	5,0	0,6	3,5	2,2	0,2	6,5	10	14	2,3	20	192	38
Promedio	5,1	0,5	3,8	2,5	0,2	7,0	7,0	14,3	2,2	21,7	176,3	45,3
D.Estandar	0,12	0,14	0,36	0,58	0,05	0,61	2,6	3,5	0,3	2,1	26,3	18,1

## 9.6 Propiedades microbiológicas del suelo

Este proceso se llevó a cabo en tres repeticiones de los tratamientos BCS, BCN, NS y SS.

Previo a la preparación de la dilución madre, se ajustó el contenido de humedad del suelo. Para ello, de las seis repeticiones que conformaban cada tratamiento, se tomó una muestra compuesta de 100 g de suelo que derivó de cada factor de variación (BC, N y S). Las muestras se colocaron en la estufa modelo LE-509RD a 110 °C durante 48 horas. Se calculó el contenido de humedad del suelo (45 % de humedad). Se tomó 90 ml de agua destilada estéril (diluyente inicial) y de este se eliminó un volumen equivalente al porcentaje de humedad (Weaver et al., 1994).

Se preparó la solución madre, dos por cada repetición (una por cada hemipote del recipiente) a partir de una muestra de 10 g de suelo. Cada muestra se pesó en la balanza de precisión ADN modelo EJ-610 y transfirió a un Erlenmeyer de 125 ml, al que se le

añadió 45 ml de agua destilada y agitó por 25 minutos para obtener dilución  $10^{-1}$  se siguió el procedimiento descrito por (Ostía Méndez, 2011).

Nuevamente, las unidades formadoras de colonias (UFC) se estimaron a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/g} = \text{media de colonias contadas} \times (\text{por la dilución de interés})$$
 (Weaver et al., 1994).

## **9.7 Población microbiana en la rizosfera**

Esta evaluación se llevó al término del ensayo en todos los tratamientos. Se tomaron tres repeticiones por tratamiento. Para cada repetición se tomó una muestra representativa de raíz, procedente de cada hemipote y se extrajo de ella el suelo adherido a la raíz (considerado como la rizosfera).

Se preparó las soluciones madres, dos por cada repetición (una por cada hemipote) para ello se pesaron dos muestras de 10 g de raíz en balanza de precisión ADN modelo EJ-610, procedentes de cada hemipote. Cada muestra se pesó en balanza analítica y transfirió a un Erlenmeyer de 125 ml. Se añadió 90 ml de agua destilada y agitó por 30 minutos para obtener una dilución  $10^{-1}$ . Metodología adaptada de Vásquez Chacón, 2016.

En la cámara de flujo laminar con los tubos de ensayo previamente estériles y con 9 ml de agua destilada estéril en cada uno de ellos, se colocó 1 ml de la dilución madre para obtener una dilución  $10^{-2}$ . Se agitó para homogenizar y tomó 1 ml de esta disolución  $10^{-2}$  que se colocó en un nuevo tubo de ensayo para obtener una disolución de  $10^{-3}$ , se repitió el procedimiento sucesivamente con las posteriores disoluciones hasta obtener la dilución  $10^{-6}$ .

Para cada dilución se utilizaron tres placas, para cada una de las diluciones a cultivar, los platos Petri se colocarán de forma invertida en la cámara de crecimiento modelo Hetatherm OGS100 a 27 °C. Se llevó a cabo el conteo de unidades formadoras de colonias para bacterias a las 48 horas y hongos a las 96 horas. Metodología adaptada de Ostía Méndez, 2011.

Se utilizó papa dextrosa-agar (PDA) más cloranfenicol para determinar hongos totales en las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y agar nutritivo para determinar bacterias totales en las diluciones  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ . Con una micropipeta se colocó 0,1 ml de cada una de las

disoluciones sobre los medios de cultivo. Se establecieron tres repeticiones para cada una de las disoluciones a cultivar. Posteriormente, los platos Petri se colocaron de forma invertida en la Incubadora 624 HD a 27 °C. Se llevó a cabo el conteo de unidades formadoras de colonias para bacterias a las 48 horas y hongos a las 96 horas (Ostía Méndez, 2011).

El montaje de cuatro diluciones se hizo para obtener un respaldo del crecimiento microbiano ya que, al no conocerse la condición microbiológica del suelo, existía la posibilidad de no encontrarse UFC en las placas inoculadas. Para el recuento de UFC se siguió la metodología descrita por Weaver et al. (1994).



**Figura 9.** Disoluciones madre preparadas para el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC), de bacterias, actinomicetos y hongos.

## **10. Respuestas de las plantas de café al biocarbón y al nitrógeno mineral**

El crecimiento del cultivo de café será descrito en función de ciertos parámetros biofísicos del sistema aéreo y radical.

### **10.1 Altura de plantas**

La medición de la altura de las plantas de café se llevó a cabo en seis repeticiones por tratamiento. Se realizaron seis evaluaciones a los 8, 36, 70, 98, 133 y 161 después del trasplante (DDT). Para realizar la toma de datos, se marcó un punto de referencia en la base del tallo, con el fin de reducir variaciones en el punto de referencia inicial. Con una cinta métrica se midió la altura de la planta desde el punto de referencia hasta la yema terminal del eje central (Solórzano & Querales, 2014).

## **10.2 Contenido de clorofila**

Se determinó en las seis repeticiones por tratamiento. Se dividió la planta en tres estratos: superior, medio e inferior. La medición de esta variable se llevó a cabo a los 17, 36, 50, 64, 78, 92, 106, 120, 134, y 161 días después del trasplante (DDT). Se escogió e identificó una bandola por estrato, así como el tercer par de hojas de esa bandola. Se tomó la lectura en una de las hojas del tercer par (contado desde el ápice de la bandola). La elección de la bandola inicial varió a lo largo del tiempo, dentro del mismo estrato, por causa de la senescencia de la hoja anteriormente medida o por el propio crecimiento de la planta, lo que obligó a elegir una bandola mejor ubicada dentro del mismo estrato. Siempre se midió el contenido de clorofila en el tercer par de hojas desde del meristemo terminal. Se colocó el sensor del equipo SPAD-502 Konica Minolta en el centro de la hoja, a la par de la nervadura central para la toma de la lectura. Metodología adaptada de Rendón Sáenz y Sandeghian Khalajabadi, 2018.

## **10.3 Área foliar**

La medición del área foliar fue destructiva. Por lo tanto, las mediciones se realizaron al final del experimento a los 161 DDT. Para ello, se tomaron seis repeticiones por tratamiento y se recolectaron todas las hojas funcionales presentes en las plantas de café. Se colocaron las hojas en la banda del medidor de área foliar marca LI-COR, modelo LI 3100C para obtener el área foliar acumulada por tratamiento en  $\text{cm}^2$  (InSak, 2022).

## **10.4 Análisis morfológico del sistema radical**

El análisis del sistema radical fue destructivo. Por lo tanto, las mediciones se realizaron al final del experimento, llevándose a cabo en el Laboratorio de raíces de la Sede del Atlántico Universidad de Costa Rica, con el programa WinRhizo, versión básica 2012 (con un scanner EPSON EXPRESSION 10000XL; modelo: J181A) para determinar el diámetro y volumen de las raíces de cada tratamiento.

Se seleccionaron seis repeticiones por tratamiento. Para cada tratamiento se recolectó el sistema radical presente en cada hemipote. Se desprendió el sistema radicular de los tallos con un cuchillo. Posteriormente, se lavaron las raíces con agua sobre cribas de 2 mm, esto con la finalidad de evitar la pérdida de raíces finas. Limpias las raíces se colocaron en la placa del escáner. Se aplicó una lámina de agua que cubriera las raíces.

Se separaron las raíces entre sí para evitar superposición entre ellas. Se alejaron las raíces 1 cm de distancia del borde de las placas (Kamoshita et al., 2019).

### **10.5 Peso seco de raíz**

Para la determinación del peso seco del sistema radical, se utilizaron las seis repeticiones por tratamiento. Se tomó el sistema radical presente en cada hemipote y se colocó en la estufa a 60 °C por 72 horas para posteriormente determinar su peso seco (Razaq et al., 2017).

## **11. Análisis de datos**

Para el análisis de propiedades físicas como densidad aparente, densidad de partículas y porosidad total, se utilizó la prueba de “t student” con un nivel de significancia del 5 % (0,05) Se compararon los factores BC, N y S que conformaron los tratamientos (BCS, BCN, NS y SS) para así comprobar la eventual existencia de diferencias estadísticas entre los hemipotes que conformaron cada tratamiento.

Para la determinación de la retención de humedad del suelo se realizaron curvas de retención de humedad, tomando como punto de partida el modelo exponencial:  $\Theta = a \psi^b$ . El desarrollo del análisis y los gráficos se hicieron en la hoja de cálculo Excel.

Para la determinación de las propiedades microbiológicas del suelo y la rizosfera se realizó un análisis univariado, considerando la estructura factorial de los tratamientos (BC, BC\*N y N) utilizando el procedimiento GLM (General Linear Model) del programa SAS versión 9.4. El estadístico F no alcanzó a declarar diferencias estadísticas significativas por causa de las fuentes de variación (BC, BC\*N y N) con respecto a la población microbiológica del suelo y rizosfera. Los gráficos para el recuento de UFC de bacterias, actinomicetos y hongos se construyeron con ayuda de Excel.

La altura de las plantas de café se analizó considerando la estructura factorial de los tratamientos (BC, BC\*N y N) mediante un análisis univariado a través del procedimiento GLM. El análisis de varianza univariado efectuado con el estadístico F no alcanzó a declarar diferencias estadísticas significativas durante los 8, 36, 70, 98, 133 y 161 DDT por efecto de las fuentes de variación BC, N, BC\*N con respecto a la altura de las plantas.

Por medio de un MANOVA repetido en el tiempo se probó la hipótesis de ausencia de efecto del tiempo y el efecto del tiempo sobre las fuentes de variación (BC, BC\*N y N), con el estadístico Wilks' Lambda.

Para expresar los resultados se ajustaron modelos de regresión de la altura de planta contra el tiempo. El análisis de varianza multivariado no rechazó las hipótesis de no efecto del tiempo\*BC y no efecto del tiempo\*N. Las hipótesis de no efecto del tiempo por sí solo sobre la altura de las plantas de café y no efecto del tiempo\* BC\*N fueron rechazadas, por lo tanto, hubo un incremento significativo de la altura de las plantas de café durante los días de evaluación, respecto a la interacción BC\*N, representada por el tratamiento BCN. A esto se suma el efecto en conjunto que el BC y el N causaron sobre el crecimiento de las plantas de café.

La determinación del efecto de los tratamientos sobre el contenido de clorofila en los estratos inferior, medio y superior del dosel de las plantas de café, se efectuó por medio de una comparación de medias con ayuda del estadístico LSD Fisher. El análisis de área foliar se realizó mediante una prueba de comparación de medias con el estadístico Tukey.

Estos análisis se llevaron a cabo con el software Info Stat versión 2008. La comparación de medias no alcanzó a declarar diferencias estadísticas en el contenido de clorofila de los estratos evaluados de las plantas de café por efecto de los tratamientos BCS, BCN, NS y SS. Se destacó que en promedio durante los 134 y 161 DDT los tratamientos BCN y NS, presumiblemente por causa del nitrógeno, alcanzaron los valores de lectura SPAD más altos.

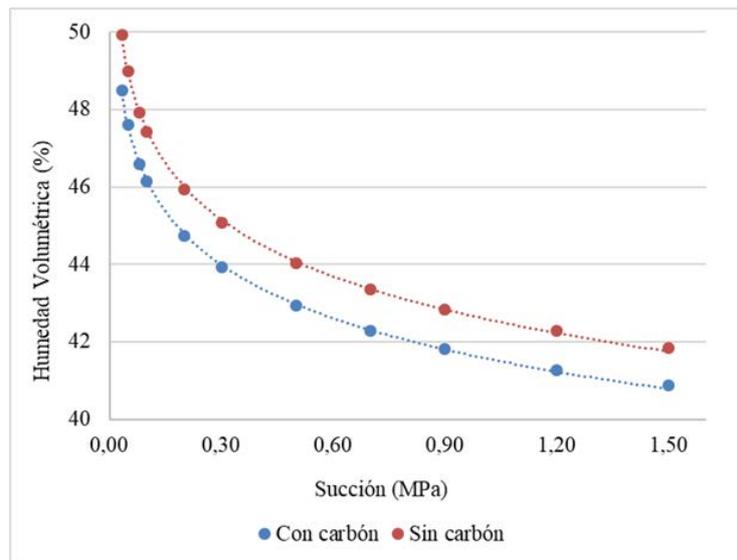
Para el análisis de las variables morfológicas del sistema radical (volumen y diámetro, así como peso seco de raíz, se hizo un análisis de conglomerados (reúne unidades cuya similitud es mayor bajo algún criterio y las diferencias de objetos o variables agrupadas en un grupo distinto) basado en el método de Ward determinado por la distancia Euclídea y representa una generalización del Teorema de Pitágoras que determina la distancia entre un punto y el origen del plano (InfoStat. 2008).

## 12. Resultados

### 12.1 Caracterización del suelo de la finca Salmebre

#### 12.2 Retención de Humedad

La figura 10 muestra las curvas de retención de humedad obtenidas para las áreas con carbón y sin carbón en la finca Salmebre a una profundidad de muestro de 0-20 cm.



**Figura 10.** Valores promedio de las curvas de retención de humedad para el suelo con carbón y sin carbón, a una profundidad de muestro 0-20 cm.

Hubo una leve variación en los valores de retención de humedad, tanto para CC (capacidad de campo) como PMP (Punto de marchitez permanente) en ambas áreas evaluadas. El suelo sin carbón mostró mayor retención de humedad.

#### 12.3 Densidad aparente y densidad de partículas

El cuadro 6 muestra los resultados de la prueba “t student” y los promedios de densidad aparente y densidad de partículas en las áreas con carbón y sin él en la finca Salmebre.

**Cuadro 6.** Valores promedios de densidad aparente y densidad de partículas resultados de prueba “t student” en las áreas con carbón y sin carbón de la finca Salmebre a una profundidad de muestreo de 0-20 cm. Los asteriscos al lado del valor de la prueba “t student” indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia de 0.05.

Variable	Promedio		“t student”
	Con carbón	Sin carbón	
Densidad aparente	1.04 Mg m <sup>-3</sup>	1,02 Mg m <sup>-3</sup>	0.17
Densidad partículas	2,64 Mg m <sup>-3</sup>	2,57 Mg m <sup>-3</sup>	0,01 **

No hubo diferencias estadísticas significativas por efecto del carbón aplicado en términos de la densidad aparente del suelo entra las áreas evaluadas, pero si en términos de la densidad de partículas.

## 12.4 Porosidad total, macroporos, mesoporos y microporos

El cuadro 7 muestra la prueba “t student” y los valores promedios de porosidad total, macroporos, mesoporos y microporos de áreas con y sin carbón de la finca Salmebre. En todos los casos las diferencias observadas entre las áreas muestreadas no fueron significativas al 0,05.

**Cuadro 7.** Análisis de prueba “t student” para los porcentajes promedios de porosidad del suelo en las áreas con aplicación de carbón y sin él en la finca Salmebre a una profundidad de muestreo de 0-20 cm.

Área de estudio	% Porosidad total	% Macroporos	% Mesoporos	% Microporos
Con carbón	60,72	10,15	7,63	42,93
Sin carbón	60,29	9,46	7,70	43,13
"t student"	0,26	0,30	0,48	0,42

No hubo diferencias estadísticas significativas por efecto del carbón aplicado en la porosidad del suelo de la finca Salmebre.

## 12.5 Propiedades químicas

El cuadro 8 muestra el contenido nutricional del suelo, correspondiente a cada una de las áreas evaluadas en la finca Salmebre.

**Cuadro 8.** Análisis químico de suelo de la finca Salmebre a partir de muestras extraídas del área con carbón y sin él. Muestreo llevado a cabo el 28 de abril 2021. CICE= capacidad de intercambio catiónico efectiva, % SA = porcentaje de saturación de acidez.

Análisis químico de suelo												
Solución Extractora:	pH	cmol(+)/L					%	mg/L				
KCl-Olsen Modificado	H <sub>2</sub> O	ACIDEZ	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn
ÁREA	5,5	0,5	4	1	0,2	5		10	3	1	10	5
Con carbón	4,9	0,57	3,06	1,62	0,37	5,62	10	10	0,6	19	197	19
Sin carbón	4,8	1,81	3,09	0,68	0,11	5,69	32	5	1,1	17	187	22

El área con carbón mostró un pH ácido, una acidez superior al valor crítico, un contenido de calcio (Ca) desbalanceado, los contenidos de magnesio (Mg) y potasio (K) por encima del valor crítico, el porcentaje de saturación de acidez (% SA) óptimo, la capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE) del suelo se encuentra por encima del valor crítico y el contenido de fósforo (P) está al nivel valor crítico superando al doble el contenido de P del área sin carbón. El suelo mostró leves problemas de acidez.

El área sin carbón también mostró un pH ácido, un contenido de bases desequilibrado, un alto porcentaje de saturación de acidez, la CICE del suelo se encuentra por encima del valor crítico, el contenido de fosforo está desequilibrado. En general, el suelo evidenció problemas de acidez.

## 12.6 Propiedades microbiológicas del suelo

El cuadro 9 muestra la prueba “t student” y el contenido promedio de la población de hongos, bacterias y actinomicetos del suelo correspondiente a cada una de las dos áreas evaluadas en la finca Salmebre.

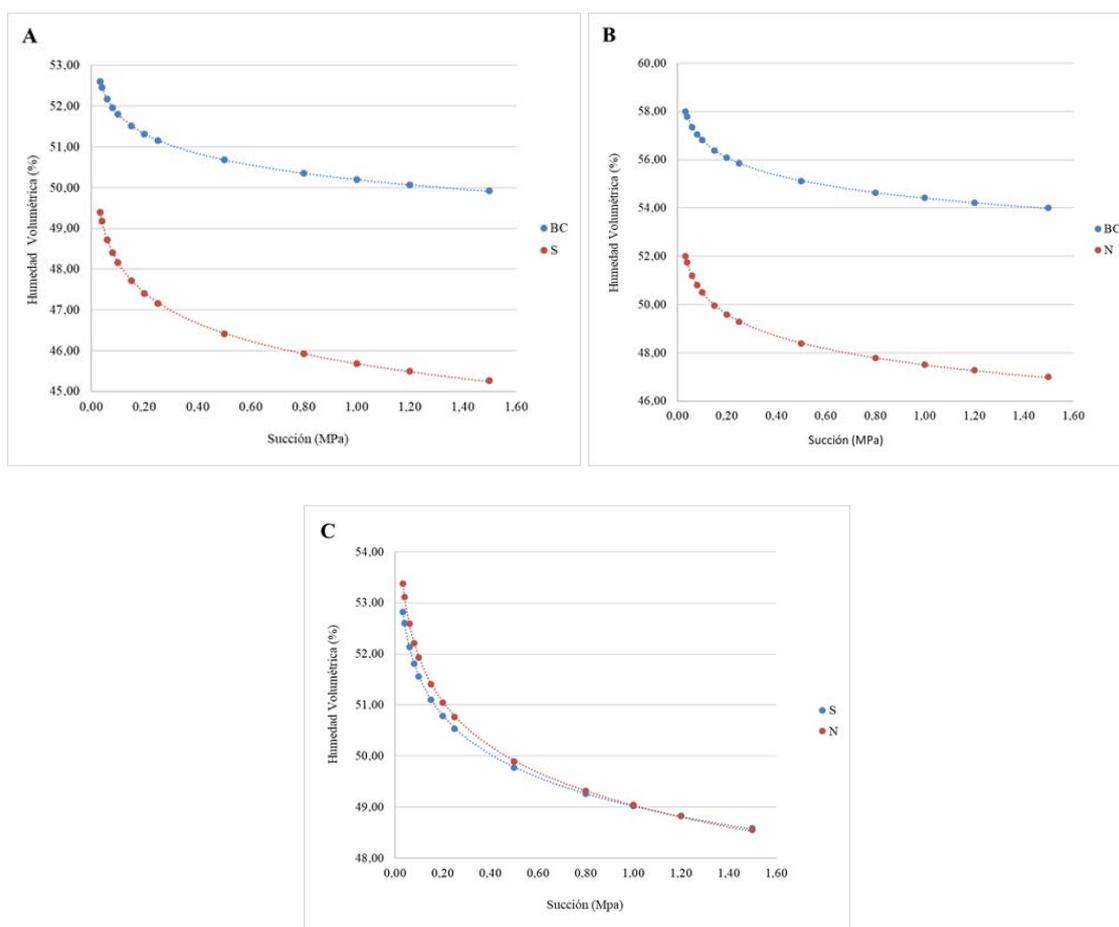
**Cuadro 9.** Prueba “t student” y valores promedios de las unidades formadoras de colonias (UFC) del área con carbón y sin él en la finca Salmebre a una profundidad de muestreo de 0-10 cm.

UFC	Con carbón UFC g <sup>-1</sup>	Sin carbón UFC g <sup>-1</sup>	“ t student”
Hongos	5,3 x 10 <sup>3</sup>	5,3 x 10 <sup>3</sup>	0,50
Bacterias	5,7 x 10 <sup>5</sup>	5,0 x 10 <sup>5</sup>	0,34
Actinos	6,0 x 10 <sup>5</sup>	5,7 x 10 <sup>5</sup>	0,42

## 13. Respuesta del suelo al biocarbón y al nitrógeno mineral

### 13.1 Retención de humedad

La figura 11 muestra las curvas de retención de humedad obtenidas para cada hemipote que conformaron los tratamientos BCS, BCN y NS bajo el efecto de las fuentes de variación BC (biocarbón), N (nitrógeno) y S (solo suelo).



**Figura 11.** Curvas de retención de humedad para cada fuente de variación (BC, N y S) que conforma el respectivo tratamiento a una profundidad de muestreo de 0-20 cm en cada hemipote: **A)** BCS, **B)** BCN y **C)** NS.

Las figuras A y B muestran que los hemipotes bajo el efecto del biocarbón alcanzaron una mayor retención de humedad con respecto al hemipote testigo (solo suelo) y al hemipote fertilizado con nitrato de amonio. Este hallazgo confirmó el efecto del BC sobre la capacidad de retención de humedad del suelo independientemente si se aplica o no nitrógeno. La figura C muestra que el hemipote con N y el hemipote testigo alcanzaron una retención de humedad similar.

### 13.2 Densidad aparente, densidad partículas y porosidad total

El cuadro 10 muestra los promedios de “t student” de las propiedades físicas del suelo contenido en los hemipotes de los tratamientos BCS, BCN y NS.

**Cuadro 10.** Prueba “t student” para densidad aparente, densidad de partículas y porcentaje de porosidad total entre fuentes de variación de un mismo tratamiento, a una profundidad de muestreo de 0-20 cm. Asteriscos al lado del valor de la prueba “t student” indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia del 0.05. BCS = Biocarbón/Suelo; BCN= Biocarbón/Nitrógeno; NS= Nitrógeno/ Suelo; SS= Suelo/Suelo.

Tratamiento	Hemipote	Promedio Densidad aparente Mg m <sup>-3</sup>	t student	Promedio Densidad partículas Mg m <sup>-3</sup>	t student	Promedio Porcentaje Porosidad total	t student
BCS	BC	0,81	0,01**	2,62	0,18	69,14	0,01 **
	S	0,90		2,64		66,04	
BCN	BC	0,85	0,18	2,58	0,01 **	67,13	0,11
	N	0,81		2,61		68,82	
NS	N	0,83	0,48	2,65	0,43	68,60	0,35
	S	0,83		2,62		67,94	

La prueba “t student” determinó que las variables densidad aparente y porosidad total únicamente mostraron diferencias estadísticas significativas entre las parejas de hemipotes que conforman el tratamiento BCS. La variable densidad de partículas alcanzó diferencias estadísticas significativas entre los hemipotes que conformaron el tratamiento BCN.

### 13.3 Macroporos, mesoporos y microporos

El cuadro 11 presenta los promedios porcentuales de macroporos, mesoporos y microporos, así como los valores de la prueba “t student” para cada fuente de variación que conformaron los tratamientos BCS, BCN y NS.

**Cuadro 11.** Prueba “t student” para macroporos, mesoporos y microporos del suelo, entre fuentes de variación de un mismo tratamiento a una profundidad de muestreo de 0-20 cm. Asteriscos al lado del valor de la prueba “t student” indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia de 0.05. BCS = Biocarbón/Suelo; BCN= Biocarbón/Nitrógeno; NS= Nitrógeno/Suelo; SS= Suelo/Suelo.

Tratamiento	Hemipote	% Promedios			"t student"		
		Macroporos	Mesoporos	Microporos	Macroporos	Mesoporos	Microporos
BCS	BC	26,53	2,17	40,44	0,014 **	0,090	0,428
	S	21,58	3,73	40,73			
BCN	BC	17,98	3,89	45,85	0,005 **	0,238	0,006 **
	N	26,75	3,30	38,18			
NS	N	24,31	3,99	40,30	0,453	0,224	0,493
	S	24,10	3,51	40,33			

La prueba “t student” estableció que el contenido de macroporos en el tratamiento BCS fue superior en el hemipote con BC con respecto al testigo en un 4,95 %.

Con respecto al tratamiento BCN, hubo diferencias estadísticas en el contenido de macroporos y microporos, presentes en el suelo. De acuerdo con los valores promedios registrados, el porcentaje de macroporos en el hemipote con nitrógeno superó en 8,76 % el porcentaje de macroporos presentes en el hemipote con BC. Mientras que para el contenido de microporos el BC aplicado aumentó en 7,67 % la proporción de microporos, en relación al efecto del nitrógeno. Con respecto al tratamiento NS, no se registraron diferencias estadísticas significativas entre los espacios porosos evaluados.

### 13.4 Propiedades químicas del suelo

El cuadro 12 muestra los valores promedios obtenidos para las propiedades químicas del suelo con respecto a las fuentes de variación: BC, N y S.

**Cuadro 12.** Valores promedio, análisis químico del suelo para las fuentes de variación BC, N, S.

Solución Extractora:	pH	cmol(+)/L					%	mg/L					Relación
	H2O	ACIDEZ	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn	C:N
<b>Tratamiento</b>	<b>5,5</b>	<b>0,5</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>0,2</b>	<b>5</b>		<b>10</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	
Biocarbón	5,2	0,3	4,1	2,6	0,5	7,5	4,4	17,0	2,3	19,7	148,0	31,3	12,6
Nitrógeno	4,7	1,4	2,6	1,5	0,2	5,7	24,2	10,7	1,6	23,7	184,7	44,0	9,2
Suelo	5,1	0,5	3,8	2,5	0,2	7,0	7,0	14,3	2,2	21,7	176,3	45,3	9,2

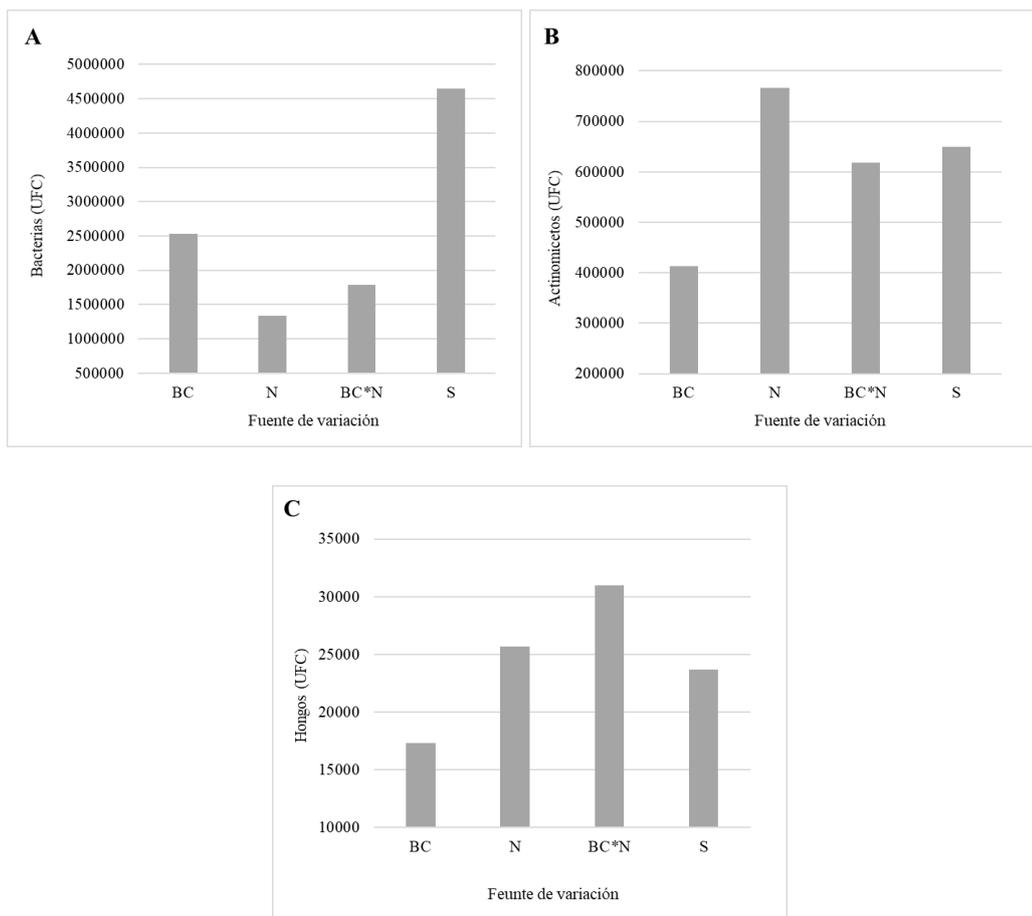
El suelo con biocarbón presentó un pH ácido, la acidez está por bajo del nivel crítico, suma de bases del suelo (Ca, Mg, K) de 7,2 cmo (+)/L estuvo por encima del nivel crítico de 5 cmol(+)/L (Bertsch, 1995), capacidad de intercambio catiónica efectiva superior al nivel crítico y porcentaje de saturación de acidez bajo. En términos generales el suelo no mostró problemas de acidez, el contenido de fósforo superaba el nivel crítico y la relación C:N aumentó por efecto del biocarbón aplicado al suelo.

El suelo fertilizado con nitrógeno presentó un pH ácido, acidez del suelo superior el nivel crítico, suma de las bases 4,3 cmol(+)/L fue inferior al nivel crítico, las bases del suelo se encontraron desequilibradas y porcentaje de saturación de acidez alto (Bertsch, 1995). El suelo evidenció problemas de acidez, pero un contenido de fósforo del suelo equilibrado.

En el suelo testigo el pH fue ácido, la acidez del suelo está en el límite con el nivel crítico, la suma de bases de 6,5 cmol(+)/L ), capacidad de intercambio catiónica efectiva son superior al nivel crítico y el porcentaje de saturación de acidez es baja inferior a un 10 %. El suelo no presentó problemas de acidez, pero en una situación próxima a sufrirlos, el contenido de fósforo del suelo resultó elevado, la relación C:N del suelo testigo y el suelo con aplicación de nitrógeno resultaron inferiores al del tratado con biocarbón.

### 13.5 Propiedades microbiológicas del suelo

La figura 12 muestra el efecto de las fuentes de variación debidas a BC, N, BC\*N y S sobre las unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias, actinomicetos y hongos del suelo.



**Figura 12.** Efecto de las fuentes de variación debidas a BC, N, BC\*N, S en las unidades formadoras de colonias (UFC) de: A) bacterias, B) actinomicetos y C) hongos del suelo, a una profundidad de muestreo de 0-10 cm en cada hemipote. La ausencia de asteriscos indica la falta de diferencias estadísticas significativas. BC= efecto principal del BC; N= efecto principal de N; BC\*N= efecto de la interacción que se deriva de los tratamientos BCN y; S= Efecto del suelo.

El estadístico F (cuadro 13) declaró que no hubo diferencias estadísticas significativas entre las fuentes de variación BC, BC\*N y N sobre la comunidad de bacterias del suelo a un nivel de significancia del 0,05. Tampoco hubo diferencias significativas para la población de actinomicetos y hongos.

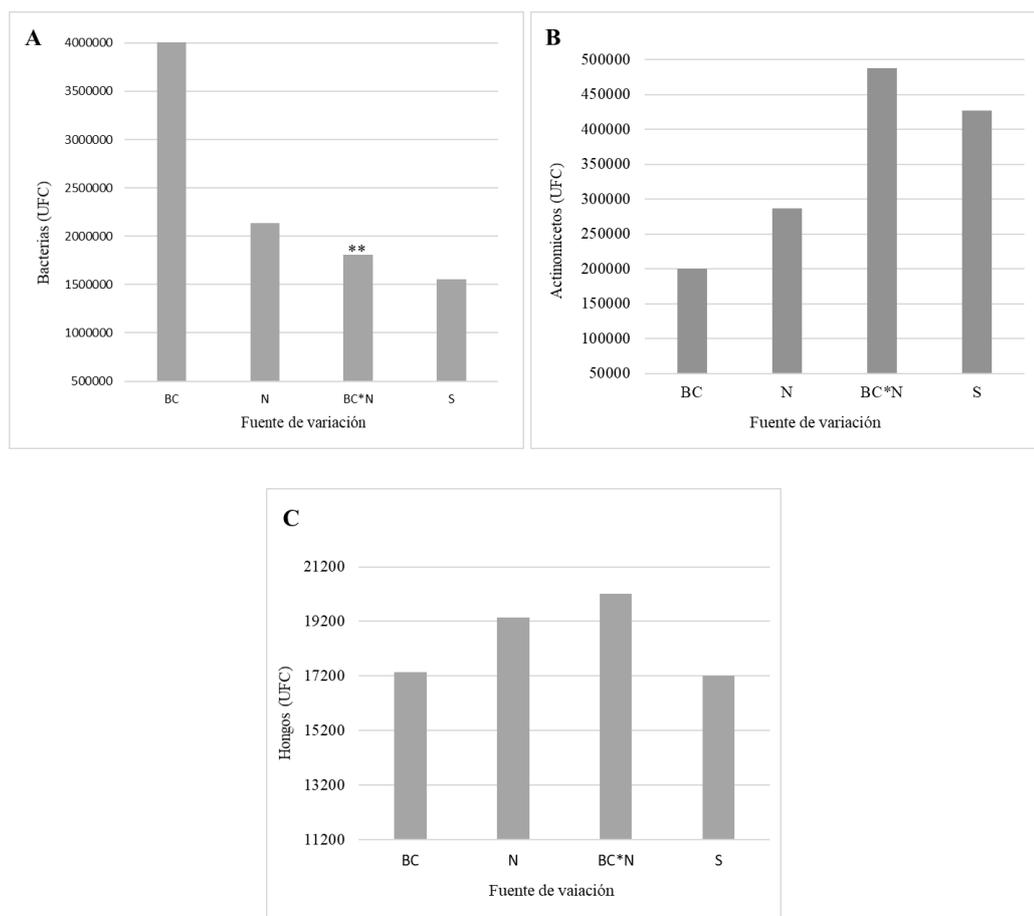
No obstante, la población de actinomicetos aumentó en promedio por efecto el N a  $7,7 \times 10^5$  UFC  $g^{-1}$  de suelo y por causa de la interacción BC\*N con  $6,2 \times 10^5$  UFC  $g^{-1}$ . La población de hongos aumentó por efecto de la interacción BC\*N a  $3,1 \times 10^4$  UFC  $g^{-1}$  de suelo, seguida por el efecto del nitrógeno con  $1,9 \times 10^4$  UFC  $g^{-1}$  de suelo.

**Cuadro 13.** Análisis de varianza univariado efecto de las fuentes de variación BC, BC\*N y N en las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de bacterias, actinomicetos y hongos del suelo.

Microorganismo	Fuente	DF	Type III SS	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
Bacteria	BC	1	290988760	290988760	0.20	0.6600
	N	1	174341230	174341230	1.20	0.2884
	BC*N	1	702369150	702369150	0.48	0.4961
Actinomicetos	BC	1	156491503268	156491503268	1.29	0.2715
	N	1	109934640523	109934640523	0.91	0.3542
	BC*N	1	8366013071.9	8366013071.9	0.07	0.7959
Hongos	BC	1	1058823.5	1058823.5	0.01	0.9252
	N	1	259882352.9	259882352.9	2.23	0.1538
	BC*N	1	144117647.1	144117647.1	1.24	0.2818

### 13.6 Propiedades microbiológicas de la rizosfera

La figura 13 muestra el efecto de las fuentes de variación debidas al BC, N, BC\*N y S sobre las unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias, actinomicetos y hongos en la rizosfera de las plantas de café.



**Figura 13.** Efecto de las fuentes de variación debidas a BC, N, BC\*N, S sobre las unidades formadoras de colonias (UFC) de: A) bacterias, B) actinomicetos y C) hongos de la rizosfera, a

una profundidad de muestreo de 0-10 cm en cada hemipote. Asteriscos sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas a un nivel de significancia de 0.05. La ausencia de asteriscos indica la falta de diferencias estadísticas significativas. BC= efecto principal del BC; N= efecto principal de N; BC\*N= efecto de la interacción que se deriva de los tratamientos BCN y S= efecto del suelo.

El estadístico F (cuadro 14) determinó que las fuentes de variación BC y N no alcanzaron a mostrar diferencias significativas. Sin embargo, el efecto de la fuente de variación debida a BC\*N fue estadísticamente significativa. Se presume que la fuente de variación S sería de igual manera significativa, ya que, mostró una media inferior al de la fuente de variación BC\*N. Cabe destacar que el efecto del BC es el factor que en mayor medida estimuló el crecimiento bacteriano en la rizosfera de las plantas de café, con un valor de  $4,0 \times 10^6$  UFC  $g^{-1}$  de bacterias.

En cuanto a la población de actinomicetos no se evidenciaron diferencias estadísticas significativas debidas a las fuentes de variación evaluadas. No obstante, la interacción BC\*N alcanzó el mayor número de unidades formadoras de colonias de actinomicetos con  $4,9 \times 10^5$  UFC  $g^{-1}$ , mientras que el valor más bajo correspondió a la fuente de variación BC con  $2,0 \times 10^5$  UFC  $g^{-1}$ .

En cuanto a la población de hongos tampoco hubo diferencias estadísticas significativas. No obstante, la mayor población de hongos en la rizosfera ocurrió con la interacción BC\*N ( $2,0 \times 10^4$  UFC  $g^{-1}$  de suelo), seguido por el efecto del factor nitrógeno con un promedio de  $1,9 \times 10^4$  UFC  $g^{-1}$ . El efecto del BC y el efecto del testigo S registraron un promedio de  $1,7 \times 10^4$  UFC  $g^{-1}$ . Considerándose que el BC no tuvo un efecto positivo en la población de hongos.

**Cuadro 14.** Análisis de varianza univariado efecto de las fuentes de variación BC, BC\*N y N en las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de bacterias, actinomicetos y hongos de la rizosfera.

Microorganismos	Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Bacterias	BC	1	49070670	49070670	3.63	0.0737
	N	1	287294930	287294930	2.13	0.1630
	BC*N	1	832425130	832425130	6.16	0.0238 **
Actinomicetos	BC	1	746679738.56	746679738.56	0.01	0.9125
	N	1	23436875817	23436875817	0.39	0.5404
	BC*N	1	194665111111	194665111111	3.24	0.0895
Hongos	BC	1	1070620.92	1070620.92	0.00	0.9487
	N	1	26529444.44	26529444.44	0.11	0.7490
	BC*N	1	631405.23	631405.23	0.00	0.9606

## 14. Respuesta de las plantas de café al biocarbón y al nitrógeno mineral

### 14.1 Altura de planta

El cuadro 15 muestra el análisis univariado obtenido con el estadístico F como respuesta al efecto de las fuentes de variación BC, N y BC\*N sobre la altura de las plantas de café.

**Cuadro 15.** Análisis de varianza univariado referente al efecto de las fuentes de variación BC, N y BC\*N sobre la altura de las plantas de café a los 8, 36, 70, 98, 133 y 161 DDT.

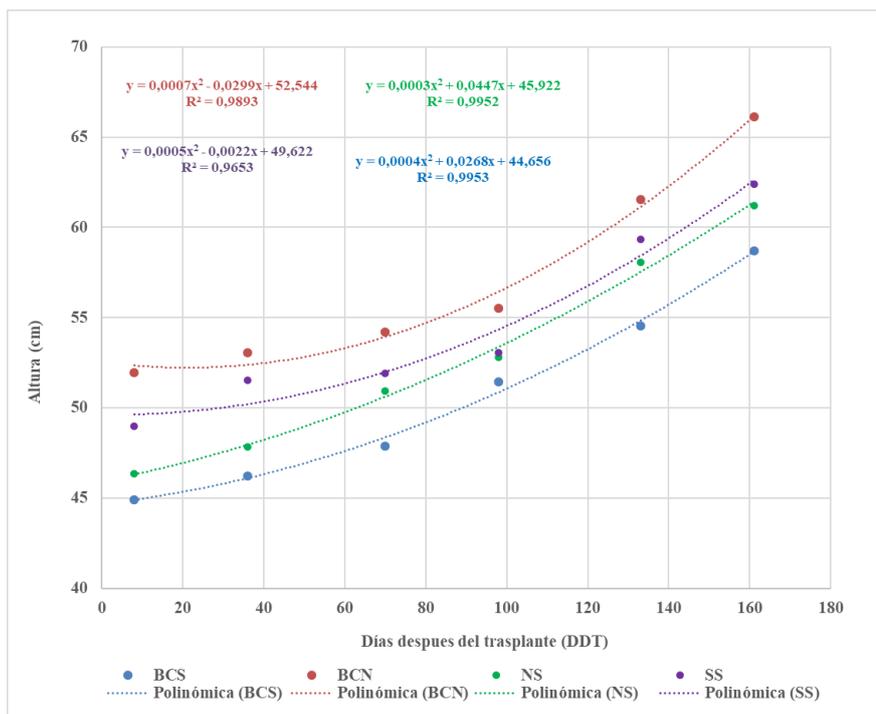
DDT	Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
8	N	1	290,4	290,4	0,36	0,5576
	BC	1	35,27	35,27	0,04	0,8374
	N*BC	1	1,41	1,41	1,73	0,2034
36	N	1	152	152	0,18	0,6747
	BC	1	0,01	0,01	0	0,9912
	N*BC	1	1,66	1,66	1,98	0,1747
70	N	1	4,29	4,29	0,59	0,4497
	BC	1	0,92	0,92	0,01	0,9112
	N*BC	1	7,88	7,88	1,09	0,3085
98	N	1	2,17	2,17	0,34	0,5678
	BC	1	192,67	192,67	0,03	0,8642
	N*BC	1	2,86	2,86	0,45	0,5121
133	N	1	487,35	487,35	0,76	0,395
	BC	1	26,67	26,67	0,04	0,8409
	N*BC	1	1,03	1,03	1,59	0,222
161	N	1	582,82	582,82	0,98	0,3329
	BC	1	22,82	22,82	0,04	0,8463
	N*BC	1	1,12	1,12	1,89	0,1846

Se presenta el análisis multivariado para la prueba de la hipótesis de efecto del tiempo sobre el crecimiento de las plantas de café y efecto del tiempo con respecto a cada factor de variación: N, BC, BC\*N.

**Cuadro 16.** Criterio de prueba del análisis de varianza multivariado y estadístico Wilks' Lambda para la prueba de hipótesis de no efecto del tiempo y no efecto del tiempo en el N, BC y BC\*N. La presencia de asteriscos, acompañando la Pr > F indican la presencia de diferencias estadísticas significativas al 0,05.

Estadístico	Hipótesis	Valor de F	Pr > F
Wilks' Lambda	No existe efecto del tiempo	114,7	< 0001 **
	No existe efecto del tiempo*N	1,97	0,1386
	No existe efecto del tiempo*BC	1,4	0,276
	No existe efecto del tiempo*BC*N	5,87	0,0029 **

La figura 14 muestra el ajuste de modelos de regresión con respecto al tiempo del efecto de los tratamientos BCS, BCN, NS y SS, sobre la altura de las plantas de café.



**Figura 14.** Modelos de regresión lineal con respecto al valor promedio (n= 36) de la altura de plantas de café debidas a los tratamientos BCS, BCN, NS y SS a los 8, 36, 70, 98, 133 y 161 días después del trasplante (DDT). Las líneas y puntos de color azul representan el efecto del tratamiento BCS; líneas y puntos de color rojo representan el efecto del tratamiento BCN; líneas y puntos de color verde representan el efecto del tratamiento NS y; líneas y puntos morados representan el efecto del tratamiento testigo SS.

Los resultados obtenidos en el análisis univariado denotan la ausencia de diferencias estadísticas significativas, para cada una de las fuentes de variación a los 8, 36, 70, 98, 133 y 161 DDT (cuadro 15). El estadístico Wilsk' Lambda declaró significativo el efecto del tiempo por si solo en el incremento de la altura de las plantas de café, registrando una  $Pr > F$  inferior a un nivel de significancia del 0,05, condición similar ocurre al evaluar el efecto del tiempo\*BC\*N obteniéndose diferencias estadísticas significativas inferiores al 0,05.

Resultó evidente que el tiempo provocó un efecto sobre la interacción BC\*N, lo cual ocasionó que con el transcurso de los DDT la altura de las plantas aumentara en mayor medida para el efecto de la interacción BC\*N representada por el tratamiento BCN tal y como se observa en la figura 14.

## 14.2 Contenido de clorofila

El cuadro 17 muestra el efecto de los tratamientos BCN, BCS, NS y SS sobre el contenido de clorofila de las hojas de las plantas de café.

**Cuadro 17.** Comparación de medias de las unidades de lectura SPAD (contenido de clorofila) obtenidas con el estadístico LSD Fisher para todos los tratamientos en el tercer par de hojas del estrato superior, medio e inferior de plantas de café, evaluadas a los 17, 36, 50, 64, 78, 92, 106, 120, 134 y 161 días después del trasplante (DDT). Medias seguidas por letras iguales de una fecha y estrato no son significativamente diferentes. BCS=Biocarbón/Suelo; BCN=Biocarbón/Nitrógeno; NS= Nitrógeno/ Suelo; SS= Suelo/Suelo.

		Díasdespues del trasplante (DDT)									
Estrato	Tratamiento	17	36	50	64	78	92	106	120	134	161
Superior	BCN	77,27 a	84,40 b	81,53 a	72,78 a	69,17 a	70,47 a	73,15 b	75,47 c	75,20 b	76,97 b
	BCS	74,85 a	81,60 ab	74,17 a	69,90 a	68,96 a	62,85 ab	62,15 a	65,37 a	65,90 a	65,20 a
	NS	78,45 a	88,25 b	79,27 a	70,87 a	65,27 a	68,85 ab	71,20 b	73,33 bc	73,45 b	76,24 b
	SS	71,60 a	71,45 a	81,30 a	73,88 a	74,50 a	71,72 b	72,05 b	67,12 ab	72,18 ab	73,63 b
<b>p_valor</b>		<b>0,3445</b>	<b>0,0661</b>	<b>0,3523</b>	<b>0,6616</b>	<b>0,2652</b>	<b>0,1486</b>	<b>0,0439 **</b>	<b>0,0097 **</b>	<b>0,0671</b>	<b>0,0031 **</b>
Medio	BCN	74,98 a	82,27 ab	76,20 a	71,43 a	74,05 a	74,85 a	74,40 a	74,68 a	77,60 b	79,55 c
	BCS	74,23 a	82,14 ab	73,47 a	73,12 a	73,18 a	70,03 a	69,97 a	70,80 a	68,83 a	69,82 a
	NS	73,48 a	91,60 b	77,42 a	74,62 a	74,58 a	74,07 a	74,45 a	76,75 a	77,17 b	77,82 bc
	SS	70,67 a	73,00 a	76,15 a	72,70 a	72,32 a	71,12 a	71,55 a	71,43 a	70,50 ab	71,43 ab
<b>p_valor</b>		<b>0,7603</b>	<b>0,0729</b>	<b>0,5038</b>	<b>0,7773</b>	<b>0,8492</b>	<b>0,5501</b>	<b>0,5671</b>	<b>0,4590</b>	<b>0,0426 **</b>	<b>0,0254 **</b>
Inferior	BCN	76,33 a	82,98 ab	74,20 a	73,12 a	73,25 ab	71,70 a	73,63 ab	74,13 ab	75,23 bc	76,65 b
	BCS	76,02 a	79,70 a	74,63 a	71,17 a	68,85 a	70,13 a	70,47 a	66,78 a	67,87 a	68,83 a
	NS	79,63 a	92,35 b	79,92 a	75,43 a	78,48 b	79,40 b	78,42 b	77,30 b	77,38 c	78,14 b
	SS	77,90 a	73,65 a	74,47 a	73,93 a	74,93 ab	73,75 ab	72,17 ab	70,50 ab	68,85 ab	69,60 a
<b>p_valor</b>		<b>0,8043</b>	<b>0,0222 **</b>	<b>0,2301</b>	<b>0,7086</b>	<b>0,0967</b>	<b>0,0606</b>	<b>0,0937</b>	<b>0,0823</b>	<b>0,0231 **</b>	<b>0,0251 **</b>

La comparación de medias efectuada con el estadístico LSD Fisher en el estrato superior muestra que los 106 y 161 DDT el contenido de clorofila del tratamiento BCS fue menor a la media de los tratamientos BCN, NS y SS, lo cuales no mostraron diferencias estadísticas entre sí. A los 120 DDT el tratamiento BCN con una media de 75,47 se declaró estadísticamente significativo contra los tratamientos BCS y SS, no así contra el tratamiento NS.

Con respecto al estrato medio a los 134 DDT el estadístico LSD Fisher declaró diferencias estadísticas significativas a un nivel de significancia del 0,05, observándose que los tratamientos BCN y NS con medias de 77,60 y 77,17 no son diferentes entre sí, pero si son estadísticamente diferentes al tratamiento BCS, no así al tratamiento SS. Por su parte las medias de los tratamientos BCS y SS no resultan ser estadísticamente diferentes entre sí.

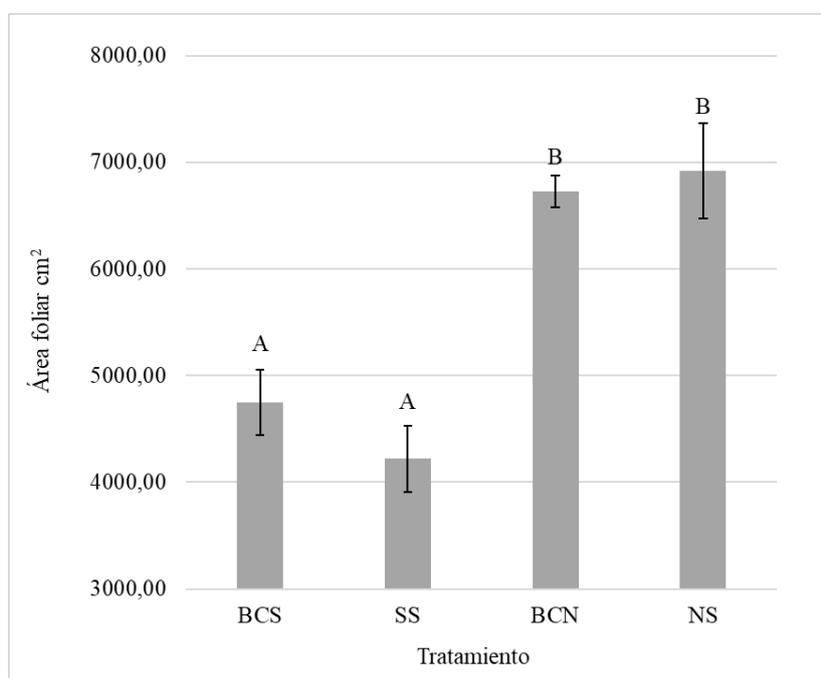
A los 161 DDT el efecto del tratamiento BCN, alcanzó diferencias estadísticas en cuanto al contenido de clorofila versus los tratamientos BCS y SS, no así contra el efecto del tratamiento NS. Por su parte la media del tratamiento NS únicamente registró diferencias estadísticas significativas contra el efecto del tratamiento BCS. Nuevamente, los tratamientos BCS y SS no registraron diferencias entre sus medias.

En el estrato inferior a los 134 DDT nuevamente el contenido de clorofila del tratamiento NS y BCN no es estadísticamente diferente entre sí. El tratamiento NS en promedio alcanzó unidades SPAD que superaron el efecto de los tratamientos BCS y SS.

El contenido de clorofila del tratamiento BCN resultó ser estadísticamente diferente al del tratamiento BCS. Sin embargo, no alcanzó a diferenciarse del tratamiento SS. A los 161 DDT las medias de los tratamientos BCN y NS no registraron diferencias entre sí. Sin embargo, si resultaron ser estadísticamente diferentes del contenido de clorofila de los tratamientos BCS y SS.

### 14.3 Área foliar

La figura 15 muestra los resultados obtenidos mediante la prueba de comparación de medias Tukey en los tratamientos BCS, BCN, NS y SS y su efecto en el área foliar de las plantas de café.



**Figura 15.** Efecto de los tratamientos BCS, BCN, NS y SS en el área foliar de las plantas de café a los 161 días de haber terminado el ensayo. Letras comunes sobre las barras denotan medias que no difieren estadísticamente entre sí, a un nivel de significancia del 0,05, las barras de error representan el error estándar. BCS = Biocarbón/Suelo, BCN= Biocarbón/Nitrógeno, NS= Nitrógeno/ Suelo, SS= Suelo/Suelo.

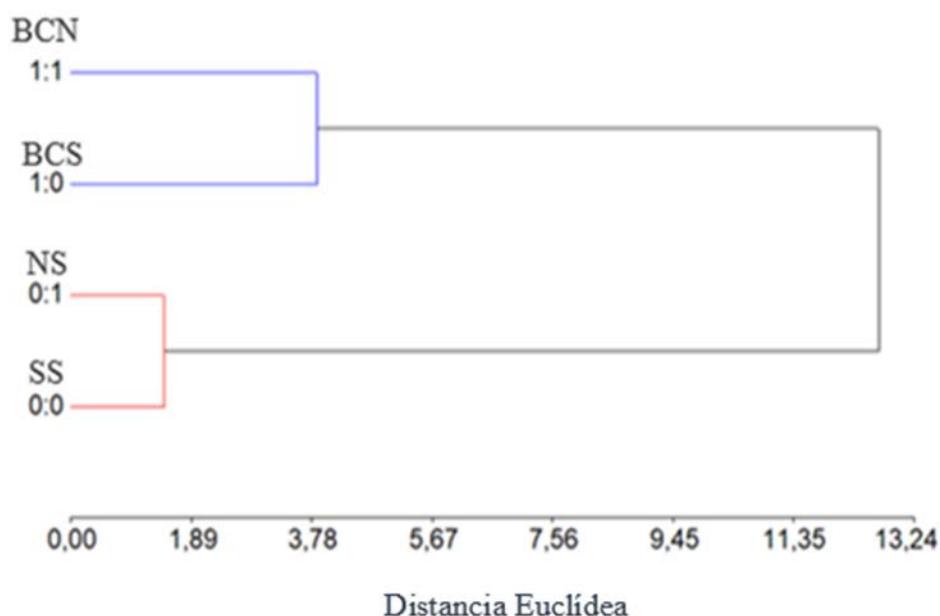
De acuerdo con el análisis de varianza hubo diferencias estadísticas significativas ( $p$ -valor  $< 0,0001$ ) entre los tratamientos evaluados.

Los resultados de la prueba Tukey evidenció que los tratamientos BCN y NS alcanzaron los promedios más altos de área foliar:  $6726 \text{ cm}^2$  y  $6917 \text{ cm}^2$  respectivamente, sin resultar ser estadísticamente diferentes entre sí, pero si con respecto a los tratamientos BCS y SS lo cuales alcanzaron las medias más bajas  $4745$  y  $4219 \text{ cm}^2$ , sin ser

estadísticamente diferentes entre sí. Porcentualmente, las diferencias observadas fueron iguales a 100, 97, 68 y 61 % para los tratamientos NS, BCN, BCS y SS, respectivamente.

## 14.4 Análisis morfológico del sistema radical

La figura 16 muestra el agrupamiento de las variables diámetro de raíz, volumen de raíz, peso seco de raíz obtenida por medio del método de Ward.



**Figura 16.** Análisis de conglomerado del diámetro, volumen y peso seco de raíz, basado en el método de Ward (distancia Euclídea) para evaluar el efecto de los tratamientos BCS, BCN, NS y SS en la morfología radical de las plantas de café. La codificación 1:1= BCN (aporte de BC en un hemipote y N en el hemipote contiguo), 0:1= BCS (aporte de BC en un hemipote y un hemipote testigo conteniendo suelo), 0:1= NS (aporte de nitrógeno en un hemipote y un hemipote testigo conteniendo suelo) y 0:0= SS (ambos hemipotes compuestos por suelo). Las líneas de color negro representan el grupo de datos en su conjunto, que conforme se desplaza al 0,00 particiona los valores en umbrales: líneas azules y rojas mostraron el efecto causado por los tratamientos representado por la distancia Euclídea en las variables de interés.

El análisis de conglomerados se identificó dos grupos de tratamientos: un primer grupo, compuesto por los tratamientos BCN y BCS y un segundo grupo, compuesto por los tratamientos NS y SS. Lo anterior implicó que los tratamientos de cada grupo son menos diferentes entre sí que con respecto a los tratamientos componentes del otro grupo.

## 15. Discusión

### 15.1 Caracterización del suelo finca Salmebre

La retención de humedad en el área donde se aplicó carbón fue menor con respecto a la humedad detectada en el área donde no se aplicó carbón de la finca Salmebre.

Resultados similares son reportados por Jeffery et al. (2015) al evaluar el efecto del biocarbón en la retención de humedad del suelo encontraron que la aplicación de biocarbón no causó efectos significativos en la retención de agua del suelo después de tres años de haberse aplicado.

Gray et al. (2014) establecieron que temperaturas bajas de producción del biocarbón determinan un incremento en su contenido de compuestos hidrofóbicos. Posiblemente la carbonera artesanal utilizada por el productor no proporcionó al material condiciones que mejoren la retención de humedad. También podría estar influyendo el tamaño de partícula del material que según el productor estaba compuesto predominantemente de partículas grandes (V. Salmerón, comunicación personal, 25 de mayo 2022) de reducida superficie específica. No obstante, diversos autores han asociado la aplicación de biocarbón al suelo con el incremento de su capacidad de retención de agua y su disponibilidad para las plantas (Baïamonte et al., 2019., Jeffery et al., 2015, Ruiz Pérez, 2019, Rivera 2021).

Las densidades aparentes 1,04 y 1,02 Mg m<sup>-3</sup> para el área con y sin carbón no alcanzaron a diferenciarse (cuadro 6). Alvarado y Forsythe (2005) para suelos insectisoles reportaron valores de densidad aparente de 0,67 a 1,79 Mg m<sup>-3</sup>, tomando en cuenta la acidez, textura arcillosa del suelo y consultando la aplicación Suelos CR, se determinó que el orden del suelo estudiado es un insectisol.

La densidad de partículas fue mayor en el suelo con carbón que en el área sin aplicación de carbón (Cuadro 6). En ambos casos la densidad de partículas pudo catalogarse como promedio conforme a Henríquez y Cabalceta (2012) y Duarte-Centeno et al., (2011). En cuanto a la porosidad del suelo, los tratamientos no tuvieron efecto alguno sobre los diferentes tipos de porosidad (Cuadro 7). La porosidad total alcanzó a ser alta conforme a (Flores & Alcalá 2010).

Con respecto a las propiedades químicas del suelo, en el área con carbón el pH estuvo debajo del valor crítico 5,5, por lo que el aluminio (Al) era soluble, la acidez intercambiable fue superior a 0,5 cmol (+)/L, sin ser extremadamente fuerte. El contenido de bases presentó un valor de 5,05 cmol(+)/L, provocando que el porcentaje de saturación de acidez coincidiera con el valor óptimo de 10 % (Bertsch, 1995). El resto de los elementos de suelo estuvieron en condiciones adecuadas a excepción del calcio y Zinc (Zn), posiblemente por haber sufrido procesos de lixiviación o solubilización.

En el área sin carbón el pH del suelo estuvo por debajo del nivel crítico y el  $\text{Al}^{3+}$  soluble, la acidez inter cambiabile fue muy superior a  $0,5 \text{ cmol (+)/L}$ , la suma de las bases fue de  $3,88 \text{ cmol(+)/L}$ , lo que provocó una saturación por acidez del 32 %. El calcio, magnesio y potasio mostraron desequilibrio, probablemente por la solubilización de aluminio que ha desplazado a las bases de sus sitios de adsorción. El fósforo también mostró desequilibrio, quizás por formar complejos P-Al (fósforo-aluminio) o P-Fe (fósforo-hierro) (Bertsch, 1995).

## **16. Respuestas del suelo al biocarbón y al nitrógeno mineral**

### **16.1 Retención de humedad**

A pesar de que el suelo es de textura arcillosa y naturalmente retienen mucha agua Jaramillo (2002) el BC aplicado incrementó la retención de humedad. La retención obtenida en los hemipotes con BC de los tratamientos BCS y BCN respectivamente, posiblemente fue consecuencia de la abundante porosidad del biocarbón al estar compuesto por macroporos, mesoporos y microporos, además, el BC es un material con una alta superficie específica que oscila entre  $200$  y  $400 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  lo que probablemente contribuye a la retención de humedad entre las partículas de BC (Escalante Rebolledo et al., 2016).

En este contexto, la proporción de macroporos, mesoporos y microporos presentes en el suelo por efecto del biocarbón, podría estar influyendo en la retención de humedad del suelo pues el BC tiene la capacidad de homogenizar el tamaño de los poros del suelo (Quin et al., 2014), así como disminuir su tamaño (Devereux et al., 2012).

Pühringer (2016) mencionó que tanto el contenido de materia orgánica del suelo como el aporte de carbono orgánico que el biocarbón puede proporcionar al suelo, contribuyen a aumentar capacidad de retención de agua en el suelo.

En la presente investigación el contenido promedio de materia orgánica del suelo bajo el efecto del BC fue  $5,88 \%$ , superior al porcentaje promedio de MO del suelo dosificado con nitrógeno y suelo testigo  $3,94$  y  $3,61 \%$  respectivamente. Por lo tanto, es probable que el mayor porcentaje de materia orgánica en los hemipotes con BC, contribuyó a incrementar la retención de agua en el suelo. Gaskin (2007) encontró diferencias significativas en retención de humedad del BC con respecto al testigo en un suelo franco arenoso tratado con  $88 \text{ t ha}^{-1}$  de esa enmienda. Blanco-Canqui (2017)

mencionó que a mayores dosis de aplicación de BC hubo mayor retención de humedad del suelo, como ocurrió en la presente investigación.

## **16.2 Densidad aparente**

En el tratamiento BCS el hemipote bajo el efecto del biocarbón presentó menor densidad aparente en comparación con el hemipote testigo. Ruiz Pérez (2019) menciona que la baja densidad y alta porosidad del biocarbón en comparación con la de los suelos minerales contribuye a reducir la densidad aparente del suelo.

Por el contrario, en el tratamiento BCN el hemipote con BC mostró una mayor densidad aparente que la del hemipote con N. Considerando que el BC aplicado aumentó el contenido de MO era de esperarse un efecto similar en la reducción de la densidad aparente entre los hemipotes con BC de los tratamientos BCS y BCN.

Sin embargo, de acuerdo con el cuadro 10 el menor porcentaje de porosidad total del suelo en el hemipote con BC del tratamiento BCN podría ser una de las causas por la que ese hemipote alcanzó una mayor densidad aparente, en comparación al hemipote con BC del tratamiento BCS.

Un aspecto a destacar es que en términos generales la densidad aparente en los tratamientos evaluados es relativamente baja, pues, los valores obtenidos se encuentran por debajo del promedio ( $1,3 \text{ Mg m}^{-3}$ ) según lo señalado por Jaramillo (2002).

Lu (2021) evaluó el impacto del biocarbón durante dos años en la reducción de la densidad aparente del suelo. Él señaló que el efecto del biocarbón fue mínimo y tuvo mayor incidencia la variabilidad espacial del suelo. Es posible que los resultados obtenidos estén mostrando un efecto similar a lo descrito por este autor, pues, el suelo no se tomó de un mismo punto y no se homogenizó, es probable que este factor esté influyendo en los resultados obtenidos. Otro aspecto a tomar en cuenta es que posiblemente el grado de compactación del suelo en los potes a lo largo de los 161 de valuación conllevó a la baja densidad aparente observada.

En cuanto al tratamiento NS, la prueba t no detectó diferencias significativas entre los hemipotes que lo conformaron, lo cual era previsible, pues en este caso el tratamiento no tiene efecto alguno sobre la física del suelo.

### **16.3 Densidad real o de partículas**

En el tratamiento BCS no hubo diferencias significativas entre los hemipotes que le componen. Sin embargo, los promedios obtenidos reflejaron que el aporte de biocarbón provocó una leve reducción de la densidad real del suelo. Lo mismo ocurrió en el tratamiento BCN, pero en este caso, la diferencia entre los hemipotes fue estadísticamente significativa (cuadro 10).

Es probable que este resultado sea consecuencia del biocarbón aplicado, por el incremento que provocó en el contenido de la materia orgánica a través del aporte de carbono orgánico al suelo (García Montero et al., 2021). Lo anterior también podría haber contribuido a reducir la densidad de partículas del suelo, debido a que la materia orgánica tiene un menor peso que los sólidos minerales del suelo (Romero et al., 2015).

Rivera (2021) mencionó que en suelos clasificados como Tecnosol y Ferrasol, la aplicación de biocarbón a una dosis de 12 t ha<sup>-1</sup> mejoró las propiedades físicas del suelo, entre ellas la densidad real al disminuir su valor en un 9,74 %.

La prueba “t student” no demostró efectos significativos entre las medias de los hemipotes que conformaron el tratamiento NS. En general, el fertilizante químico no ayuda a mejorar las propiedades físicas del suelo (Cardona et al., 2015). De acuerdo con Cairo (1995), como citó Castillo (2005) los valores de densidad de partículas obtenidos en la presente investigación clasificarían como valores medios al estar entre 2.60 y 2,80 Mg m<sup>-3</sup>.

### **16.4 Porosidad del suelo.**

El aumento de la porosidad total del suelo en el hemipote con BC del tratamiento BCS, probablemente ocurrió porque el biocarbón impacta la porosidad del suelo directamente al reducir la densidad aparente por el incremento de la MO y a través de su porosidad inherente (Omondi et al., 2016).

La disminución de la densidad aparente por efecto del BC, es inversamente proporcional al aumento de la porosidad del suelo tal como lo señalan Duarte et al. (2019). Lo que es un reflejo de lo ocurrido en el tratamiento BCS, pues la aplicación de BC conllevó a un aumento de la porosidad del suelo. Por lo tanto, las diferencias estadísticas observadas en el porcentaje de macroporos del suelo, de igual manera, resultaron de la

disminución de la densidad aparente por el efecto de dilución causado por el BC al tener una menor densidad (Jien & Wang, 2013).

Herath et al. (2013) mencionan que biocarbones con tamaños de partículas superiores a 0,5 mm crean poros adicionales que incrementaron la macroporosidad del suelo. Es probable que en el hemipote con BC ocurriera una condición similar pues el biocarbón utilizado contenía partículas de 2 mm por la molienda a la que fue sometido. Sun y Lu (2014) hallaron que la agregación del suelo conforme el BC reaccionó con las partículas del suelo, condujo a la formación de macroagregados con poros más grandes, aumentando el contenido de macroporos.

En el tratamiento BCN el hemipote bajo el efecto del BC presentó en promedio menor porosidad total, en comparación con el hemipote testigo. Probablemente esta condición fue resultado de la mayor densidad aparente obtenida en el hemipote con BC. El efecto de BC tampoco acrecentó el contenido de macroporos del suelo.

Es posible que partículas de BC degradado hayan ocupado poros del suelo más grandes que sí mismas, lo que redujo la infiltración del agua y aumentó la densidad aparente (Petersen et al. 2016; Verheijen et al., 2010; Escalante Rebolledo et al., 2016). Al ser los macroporos la causa del movimiento del agua y aire en el suelo (Fernández Camayo, 2015), tiene sentido postular que el BC podría reducir su capacidad de conductividad hidráulica. El agua se movería con mayor lentitud a través de los poros y, por ende, aumentaría el contenido de humedad en el suelo especialmente en el tratamiento BCN. Consecuentemente, la curva de retención de humedad alcanzó mayores porcentajes de humedad volumétrica en el hemipote con BC del tratamiento BCN (Figura 11).

Además, el hemipote con BC, homogenizó en mayor medida el tamaño de los poros del suelo (cuadro 11) pues alcanzó una mayor proporción de microporos que el hemipote con N y a los hemipotes del tratamiento BCS. Por lo que, esta condición podría ser otra causa de la mayor retención de humedad observada en la curva del tratamiento BCN bajo el efecto del BC.

Se presume que las diferencias en promedios entre los hemipotes con BC en el contenido de microporos podrían ser consecuencia de la variabilidad natural espacial del suelo (Lu, 2021). Cabe aclarar que en ambos tratamientos se observó una alta microporosidad lo cual es consecuencia de la textura arcillosa del suelo.

Un aspecto a tomar en cuenta es que la porosidad del suelo en términos generales resulta ser alta, según lo señalado por (Flores y Alcalá 2010) lo cual está determinado por la baja de densidad aparente en el suelo.

## **16.5 Propiedades químicas**

Los resultados promedios del cuadro 12 muestran que el BC a pesar de poseer un pH de 7,5 no aumentó el pH del suelo por encima del nivel crítico. Shetty y Prakash (2020) evaluaron BC producido a partir de eucalipto (WB), bambú (BB) y cáscara de arroz (RHB). Hallaron que el aumento del pH dependió de la materia prima, dosis, temperatura de pirólisis y tiempo de incubación. El WB en todas sus dosis (5, 10 y 20 t ha<sup>-1</sup>) aumentó el pH a los 15 días y 120 días de incubación. El biocarbón BB a 10 y 20 t ha<sup>-1</sup> incrementó el pH del suelo únicamente a los 120 días y el material RBH no ocasionó efectos sobre el pH del suelo.

El biocarbón aumentó la capacidad de intercambio catiónico del suelo (CIC) del suelo, Escalante Rebolledo et al. (2016) y Li et al. (2021) argumentaron que el aumento de la CIC y aumento de la saturación de bases del suelo es resultado de la mayor área de superficie, carga negativa en las partículas del BC y mayor densidad de carga.

En la presente investigación, la modulación favorable de la acidez por efecto del BC fue consecuencia del aumento de la suma de las bases del suelo (7,5 cmol (+)/L) pues contenidos mayores a 5 cmol(+)/L representan porcentajes de saturación de acidez bajos (Bertsch 1995) y la alta capacidad de intercambio catiónica del BC.

El suelo con BC evidenció un contenido de fósforo disponible en la solución del suelo mayor que el del suelo con nitrógeno y el testigo. Joseph et al. (2021) observaron que la aplicación de BC aumentó la disponibilidad de fósforo dentro de uno a seis meses especialmente en suelos ácidos. Sorrenti (2015) señaló que biocarbones producidos a temperaturas menores a 500 °C promovieron la acumulación de nutrientes como el K y P.

La disponibilidad de los elementos menores depende del valor de pH. IICA (2016) mencionó que a pH inferiores de 5,5 la disponibilidad de micronutrientes como el Mn puede causar toxicidad en las plantas. Hailegnaw et al. (2020) evaluaron el impacto del BC en el contenido de manganeso (Mn) en el suelo. Hallaron que el aumento de la CIC

favoreció el intercambio del Mn con el Ca<sup>+2</sup>, K<sup>+</sup> y la unión de Mn a grupos funcionales del BC.

El nitrógeno aplicado disminuyó el pH ácido del suelo e incrementó el efecto de la acidez por encima del valor crítico (cuadro 12). El incremento en la acidez del suelo propicia la solubilización de los coloides y la liberación de Al<sup>+3</sup> que, en presencia de agua, libera protones H<sup>+</sup>, acentúa la acidez del suelo y solubiliza nuevamente Al<sup>+3</sup> como una reacción en cadena (Bertsh 1995). Coincidentemente con lo anterior, Mehmood et al. (2017) destacaron que la acidez del suelo se acentúa tras la aplicación de fertilizantes como el nitrato de amonio y el proceso de nitrificación libera dos iones H<sup>+</sup> por cada molécula de amonio transformada en nitrato.

La disminución en el contenido de bases intercambiables del suelo por causa del nitrógeno en los hemipotes que recibieron nitrógeno, así como en el suelo testigo (cuadro 12) es consecuencia del bajo pH pues en suelos con pH por debajo de 5,5 la acidez puede causar la pérdida de cationes, ya que, bajo estas condiciones los coloides del suelo adquieren carga positiva que les impide retener los nutrientes de igual carga (IICA, 2016).

Los tiempos de riego llevados a cabo dos veces por semana posiblemente contribuyeron en cierto grado al lavado de las bases, por lo que, los espacios desocupados por los coloides fuesen ocupados por iones ácidos.

La relación C:N en el suelo con BC, N y el testigo resultó baja pues los promedios obtenidos fueron menores que la relación C:N considerada como adecuada (24:1) en el suelo (cuadro 12) . Condición que probablemente afectó la actividad microbiana del suelo, pues para que un microorganismo se mantenga vivo requiere 16 carbonos para energía y 8 para mantenimiento (Piñeiro et al., 2022).

## **16.6 Propiedades microbiológicas del suelo y rizosfera**

La biomasa microbiana del suelo y rizosfera no alcanzó diferencias estadísticas significativas entre las fuentes de variación evaluadas. A excepción de la fuente de variación BC\*N que alcanzó diferencias estadísticas respecto a la población de bacteriana en la rizosfera, determinadas por el bajo promedio obtenido de UFC (figura 13). A pesar de la ausencia de diferencias estadísticas, cabe destacar que:

Las bacterias en la rizosfera por efecto del BC alcanzaron el promedio más alto en UFC  $4,0 \times 10^6$  UFC g<sup>-1</sup>, lo cual puede ser consecuencia de la exudación radical pues

según lo señalado por Pinton (2007) los exudados radiculares de una determinada especie vegetal pueden tener un efecto directo en microorganismo de importancia como las rizobacterias.

La liberación de exudados ricos en carbono por la raíz al funcionar como fuente de alimento y energía, así como la mejora en la biodisponibilidad y aporte directo de C, K y P por el biocarbón, probablemente contribuyó a aumentar la comunidad bacteriana, tal como lo sugiere Dai et al. (2016), pues se comprobó que el BC aumentó la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Cuadro 12). Zhang et al. (2016) al implementar biocarbón de paja de arroz a una tasa de 3 ton ha<sup>-1</sup> en platas de tabaco, descubrieron que el biocarbón aplicado permitió aumentar la población de bacterias en la rizosfera.

Los actinomicetos del suelo y la rizosfera posiblemente se beneficiaron, por el aporte de nitrógeno al suelo y el efecto en conjunto del BC y N, pues las fuentes de variación N y BC\*N (figuras 12 y 13) tendieron a incrementar la población de actinomicetos en promedio. Gao et al. (2021) hallaron que los actinomicetos crecen con facilidad en materiales ricos en carbono como el biocarbón. Ren et al. (2020) mencionó que los actinomicetos proliferan en ambientes con nitrógeno durante periodos cortos cercanos a un año de haberse aplicado el nitrógeno.

La biomasa de hongos en la rizosfera posiblemente se afectó pues según Osorio Vega (2009) en la rizosfera naturalmente existe una mayor la población de bacterias que de hongos. Además, temperaturas de pirólisis bajas como la implementada en la presente investigación para la fabricación del biocarbón provocan cambios en la composición de la comunidad microbiana aumentando las proporciones de hongos a bacterias (Joseph et al.,2021).

Ahora bien, la ausencia de diferencias estadísticas encontradas probablemente fue consecuencia de la elevada acidez y el pH ácido del suelo. Lehmann et al. (2011) señaló que el aumento de la comunidad bacteriana se favorece con valores de pH cercanos a 7. Osorio Vega (2009) mencionó que el principal factor que limita el crecimiento microbial de la rizosfera y del suelo a granel es la acidez. Mientras que un pH ácido es un factor determinante en la población microbiana del suelo, tanto así que suprime el crecimiento de los microorganismos Eo y Parck (2016).

Otro factor por considerar es la relación C:N del suelo menor a 24:1 (cuadro 12). Bajo estas condiciones, los microorganismos no tienen el carbono necesario (8 carbonos para mantenimiento y 16 para energía) para su supervivencia (Piñeiro et al., 2022).

Al haberse inoculado el BC con té de vermicompost se esperaba que la población microbiana se incrementara en mayor medida en los hemipotes BC y BC\*N, sin embargo, las condiciones de fabricación podrían haber afectado el contenido microbiano.

Lehmann et al. (2011) señaló que no se conoce con claridad si el tamaño de los macroporos y microporos del biocarbón permiten mejorar la adhesión de los microorganismos al BC y servir como refugio porque las curvaturas de los macroporos pueden ser demasiado grandes para permitir la adhesión o porque el tamaño de los microorganismos podría ser mayor que el de los microporos.

## **17. Respuestas de las plantas de café al biocarbón y al nitrógeno mineral**

### **17.1 Altura de planta**

El tratamiento BCN incrementó el crecimiento de las plantas de café en términos de altura como resultado del efecto conjunto del biocarbón y el nitrógeno. Por el contrario, el efecto principal de los factores BC y N de los tratamientos BCS y NS no influyó significativamente sobre la altura de las plantas de café (figura 14).

Diversos factores pueden explicar el efecto del tratamiento BCN en el incremento de la altura de las plantas de café. El biocarbón conduce a cambios en el ciclo del fósforo estable, al transformarlo en formas más disponibles para las plantas, además del aporte directo de P y K que el BC puede proporcionar (Sorrenty 2015). El análisis químico de suelo detectó que el biocarbón promovió el contenido de P y K (cuadro 12).

Además, el aumento en la disponibilidad de fósforo posiblemente fue inducida por la acción de los actinomicetos en el suelo, pues considerando la alta población observada en el suelo y la rizosfera (figura 12 y 13) por efecto del tratamiento BCN y según lo señalado por Widawati et al. (2008) estos microorganismos tienen la capacidad de solubilizar fosfatos y aumentar el crecimiento de las plantas y a la vez demostraron que al aislar diferentes cepas de actinomicetos, en un medio de cultivo rico en glucosa más del 50 % de los aislados contribuyeron a la solubilización de fosfato libre y a la

actividad de la encima fosfomonoesterasa encargada de disolver el fosfato orgánico en fosfato disponible para las plantas.

El biocarbón fue activado con té de vermicompost. A pesar de que el análisis microbiológico no mostró diferencias significativas debidas a las fuentes de variación, las fuentes de variación BC y BC\*N favorecieron en promedio la biomasa de bacteriana y actinomicetos en la rizosfera, probablemente su acción contribuyó a aumentar la biodisponibilidad de nutrientes en la solución del suelo mejorando el crecimiento de la planta tal como lo describe Shah et al (2021).

Estos autores mencionan que la fijación de N atmosférico a través de bacterias y actinomicetos que establecen asociaciones con algunas plantas no leguminosas mejoran su crecimiento. Y el N al formar parte de la clorofila, aminoácidos, proteínas, enzimas y hormonas es posible que el aumento en la altura inducida por el tratamiento BCN, sea resultado de una división y elongación celular promovida por el nitrógeno (Monsalve 2009).

Resultados similares por efecto del BC en la altura de las plantas fueron hallados Cargua Chávez et al. (2020) comprobaron que el biocarbón de algarrobo (*Prosopis pallida*) inoculado con un biofertilizante comercial aumentó la altura de las plántulas de café a un nivel estadísticamente diferente al causado por los tratamientos biocarbón sin inocular, biofertilizante, tratamiento químico y testigo.

## **17.2 Contenido de clorofila**

La fuente de variación N en los tratamientos BCN y NS fue el factor más determinante en el contenido de clorofila de las plantas de café en especial a los 134 y 161 DDT, pues, a pesar de que no se evidenciaron con claridad diferencias absolutas contra los tratamientos BCS y SS, los tratamientos con nitrógeno alzarán en promedio el mayor contenido de clorofila en los estratos inferior, medio y superior (Cuadro 17), resultados que concuerdan con Redón Sáenz y Sadeghian Khalajabadi (2018) al señalar que el nitrógeno es el elemento que más se refleja en la composición mineral de las hojas de café.

El contenido de clorofila probablemente se afectó por diversos factores. El BC pudo haber causado retención del nitrógeno debido a que favorece las formas orgánicas de nitrógeno en el suelo, la alta CIC del BC retiene el  $\text{NH}_4^+$ , además, los cationes

presentes en los grupos funcionales del BC pueden actuar como interconexiones creando una segunda capa eléctrica entre la superficie negativa del BC y el  $\text{NO}_3^-$  reteniéndolo.

Los cambios de bandolas durante los 161 días de evaluación debido al constante crecimiento de las plantas pueden afectar la medición del contenido de clorofila, pues, bandolas elegidas dentro del estrato superior pasaban a formar parte del estrato medio y bandolas dentro del estrato medio pasaron a formar parte del estrato inferior.

Considerando que las mediciones se realizaron en hojas relativamente más jóvenes en especial para el estrato superior y por los constantes cambios de hojas que en ocasiones fue a intervalos de 15 días o un mes, aunque las mediciones siempre se realizaron en una hoja del tercer par de hojas con respecto al ápice de la bandola, se presume que esta condición afectó los resultados obtenidos.

El biocarbón demora alrededor de uno a seis meses para liberar el nitrógeno contenido en su estructura (Joseph et al., 2021), por lo que, es posible que durante el transcurso del ensayo el BC no contribuyera a aumentar el contenido de nitrógeno del suelo. Hou et al., (2020) destacó que al evaluar el efecto del biocarbón y el nitrógeno en plántulas de Pecán (*Carya illinoensis*) que el contenido de clorofila aumentó solo después de cuatro meses de tratamiento, mostrándose diferencias estadísticas significativas después de un año de evaluación.

El contenido de clorofila está sujeta al contenido de nitrógeno presente en el suelo y su concentración en el follaje, por lo que, el contenido de clorofila se incrementa al ser el nitrógeno un componente estructural de este pigmento y participar en su síntesis (Díaz Marín, 2014).

Conviene considerar que la dosis aplicada de nitrógeno fue relativamente baja ( $45 \text{ kg ha}^{-1}$ ), pues las plantaciones de café en su primer año de establecimiento necesitan no menos de  $150 \text{ kg ha}^{-1}$  de N (ICAFE 2020). Tomando en consideración que el experimento demoró 161 días, es decir el 44 % de un año, ese periodo correspondería a una dosis de  $63 \text{ kg ha}^{-1}$ .

El efecto de dilución que el nitrógeno sufre en las plantas por el aumento de la biomasa aérea (De Caram et al., 2007), probablemente influyó en el contenido de clorofila. Las plantas de café mostraron un constante crecimiento a lo largo de los 161 días de evaluación y su área foliar aumentó bajo el efecto de los tratamientos BCN y NS.

### **17.3 Área foliar**

Al evaluar el área foliar de los tratamientos NS y BCN se obtuvo una proporción de 100 y 97 % de área foliar respectivamente, lo cual hace evidente el efecto del N en el aumento del área foliar de las plantas, superando el efecto del tratamiento BCS y SS que alcanzaron un 68 y 61 % de área foliar.

En promedio la diferencia porcentual de área foliar entre el tratamiento NS y los tratamientos BCS y SS es de un 36 %, por su parte la diferencia porcentual entre el tratamiento BCN y los tratamientos BCS y SS es de un 32 %. (figura 15). Este resultado coincide con Bote et al. (2018) en plántulas de café. Ellos documentaron que bajo la aplicación de 350 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrógeno el área foliar de las plántulas se incrementó.

El aumento del área foliar en las plantas por acción del nitrógeno es atribuido a la mayor división de las células meristemáticas que promueve el nitrógeno (Ghani et al. 2022). Lieffering et al. (1993) señalaron que la expansión del área foliar respondió a que el nitrógeno indujo un aumento de la epidermis, mayor tamaño y número de células y un cambio en el tamaño de las hojas.

### **17.4 Morfología del sistema radical**

La Figura 16 muestra ausencia de diferencias estadísticas entre los tratamientos BCS y BCN, NS y SS. Se presume que el desarrollo del sistema radical posiblemente se afectó en especial para los tratamientos NS y SS por la lixiviación de nutrientes y el pH ácido propio de suelo que se acrecentó tras la fertilización con nitrógeno, afectando probablemente la disponibilidad de nutrientes.

En Costa Rica el café se desarrolla bajo un pH óptimo de 5,5 a 6,5 (Vignola et al., 2018). El suelo testigo y el fertilizado con N mostraron los valores de pH de 5,1 y 4,7 respectivamente aún más ácidos que en el suelo con biocarbón (Cuadro 12). La acidez probablemente afectó la CIC, aumentó el Al<sup>3+</sup> y restringió el desarrollo del sistema radical, como lo sugirió Sadeghian (2016).

Por lo tanto, el desarrollo del sistema radical fue favorecido por los tratamientos con biocarbón (BCN y BCS). El BC aumentó la disponibilidad de nutrientes a pesar del pH ácido del suelo e incrementó el contenido de las bases intercambiables (cuadro 12). Xiang et al. (2017) menciona que el biocarbón mejora significativamente el crecimiento de las raíces en termino de biomasa, superficie y aumento del volumen radicular.

Resulta probable que el incremento de la comunidad bacteriana haya tenido presencia de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB), fijadoras de N y solubilizadoras de P, todo lo cual contribuiría al crecimiento de las plantas en general (Bonilla Buitrago et al.2021).

Zhou et al., 2017 hallaron que el biocarbón aumentó el tamaño de las células epidérmicas de la raíz, la cantidad de pelos radiculares y el grosor de la raíz en arroz, lo cual se tradujo en un aumento del volumen, diámetro y peso de la raíz. El aporte de P y K producto del efecto del BC (cuadro 12) posiblemente incrementó la materia seca del sistema radical. Kayama et al. (2022), quien evaluó el efecto del biocarbón de madera de Acacia sobre el peso seco en plántulas de teca (*Tectona grandis L. f.*) obtuvo que el uso de 2.5 t ha<sup>-1</sup> de BC aumentó significativamente el contenido de materia seca con respecto al testigo.

Con base en el análisis de conglomerados es posible que el BC aplicado a los tratamientos BCS y BCN, haya provocado en las plantas de café efectos similares a los reportados por estos autores. La mayor distancia Euclídea obtenida en estos tratamientos es probable que sea consecuencia de la retención de humedad del suelo inducida por el BC pues de acuerdo con Mwadalu et al. (2021) el aumento de la retención humedad por causa del BC es un factor que beneficia la penetración de las raíces.

Además, el BC incrementó el contenido MO y según lo señalado por Salamanca y Sadeghian (2005) los beneficios de la MO se deben a la agregación del suelo que incrementa el espacio poroso, retiene la humedad y disminuye la resistencia a la penetración, lo cual contribuyó a mejorar el crecimiento de las raíces. La densidad aparente obtenida en todos los tratamientos es relativamente baja pues está por debajo del valor promedio 1,3 Mg cm<sup>3</sup>. para suelos minerales lo cual probablemente favoreció el desarrollo de la raíz.

## **18. Visión de conjunto**

A pesar de que el suelo es de textura arcillosa y por ende retiene alta humedad, los hemipotes con biocarbón mostraron mayor retención de humedad como consecuencia de la estructura porosa del biocarbón, la alta superficie específica y el aumento en el contenido de materia orgánica del suelo.

Los resultados del cuadro 10 muestran que la baja densidad del BC en el tratamiento BCS contribuyó a disminuir la densidad aparente y aumentó la porosidad del suelo. Por su parte el efecto de ocupación que las partículas de BC pudieron ocasionar en el hemipote con BC del tratamiento BCN explicaría el aumento de la densidad aparente y disminución de la porosidad total observada. Considerando estas inconsistencias se presume que los resultados obtenidos fueron consecuencia de: a) la variabilidad espacial del suelo utilizado y, b) la posible baja compactación de los agregados del suelo en los potes durante los 161 de evaluación que provocó una baja densidad aparente y alta porosidad del suelo.

Además, se presume que las propiedades físicas del suelo presentan una respuesta más lenta ante el efecto de los tratamientos en comparación con los efectos observados en las variables químicas y biológicas. Por lo tanto, se prevé que si la duración del ensayo se hubiera extendido significativamente, sería probable observar resultados concretos por efecto del BC sobre las propiedades físicas del suelo.

En las propiedades químicas del suelo (cuadro 12) el biocarbón mejoró condiciones como la acidez al disminuirla, incrementó la disponibilidad y el contenido de bases intercambiables y el aumento de micronutrientes como el P, sin embargo, el pH del suelo no mejoró tras la aplicación de la enmienda.

Por su parte el efecto del N aplicado al suelo acentuó los problemas de fertilidad propios del suelo pues el pH disminuyó, se acrecentó la acidez del suelo y disminuyó el contenido de bases.

El pH ácido, la alta acidez y la baja relación C:N del suelo fueron los principales factores que pudieron afectar la microbiología del suelo y la rizosfera. Las UFC de bacterias, actinomicetos y hongos en el suelo no alcanzaron diferencias significativas debidas al efecto del BC. Todo ello, a pesar de la inoculación del BC con té de vermicompost. Probablemente, sería necesario echar mano a técnicas moleculares para comprender la posible interacción BC x microorganismos del suelo.

Las propiedades químicas del suelo por causa del BC y el N (cuadro 12) influyeron sobre el crecimiento de las plantas de café. La altura de las plantas aumentó debido al efecto del tiempo por sí solo y el efecto significativo del tiempo sobre el tratamiento BCN (cuadro 16) favorecido por la acción conjunta del BC y el N. El BC

aumentó la disponibilidad de nutrientes para las plantas (cuadro 12) y mejoró la retención de humedad del suelo (figura 11).

El nitrógeno fomentó la altura gracias a la elongación y división celular. Además, la población promedio de bacterias y actinomicetos obtenidas en la fuente de variación BC\*N (figura 13) que representa al tratamiento BCN posiblemente beneficiaron la fijación de nitrógeno atmosférico y solubilización de fósforo consecuencias que también contribuyeron al crecimiento de las plantas.

Los tratamientos evaluados SS, BCS, BCN NS no provocaron diferencias estadísticas claras en términos del contenido de clorofila en las plantas de café (cuadro 17). Sin embargo, el N en los tratamientos BCN y NS aumentó el contenido de clorofila promedio en el estrato inferior, medio y superior a los 134 y 161 DDT, especialmente.

Se presume que el incremento del área foliar que de igual manera aumentó por causa del nitrógeno en los tratamientos BCN y NS, incremento que pudo haber causado una disminución del contenido de clorofila por efecto de dilución del N. Al efecto anterior se sumaría la retención que el BC puede causar en el nitrógeno del suelo y el error experimental asociado a los cambios de bandolas y hojas por el constante crecimiento de la planta.

Condiciones como la baja densidad aparente del suelo y la alta porosidad del suelo, posiblemente influyeron en el desarrollo del sistema radical de las plantas de café en todos los tratamientos. Sin embargo, los beneficios proporcionados por el BC en la retención de humedad del suelo, la disminución de la acidez, la solubilización de P y el aporte directo de K y MO probablemente favorecieron el crecimiento de la raíz. Debido a que la acidez y el pH ácido propio del suelo utilizado se acrecentó tras la aplicación de nitrógeno estos factores habrían restringido el crecimiento del sistema radical en los tratamientos SS y NS.

## 19. Conclusiones

1. La mayor retención de humedad en los hemipotes con BC en los tratamientos BCS y BCN fue consecuencia de la abundante porosidad del biocarbón y alta superficie específica.
2. El aporte de materia orgánica por parte del BC aumenta la retención de humedad del suelo.
3. En el hemipote con BC del tratamiento BCS la disminución de la densidad aparente conllevó a un aumento de la porosidad del suelo, contrario a lo ocurrido en el tratamiento BCN.
4. El biocarbón aumentó la suma de bases de suelo, mejoró su equilibrio e incrementó el contenido de fósforo del suelo, sin embargo, no mejoró el pH del suelo.
5. El efecto del BC en los tratamientos BCS y BCN no ocasionó diferencias significativas en la población microbiana del suelo. La baja relación C:N y acidez del suelo pudieron influir negativamente en los resultados obtenidos.
6. La variabilidad espacial del suelo provocó que el efecto del BC en el tratamiento BCN presentara una mayor densidad aparente que el efecto del BC en el tratamiento BCS.
7. La baja densidad aparente y la alta porosidad del suelo en términos generales posiblemente fueron consecuencia de la baja compactación del suelo en los potes.
8. El efecto del BC en el tratamiento BCS aumentó en promedio la población de bacterias en la rizosfera.
9. El bajo pH y la acidez propia de suelo que se incrementó tras la aplicación de nitrógeno en el tratamiento NS afectó la población de actinomicetos, bacterias y hongos en la rizosfera.
10. El efecto del nitrógeno en los tratamientos BCN y NS es el factor más determinante en el incremento del contenido de clorofila y el área foliar de las plantas de café.
11. El efecto del biocarbón en los tratamientos BCS y BCN incrementó el diámetro, volumen y peso seco de las raíces de café presumiblemente por su aporte directo y solubilización de P y K.
12. El efecto del tiempo por sí solo, el efecto del tiempo\*BC\*N y el efecto del biocarbón en el incremento de la población de actinomicetos del suelo, rizosfera,

aumento de las bacterias en la rizosfera y su acción para solubilizar nutrientes incrementó la altura de las plantas de café.

13. El pH ácido y la alta acidez del suelo restringió el desarrollo del sistema radical de las plantas de café en los tratamientos NS y SS.
14. El aumento de la altura en las plantas de café inducida por el tratamiento BCN posiblemente fue resultado de la división y elongación celular promovida por el nitrógeno.
15. En los tratamientos BCN y BCS el BC aumentó el contenido de bases del suelo mejoró la retención de humedad, disminuyó la densidad aparente y aumentó el contenido de materia orgánica lo que contribuyó a mejorar el volumen, diámetro y materia seca del sistema radical.

## 20. Recomendaciones

1. En futuras investigaciones se recomienda homogenizar el suelo experimental para reducir la inconsistencia entre variables físicas del suelo y atenuar el efecto espacial que se podría obtener al muestrear.
2. Evaluar las comunidades microbianas mediante técnicas de diagnóstico molecular que permitan considerar un número mayor de especies que no pueden ser cultivadas en medios artificiales.
3. En caso de querer mejorar la retención de humedad de un determinado suelo se deben utilizar temperaturas de producción de biocarbón altas (mayores a 550 °C) que disminuyan los compuestos hidrofóbicos del biocarbón.
4. Utilizar biocarbones con tamaños de partículas mayores a 2 mm para evitar la obstrucción de los poros del suelo.
5. Tomar en cuenta la materia prima utilizada, pues biocarbones derivados de estiércol son más eficientes en el aporte de nutrientes que enmiendas derivadas de residuos de cultivos y madera.
6. Tomar en consideración la temperatura de producción del biocarbón a temperaturas altas se incrementa el pH, el contenido de carbono orgánico, porosidad, retención de agua, se aumenta la CIC y el área de superficie específica del BC.
7. En un futuro ensayo se recomienda establecer un tratamiento en donde estén en contacto físico el BC y el N para así poder tener una comprensión más precisa

de su impacto conjunto sobre la microbiología del suelo y el desarrollo de la planta. Y a la vez evaluar si el efecto del BC disminuye la lixiviación de nitrógeno.

## 21. Revisión de Literatura

- Alvarado, A; Forsythe, W. 2005. Variación de la densidad aparente en órdenes de suelos de costa rica. *Agronomía Costarricense* 29(1): 85-94.
- Aramayo, V (2007). Ciclo del nitrógeno y actividad microbiana en zonas deficientes de oxígeno [Archivo PDF]. <https://tinyurl.com/3z8urb2z>
- Arif, M., Ali, A., Umair, M., Munsif, F., Ali, F., Inamullah., Saleem, M., & GOHAR, A. (2012). Efecto del biocarbón, FYM y nitrógeno mineral solos y en combinación sobre el rendimiento y los componentes del rendimiento del maíz. *Sarhad J. Agric.* 28(2):191-195. <https://tinyurl.com/nhizr26mt>
- Asociación Nacional del Café (Anacafé). (2019). Guía de variedades de café Guatemala [Archivo PDF]. <https://tinyurl.com/cttvzze4>
- Baiamonte, G., Crescimanno, G., Parrino, F., & De Pasquale, C. (2019). Effect of biochar on the physical and structural properties of a sandy soil. *CATENA*, 175, 294-303. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.12.019>
- Benimeli, M. F., Plasencia, A., Corbella, R. D., Guevara, D. A., Sanzano, A., Sosa, F.A., & Fernández de Ullivari, J. (2019). El Nitrógeno del suelo. <https://www.edafologia.org/descargas/>
- Bertsch, F. 1995. *La fertilidad de los suelos y su manejo*. 1ª ed. San José, Costa Rica. 59 p.
- Blanco-Canqui, H. (2017). Biochar and Soil Physical Properties. *Soil Science Society of America Journal*, 81(4), 687-711. <https://doi.org/10.2136/sssaj2017.01.0017>
- Bonilla Buitrago, R; González de Bashan, L. E. y Pedraza, O. P. (2021). Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en sistemas de agricultura sostenible. En S Pardo Díaz; DC Mazo Molina y DF Rojas Tapias (eds.), *Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: filogenia, microbioma, y perspectivas* (págs. 48-75). DOI: <https://doi.org/10.21930/agrosavia.analisis.7405019>
- Bote, A. D., Ayalew, B., Ocho, F. L., Anten, N. P. R., & Vos, J. (2018). Analysis of coffee (*Coffea arabica* L.) performance in relation to radiation levels and rates of nitrogen supply I. Vegetative growth, production and distribution of biomass and radiation use efficiency. *European Journal of Agronomy*, 92, 115-122. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.10.007>
- Cardona, W.A., Bolaños Benavides, M.M., Chavarriaga Montoya, W. (2015). Efecto de fertilizantes químicos y orgánicos sobre la agregación de un suelo cultivado con *Musa acuminata* AA. *Acta Agronómica* 65(2):144-148. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n2.44493>
- Cargua Chávez, J. E., Luna Tamayo, A. K., González Sanango, H., Cedeño García, G. A., & Cedeño Sacón, Á. F. (2022). Crecimiento y calidad de plántulas de café arábico en función de biochar y biofertilizantes en vivero. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 38(1), 3-14. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS38-1CCJA50001>
- Casanave Ponti, S. M., Videla, C. C., Monterubbianesi, M. G., Andrade, F. H., & Rizzalli, R. H. (2020). Crop intensification with sustainable practices did not increase N2O emissions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 292, Artículo 106828. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106828>
- Castillo Cerna, C.M. (2005). *Selección y calibración de indicadores locales y técnico para evaluar la degradación de los suelos laderas, en la microcuenca Cuscamá El Tuma - La Dalia Matagalpa*. [Tesis, Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/id/eprint/1094>

- Cerezo Martínez, J. (2017). Introducción al desarrollo vegetal [Archivo PDF]. Disponible en <https://tinyurl.com/yc8n6phj>
- Concilco, E.A., Moreno Reséndez, A., García Carrillo, M., Quiroga Garza, H. M., & García, O.A. (2018). Influencia del biocarbón aplicado al suelo sobre atributos de rendimiento y calidad de avena forrajera. *Revista Terra Latinoamericana*, 36(3), 221-228. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i3.375>
- Cristóbal-Acevedo, D., Azucena, V., & Madrigal, A. (2020). Carbono y nitrógeno en el suelo de sistemas agroforestales y sistemas naturales (págs. 43-59). <https://tinyurl.com/28rnfy28>
- Dai, Z; Hu, J; Xu, X; Zhang, L; Brookes, P; He, Y; Xu, J. (2016). Sensitive responders among bacterial and fungal microbiome to pyrogenic organic matter (biochar) addition differed greatly between rhizosphere and bulk soils. *Scientific Reports* |6:36101|: 1-11. 10.1038/srep36101
- Daza Torres, M. C., Ladino Tabarquino, G. S., & Urrutia Cobo, N. (2018). Beneficios agronómicos y ambientales de fuentes de fertilizantes nitrogenados en *Ocimum basilicum* L. *DYNA*, 85(206), 294-303. <https://doi.org/10.15446/dyna.v85n206.69103>
- De Caram, G. A., Angeloni, P., & Prause, J. (2007). Determinación de la Curva de Dilución de Nitrógeno en Diferentes Fases Fenológicas del Girasol. *Agricultura Técnica*, 67(2). <https://doi.org/10.4067/S0365-28072007000200009>
- Devereux, R. C., Sturrock, C. J., & Mooney, S. J. (2012). The effects of biochar on soil physical properties and winter wheat growth. *Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 103(1), 13-18. <https://doi.org/10.1017/S1755691012000011>
- Díaz Marín, C. (2014). *Evaluación del dispositivo portátil SPAD-502 como indicador de la concentración de nitrógeno en plantas de café Coffea arabica* [Tesis de Maestría, Universidad Tecnológica de Pereira]. <https://hdl.handle.net/11059/4676>
- Díaz-Gutiérrez, C. (2019). Rentabilidad financiera en la renovación de siembras de café en Los Santos, Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha Vol. 32, N.º 1*. <https://doi.org/10.18845/tm.v32i1.4127>
- Duarte, S., Glaser, B., & Pellegrino Cerri, C. (2019). Effect of Biochar Particle Size on Physical, Hydrological and Chemical Properties of Loamy and Sandy Tropical Soils. *Agronomy*, 9(4), 165. <https://doi.org/10.3390/agronomy9040165>
- Duarte-Centeno, N., Figueroa-Martínez, M., Hernández, L., & Aguilar-Bustamante, V., (2011). Impacto de la preparación del suelo sobre las características físicas del suelo, calidad y rendimiento de las raíces de yuca (*Manihot esculenta crantz*), variedad algodón, Nueva Guinea - Raas. *LA CALERA*, 11(17), 26 - 32. <https://repositorio.una.edu.ni/id/eprint/2363>
- Eo, J., & Park, K.-C. (2016). Long-term effects of imbalanced fertilization on the composition and diversity of soil bacterial community. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 231, 176-182. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.06.039>
- Escalante Rebolledo, A., Pérez López, G., Hidalgo Moreno, C., López Collado, J., Campos Alves, J., & Valtierra Pacheco, E. (2016). Biocarbón (biochar) I: Naturaleza, historia, fabricación y uso en el suelo. *Terra Latinoamericana* 34: 367-382. <https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v34n3/2395-8030-tl-34-03-00367.pdf>
- Escalante Rebolledo, M. A. (2013). *Biocarbones (Biochars), caracterización y efecto en la Biomasa y la nutrición de N P K, en una gramínea*. [Tesis Doctorado, Colegio de Posgrados]. <https://tinyurl.com/4pzbrw6x>

- Fernández Camayo, C, D (2015). *Caracterización física del suelo de la granja experimental de la Universidad del Valle*. [Tesis, Universidad del Valle]. <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/handle/10893/15889>
- Fisher Scientific. (2021). Thermo Scientific™ Hornos de mufla de mesa de 1100 °C Thermolyne™, 0.04 pies cúbicos, 240 V 50/60 Hz, 4.4 A, 1060 W. <https://tinyurl.com/ybrmb8nc>
- Flores, L; Alcalá, J. 2010. Manual de procedimientos analíticos. Laboratorio de física de [Archivo PDF]. suelos. <https://tinyurl.com/3sd2r7yx>
- Frois de Andrade, M.A., Ramos-Cairo, P. A., Santos, J. L. (2015). Water relations and photosynthesis of young coffee plants under two water regimes and different n and k doses. *Agrociencia* 49: 153-161. <https://tinyurl.com/nhZR26mt>
- Gamboa, J., Ross, Y., & Capelli, L. (2016). *Café de Costa Rica: El espíritu de una nación*. Instituto del Café de Costa Rica [Archivo PDF]. <https://cafedecostarica.com/docs/cafedecostarica.pdf>
- Gao, W., Gao, K., Guo, Z., Liu, Y., Jiang, L., Liu, C., Liu, X., & Wang, G. (2021). Different Responses of Soil Bacterial and Fungal Communities to 3 Years of Biochar Amendment in an Alkaline Soybean Soil. *Frontiers in Microbiology*, 12, 630418. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.630418>
- García Montero, R., Pizarro Medina, P., Rodríguez Rastrero, M., Sierra Herráiz, M., Guirado Torres, M., Millán Gómez, R. (2021). Biochar y sus aplicaciones potenciales en el suelo. *Técnica Industrial* 328(328):44-53. <https://doi.org/10.23800/10503>
- Garza, J. 2019. (2019, 30 de abril). *Café premium es el salvavidas de Costa Rica en mar de bajos precios*. LaRepublica. <https://tinyurl.com/yshraed4>
- Gaskin, J. W., Speir, A., Morris, L. M., Ogden, L., Harris, K., Lee, D. & Das, K. C (2007, marzo). Potential for Pyrolysis Char to Affect Soil Moisture and Nutrient Status of a Loamy Sand Soil [Acta]. Proceedings of the 2007 Georgia Water Resources Conference. <https://smartech.gatech.edu/handle/1853/48168?show=full>
- Ghani, A. H. A., Hamza, M. H., & Hussein, A. K. (2022). The Effect Of Different Levels Of Nitrogen Fertilizer On Some Growth Characteristics Of Three Cultivars Of (Sorghum) Sorghum Bicolor.L. *Volatiles & Essent. Oils*, 9(2): 397-405. <https://nveo.org/index.php/journal/article/view/5146>
- Granados Montero, M. (2015). *Estudio de la epidemiología y alternativas de manejo agroecológico del ojo de gallo (Mycena citricolor) en cafeto bajo sistemas agroforestales en Costa Rica* [Tesis Doctorado, Universidad de Costa Rica]. <https://tinyurl.com/mr3s6kzd>
- Gray, M., Johnson, M. G., Dragila, M. I., & Kleber, M. (2014). Water uptake in biochars: The roles of porosity and hydrophobicity. *Biomass and Bioenergy*, 61, 196-205. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.12.010>
- Hailegnaw, N. S., Mercl, F., Pračke, K., Praus, L., Száková, J., & Tlustoš, P. (2020). The Role of Biochar and Soil Properties in Determining the Available Content of Al, Cu, Zn, Mn, and Cd in Soil. *Agronomy*, 10(6), 885. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060885>
- Henríquez, C & Cabalceta, G. (2012). *Guía práctica para el estudio introductorio de los suelos con un enfoque agrícola* (2 ed). Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo.
- Henríquez, C., Ortiz, O., Largaespada, K., Portugués, P., Vargas, M., Villalobos, P., & Gómez, D. (2011). Determinación de la resistencia a la penetración, al corte tangencial, densidad aparente y temperatura en un suelo cafetalero, Juan Viñas, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. <https://doi.org/10.15517/rac.v35i1.6693>

- Herath, H. M. S. K., Camps-Arbestain, M., & Hedley, M. (2013). Effect of biochar on soil physical properties in two contrasting soils: An Alfisol and an Andisol. *Geoderma*, 209-210, 188-197. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.06.016>
- Herrera Culebro, J. D. (2018). *Pirólisis de biomasa para la obtención de biocarbón y su efecto en el rendimiento de tomate*. [Tesis de Licenciatura, Universidad Rafael Landívar]. <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjrkd/2018/06/17/Herrera-Jaqueline.pdf>
- Hotech Instruments Corp. (2021). Cámara de crecimiento 624/624 HD [Archivo PDF]. <https://hotech.en.taiwantrade.com/product/560715>
- Hou, Z., Tang, Y., Li, C., Lim, K.-J., & Wang, Z. (2020). The additive effect of biochar amendment and simulated nitrogen deposition stimulates the plant height, photosynthesis and accumulation of NPK in pecan (*Carya illinoensis*) seedlings. *AoB PLANTS*, 45(1), 1-11. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plaa035>
- Huerta de la Cruz, A. (2019). *Influencia del biocarbón elaborado con residuos sólidos orgánicos sobre la calidad y producción del cultivo de la papa en el centro experimental ecológico de Tuyu Ruri, noviembre 2018 a abril 2019* [Tesis Ingeniero Ambiental, Universidad Nacional “Santiago Atún de Moyolo”]. <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/4085>
- InfoStat. (2008). InfoStat, versión 2008. *Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba* (1ra ed.). Editorial Brujas Argentina.
- InSak. (2022). Fisiología vegetal. Recuperado el 9 de septiembre de, 2022 <https://tinyurl.com/ye22ysaa>
- Instituto del café de Costa Rica (ICAFFE). (2019). Informe sobre la actividad cafetalera de Costa Rica. <https://tinyurl.com/3r4etxv>
- Instituto del café de Costa Rica (ICAFFE). (2020). Guía técnica para el cultivo del café. <https://www.icafe.cr/>
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). (2016). Manejo de suelos ácidos de las zonas altas de Honduras: Conceptos y métodos <https://repositorio.iica.int/handle/11324/3108>
- Jaramillo, D, F. (2002). *Introducción a la ciencia del suelo. Facultad de Ciencias*. <https://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/20.500.13082/147701>
- Jeffery, S., Meinders, M. B. J., Stoof, C. R., Bezemer, T. M., van de Voorde, T. F. J., Mommer, L., & van Groenigen, J. W. (2015). Biochar application does not improve the soil hydrological function of a sandy soil. *Geoderma*, 251-252, 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.03.022>
- Jien, S.H., & Wang, C.S. (2013). Effects of biochar on soil properties and erosion potential in a highly weathered soil. *CATENA*, 110, 225-233. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2013.06.021>
- Joseph, S., Cowie, A. L., Van Zwieten, L., Bolan, N., Budai, A., Buss, W., Cayuela, M. L., Graber, E. R., Ippolito, J. A., Kuzyakov, Y., Luo, Y., Ok, Y. S., Palansooriya, K. N., Shepherd, J., Stephens, S., Weng, Z. (Han), & Lehmann, J. (2021). How biochar works, and when it doesn't: A review of mechanisms controlling soil and plant responses to biochar. *GCB Bioenergy*, 13(11), 1731-1764. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12885>
- Kamoshita, A; Deshmukh, V; Amezquita, N. 2019. User manual for line core sampler and WinRhizo for root analysis [Archivo PDF]. [https://www.regentstruments.com/assets/winrhizo\\_image\\_acquisition.html](https://www.regentstruments.com/assets/winrhizo_image_acquisition.html)
- Kayama, M., Nimpila, S., Hongthong, S., Yoneda, R., Himmapan, W., & Noda, I. (2022). Effects of biochar on the early growth characteristics of teak seedlings planted in sandy soil in northeast Thailand. *Bulletin of FFPRI Vol.21-No.1(No.461):73-81*

- KNICA MINOLTA. (2009) Medidor de clorofila SPAD-502 Plus [Archivo PDF]. [https://www.interempresas.net/FeriaVirtual/Catalogos\\_y\\_documentos/452/SPAD-502Plus\\_ES.pdf](https://www.interempresas.net/FeriaVirtual/Catalogos_y_documentos/452/SPAD-502Plus_ES.pdf)
- Lamprea, A. M., Herrera, N. A., Buitraigo, J. M., & Ramírez, Y. A. (2015). El Nitrógeno, Ciclo Biogeoquímico [Archivo PDF]. [https://www.academia.edu/37164150/El\\_Nitr%C3%B3geno\\_Ciclo\\_Biogeoqu%C3%ADmico](https://www.academia.edu/37164150/El_Nitr%C3%B3geno_Ciclo_Biogeoqu%C3%ADmico)
- Leghari, S. J., Wahocho, N. A., Laghari, G. M., HafeezLaghari, A., MustafaBhabhan, G., HussainTalpur, K., Bhutto, T. A., Wahocho, S. A., & Lashari, A. A. (2016). Role of Nitrogen for Plant Growth and Development: A Review. *Advances in Environmental Biology*, 10(9), 209-2018. <https://tinyurl.com/4j5vn4du>
- Lehmann, J., Rillig, M. C., Thies, J., Masiello, C. A., Hockaday, W. C., & Crowley, D. (2011). Biochar effects on soil biota – A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(9), 1812-1836. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.04.022>
- Lehmann, J., y Joseph, S. (2009). Biochar for Environmental Management: An Introducción. [Archivo PDF]. [https://www.biochar-international.org/wp-content/uploads/2018/04/Biochar\\_book\\_Chapter\\_1.pdf](https://www.biochar-international.org/wp-content/uploads/2018/04/Biochar_book_Chapter_1.pdf)
- Li, S., Li, Z., Feng, X., Zhou, F., Wang, J., & Li, Y. 2021. Effects of biochar additions on the soil chemical properties, bacterial community structure and rape growth in an acid purple soil. *Plant, Soil and Environment*, 67(No. 3), 121-129. <https://doi.org/10.17221/390/2020-PSE>
- Liao, J., Liu, X., Hu, A., Song, H., Chen, X., y Zhang, Z. (2020). Effects of biochar-based controlled release nitrogen fertilizer on nitrogen-use efficiency of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Scientific Reports*, 10(1), 1-14, Artículo 11063. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67528-y>
- Lieffering, M., & Andrews, M. (1993). Effects of nitrogen on leaf growth of temperate cereals: A review. *Actas de la Sociedad de Agronomía de N.Z.* 23: 21-30. [https://www.agronomysociety.org.nz/files/1993\\_3\\_Review\\_-\\_N\\_leaf\\_effects\\_on\\_cereals.pdf](https://www.agronomysociety.org.nz/files/1993_3_Review_-_N_leaf_effects_on_cereals.pdf)
- Living Web Farms. (2018, 8 de agosto). Biochar Inoculation Part 2 [Video]. Youtube. <https://tinyurl.com/mr39yezn>
- Lu, S. (2021). *Efecto de la aplicación de biocarbón de sarmientos sobre las propiedades físicoquímicas de un suelo de vid.* [Tesis, Universidad de Valladolid]. <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/50532>
- Madriz, M. 2019. *Efecto del biocarbón, lombricompost y Robust® aplicados al suelo sobre el desarrollo y tolerancia del pepino (Cucumis sativus L.) a la mosca blanca (Bemisia tabaci Gennadius) bajo condiciones de invernadero en Barva, Heredia.* [Tesis de Maestría Universidad nacional]. <http://hdl.handle.net/11056/22016>
- Mehmood, K., Baquy, M. A.-A., & Xu, R. (2018). Influence of nitrogen fertilizer forms and crop straw biochars on soil exchange properties and maize growth on an acidic Ultisol. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64(6), 834-849. <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1385062>
- Middelanis, T. (2019). El biocarbón aplicado al suelo retiene agua y nutrientes en los valles interandinos del Departamento de Cochabamba, Bolivia. *ACTA NOVA*, 9, (3), 429-449. <https://tinyurl.com/mrxmjur5>
- Ministerio de Comercio Exterior (COMEX). (2019). Análisis sobre la evolución del Comercio Exterior e ID en 2019 [Archivo PDF]. <https://tinyurl.com/a9pnrk2p>
- Monsalve, J., Escobar, R., Acevedo, M., Sánchez, M., & Coopman, R. (2009). Efecto de la concentración de nitrógeno sobre atributos morfológicos, potencial de crecimiento radical y estatus nutricional en plantas de *Eucalyptus globulus*

- producidas a raíz cubierta. *Bosque (Valdivia)*, 30(2): 88-94  
<https://doi.org/10.4067/S0717-92002009000200004>
- Montero, D. (2017). Manual de Buenas Prácticas de Manejo en la Fertilización Nitrogenada del Café [Archivo PDF].  
<http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/AV-1419.pdf>
- Mwadalu, R., Mochoge, B., & Danga, B. (2021). Assessing the Potential of Biochar for Improving Soil Physical Properties and Tree Growth. *International Journal of Agronomy*, 2021, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2021/6000184>
- Olmo Prieto, M. 2016. *Efectos del biochar sobre el suelo, las características de la raíz y la producción vegetal*. [Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba].  
<https://helvia.uco.es/handle/10396/13381>
- Omondi, M. O., Xia, X., Nahayo, A., Liu, X., Korai, P. K., & Pan, G. (2016). Quantification of biochar effects on soil hydrological properties using meta-analysis of literature data. *Geoderma*, 274, 28-34.  
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.03.029>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2019). Código Internacional de Conducta, para Uso y Manejo de los fertilizantes. [Archivo PDF]. <http://www.fao.org/3/ca5253es/CA5253ES.pdf>
- Osorio-Vega, N. W. (2009). Microorganismos del suelo y su efecto sobre la disponibilidad y absorción de nutrientes por las plantas. En Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelos & Centro Nacional de Investigaciones de Café (Eds.), *Materia orgánica biología del suelo y productividad agrícola: Segundo seminario regional comité regional eje cafetero* (pp. 43–71). Cenicafé.  
[https://doi.org/10.38141/10791/0003\\_3](https://doi.org/10.38141/10791/0003_3)
- Ostía Méndez, G. 2011. *Caracterización de la fauna microbiológica del suelo en sistema de producción biointensiva, en Chiriquí, Panamá*. [Tesis de Licenciatura, Instituto Tecnológico de Costa Rica].  
<https://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/6302?show=full>
- Petersen, C. T., Hansen, E., Larsen, H. H., Hansen, L. V., Ahrenfeldt, J., & Hauggaard-Nielsen, H. (2016). Pore-size distribution and compressibility of coarse sandy subsoil with added biochar: Physical properties of sand with added biochar. *European Journal of Soil Science*, 67(6), 726-736.  
<https://doi.org/10.1111/ejss.12383>
- Pinton, R., Varanini, Z. y Nannipieri, P. (2007). The Rhizosphere Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface. En NC Uren (Ed.), *Types, Amounts, and Possible Functions of Compounds Released into the Rhizosphere by Soil-Grown Plants* (pág. 3). <https://doi.org/10.1093%2Faob%2Fmcp166>
- Piñeiro, G. (26 de noviembre de 2022). *Relación Carbono-Nitrógeno en los agroecosistemas. Cultivos de Servicios*.  
<http://cultivosdeservicios.agro.uba.ar/relacion-carbono-nitrogeno-en-los-agroecosistemas/>
- Pühringer, H. (2016). *Effects of different biochar application rates on soil fertility and soil water retention in on-farm experiments on smallholder farms in Kenya*. [Tesis de Maestría, Universidad de Agricultura y Ciencia].  
<http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-5272>
- Quin, P. R., Cowie, A. L., Flavel, R. J., Keen, B. P., Macdonald, L. M., Morris, S. G., Singh, B. P., Young, I. M., & Van Zwieten, L. (2014). Oil mallee biochar improves soil structural properties—A study with x-ray micro-CT. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 191, 142-149.  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.03.022>

- Quiñonez, L., Bryan, S. (2020). *Biochar: aplicaciones y efectos en combinación con fertilizantes minerales en 3 variedades de café (Coffea sp.) en la provincia de El Oro*. [Tesis Trabajo de Titulación Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Machala]. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/16144>
- Razaq, M., Salahuddin, Shen, H., Sher, H., & Zhang, P. (2017). Influence of biochar and nitrogen on fine root morphology, physiology, and chemistry of Acer mono. *Scientific Reports*, 7(1), 5367. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05721-2>
- Regent Instruments. (2019). WinRHIZO [Archivo PDF] [https://regent.qc.ca/assets/images\\_winrhizo/WinRHIZO\\_Brochure.pdf](https://regent.qc.ca/assets/images_winrhizo/WinRHIZO_Brochure.pdf)
- Ren, N., Wang, Y., Ye, Y., Zhao, Y., Huang, Y., Fu, W., & Chu, X. (2020). Effects of Continuous Nitrogen Fertilizer Application on the Diversity and Composition of Rhizosphere Soil Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1948. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01948>
- Rendón Sáenz, J. R., & Sadeghian Khalajabadi, S. (2018). Aplicación de índices espectrales para identificar necesidades de fertilización nitrogenada en café. *Revista Cenicafé* 69(1):7-15. <https://doi.org/10.38141/10778/1088>
- Rivera, J. 2021. *Efecto de enmiendas con biocarbonos sobre propiedades físicas, químicas y Fitoabsorción de Cadmio en suelos disímiles sembrados con lechuga*. [Tesis de Magister en Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/80523>
- Rodríguez, N., McLaughlin, M., de Adelaida, U., Pennock, D., Pierzynski, G. M., Montanarella, L., Steffensen, J. C., Bazza, Z., Vargas, R., Ünlü, K., Kohlschmid, E., Perminova, O., Tagliati, E., Ugarte, O. M., Khan, A., Pennock, L., Sala, M., Verbeke, I., & Stanco, G. (2019). La contaminación del suelo: Una realidad oculta [Archivo PDF]. <https://www.fao.org/3/I9183ES/i9183es.pdf>
- Romero, C; García, E; E Hernández. 2015. Materia orgánica y densidad aparente en suelos del suroeste de La Malinche, Tlaxcala, México (en línea, sitio web). *Revista Iberoamericana de Ciencias* 2(5):63-70 <https://tinyurl.com/4bj46hvy>
- Ruiz Pérez, K. 2019. *El biocarbón y su uso en la recuperación de suelos áridos* [Tesis de bachiller Ingeniera Ambiental, Universidad Científica del Sur]. <https://doi.org/10.21142/tb.2020.xxxx>
- Salamanca, J. A., Sadeghian, KH, S. (2005). La densidad aparente y su relación con otras propiedades en suelos de la zona cafetera colombiana. *Cenicafé* 56(4): 381-397. <https://www.cenicafe.org/es/publications/arc056%2804%29381-397.pdf>
- Sadeghian, S. 2016. La acidez del suelo una limitante común para la producción de café. <https://www.cenicafe.org/es/publications/AVT0466.pdf>
- Sanford, J. R., Larson, R. A., & Runge, T. (2019). Nitrate sorption to biochar following chemical oxidation. *Science of The Total Environment*, 669, 938-947. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.061>
- Segura Chavarría, D. M. (2018). *Control de calidad de biocarbón para la producción de Terra Preta*. [Tesis de Licenciatura, Tecnológico de Costa Rica]. <https://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/10315>
- Shah, K. K., Tripathi, S., Tiwari, I., Shrestha, J., Modi, B., Paudel, N., & Das, B. D. (2021). Role of soil microbes in sustainable crop production and soil health: A review. *Agricultural Science and Technology*, 13(Volume 13, Issue 2), 109-118. <https://doi.org/10.15547/ast.2021.02.019>
- Shetty, R., & Prakash, N. B. (2020). Effect of different biochars on acid soil and growth parameters of rice plants under aluminium toxicity. *Scientific Reports*, 10(1), 12249. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69262-x>

- Sierra-Alarcón, A. M., Moreno-Oviedo, Y., Mancipe-Muñoz, E. A., Avellaneda-Avellaneda, Y., & Vargas-Martínez, J. D. J. (2019). Efecto de la fertilización nitrogenada y fosfatada en raigrases perennes y tréboles rojos. *Agronomía Mesoamericana*, 841-854. <https://doi.org/10.15517/am.v30i3.35170>
- Sik, Y.Ok., Uchimiya, S.S.C., y Bolan, N (Eds.). (2016). Biochar Production, Characterization, and Applications. En P Kumarathilaka, S Mayakaduwa, I Herath y M. Vithanage (Eds.), *Biochar: State of the Art* (pág 17-42). CRC Press Taylor & Francis Group. <https://doi.org/10.1201/b18920>
- Sik, Y.Ok., Uchimiya, S.S.C., y Bolan, N (Eds.). (2016). Biochar Production, Characterization, and Applications. En AU Rajapaksha, D Mohan, AD Igalavithana, SS Lee y Y Sik Ok (Eds.), *Definitions and Fundamentals of Biochar* (pág 3-16). CRC Press Taylor & Francis Group. <https://doi.org/10.1201/b18920>
- Sisalima Morales, P E., Barrezueta Unda., S. A. (2020). *Efectos de biocarbón en un cultivo de cacao (Theobroma cacao l.) obtenido a partir de su cáscara*. [Trabajo de Titulación Ingeniería Agronómica, Ecuador, Universidad Técnica de Machala] <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/15557/1/TTUACA-2020-IA-DE00013.pdf>
- Solórzano, N., Querales, D. 2014. Crecimiento y desarrollo del café (Coffea arabica) bajo la sombra de cinco especies arbóreas [Archivo PDF]. <https://tinyurl.com/2td9d5ye>
- Song, X., Razavi, B. S., Ludwig, B., Zamanian, K., Zang, H., Kuzyakov, Y., Dippold, M. A., & Gunina, A. (2020). Combined biochar and nitrogen application stimulates enzyme activity and root plasticity. *Science of The Total Environment*, 735, 139393. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139393>
- Soria Martínez, L. H. 2016. *Producción y evaluación de biocarbón para la adsorción de sodio en suelos salinos*. [Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional]. <https://tinyurl.com/3tvebzsh>
- Sorrenti, G. (2015). *Biochar in perennial crops: nutritional, agronomical and environmental implications*. [Tesis de Doctorado, Universidad de Bologna]. [http://amsdottorato.unibo.it/7129/1/Sorrenti\\_Giovambattista\\_tesi.pdf](http://amsdottorato.unibo.it/7129/1/Sorrenti_Giovambattista_tesi.pdf)
- Sosa, B; García, Y. 2018. Eficiencia de uso del nitrógeno en maíz fertilizado de forma orgánica y mineral. *Agronomía Mesoamericana*. 29(1):207-219.
- Stadler-Kaulich, N., & Perteguer, A. H. (2018). Más Allá de la Agroforestería El Biocarbón Activado y la Madera Rameal Fragmentada: Utilización y preparación en Mollesnejta. *ACTA NOVA; Vol. 8, 572 - 592*. [http://www.scielo.org.bo/pdf/ran/v8n4/v8n4\\_a06.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/ran/v8n4/v8n4_a06.pdf)
- STURDY APEX GROUP. (2021). Autoclave [Archivo PDF]. <https://tinyurl.com/mr2cex7r>
- Sun, F., & Lu, S. (2014). Biochars improve aggregate stability, water retention, and pore-space properties of clayey soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 177(1), 26-33. <https://doi.org/10.1002/jpln.201200639>
- Teixeira Chagas, W. F., Guelfi Silva, D. R., Lacaerda, J. R., Campos Pinto, L., Baldansi Andrade, A., & Faquin, V. (2019). Nitrogen fertilizers technologies for coffee plants. *Coffee Science*, 14(1), 55. <https://doi.org/10.25186/cs.v14i1.1528>
- Tenesaca Martínez, S. I. (2019). *Determinación de la dosis optima de biocarbón como enmienda edáfica en el cultivo de banano (musa x paradisiaca) clon Williams*. [Trabajo de titulación, Universidad Técnica de Machala]. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/15165>
- Teran, C., & Izquierdo, F. (2006). Efecto de la fertilización nitrogenada sobre una composición botánica con trébol blanco (Trifolium repens) En Cayambe -

- Pichincha. *La Granja. Revista de ciencias de la vida*, 4(1), 71-75. <https://doi.org/10.17163/lgr.n4.2005.13>
- Terán, C; Dzquierdo, F. 2005. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre una composición botánica con trébol blanco (*Trifolium repens*) en Cayambe – Pichincha [Archivo PDF]. <https://tinyurl.com/yjnafsv9>
- Top Air Systems. (2014). Cámara de flujo laminar vertical metálica [Archivo PDF]. <http://topairsystems.com/wp-content/uploads/2014/05/metal-vertical-spanish.pdf>
- Vásquez Chacón, J.Y. 2016. Aislamiento de microorganismo cultivables del suelo rizosférico de plantas de café (*Coffea arabica* L.) [Archivo PDF]. <https://tinyurl.com/2s42y47d>
- Vega Contreras, A. (2015). El efecto del nitrógeno en las enfermedades de las plantas [Archivo PDF]. <https://tinyurl.com/yc23dw68>
- Verheijen, F., Jeffery, S., Bastos, A. C., Van der Velde, M. y Diafas, I. (2010). Biochar aplica-tion to soils. A critical scientific review on soil properties, pro-cesses and functions. European Commission, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg. Biochar Application to Soils A Critical Scientific Review of Effects on Soil Properties, Processes and Functions. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2788/472>
- Vignola, R., Walter, W., Poveda Coto, K., & Vargas Céspedes, A. (2018). Prácticas efectivas para la reducción de impactos por eventos climáticos en el cultivo de café en Costa Rica. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-8148.pdf>
- Wang, H., Yi, H., Zhang, X., Su, W., Li, X., Zhang, Y., & Gao, X. (2019). Biochar Mitigates Greenhouse Gas Emissions from an Acidic Tea Soil. *Polish Journal of Environmental Studies*, 29(1), 323-330. <https://doi.org/10.15244/pjoes/99837>
- Weaver, W., Angle, S., Bottomley, P., Bezdicsek, D., Smith, S., Tabatabai, A. y Wollum., A. (1994). *Methods of soil analysis, part 2 microbiological and biochemical properties*. En PL. WOOMER (ed.), Most Probable Number Count (59-79). Soil Science Society of America, Inc. DOI: 10.2136/sssabookser5.2
- Widawati, S., Nurkanto, A., & Sudiana, I. M. (2008). Phosphate solubilizing activities of Actinomycetes isolated from Waigeo, Raja Ampat islands, West Papua. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 9(2). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d090202>
- Xiang, Y; Deng, Q; Duan, H; Guo Y. (2017). Effects of biochar application on root traits: a meta-analysis. *GCB Bioenergy* (2017): 1563-1572. doi: 10.1111/gcbb.12449
- Yu, X., & Lu, S. (2019). Reconfiguration of macropore networks in a silty loam soil following biochar addition identified by X-ray microtomography and network analyses. *European Journal of Soil Science*, 70(3), 591-603. <https://doi.org/10.1111/ejss.12773>
- Zhang, C., Lin, Y., Tian, X., Xu, Q., Chen, Z., & Lin, W. (2016). Tobacco bacterial wilt suppression with biochar soil addition associates to improved soil physiochemical properties and increased rhizosphere bacteria abundance. *Applied Soil Ecology*, 112, 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.12.005>
- Zhao, R; Coles, N., Kong, CZ., & Wu, J. 2015. Effects of aged and fresh biochars on soil acidity under different incubation conditions. *Soil & Tillage Research* 146 (2015) 133–138. <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2014.10.014>
- Zhou, J.-S., Yan, P., Zhang, W.-M., Zheng, F.-Y., Cheng, X.-Y., & Chen, W.-F. (2017). Effect of Biochar on Root Morphogenesis and Anatomical Structure of Rice Cultivated in Cold Region of Northeast China. *Acta Agronomica Sinica*, 43(1), 72. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1006.2017.00072>

## 22. Anexos

**Anexo 1.** Análisis químico de suelo, datos promedio del contenido de carbono, nitrógeno, relación C:N y contenido de materia orgánica del suelo derivado de los pots.

ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS				
Efecto	%		Relación	%
	C	N	C/N	MO
Biocarbón	4,11	0,33	12,6	5,88
Nitrógeno	2,75	0,30	9,2	3,94
Suelo	2,52	0,27	9,2	3,61

### Análisis microbiológico del suelo

**Anexo 2.** Estadístico F Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para bacterias del suelo.

#### El Procedimiento GLM

Variable Dependiente: UFC Bacterias

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	Valor de F	Pr > F
Modelo	3	3.5863692E13	1.1954564E13	0.82	0.4988
Error	17	2.4674869E14	1.4514629E13		
Total Corregido	20	2.8261238E14			

R-Cuadrado	Coefficiente de variación	Raíz MSE	Media UFC Bacterias
0.126901	143.8180	3809807	2649048

Fuente	DF	Type III SS	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
BC	1	2.9098876E12	2.9098876E12	0.20	0.6600
N	1	1.7434123E13	1.7434123E13	1.20	0.2884
BC*N	1	7.0236915E12	7.0236915E12	0.48	0.4961

**Anexo 3.** Estadístico F Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para actinomicetos del suelo.

#### El Procedimiento GLM

Variable Dependiente: UFC Actinos

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
Modelo	3	198073015873	66024338624	0.54	0.6582
Error	17	2.0596222E12	121154248366		
Total Corregido	20	2.2576952E12			

R-Cuadrado	Coefficiente de Variación	Raíz MSE	Media UFC Actinos
0.087732	56.18383	348072.2	619523.8

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
BC	1	156491503268	156491503268	1.29	0.2715
N	1	109934640523	109934640523	0.91	0.3542
BC*N	1	8366013071.9	8366013071.9	0.07	0.7959

**Anexo 4.** Estadístico F Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para hongos del suelo.

**El Procedimiento GLM**

**Variable Dependiente: UFC Hongos**

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
Modelo	3	482571429	160857143	1.38	0.2830
Error	17	1982666667	116627451		
Total Corregido	20	2465238095			

R-Cuadrado	Coefficiente de Variación	Raíz MSE	Media UFC Hongos
0.195750	41.23415	10799.42	26190.48

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
BC	1	1058823.5	1058823.5	0.01	0.9252
N	1	259882352.9	259882352.9	2.23	0.1538
BC*N	1	144117647.1	144117647.1	1.24	0.2818

**Análisis microbiológico de la rizosfera**

**Anexo 5.** Estadístico F Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para bacterias de la rizosfera.

**El Procedimiento GLM**

**Variable Dependiente: UFC Bacterias**

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
Modelo	3	1.3767361E13	4.5891204E12	3.40	0.0420
Error	17	2.2970439E13	1.3512023E12		
Total corregido	20	3.67378E13			

R-Cuadrado	Coefficiente de Variación	Raíz MSE	Media UFC Bacterias
0.374746	55.35297	1162412	2100000

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadro Medio	Valor F	Pr > F
BC	1	4.907067E12	4.907067E12	3.63	0.0737
N	1	2.8729493E12	2.8729493E12	2.13	0.1630
BC*N	1	8.3242513E12	8.3242513E12	6.16	0.0238

**Anexo 6.** Estadístico F Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para actinomicetos de la rizosfera.

**El Procedimiento GLM**

**Variable Dependiente: UFC Bacterias**

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
Modelo	3	1.3767361E13	4.5891204E12	3.40	0.0420
Error	17	2.2970439E13	1.3512023E12		
Total corregido	20	3.67378E13			

R-Cuadrado	Coefficiente de Variación	Raíz MSE	Media UFC Bacterias
0.374746	55.35297	1162412	2100000

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadro Medio	Valor F	Pr > F
BC	1	4.907067E12	4.907067E12	3.63	0.0737
N	1	2.8729493E12	2.8729493E12	2.13	0.1630
BC*N	1	8.3242513E12	8.3242513E12	6.16	0.0238

**Anexo 7.** Estadístico F Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para hongos de la rizosfera.

**El Procedimiento GLM**

**Variable Dependiente: UFC Actinos**

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
Modelo	3	233345111111	77781703704	1.30	0.3081
Error	17	1.0205416E12	60031856209		
<b>Total Corregido</b>	<b>20</b>	<b>1.2538867E12</b>			

R-Cuadrado	Coefficiente de Variación	Raíz MSE	Media UFC Actinos
0.186097	61.20250	245014.0	400333.3

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado Medio	F Value	Pr > F
BC	1	746679738.56	746679738.56	0.01	0.9125
N	1	23436875817	23436875817	0.39	0.5404
BC*N	1	194665111111	194665111111	3.24	0.0895

**Área foliar (AF)**

**Anexo 8.** Comparación de medias con el estadístico Tukey en respuesta al efecto de los tratamientos BCS, BCN, NS y SS en el área foliar de plantas de café.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Area froliar cm2	24	0,73	0,69	13,92

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	33783376,83	3	11261125,61	18,20	<0,0001
Tratamiento	33783376,83	3	11261125,61	18,20	<0,0001
Error	12377933,00	20	618896,65		
Total	46161309,83	23			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1271,28063**

Error: 618896,6500 gl: 20

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
SS	4219,17	6	321,17	A
BCS	4745,00	6	321,17	A
BCN	6726,17	6	321,17	B
NS	6917,33	6	321,17	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

## Contenido de clorofila

**Anexo 9.** Comparación de medias con el estadístico LSD Fisher para el contenido de clorofila en el estrato inferior de plantas de café a los 106, 120, 134 y 161 DDT.

106

Zona	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Inferior	106	24	0,27	0,16	7,27

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	210,32	3	70,11	2,45	0,0937
Tratamiento	210,32	3	70,11	2,45	0,0937
Error	573,35	20	28,67		
Total	783,67	23			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=6,44823

Error: 28,6674 gl: 20

Tratamiento	Medias	n	E.E.
BCS	70,47	6	2,19 A
SS	72,17	6	2,19 A B
BCN	73,63	6	2,19 A B
NS	78,42	6	2,19 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

120

Zona	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Inferior	120	24	0,28	0,17	9,61

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	371,86	3	123,95	2,58	0,0823
Tratamiento	371,86	3	123,95	2,58	0,0823
Error	961,66	20	48,08		
Total	1333,52	23			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=8,35107

Error: 48,0831 gl: 20

Tratamiento	Medias	n	E.E.
BCS	66,78	6	2,83 A
SS	70,50	6	2,83 A B
BCN	74,13	6	2,83 A B
NS	77,30	6	2,83 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

134

Zona	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Inferior	134	24	0,37	0,28	7,99

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	395,98	3	131,99	3,95	0,0231
Tratamiento	395,98	3	131,99	3,95	0,0231
Error	668,87	20	33,44		
Total	1064,85	23			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=6,96469

Error: 33,4435 gl: 20

Tratamiento	Medias	n	E.E.
BCS	67,87	6	2,36 A
SS	68,85	6	2,36 A B
BCN	75,23	6	2,36 B C
NS	77,38	6	2,36 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

161

Zona	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Inferior	161	23	0,38	0,28	7,85

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	385,35	3	128,45	3,90	0,0251
Tratamiento	385,35	3	128,45	3,90	0,0251
Error	625,94	19	32,94		
Total	1011,29	22			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=7,10719

Error: 32,9442 gl: 19

Tratamiento Medias n E.E.

BCS	68,83	6	2,34	A
SS	69,60	6	2,34	A
BCN	76,65	6	2,34	B
NS	78,14	5	2,57	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo 10.** Comparación de medias con el estadístico LSD Fisher para el contenido de clorofila en el estrato medio de plantas de café a los 134 y 161 DDT.

134

Zona	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Medio	134	24	0,33	0,23	8,31

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	366,18	3	122,06	3,27	0,0426
Tratamiento	366,18	3	122,06	3,27	0,0426
Error	746,77	20	37,34		
Total	1112,95	23			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=7,35908

Error: 37,3383 gl: 20

Tratamiento Medias n E.E.

BCS	68,83	6	2,49	A
SS	70,50	6	2,49	A B
NS	77,17	6	2,49	B
BCN	77,60	6	2,49	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

161

Zona	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Medio	161	23	0,38	0,28	7,83

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	396,15	3	132,05	3,88	0,0254
Tratamiento	396,15	3	132,05	3,88	0,0254
Error	646,04	19	34,00		
Total	1042,19	22			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=7,22042

Error: 34,0024 gl: 19

Tratamiento Medias n E.E.

BCS	69,82	6	2,38	A
SS	71,43	6	2,38	A B
NS	77,82	5	2,61	B C
BCN	79,55	6	2,38	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo 11.** Comparación de medias con el estadístico LSD Fisher para el contenido de clorofila en el estrato Superior de plantas de café a los 134 y 161 DDT.

134

Zona	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Superior	134	23	0,31	0,20	8,25

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	294,83	3	98,28	2,81	0,0671
Tratamiento	294,83	3	98,28	2,81	0,0671
Error	664,00	19	34,95		
Total	958,83	22			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=7,32009**

Error: 34,9475 gl: 19

Tratamiento Medias n E.E.

BCS	65,90	6	2,41	A
SS	72,18	5	2,64	A B
NS	73,45	6	2,41	B
BCN	75,20	6	2,41	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

161

Zona	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Superior	161	23	0,51	0,43	7,00

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	513,95	3	171,32	6,58	0,0031
Tratamiento	513,95	3	171,32	6,58	0,0031
Error	494,64	19	26,03		
Total	1008,59	22			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=6,31794**

Error: 26,0336 gl: 19

Tratamiento Medias n E.E.

BCS	65,20	6	2,08	A
SS	73,63	6	2,08	B
NS	76,24	5	2,28	B
BCN	76,97	6	2,08	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo 12.** Porcentajes de textura del suelo de la finca Salmebre

Textura de suelo			
Suelo con carbón		Suelo sin carbón	
Partículas	Porcentaje (%)	Partículas	Porcentaje (%)
Arenas totales	40,55	Arenas totales	38,00
Arcillas totales	44,20	Arcillas totales	42,85
Limos totales	15,25	Limos totales	19,15

**Anexo 13.** Análisis químico abono orgánico (biocarbón)

Análisis químico biocarbón					
Material	%	H2O	mS/cm	%	Relación
	HUM	pH	CE	C	C/N
BIOCARBON	59,1	7,5	7,7	53,96	44,9