

Protocolo de medición de CO₂ para determinar la cantidad mínima en peso de muestras de suelo y mantillo

CO₂ measurement protocol to determine the minimum amount of soil and litter samples

Edgar Barrales-Brito¹ , Fernando Paz-Pellat² , Jorge D. Etchevers-Barra³ ,
Claudia Hidalgo-Moreno³  y Alma S. Velázquez-Rodríguez⁴ 

¹ Doctorado en edafología, ² GRENASER, ³ Laboratorio de Fertilidad de Suelos y Química Ambiental, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Carretera México- Texcoco km 36.5, Montecillo. 56230 Texcoco, Estado de México, México.

[‡] Autor para correspondencia (ferpazpel@gmail.com)

⁴ Facultad de Ciencias, Campus El Cerrillo, Universidad Autónoma del Estado de México. Carretera Toluca - Ixtlahuaca km 15.5, Piedras Blancas. 50200 Toluca de Lerdo, Estado de México, México.

Editor de Sección: Dr. Gelacio Alejo Santiago

RESUMEN

La materia orgánica del suelo (MOS) y su interacción con las partículas elementales del suelo (PES) determinan las tasas de mineralización, por lo que es necesario medir cuánto CO₂ se libera por las fracciones elementales del suelo; sin embargo, con los métodos de fraccionamiento de las PES, se extrae una cantidad muy pequeña, lo que limita hacer ensayos de respiración con los métodos tradicionales, ya que requieren cantidades de 30 g para poder hacer mediciones en laboratorio. En este trabajo se hicieron pruebas para determinar si el equipo OxiTop es capaz de medir la respiración de muestras de suelo en cantidades pequeñas. Se colocaron cantidades de 10.0, 5.0, 1.0 y 0.5 g de muestras de mantillo (M), horizonte de fermentación (HF) y suelo (S) en frascos del equipo de 500 y 250 mL. Los resultados muestran que el equipo registra la cantidad de CO₂ en todas las muestras, siendo mayores en el M que en las muestras de S. Además, el tamaño de frasco indicó que la respiración es proporcional al tamaño ya que en los frascos de 500 mL la cantidad de CO₂ fue cercano al doble en comparación de los frascos de 250 mL en muestras de M y HF. En muestras de S los valores medidos en ambos frascos fueron muy similares. El equipo OxiTop es capaz de medir la emisión de CO₂ en muestras pequeñas, pero el contenido de C de la

muestra influyó, dado que, si los contenidos de C son bajos, la cantidad de CO₂ será menor.

Palabras clave: *biogeoquímica, dinámica de carbono, OxiTop, respiración.*

SUMMARY

Soil organic matter (SOM) and its interaction with elementary soil particles (ESP) determine mineralization rates. Thus quantifying how much CO₂ is released by soil elementary fractions is necessary. However, in the fractionation methods of ESP a very small amount is extracted limiting incubation tests with traditional methods, which require quantities of 30 g to make measurements in the laboratory. Tests were conducted to determine if the OxiTop equipment is capable of measuring the respiration of soil samples in small quantities of 10.0, 5.0, 1.0 and 0.5 g of litter samples (M), fermentation horizon (HF) and soil (S) in 500 and 250 mL equipment bottles. The results show that the equipment records the amount of CO₂ in all the samples, which are greater in M than in S samples. In addition, the bottle size indicated that the respiration is proportional to size since in the 500 mL bottles the CO₂ amount was nearly double compared to the 250 mL bottles in M and HF samples. In S samples the values measured in both bottles were very similar.

Cita recomendada:

Barrales-Brito, E., Paz-Pellat, F., Etchevers-Barra, J. D., Hidalgo-Moreno, C. y Velázquez-Rodríguez, A. S. (2022). Protocolo de medición de CO₂ para determinar la cantidad mínima en peso de muestras de suelo y mantillo. *Terra Latinoamericana*, 40, 1-7. e911. <https://doi.org/10.28940/terra.v40i0.911>

Recibido: 16 de octubre de 2021. Aceptado: 11 de junio de 2022.
Nota de investigación. Volumen 40, noviembre de 2022.

The OxiTop equipment is able to measure CO₂ emission in small samples. Nevertheless, the C content of the sample influenced the results, when the C contents are low the amount of CO₂ is lower.

Index words: *biogeochemistry, carbon dynamics, OxiTop, respiration.*

INTRODUCCIÓN

La respiración del suelo (Rs) es el flujo de bióxido de carbono (CO₂) por la descomposición de la materia orgánica (respiración heterotrófica) y la respiración de las raíces y microorganismos (respiración autotrófica) (Lankreijer *et al.*, 2003). Dada su importancia, es necesario estudiar la respiración del suelo para conocer la dinámica de carbono (C) en el suelo. Cueva, Robles, Garatuza y Yépez (2016), mencionan que la Rs del suelo es el segundo mayor flujo de C hacia la atmósfera a nivel global. La respiración del suelo es variable, tanto espacial como temporalmente, lo que ocasiona que haya incertidumbre en las mediciones debido a la heterogeneidad de las propiedades del suelo (Cueva *et al.*, 2016). La estructura del suelo, temperatura, humedad, microorganismos del suelo, distribución de raíces y contenido de la materia orgánica del suelo (MOS) influyen en la respiración del suelo (Ryan y Law, 2005; Giardina y Ryan, 2000).

La alta variabilidad de la Rs puede ocasionar incertidumbre en las estimaciones. Las metodologías para medir la respiración del suelo, incluyen el uso de cámaras dinámicas que miden la concentración de CO₂ en un volumen y en un plazo de tiempo determinado, por lo que las mediciones varían en relación a las condiciones del sitio donde se llevan a cabo (Wang *et al.*, 2019; Bayona-Rodríguez, Ávila, Rincon y Romero, 2015). Además de los factores naturales que influyen en la Rs, Cueva, Bahn, Litvak, Pumpanen y Vargas, (2015) mencionan que también puede haber errores en la medición debido a la mala calibración del equipo, o mal funcionamiento y errores de tipo humano. Las metodologías del laboratorio, como las realizadas en incubaciones con trampas de NaOH o al inferirse mediante el contenido de MO y algunas propiedades del suelo, tienen la ventaja de que controlan ciertos factores para disminuir la variabilidad en las estimaciones y los datos puedan ser comparables (Guerrero-Ortiz, Quintero, Espinoza, Benedicto y Sánchez, 2012).

El equipo OxiTop es un respirómetro manométrico que mide la DBO (demanda bioquímica de oxígeno), y se ha utilizado para medir la degradación de la materia orgánica disuelta en aguas residuales (Haapea y Tuhkanen, 2006; Lee y Scholz, 2007); sin embargo, también se sabe que tiene potencial para medir la Rs, por medio de incubaciones controlando la temperatura, humedad y cantidad de muestra en condiciones de laboratorio. Se han hecho pruebas para hacer determinaciones de la respiración en mantillo y horizontes de fermentación (Barrales-Brito, Etchevers, Hidalgo, Paz y Saynes, 2014) y en suelos (Jiménez, Saynes, Hidalgo y Etchevers, 2012), con buenos resultados en la medición de la cantidad de CO₂ producida. El equipo OxiTop tiene la ventaja de que permite hacer determinaciones de la Rs de forma rápida, ya que permite obtener resultados en poco tiempo y con una incertidumbre entre repeticiones muy baja. El equipo registra la pérdida de presión dentro de los frascos de incubación y posteriormente se calcula el consumo de oxígeno y la cantidad de CO₂ que se liberó por la mineralización de la MO de la muestra (Barrales *et al.*, 2014).

Una de las necesidades en el estudio de C en el suelo, es conocer el comportamiento del suelo en las fracciones elementales (arena, limo y arcilla). Existen estudios de los contenidos de C asociados a las fracciones elementales del suelo (Hidalgo, Paz y Etchevers, 2012; Paz, Covaleda, Hidalgo y Etchevers, 2012; Paz y Etchevers, 2016; Paz, Covaleda, Hidalgo, Etchevers y Matus, 2016), pero no hay estudios de la Rs en las fracciones elementales del suelo. Una de las limitaciones para hacer pruebas de respiración en cada fracción del suelo, es la cantidad de muestra que se obtiene de cada una al hacer la separación de las fracciones; en el caso de las arcillas se requiere mucho tiempo para poder obtener 1 o 2 g de muestra de arcilla con el método de la pipeta.

El presente trabajo tiene como objetivo establecer un protocolo que permita utilizar el equipo OxiTop para la determinación de la respiración del suelo en residuos orgánicos (mantillo y capa de fermentación) con cantidades de muestra menores de 10 g, para saber si el equipo es capaz de medir la Rs de muestras orgánicas y de suelo con cantidades pequeñas y poder medir la Rs en las fracciones de las partículas elementales del suelo.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron muestras de mantillo (M), horizonte de fermentación (HF) y suelo (S) de un bosque de *Pinus patula* provenientes de un bosque con manejo forestal del ejido de Topixco, en el estado de Hidalgo, el cual se aprovechó en 1987. Los contenidos de carbono de las tres muestras son de 49 y 35% para el mantillo y horizonte de fermentación, respectivamente; y de 13% en el suelo a la profundidad de 0 a 30 centímetros.

Se midió la respiración del suelo de los tres tipos de muestra. Se puso a incubar en frascos del equipo de 500 y 250 mL de capacidad, con cantidades de muestra de 10.0, 5.0, 1.0 y 0.5 g por triplicado (Cuadro 1), en un plazo de 10 días y controlando la temperatura en una incubadora MAPSA EC-669^{MR} a 25°C (±1°C).

El equipo OxiTop OC110^{MR}, reporta datos de la disminución de presión dentro de cada frasco. Para el cálculo de consumo de oxígeno (O₂) que se utilizó en los 10 días por la actividad microbiana, se utilizó la ecuación general de los gases (Ecuación 1), que considera el peso molecular de O₂ (PMO₂), la constante universal de los gases (R), la temperatura de incubación (T), la pérdida de presión registrada por el sensor (Δp) y el peso de la muestra (mBt) y el volumen libre de muestra dentro del frasco (Vfr).

$$R = \frac{PMO_2}{R * T} * \frac{Vfr}{mBt} * |\Delta p| \quad (1)$$

El cálculo de la cantidad de CO₂ (Ecuación 2) emitido por la muestra de suelo se hace por estequiometría química, usando los pesos equivalentes (PE) de O₂ y CO₂ y la cantidad de O₂ calculada con la ecuación general de los gases:

$$CO_2 (mg) = \left[\frac{O_2(mg)}{PE(O_2)(eq g)} \right] / PE(CO_2)(eq g) \quad (2)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Emisión de CO₂

La cantidad de CO₂ que se registró durante la incubación de las diferentes muestras medidas con el OxiTop, fue mayor en el mantillo y menor en el suelo, situación que corrobora lo observado en estudios anteriores (Barrales-Brito, Etchevers, Hidalgo, Paz y Saynes, 2013). Los resultados fueron acordes al contenido de C de las muestras, en donde el mantillo tiene mayores porcentajes en comparación con el suelo (Figura 1).

Cuadro 1. Tratamientos evaluados en OxiTop.
Table 1. Evaluated treatments whit OxiTop.

Tipo de muestra	Volumen de frasco	Cantidad de muestra
	mL	g
M	500	10.0
M	500	5.0
M	500	1.0
M	500	0.5
HF	500	10.0
HF	500	5.0
HF	500	1.0
HF	500	0.5
S	500	10.0
S	500	5.0
S	500	1.0
S	500	0.5
M	250	10.0
M	250	5.0
M	250	1.0
M	250	0.5
HF	250	10.0
HF	250	5.0
HF	250	1.0
HF	250	0.5
S	250	10.0
S	250	5.0
S	250	1.0
S	250	0.5

M = mantillo; HF = horizonte de fermentación; S = suelo.
M = litter; HF = fermentation horizon; S = soil.

Con respecto al tipo de muestra, se observaron diferencias significativas en la cantidad de CO₂ en el orden de M > HF > Suelo, en todos los tratamientos. En la respiración diaria, con cantidades de 10.0 y 5.0 g de muestra, los valores fueron similares entre sí, pero diferentes de las de 1.0 y 0.5 g de muestra. Las diferencias se notaron a partir de los cuatro días de medición.

La producción de CO₂ en el mantillo estuvo asociada al tamaño de la muestra utilizada; 10.0 > 5.0 >> 1.0 > 0.5 g en los dos tipos de frascos del equipo. La respiración fue mayor en el frasco de 500 mL; en

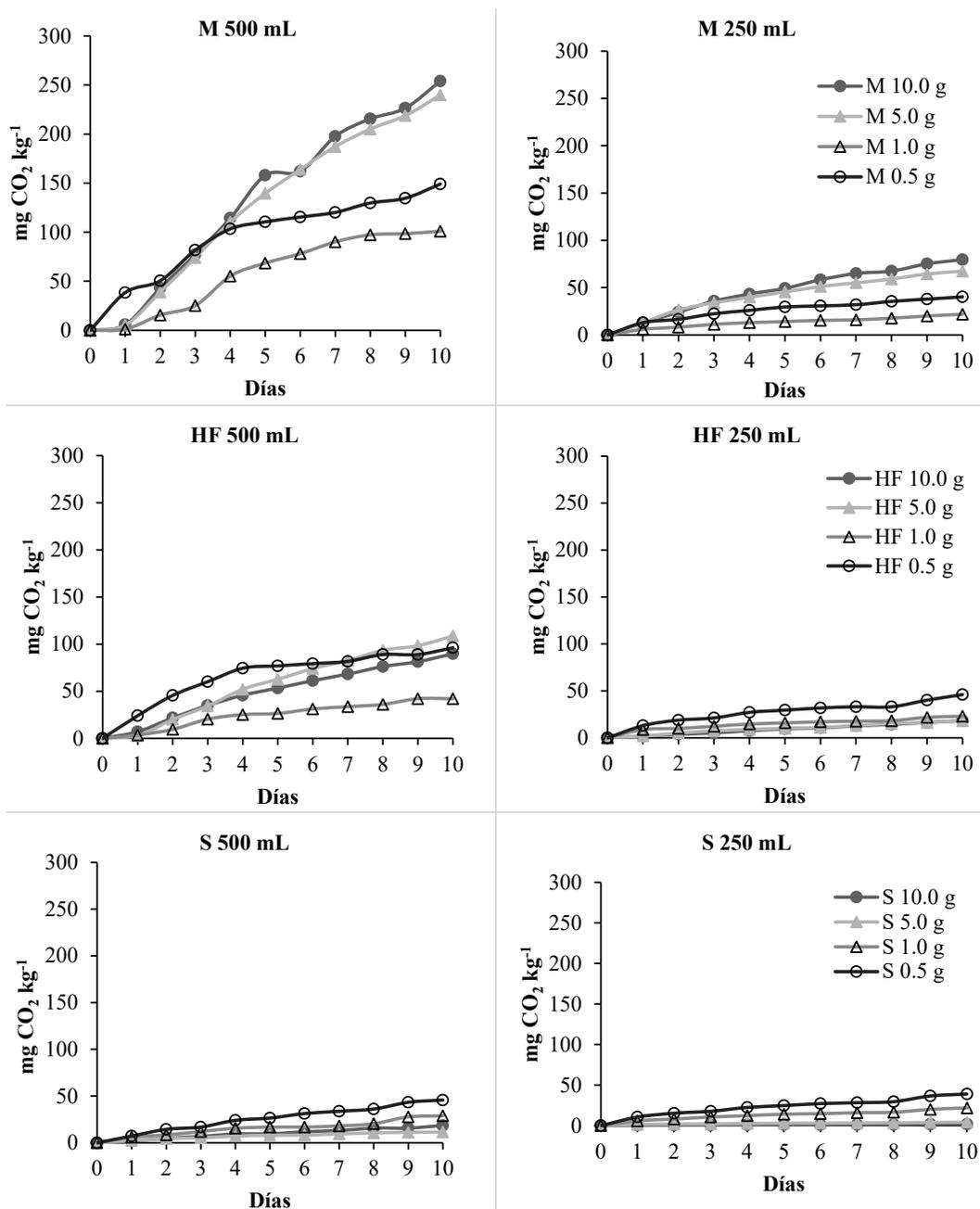


Figura 1. Emisión diaria (CO_2) acumulativa en los tratamientos.

Figure 1. Cumulative daily emission (CO_2) in the treatments.

el frasco de 250 mL la cantidad de CO_2 del mantillo se vio limitada por la menor cantidad de O_2 disponible para la respiración; la respiración del frasco de 250 mL fue menor entre 70 a 80 % aproximadamente, en comparación con el frasco de 500 mL. Los valores encontrados en mantillo, fueron similares a los encontrados por Barrales *et al.* (2013), quienes

encontraron que la respiración de mantillo es mayor que en los horizontes de fermentación.

En el HF, la cantidad de CO_2 disminuyó con el orden de $0.5 > 10.0 > 1.0$ g en el frasco de 500 mL Figura 1. En el caso del frasco de 250 mL, el orden fue de $0.5 > 1.0 > 10.0 > 5.0$ g. Se observó que las cantidades de 1.0 y 0.5 g presentaron diferencias a partir del tercer

día de incubación, mientras que en las cantidades de 10.0 y 5.0 g la respiración fue similar durante los 10 días de incubación (Frasco de 500 mL). En el frasco de 250 mL se observó que en las cantidades de 10.0, 5.0 y 1.0 g la respiración diaria fue similar en los 10 días; la cantidad de 0.5 g fue la que cambió a partir del día tres. La respiración en este tipo de muestra fue menor en comparación con el mantillo, por tener una mayor descomposición de materia orgánica (Barrales *et al.*, 2013). El frasco de 250 mL tuvo una disminución en la cantidad de CO₂ en comparación con el frasco de 500 mL, entre un 80 y 50% menos.

Tasa de Respiración

Las mayores tasas de respiración se encontraron en las muestras de mantillo con los frascos de 500 mL. En muestras orgánicas, la medición de la respiración con el equipo OxiTop es limitada, ya que demandan una mayor cantidad de O₂ disponible; además, en estas muestras fue necesario hacer ventilaciones periódicas para que no se agotara el oxígeno dentro del frasco. En el suelo, el contenido de C es menor que en las muestras de mantillo, pero el equipo registró pérdida de presión con muestras pequeñas, aunque cabe resaltar que el suelo es forestal, con altos contenidos de carbono (Cuadro 2).

Cantidad Total de CO₂

Con respecto al tamaño de frasco, se puede observar que la emisión fue aproximadamente del doble en frascos de 500 mL, en comparación con los frascos de 250 mL, en las muestras de mantillo y horizonte de fermentación (Figura 2). En el caso de muestras de suelo, los valores para cantidades de 1.0 y 0.5 g en frascos de 250 mL fueron muy similares a las registradas en los frascos de 500 mL.

CONCLUSIONES

La medición de la respiración del suelo en el equipo OxiTop aún no es muy utilizada y son pocos los estudios que han probado este equipo para medir respiración en laboratorio; sin embargo, tiene potencial para hacer estudios con tiempos cortos de medición, además de que la variabilidad de los datos es baja.

La respiración en las diferentes muestras fue la esperada, a mayores contenidos de C en la muestra, la respiración fue mayor. Además de que la cantidad de muestra en la medición también influyó en la cantidad de CO₂ al final de la prueba.

Es posible medir la respiración de muestras de suelo con cantidades menores a 1 g; sin embargo, el proceso se debe de cuidar para evitar errores en la medición. La ventaja de hacer mediciones con cantidades pequeñas

Cuadro 2. Tasas de mineralización, medidas en OxiTop en los tratamientos.
Table 2. Mineralization rates measured in OxiTop treatments.

Volumen frasco	Cantidad muestra	CO ₂							
		M		HF		S			
mL	g	mg kg ⁻¹ día ⁻¹	Ds	mg kg ⁻¹ día ⁻¹	Ds	mg kg ⁻¹ día ⁻¹	Ds		
500	10.0	25.4	6.4	9.0	2.3	1.8	0.6		
500	5.0	24.0	5.0	10.8	2.7	1.1	0.1		
500	1.0	10.1	3.1	4.2	0.2	2.9	0.6		
500	0.5	14.9	4.2	9.6	0.4	4.6	0.4		
250	10.0	8.0	1.4	1.8	0.6	0.2	0.3		
250	5.0	6.7	1.2	1.8	0.6	0.4	0.5		
250	1.0	2.2	0.1	2.3	0.2	2.2	0.3		
250	0.5	4.0	0.2	4.6	0.1	3.9	0.3		

Ds = desviación estándar. *M=Mantillo; HF = horizonte de fermentación; S= suelo.
Ds = standard deviation. *M=litter; HF = fermentation horizon; S = soil.

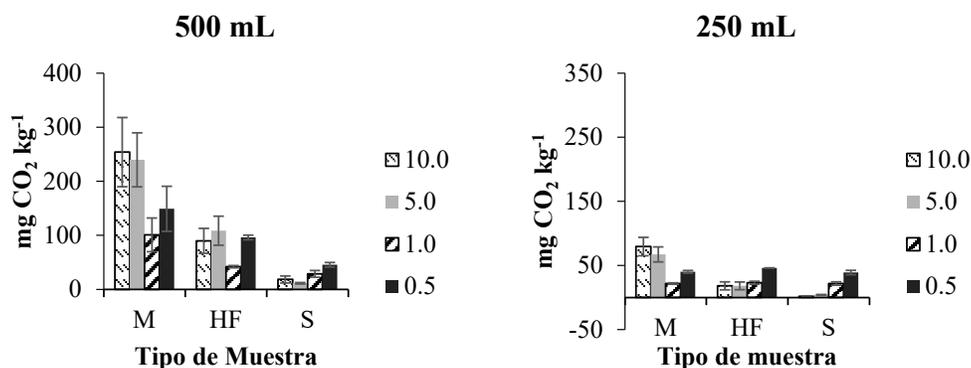


Figura 2. Comparación de la cantidad total de CO₂ en 10 días de incubación, con tres tipos de muestra y diferentes cantidades.

Figure 2. Comparison of total amount of CO₂ in 10 days of incubation with three sample types and different amounts.

es el de evitar hacer ventilaciones periódicas, ya que en caso de no hacerlos cuando son necesarias, existe un error en la medición.

Los resultados mostraron que es posible hacer las mediciones con los frascos de 500 mL. En las muestras de suelos, en ambos frascos, las cantidades de CO₂ registradas al final de la incubación fueron similares para el caso del suelo.

Se recomienda hacer las mediciones de muestras con altos contenidos de C en frascos de 500 mL, en donde la disponibilidad de O₂ es mayor que en los frascos de 250 mL. La disponibilidad de O₂ es más limitada en estos últimos frascos y, por lo tanto, requieren un mayor número de ventilaciones.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

DISPONIBILIDAD DE DATOS

Disponibles de los autores a solicitud justificada.

CONFLICTO DE INTERESES

No aplicable.

FONDOS

Financiamiento propio.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Diseño y escritura de la primera versión: E.B.B. y F.P.P. Revisaron el manuscrito y contribuyeron con aportaciones: J.E.B., A.V.E. y C.H.M.

AGRADECIMIENTOS

No aplicable.

LITERATURA CITADA

- Barrales-Brito, E., Etchevers-Barra, J. D., Hidalgo-Moreno, C. I., Paz-Pellat, F., & Saynes-Santillán, V. (2013). Emisión de BCO₂ de mantillo y horizonte de fermentación utilizando un respirómetro. En: F. Paz-Pellat, J. Wong-González, M. Bazán, & V. Saynes (eds.). *Estado actual del conocimiento del ciclo del carbono y sus interacciones en México: Síntesis a 2013*. Serie Síntesis Nacionales (pp. 102-108). Texcoco, Estado de México, México: PMC-COLPOS-UACH-ITESM. ISBN 978-607-96490-1-2.
- Barrales-Brito E., Etchevers-Barra, J. D., Hidalgo-Moreno, C., Paz-Pellat, F., & Saynes-Santillán, V. (2014). Determinación in vitro de la emisión de CO₂ en muestras de mantillo. *Agrociencia*, 48, 679-690.
- Bayona-Rodríguez, C. J., Ávila-Díazgranados, R. A., Rincon-Numpaqué, Á. H., & Romero-Angulo, H. M. (2015). CO₂ soil emission under different methods of oil palm replanting. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 68, 7619-7625.

- Cueva, A., Robles-Zazueta, C. A., Garatuza-Payan, J., & Yépez, E. A. (2016). Soil respiration in México: Advances and future directions. *Terra Latinoamericana*, 34(3), 253-269.
- Cueva, A., Bahn, M., Litvak, M., Pumpanen, Y., & Vargas, R. (2015). A multisite analysis of temporal random errors in soil CO₂ efflux. *Journal of Geophysical Research Biogeosciences*, 120(4), 737-751.
- Giardina, C. P., & Ryan, M. G. (2000). Evidence that decomposition rates of organic carbon in mineral soil do not vary with temperature. *Nature*, 404, 858-861.
- Guerrero-Ortiz, P. L., Quintero-Lizaola, R., Espinoza-Hernández, V., Benedicto-Valdés, G. S., & Sánchez-Colín, M. J. (2012). Respiración de CO₂ como indicador de la actividad microbiana en abonos orgánicos de *Lupinus*. *Terra Latinoamericana*, 30(4), 355-362.
- Haapea, P., & Tuhkanen, T. (2006). Integrated treatment of PAH contaminated soil-by-soil washing, ozonation and biological treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 136(2), 244-250. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.12.033>
- Hidalgo, C., Paz-Pellat, F., & Etchevers, J. D. (2012). Efecto de las energías de dispersión en la distribución del carbono orgánico por fracciones físicas del suelo. En: Paz, F., M. Bazán y V. Saynes (Eds.). *Dinámica del Carbono en el Suelo 2012. Serie Avances Temáticos del Ciclo del Carbono y sus Interacciones* (pp. 74-80). Texcoco, Estado de México, México: Programa Mexicano del Carbono. ISBN 978-607-96490-05.
- Jiménez, D. E., Saynes, V., Hidalgo, C., & Etchevers, J. D. (2012). Protocolo de operación para medición de carbono en suelo. En: F. Paz, M. Bazán y V. Saynes (Eds.). *Dinámica del Carbono en el Suelo 2012. Serie Avances Temáticos del Ciclo del Carbono y sus Interacciones* (pp. 81-86). Texcoco, Estado de México, México: Programa Mexicano del Carbono. ISBN 978-607-96490-05.
- Lankreijer, H., Janssens, L. A., BuchMann, N., Longdoz, B., Epron, D., & Dore, S. (2003). Measurement of soil respiration. In: R. Valentini (Ed.). *Fluxes of Carbon, Water and Energy of European Forests* (pp. 37-49). Heidelberg, Germany: Springer. ISBN: 3-540-43791-6
- Lee, B. H., & Scholz, M. (2007). What is the role of *Phragmites australis* in experimental constructed wetland filters treating urban runoff? *Ecological Engineering*, 29, 87-95.
- Paz F., Covalada, S., Hidalgo, C., Etchevers, J., & Matus, F. (2016). Modelación simple y operativa de la distribución de carbono orgánico por fracciones físicas del suelo. *Terra Latinoamericana*, 34(3), 321-337.
- Paz, F., Covalada, S., Hidalgo, C., & Etchevers, J. (2012). Modelación de la distribución del carbono orgánico en las fracciones físicas de los suelos usando solo el carbono orgánico total. En: F. Paz, M. Bazán, & V. Saynes (Eds.). *Dinámica del Carbono en el Suelo 2012. Serie Avances Temáticos del Ciclo del Carbono y sus Interacciones* (pp. 93-99). Texcoco, Estado de México, México: Programa Mexicano del Carbono. ISBN 978-607-96490-05.
- Paz, F., & Etchevers, J. (2016). Distribución a profundidad del carbono orgánico en los suelos de México. *Terra Latinoamericana*, 34(3), 339-355.
- Ryan, M. G., & Law, B. E., (2005). Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biogeochemistry*, 73, 3-27.
- Wang, Z., Wan, X., Tian, M., Wang, X., Chen, J., Chen, X., ... Hou, F. (2019). Response of soil respiration and soil microbial biomass carbon and nitrogen to grazing management in the Loess Plateau, China. *Biogeosciences Discussions*, 2019, 1-29. <https://doi.org/10.5194/bg-2018-531>