XXV CONGRESO ARGENTINO DE LA CIENCIA DEL SUELO
"Ordenamiento Territorial: un desafío para la Ciencia del Suelo"
Río Cuarto, 27 de Junio - 01 de Julio de 2016

DETERMINACIÓN DEL NITRÓGENO POTENCIALMENTE MINERALIZABLE: UNA METODOLOGÍA SIMPLE Y RÁPIDA

JUAN MANUEL MARTÍNEZ[1,3*]; JUAN GALANTINI[2]; MATÍAS DUVAL[1] & FERNANDO LÓPEZ[1,3]

[1]Conicet- Cerzos; [2]Comisión de Investigaciones Científicas (CIC)-CERZOS; [3]Dpto. de Agronomía-Universidad Nacional del Sur. *San Andrés 800-Bahía Blanca, Buenos Aires, 0291-4595102.
* jmmartinez@criba.edu.ar.

Palabras Clave: Mineralización del suelo; Digestiones con acido diluido, Siembra directa

Resumen

La mayoría de las estimaciones del aporte por mineralización se basan en incubaciones aeróbicas, con condiciones controladas por períodos prolongados. Esta metodología permite determinar la fracción del nitrógeno (N) del suelo que es susceptible de ser transformada a formas minerales, también denominada nitrógeno potencialmente mineralizable (Npm). Una metodología rápida y simple fue desarrollada para estimar el Npm a partir de digestiones parciales con diferentes concentraciones de acido sulfúrico(H_2SO_4). La hipótesis planteada es que mediante digestiones suaves de los suelos con H_2SO_4diluído se puede estimar el Npm de manera certera. El objetivo del trabajo fue evaluar mediante digestiones del suelo con acido sulfúrico con diferentes concentraciones su relación con el Npmpara obtener un indicador de la mineralización potencial de rápido procedimiento y bajo costo. Durante los años 2010, 2011 y 2012 se muestrearon nueve lotes de productores bajo siembra directa destinados al cultivo de trigo (*Triticumaestivum* L.) ubicados en el sudoeste (SO) de la región pampeana. Los suelos fueron muestreados durante la siembra del trigo en 0-20 cm.Se realizó una incubación aeróbica de largo plazo, durante seis ciclos de humedecimiento y secado, con una duración aproximada que osciló en el rango entre 21-27 semanas, para los suelos con texturas gruesas y finas, respectivamente.Los ajustes obtenidos demostraron valores diferentes, observándose el mayor para 0,5 mol L^{-1}> 6mol L^{-1}> 1mol L^{-1}> 12mol L^{-1}> 24 mol L^{-1}> 0,1 mol L^{-1}=Nt. Debido al elevado coeficiente de explicación entre el Npm y la dilución 0,5 mol L^{-1}, se concluyó que para las condiciones de estos suelos, esta dilución de acido podría utilizarse con un buen nivel de precisión para predecir el Npm (R^2=0,90). Esta metodología permitiría optimizar la determinación del Npm en un corto plazo y a un bajo costo.

Introducción

La mayoría de las estimaciones del aporte por mineralización se basan en incubaciones aeróbicas, con condiciones controladas por períodos prolongados (Stanford & Smith, 1972). Esta metodología permite determinar la fracción del N del suelo que es susceptible de ser transformada a formas minerales, también denominada nitrógeno potencialmente mineralizable (Npm). El Npmes la fracción del N orgánico considerada como una estimación estandarizada de la mineralización potencial del suelo (Curtin& Campbell, 2008).

Desde largo tiempo se han desarrollado diversos métodos químicos y biológicos, rápidos y sencillos para identificar el potencial de mineralización proveniente del N orgánico, que han tenido diversos niveles de éxito. Entre los métodos químicos, podemos citar al obtenido mediante una extracción química con soluciones salinas débiles (Keeney & Bremner, 1966), y soluciones más fuertes (Gianello & Bremner, 1986), con posterior destilación. Los extractantes químicos no pueden emular la acción de los microorganismos, ni logran incluir factores ambientales. En cambio, los índices biológicos como lo son las incubaciones anaeróbicas, son importantes debido a su sensibilidad y rápida respuesta para evidenciar cambios que se producen en el suelo por el manejo (Fabrizzi *et al.*, 2003). Según Bushong *et al.* (2007) y Soon*et al.* (2007), es la mejor metodología y la más utilizada, después de la incubación aeróbica de largo plazo. Liang *et al.* (2004) informaron que el Nt del suelo puede ser utilizado como índice de mineralización de N.

Debido a esto es necesaria una metodología de corta duración que permita explicar el Npm determinado por el método de largo plazo. Debido a que el Npm es una porción del Nt, la hipótesis planteada es que mediante digestiones suaves de los suelos con ácido sulfúrico diluido se puede estimar el N potencialmente mineralizable. El objetivo del trabajo fue evaluar mediante digestiones del suelo con acido sulfúrico con diferentes concentraciones su relación con el N potencialmente mineralizable para obtener un indicador de la mineralización potencial de rápido procedimiento y bajo costo.

Materiales y Métodos

Durante los años 2010, 2011 y 2012 se muestrearon nueve (9) lotes de productores bajo siembra directa destinados al cultivo de trigo donde se realizaron ensayos de fertilización con N, ubicados en el SO de la Región Pampeana Argentina. El diseño del ensayo fue de tres bloques completamente aleatorizados. Dentro de cada bloque, en cada una de las parcelas testigo (sin aplicación de N), se tomaron muestras de suelo de 0-20 y 20-60 cm.

Con respecto a los suelos tomados durante la siembra, se analizaron en 0-20 cm los parámetros químicos: COT, mediante analizador automático Leco; nitrógeno total del suelo (Nt) (Bremner, 1996); Relación C:N; pH, con una suspensión suelo-agua 1:2.5; fosforo extraíble (Pe) (Bray & Kurtz, 1945). Se determinó la MO mediante el valor del COT multiplicado por el factor 1,72 (Galantini, 2005). La textura se realizó por el método de la pipeta (Gee & Bauder, 1986). Los datos analíticos de los sitios muestreados se detallan en la Tabla1.

Tabla1. Propiedades químicas y físicas de los 9 sitios estudiados para la profundidad de 0-20 cm y 0-60 cm para nitrógeno inorgánico.

				Textura		
	MO	Pe	pH	arena	limo	arcilla
Sitios	g kg^{-1}	mg kg^{-1}		g kg^{-1}		
1	38	20	7,0	414	380	206
2	26	26	7,4	567	399	34
3	33	15	6,7	368	404	228
4	23	19	6,2	751	154	95
5	35	22	6,2	466	321	214
6	31	14	6,4	541	284	176
7	27	26	6,0	615	177	208
8	54	10	7,6	254	538	208
9	26	10	6,3	510	266	225

MO, materia orgánica del suelo (g kg^{-1}); Pe, Fosforo extraíble (mg kg^{-1}).

Mineralización de nitrógeno

Se realizó una incubación aeróbica de largo plazo en las muestras de 0-20 cm tomadas al momento de la siembra, siguiendo el protocolo de Honeycutt (2005) y Griffin *et al.* (2008).

El procedimiento consistió en pesar 250.00 g de masa de suelo seco al aire, que fueron colocados en frascos de vidrio de 1 L. Se utilizaron 3 replicas y un control para realizar el seguimiento de la humedad (H). Se estimó la porosidad total (Klute, 1986) de los suelos muestreados secos al aire y por porcentaje en masa de suelo se determinó el 60% de PT, siendo un valor aproximado a la capacidad de campo (CC). Se ajustó la H gravimétrica actual de los suelos en los frascos a 60% de la PT y se incubó durante seis ciclos de humedecimiento y secado con una T de 25°C. Diariamente, se realizaba el pesaje de las muestras hasta el momento en que la H actual llegaba al 30% de la PT, estimada por diferencias de masa. Luego se rehidrataban las muestras distribuyendo el riego en forma homogénea hasta el 60% calculado por masa de suelo, se dejaba estabilizar unas horas y luego se procedía a muestrear con un sacabocados para la determinación de N inorgánico ($N\text{-}NO_3^-$ + $N\text{-}NH_4^+$) mediante destilación por arrastre de vapor (Mulvaney, 1996). Luego de transcurridos los seis ciclos de humedecimiento y

secado, se determinó el Npm y *k* con software informático INFOSTAT, mediante regresiones no lineales (Ecuación 1), asumiendo que el N mineralizado acumulado (Nmin) se comportaba en forma exponencial de primer orden (Stanford & Smith, 1972):

(- -) [Ec. 1]

La duración aproximada de las incubaciones osciló en el rango entre 21-27 semanas, para los suelos con texturas gruesas y finas, respectivamente. Wang et al. (2003) sugirió que las incubaciones deberían ser de al menos 24 semanas para obtener valores confiables de Npm.

Digestiones suaves de suelo con diferentes concentraciones de acido

Consistió la modificación del método propuesto por Bremner (1996). Básicamente, se realizó una digestión suave de suelo con H_2SO_4 con diferentes concentraciones (0,1; 0,5; 1; 6; 12 y 24 mol L^{-1}). Se pesó 0,250 g de suelo seco al aire por triplicado y se agregaron 3 mL de H_2SO_4 con las seis diferentes concentraciones. Se digirió la suspensión durante 4 h a 100°C en un bloque digestor. Luego de enfriado, se destiló todo el digesto mediante arrastre de vapor, liberando al N de la muestra mediante 3 mL de Na(OH) 10 mol L^{-1}. Se destiló durante 3 minutos y se capturó al amonio en 5 mL de acido bórico indicador. Luego se procedió a la titulación acido-base del destilado (Bremner, 1996).

Análisis estadístico

El análisis de regresión no lineal se utilizó para la obtención del Npm mediante la Ecuación 1. Se realizó ANOVA simple para comparar cada dilución del ácido, mediante comparación de medias por DMS de Fisher ($p<0,05$). Se realizó la estadística descriptiva para cada concentración de acido empleada. Para todos los análisis estadísticos se utilizó utilizando el software INFOSTAT (Di Rienzo*et al.*, 2013).

Resultados y Discusión

Los valores de Npm detectados demuestran diferencias edafoclimáticas entre los sitios estudiados (CV= 45%) (Figura 1). El valor promedio fue de 117,5 mg kg^{-1}, con un mínimo de 26,5 mg kg^{-1} hallado en el suelo 4 (suelo con mayor contenido de arena) y un máximo de 220,7 mg kg^{-1} hallado en el suelo 8 (suelo con menor contenido de arena). Galantini *et al.* (2004) hallaron que cuando mayores eran los contenidos de fracción granulómetrica fina del suelo (limo+arcilla), mayores eran las fracciones orgánicas del C. Mientras que otros autores (Sharifi *et al.*, 2007; Nyiraneza *et al.*, 2011) reflejaron las relaciones elevadas del Npm con COT y sus fracciones. Teniendo en cuenta la textura del suelo, Dessureault-Rompré *et al.* (2010) y Mariano *et al.* (2013) reportaron relaciones negativas entre arenas y Npm.

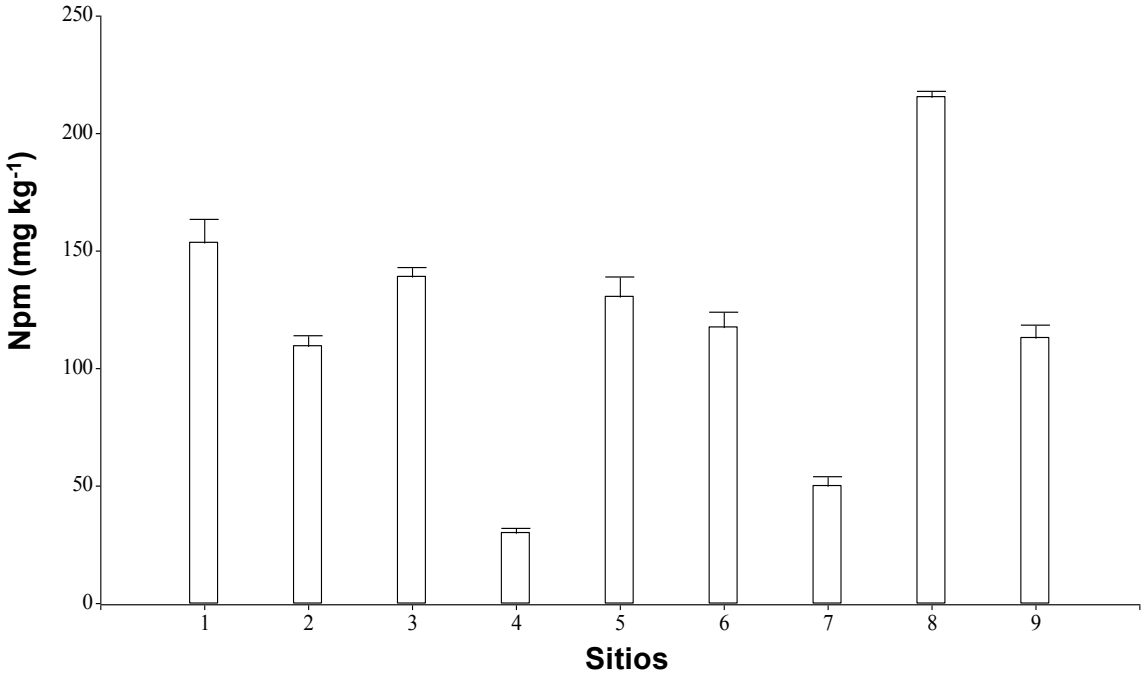

Figura 1. Nitrógeno potencialmente mineralizable (Npm) (media±desvío estándar) por sitio.

Nitrógeno orgánico extraído por las diluciones

Los datos resultantes se encuentran en la Tabla2. Los CV fueron poco variables, con rangos entre 30 y 38%. El menos variable de todos fue el Nt, mientras que el más variable fue el más diluido (0,1 mol L^{-1}). El análisis de comparación de las medias para cada dilución de ácido, indicó diferencias altamente significativas entre las mismas ($p<0,001$). Se hallaron valores estadísticamente similares entre 0,5 y 1 mol L^{-1}, y entre 6, 12 y 24 mol L^{-1} (Tabla2).

Tabla 2. Medidas resumen de las diferentes concentraciones de ácido y del nitrógeno total.

Concentración del ácido (mol L^{-1})	*n*	media (mg kg^{-1})	DE	CV	mín	máx.
0,1	27	137,9**a**	50,9	37	33,8	214,9
0,5		169,9**ab**	56,5	33	80,1	282,1
1		215,7**b**	81,0	38	113,8	424,2
6		459,3**c**	133,7	29	306,8	833,3
12		503,0 **c**	156,6	31	309,4	861,9
24		502,5**c**	149,3	30	295,8	877,7
Nt		1859	499,9	27	1315	3064

DE, desvío estándar; CV, coeficiente de variación; mín, mínimo; máx., máximo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre diluciones de acido ($p<0,001$).

Los ajustes obtenidos demostraron valores diferentes, observándose el mayor para 0,5mol L^{-1}> 6mol L^{-1}> 1mol L^{-1}> 12mol L^{-1}> 24mol L^{-1}> 0,1mol L^{-1}=Nt (Tabla3). Debido al elevado coeficiente de explicación entre el Npm y la dilución 0,5mol L^{-1}, se concluyó que para las condiciones de estos suelos, esta concentración de acido es un indicador certero del Npm.

Tabla3. Regresiones lineales entre todas las diluciones y nitrógeno total con el nitrógeno potencialmente mineralizable.

Variable	regresora	constante	error estándar	pendiente	error estándar	R^2	p- valor
Npm	0,1 mol L^{-1}	-2,0	34,7	0,87	0,24	***0,66***	0,0082
	0,5 mol L^{-1}	-44,1	21,1	0,95	0,12	***0,90***	*0,0001*
	1mol L^{-1}	-11,5	31,3	0,61	0,14	***0,73***	*0,0033*
	6mol L^{-1}	-47,9	35,4	0,36	0,07	***0,77***	*0,0019*
	12mol L^{-1}	-30,7	37,4	0,29	0,07	***0,71***	*0,0044*
	24mol L^{-1}	-34,9	41,2	0,30	0,08	***0,68***	0,0064
	Nt	-45,4	47,1	0,09	0,02	***0,65***	0,0091

Ecuaciones: Nitrógeno potencialmente mineralizable (Npm)= ax- b, siendo x= N orgánico extraído por las concentraciones de H_2SO_4.

Conclusiones

Para suelos con iguales condiciones edafoclimáticas la digestión suave con ácido 0,5 mol L^{-1} podría utilizarse con un buen nivel de precisión para predecir el Npm. Esta metodología permitiría optimizar la determinación del Npm en un corto plazo y a un bajo costo.
Como trabajo a futuro habría que incrementar el estudio a suelos con otras características edáficas para evaluar la sensibilidad de la nueva metodología.

Bibliografía

Bray, R & L Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil. Soil Sci. 59: 39-45.

Bremner, JM. 1996. Nitrogen- Total. In: DL Sparks (ed.) Methods of soil analysis. Part 3.Chemical Methods. Pp. 1085-1121. Soil Science Society of America, Madison, Wiscosin, EEUU.

Bushong, JT; RJ Norman; WJ Ross; NA Slaton; CE Wilson & EE Gburr. 2007. Evaluation of several indices of potentially mineralizable soil nitrogen. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 38: 2799-2813.

Curtin, D&CA Campbell. 2008. Mineralizable nitrogen. In: MR Carter et al. (eds.) Soil sampling and methods of analysis. Pp. 599-606. CRC Press, Boca Ratón, Florida, EEUU.

Dessureault-Rompré, J; BJ Zebarth; DL Burton; M Sharifi; J Cooper; CA Grant & CF Drury. 2010. Relationships among mineralizable soil nitrogen, soil properties, and climatic indices. SoilSci. Soc.Am. J. 74: 1218-1227.

Di Rienzo, JA; F Casanoves; MG Balzarini; L Gonzalez; M Tablada & CW Robledo. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

El Gharous, M; RL Westerman& PN Soltanpour. 1990. Nitrogen mineralization potential of arid and semiarid soils of Morocco. Soil Sci. Soc. Am. J. 54: 438-443.

Fabrizzi, K; A Morón & F Garcia.2003. Soil carbon and nitrogen organic fractions in degraded vs. Non-degraded Mollisols in Argentina. Soil Sci. Soc. Am. J. 67: 1831-1841.

Galantini, JA; N Senesi; G Brunetti& R Rosell. 2004. Influence of texture on the nitrogen and sulphur status and organic matter quality and distribution in semiarid Pampean grassland soils. Geoderma 123: 143-152.

Galantini, J. 2005. Separación y análisis de las fracciones orgánicas. En:L Marban& S Ratto (eds)Tecnologías y análisis de suelos. Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo. Capital Federal, Buenos Aires, Argentina.

Gee, GW & JW Bauder. 1986. Particle-size analysis. In: A Klute (ed)Methods of Soil Analysis. Part 1: Physical and Mineralogical Methods. Pp. 383-411. Soil Science Society of America, Madison, Wiscosin, EEUU.

Gianello, C& JM Bremner. 1986. Simple chemical method of assessing potentially available organic nitrogen in soil. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 17: 195-214.

Griffin, TS; CW Honeycutt; SL Albrecht; KR Sistani; HATorbert; BJ Wienhold; BL Woodbury; RK Hubbard & JM Powell. 2008. Nationally-coordinated evaluation of soil nitrogen mineralization rate using a standardized aerobic incubation protocol. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 39: 257–268.

Honeycutt, CW; TS Griffin; BJ Weinhold; B Eghball; SL Albrecht; JM Powell; BL Woodbury; KR Sistani; RK Hubbard; HATorbert; RA Eigenberg; RJ Wright & MD Jawson. 2005. Protocols form nationally coordinated laboratory and field research on manure nitrogen mineralization. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 36: 2807-2822.

Keeney, D& JMBremner. 1966. Determination and isotoperatio analysis of 10 different forms of nitrogen in soil: 3. Exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by extraction-distillation methods. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 30: 577-582.

Keeney, DR. 1982. Nitrogen management for maximum efficiency and minimum pollution. In: FJ Stevenson (ed)Nitrogen in agricultural soils. Pp. 605–649. Soil Science Society of America, Madison, Wiscosin, EEUU.

Klute, A. 1986. Water retention: Laboratory methods. In: A Klute (ed) Methods of soil analysis. Part 1.Physical Methods. Pp. 597-618. Soil Science Society of America, Madison, Wiscosin, EEUU.

Liang, BC; BG McConkey; CA Campbell; D Curtin; GP Lafond; SA Brandt & AP Moulin. 2004. Total and labile soil organic nitrogen as influenced by crop rotations and tillage in Canadian prairie soils. Biol. Fert. Soils 39: 249-257.

Mariano, E; PC OcheuzeTrivelin; JM Leite; MX Vieira Megda; R Otto & H CoutinhoJunqueira Franco. 2013. Incubation methods for assessing mineralizable nitrogen in soils under sugarcane. Rev. Bras. Ciênc. Solo37: 450-461.

Mulvaney, RL. 1996. Nitrogen-Inorganic forms. In: DL Sparks et al. (eds) Methods of Soil Analysis. Part 3.Chemical Methods. Pp. 1123-1184. Soil Science Society of America, Madison, Wiscosin, EEUU.

Sharifi, M; BJZebarth; DL Burton; CA Grant & JM Cooper. 2007. Evaluation of some indices of potentially mineralizable nitrogen in soil. Soil Sci. Soc. Am. J. 71: 1233-1239.
Soon, YK; GW Clayton & WA Rice. 2001. Tillage and previous crop effects on dynamics of nitrogen in a wheat–soil system. Agron. J. 93: 842–849.

Stanford, G., and S. Smith. 1972. Nitrogen mineralization potentials of soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 36: 465-472.

Wang, WJ; CJ Smith & D Chen. 2003. Towards a standardised procedure for determining the potentially mineralisable nitrogen of soil. Biol.Fert. Soils 37: 362-374.