

RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE EL EFECTO DE CULTIVOS DE COBERTURA Y LA FERTILIZACIÓN EN PROPIEDADES DEL SUELO RELACIONADAS AL CICLO DEL NITRÓGENO

Boccolini, M. ⁽¹⁾; B. Aimetta ⁽²⁾; C. Lorenzon ⁽¹⁾; C. Cazorla ⁽¹⁾; T. Baigorria ⁽¹⁾
B. Conde ⁽¹⁾ y V. Faggioli ⁽¹⁾

(1) INTA EEA Marcos Juárez, Ruta 12 Km. 1.5 Marcos Juárez (Cba.) CP 2580, CC21 mboccolini@mjuarez.inta.gov.ar; (2) Estudiante de agronomía Universidad Nacional de Villa María, Av. Arturo Jauretche 1555 Villa María (Cba.); bethaniaaimetta@hotmail.com

RESUMEN

Los residuos de cultivos de cobertura (CC) y la fertilización constituyen importantes fuentes de aporte de nitrógeno (N) al suelo afectando la magnitud de la población y actividad enzimática de los microorganismos que intervienen en el proceso de nitrificación y por ende en la tasa de acumulación de nitrógeno mineral. El propósito de este trabajo fue determinar el efecto de los CC y el aporte de N sobre propiedades del suelo relacionadas al ciclo del N. El estudio se realizó en un ensayo de rotación Maíz –Soja de la estación experimental INTA Marcos Juárez iniciado en 2008, sobre un suelo Argiudol típico. Los tratamientos fueron dos cultivos de cobertura y un testigo (Barbecho), Triticale (*X Triticosecale*) fertilizado con 90 kg de N ha⁻¹ y Vicia (*Vicia sativa*) fertilizado con 5.5 Kg. N ha⁻¹ al igual que el testigo. El muestreo se realizó previo a la siembra del cultivo de soja (*Glycine max*). Preliminarmente se observó que tanto el número de bacterias como su actividad enzimática potencial y el contenido de N-NO₃⁻ de suelo en el tratamiento con Triticale, alcanzaron valores significativamente superiores a los del resto de los tratamientos; manifestándose un claro efecto sobre la comunidad nitrificante, dado principalmente por la mayor aplicación de N en Triticale. Así mismo, existe una tendencia de aumento del potencial de nitrificación con el transcurso del tiempo en el tratamiento con Vicia. Un aporte metodológico importante es la extensión del tiempo de incubación en la medición del potencial de nitrificación de suelo.

PALABRAS CLAVE: bacterias nitrificantes, potencial de nitrificación, nitratos

INTRODUCCIÓN

Con la elevada participación de cultivos estivales, los rastrojos son la única fuente de energía para los microorganismos del suelo, y dependiendo de su relación C/N será el proceso de mineralización o inmovilización y el aporte de nutrientes al próximo cultivo (Bolger *et al.*, 2001). Los cultivos de cobertura (CC) además de ofrecer protección física al suelo, capturan los nitratos (NO₃⁻) y lo incorporan a su biomasa, reduciendo la disponibilidad de nitrógeno (N) a la siembra de los cultivos estivales, minimizando su lixiviación. Finalmente la descomposición y posterior mineralización de los residuos de los CC entrega el N durante el ciclo de los cultivos estivales (Gliessman, 2002).

La cantidad y calidad de los residuos influyen en la velocidad de descomposición de los mismos. Se sabe que en rastrojos con alta relación C/N el N es liberado más lentamente que el C, lo que produce un aumento en la concentración de N del residuo a medida que avanza el proceso. El caso contrario ocurre cuando la relación C/N es baja (Frioni, 2006). El ciclo, los flujos y las tasas de renovación del N, están regulados por la actividad y número de la biota del suelo y los factores que la condicionan son la temperatura, la humedad, pH, la disponibilidad de sustrato y las prácticas de manejo (Coyne, 1999). La fertilización es una práctica muy generalizada en los sistemas agrícolas para reponer los nutrientes extraídos por el cultivo y así incrementar la producción. Constituye uno de los factores dentro de las prácticas de manejo que afecta la magnitud de la población de microorganismos, la intensidad de la actividad biológica y por ende la tasa de acumulación de nitrógeno mineral (Saubinet y Giambiagi, 1991 en Abril, 1995). Experimentos recientes realizados tanto en incubaciones de suelos agrícolas como en ciclos de cultivo a campo para determinar el efecto de la fertilización sobre las bacterias nitrificantes, muestran una rápida respuesta de la comunidad ante la aplicación de fertilizantes nitrogenados en el suelo (Avrahami *et al.*,

2003; Cavagnaro *et al.*, 2008; Abril y Roca, 2008). Existen numerosos estudios realizados en la región pampeana (Baigorria y Cazorla, 2009; Fargioni *et al.*, 2009) sobre el rol de los CC en el rendimiento de distintos cultivos estivales, pero no se han reportado trabajos que caractericen específicamente el impacto sobre el ciclo del nitrógeno y modificaciones en el suelo. El objetivo de este trabajo fue determinar efecto de los cultivos de cobertura y el aporte de nitrógeno a la resiembra del cultivo de soja, sobre algunas propiedades del suelo relacionadas al ciclo del nitrógeno, con especial énfasis en las bacterias nitrificantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA Marcos Juárez en la Provincia de Córdoba. El clima presenta una temperatura media anual de 16,9° C con una precipitación media anual de 894 mm. El suelo es un Argiudol típico perteneciente a la serie Marcos Juárez, oscuro, profundo y bien drenado de textura franco limosa y con capacidad de uso 1. Las determinaciones se realizaron en muestras de suelo de un ensayo iniciado en 2008 que tiene una rotación Maíz –Soja, con tres repeticiones. El diseño experimental fue en parcelas divididas, donde el factor principal es la especie utilizada como CC y el sub factor es la fertilización en el cultivo estival. En soja se fertilizó con 29 Kg. P ha⁻¹ y 20 Kg. S ha⁻¹. Los tratamientos en estudio fueron Vicia (V), Triticale (T) y un testigo sin CC llamado Barbecho, todos fertilizados y en siembra directa. Los CC fueron fertilizados al voleo a criterio de reposición. En Triticale se aplicó 90 kg de N ha⁻¹ (urea 46% N) y en Vicia y Testigo 5.5 Kg. N ha⁻¹ (11% N total). Se recolectaron un total de 18 muestras de suelo previo a la siembra de soja, es decir, en la etapa de floración del CC a un mes de realizada la fertilización. Triticale se encontraba al final del estadio de antesis y Vicia presentaba un 80 % de floración. Las muestras fueron extraídas a 0-5 cm de profundidad con barreno de 7,5 cm de diámetro, realizando 4 piques por parcela. En el procesamiento fueron secadas a temperatura ambiente por 24 hs como mínimo y tamizadas por 4 mm para la medición de la actividad potencial nitrificante y por 2 mm para el resto de las determinaciones. Previamente al secado fueron extraídos aproximadamente 50 gr por muestra para la determinación del contenido de humedad del suelo. Además se midió pH. Se determinó la abundancia de microorganismos nitrificadores por el método de recuento del Número Más Probable (NMP) en medio líquido con sulfato de amonio a 28 °C durante 21 días (Pochón y Tardieux, 1962). El Potencial de Nitrificación de suelo se midió con la utilización conjunta de dos métodos. “Shaken Soil Slurry Method” según Hart *et al.*, (1994) en (Drury *et al.*, 2008) en el cual una muestra de suelo se incuba con 1 mM de NH₄⁺ (sulfato de amonio) a 25 °C y en condiciones óptimas de aireación. Posteriormente se realiza la extracción de los nitratos generados en intervalos regulares de tiempo a las 0, 2, 6, 12, 22 y 24 hs por centrifugación de la muestra de suelo. Con el método del Ácido Fenoldisulfónico (Bremner, 1965), se determinó el contenido de nitratos generados en cada hora y los presentes en el suelo en el momento de la toma de muestras. Para el análisis estadístico de las variables número de bacterias, nitratos de suelo y pH se realizó ANOVA considerando los tratamientos y las repeticiones. Además se utilizó el Test LSD de Fisher para la comparación de medias y se realizaron análisis de correlación de Pearson entre número de bacterias, potencial al tiempo 0 de incubación y contenido de nitratos de suelo con el paquete estadístico INFOSTAT.

En el análisis del potencial de nitrificación se utilizó un Modelo Lineal Mixto considerando la correlación existente entre observaciones en el tiempo de una misma muestra mediante el software SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La biomasa y actividad de los microorganismos que intervienen en el proceso de nitrificación permiten estimar la capacidad de mineralización y disponibilidad de N en el suelo (Diosma y Balatti, 1998). En esta primera etapa del estudio, a la resiembra del cultivo de soja, se observó que existe un efecto significativo en el número de bacterias nitrificantes determinado por los tratamientos (P= 0.04). El tratamiento de Triticale fertilizado con 90 Kg N ha⁻¹ difiere significativamente presentando mayor número con respecto a Vicia y Testigo

(ambos con 5.5 Kg de N ha⁻¹), con un valor intermedio y menor de bacterias respectivamente (Figura 1a). Este aumento en el tamaño de la población nitrificante esta claramente determinado por la incorporación de urea al suelo. La actividad nitrificante potencial también fue afectada significativamente según el tratamiento aplicado (P= 0.04). En Triticale se observó el mayor potencial de nitrificación de suelo, mientras que Vicia y Testigo presentaron menor potencial (Figura 1b).

Este resultado está determinado por la fertilización con urea en Triticale, la cual favorece a una mayor actividad de potencial (Frioni, 2006) determinada por un incremento en la abundancia de bacterias. Una correlación positiva y significativa fue encontrada entre el número de bacterias y el potencial de nitrificación ($r= 0.52$, $P= 0.01$). Los resultados manifiestan la capacidad que tienen las bacterias nitrificantes de responder rápidamente ante un estímulo como lo es la incorporación de una fuente nitrogenada como sustrato. Diosma y Balatti, (1998), obtuvieron un incremento en la abundancia de nitrificantes y de nitratos de suelo como medida de actividad nitrificante, luego de la adición de urea (90 Kg N ha⁻¹) al momento de la siembra de trigo con respecto a aquellas parcelas fertilizadas con 45 Kg N ha⁻¹. Avrahami *et al* (2003) y Shi y Norton (2000) luego de realizar incubaciones de suelos agrícolas con distinta duración, encontraron que el potencial de nitrificación fue superior en aquellos tratamientos fertilizados con sulfato de amonio u otra fuente nitrogenada comercial que sin fertilizar o con enmiendas.

En la Figura 1b, se observa que a medida que transcurre el tiempo, las diferencias de potencial entre tratamientos van disminuyendo, estadísticamente esto se ve reflejado por el efecto significativo de la interacción tratamiento por hora (Tabla 1).

Es decir, los tratamientos no responden todos de la misma manera y existe una tendencia a que cambien su potencial en algún momento en el tiempo. Dicha tendencia se observa alrededor de las 24 hs, donde Vicia tiende a aumentar su actividad con respecto a Triticale y el Testigo. Esto puede ser debido a que, bajo ciertas condiciones, las bacterias nitrificantes pueden tener fases de menor actividad y luego volverse totalmente activas, indicando que podrían alcanzar la máxima actividad hasta después de varias horas de incubación (Bollmann, 2006).

Será necesaria entonces la toma de datos trascurridas las 24 hs de incubación en futuros trabajos, para observar los posibles cambios en la actividad de nitrificación. Además este resultado manifiesta cuan activa puede ser la población aún estando en bajo número, es decir, que la carga de nitrificantes en el suelo es suficiente para que ocurra una intensa mineralización del N (Abril *et al.*, 1990). El contenido de N-NO₃⁻ de suelo presentó diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,0001$), detectándose el mayor valor en Triticale, (53,9 N-NO₃⁻ mg/Kg suelo), similar a lo obtenido por Diosma y Balatti (1998). También se detectó una correlación positiva y significativa entre el número de bacterias y el contenido de N-NO₃⁻ de suelo ($r= 0.51$, $P= 0.01$). Abril y Roca (2008) encontraron que la aplicación de urea en maíz a la siembra aumentó 10 veces el contenido de N-NO₃⁻, el cual persistió aproximadamente hasta los 35 días, sin embargo, hubo una disminución en la abundancia de nitrificadores. El pH no varió entre tratamientos.

Tabla N° 1: Potencial de Nitrificación (mg N-NO₃⁻ kg⁻¹ suelo) de suelo con diferentes tratamientos de cultivo de cobertura y fertilización

Tratamientos	Tiempo de incubación				
	2 hs	6 hs	12 hs	22 hs	24 hs
Triticale	27.75 a	31.46 a	33.02 a	37.99 a	37.55 a
Testigo	10.94 b	14.67 b	17.11 b	24.49 b	24.43 b
Vicia	5.70 b	9.62 b	11.07 b	18.73 b	19.75 b
ANOVA (p-value)					
Hora x Trat.	0.0008	0.0007	0.0032	0.0138	0.0115
Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de la columna (p<0.05).					

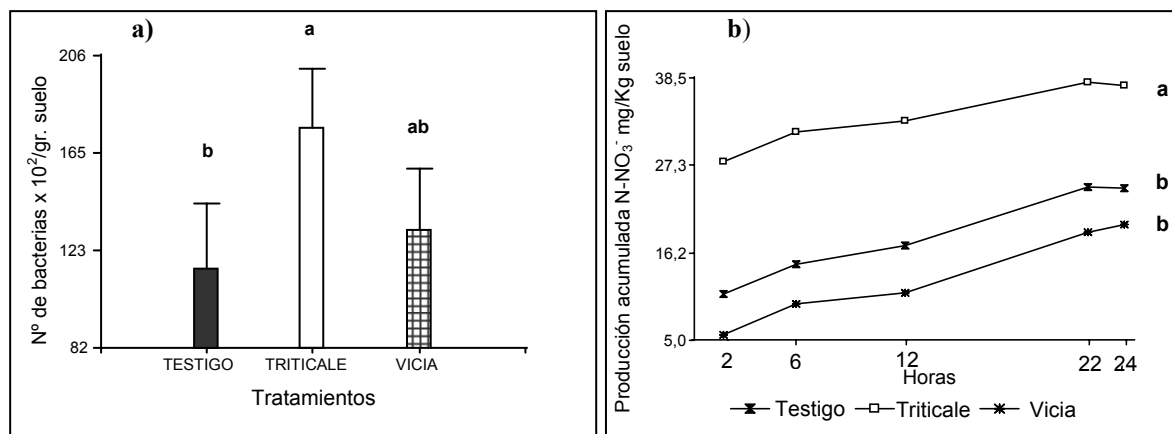


Figura 1: a) Abundancia de bacterias nitrificantes por tratamiento. b) Potencial de Nitrificación de suelo en diferentes cultivos de cobertura y fertilización. Las barras representan el error estándar (n=9). Letras distintas indican que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en todos los tiempos de incubación

CONCLUSIÓN

En esta primera etapa del estudio se destaca el efecto a corto plazo de la fertilización aplicada a los CC sobre la comunidad de bacterias nitrificantes. La fertilización con 90 Kg. de N produce mayor número de bacterias, actividad enzimática potencial y contenido de N-NO_3^- de suelo, con respecto a una aplicación de 5.5 kg. de N. A partir de los resultados observados en el potencial de nitrificación con una tendencia de cambio en el tiempo, un aporte metodológico importante para ser aplicado en determinaciones futuras, es la extensión en el tiempo de incubación luego de las 24 hs. para detectar posibles cambios dados por los efectos de los diferentes manejos aplicados al suelo sobre la actividad enzimática potencial nitrificante, clave en la disponibilidad de nitratos para el cultivo.

BIBLIOGRAFIA

- Abril, A; M Acosta; L Oliva & O Bachmeier. 1990. Dinámica estacional de la microflora en un Haplustol típico de la región semiárida bajo diferentes manejos agrícolas. *Ciencia del suelo* 8: 31-39.
- Abril, A & L Roca. 2008. Impact of Nitrogen Fertilization on Soil and Aquifers in the Humid Pampa, Argentina. *The Open Agriculture Journal* 2: 22-27.
- Abril, A; V Caucás & F Nuñez Vazquez. 1995. Sistemas de labranza y dinámica microbiana del suelo en la región central de la Pcia. de Córdoba (Argentina). *Ciencia del suelo* 13: 104-106.
- Avrahami, S; W Liesack & R Conrad. 2003. Effects of temperature and fertilizer on activity and community structure of soil ammonia oxidizers. *Environ. Microbiol.* 5: 691-705.
- Baigorria, T & C Cazorla. 2009. Evaluación de especies como cultivos de cobertura en sistemas agrícolas puros en siembra directa. EEA INTA Marcos Juárez. Jornada nacional de sistemas productivos sustentable: fósforo, nitrógeno y cultivos de cobertura. Agosto 2009.
- Bolger, TP; MB Reid; A Peoples & JF Angus. 2001. Nitrogen mineralization from shoot and root residues of crop and pasture species. In Proceedings of the Australian Agronomy Conference. Rowe, B. *et al* (eds.).
- Bollmann, A. 2006. Nitrification in Soil. Pp. 136-141. In: J Bloem; DW Hopkins; A Benedetti (Eds). *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*. CABI Publishing.
- Bremer, JM. 1965. Inorganic Forms of Nitrogen. Pp. 1179-1232 In: DD Evans; JL White; LE Ensminger; FE Clark (Eds). *Methods of Soil Analysis*. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy, Madison.
- Cavagnaro, TR; LE Jackson; K Hristova & KM Scow. 2008. Short-term population dynamics of ammonia oxidizing bacteria in an agricultural soil. *Appl. Soil Ecol.* 40: 13-18.

- Coyne, MS. 1999. Soil microbiology: an exploratory approach. Albany, NY: International Thomson Publishing. 462 pp.
- Diosma, G & P. Balatti, 1998. Actividad microbiana y número de nitrificadores y celulolíticos en un suelo cultivado con trigo bajo distintos sistemas de labranza. Revista Facultad de Agronomía, La Plata 103 (1): 61-68.
- Drury, CF; SC Hart & XM Xang. 2008. Nitrification Techniques for Soil. Pp. 495-515. In: Carter, M. R. and Gregorich, E. G. (Eds). Soil sampling and methods of analysis. Part. 2. Canadian Society of soil Science.
- Fargioni, M; C Vega; T Baigorria; J Pietrantonio & C Cazorla. 2009. Cultivos de cobertura y su efecto sobre la disponibilidad hídrica y nitrogenada a la siembra y el rendimiento de maíz. EEA INTA Manfredi y Marcos Juárez. Jornada nacional de sistemas productivos sustentable: fósforo, nitrógeno y cultivos de cobertura. Agosto 2009.
- Frioni, L. 2006. Microbiología: básica, ambiental y agrícola. Departamento de publicaciones de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República. Montevideo. Uruguay. 463 pp.
- Gliessman, SR. 2002. Agroecología. Procesos ecológicos en agricultura sostenible. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica, 359 pp.
- INFOSTAT (2009). Infostat versión 2009. Grupo Infostad, FCA, Universidad Nacional de Cba., Argentina.
- Pochon, J & P Tardieux. 1962. Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Ed. De la Tourelle. St. Mandé, Paris, p. 111.
- SAS Institute (2001). SAS 9.1.3. SAS Inst., Cary, NC.
- Shi, W & JM Norton. 2000. Microbial control of nitrate concentrations in an agricultural soil treated with waste compost or ammonium fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1453-1457.